

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE MAYABEQUE
HOSPITAL MATERNO INFANTIL MANUEL PITI FAJARDO**



**FACTORES DE RIESGO Y ESTADO REDOX EN
PACIENTES CUBANOS CON AUTISMO PRIMARIO**

**Tesis presentada en opción al grado científico de
Doctor en Ciencias Médicas**

DANIEL QUINTANA HERNÁNDEZ

Mayabeque

2022

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE MAYABEQUE
HOSPITAL MATERNO INFANTIL MANUEL PITI FAJARDO**

**FACTORES DE RIESGO Y ESTADO REDOX EN
PACIENTES CUBANOS CON AUTISMO PRIMARIO**

**Tesis presentada en opción al grado científico de
Doctor en Ciencias Médicas**

Autor: Dr. Daniel Quintana Hernández

Tutores: Dra. Paulina Araceli Lantigua Cruz, Dr. C.

Dr. Teddy Osmin Tamargo Barbeito, Dr. C.

Mayabeque

2022

DEDICATORIA

A Maribel Mora González *in memoriam*

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis es el fruto de un intenso y profundo período formativo en el que me sumergí durante los últimos 14 años de mi vida, al cual dediqué muchas horas de entrega al estudio, diagnóstico y tratamiento de pacientes con trastornos en el desarrollo del lenguaje, especialmente con autismo. La elaboración de un trabajo de estas características no ha sido una tarea en solitario, al contrario es el resultado de la inestimable colaboración de numerosos colegas e instituciones.

Quiero agradecer, en primer lugar, a mis padres Cecilia Estefanía y Serafín René y a mis hijos Jordany, Danisbel y Julito, por su apoyo y comprensión, lo cual hago extensivo a mi hermano, cuñados, sobrinos y a toda mi familia. Pero, especialmente, a Yanisbell Fajardo por acompañarme en este último año, brindándome su talento, amor y aliento para continuar adelante.

En el plano profesional, el apoyo y guía de mi tutora de tesis, la Doctora en Ciencias Araceli Lantigua, se convirtieron en fuente de inspiración para labrar este difícil camino, matizado por sus imprescindibles consejos y enseñanzas.

A Teddy Osmin Tamargo Barbeito, excelente tutor, profesor, investigador, bioestadístico y amigo, que me apoyó desde la misma concepción de la investigación y que ha sido clave en la obtención de este producto final.

Infinito agradecimiento a todos mis profesores, verdaderas fuentes inagotables de sabiduría. En especial a mis profes Iris Rojas, Estela Morales, Roberto Lardoeyt, Beatriz Marcheco, Luis Alberto Méndez, Judith Pupo, Jiovanna Contreras e Ileana Rosado.

Reconocimiento que hago extensivo a mis tres Marianas: Yohandra Calixto, Anitery Travieso y Gloria Peña, amigas incondicionales y testigos de un sueño que hoy se hace realidad.

Un especial y reservado lugar guardo para una persona que pasó a ser parte de mi genealogía, la hermana biológica que no tuve, a la que la distancia no logró apartar, la que siempre está pendiente de cada detalle, de cada logro, de cada éxito y lo disfruta a la par de uno. La Máster Denia Tasé, que con su virtuosismo, carisma y profesionalidad me mostró la importancia del asesoramiento genético para pacientes y familiares.

A mis colegas de labor, mis amigos Félix y Yamilit, por ocupar mi lugar en el Centro Provincial de Genética Médica de Mayabeque, por confiar e incitarme continuamente a concluir este empeño. A Suarmi y Dayami, excelentes especialistas que en su etapa de residente trabajaron junto a mí en este proyecto. A Ainadys, psicóloga y directora del centro por todo su apoyo.

A los colegas de las comisiones multidisciplinarias de neurodesarrollo de Mayabeque y del Hospital Juan Manuel Márquez, todo mi agradecimiento.

A los perseverantes especialistas y técnicos de los Laboratorios de Estrés Oxidativo, Genética Bioquímica, Biología Molecular y Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica, mi sincera gratitud.

Agradecimiento infinito a los colegas de la Red Nacional de Genética Médica de Cuba por su contribución en la obtención de datos.

A pacientes, padres, familiares y demás colaboradores, principales motivadores y núcleos de la presente investigación, GRACIAS por su confianza y apoyo incondicional.

Al escribir este apartado, siento que faltan muchas personas que a lo largo de tantos años me han acompañado y se hace imposible mencionar; estén seguros que a cada una de ellas las guardo en un lugar especial.

A todos y todas, **MUCHAS GRACIAS.**

SINTESIS

En el presente trabajo se realizó una investigación aplicada en dos vertientes, un primer estudio de casos y controles pareados, para identificar los factores de riesgo que se relacionan en la aparición del autismo primario en niños cubanos; detectándose que los antecedentes de mayor influencia fueron los trastornos del lenguaje y la epilepsia en familiares de primer grado, la macrocefalia, la edad avanzada de los padres, el sangrado durante el embarazo, la diabetes pregestacional, la anemia y el parto postérmino. El modelo estimado tuvo buena capacidad de discriminar entre pacientes con y sin autismo ($p < 0,001$). La segunda investigación fue un estudio cuasiexperimental en los casos con el objetivo de determinar las variaciones en el estado redox al recibir una terapia antioxidante combinada con dieta y vitaminas. Se obtuvo que los productos de la peroxidación lipídica no lograron la normalidad y no se modificó la respuesta antioxidante al daño oxidativo con la terapia prescrita. Se evidenció que el autismo primario es una alteración heterogénea y multifactorial, que algunos factores genéticos y no genéticos tienen mayor relevancia en la población cubana. La terapia antioxidante utilizada, no fue suficientemente efectiva para lograr un adecuado control del estado redox de los pacientes.

TABLA DE CONTENIDOS

CONTENIDOS	Pág.
INTRODUCCIÓN -----	1
1. Antecedentes -----	1
2. Justificación del estudio -----	5
3. Problema científico -----	6
4. Objetivos de la tesis -----	6
5. Hipótesis -----	7
6. Diseño metodológico de la investigación -----	7
7. Beneficios esperados -----	8
Sociales -----	8
Económicos -----	9
Científicos -----	9
8. Novedad de la investigación -----	9
CAPÍTULO 1. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO SOBRE FACTORES DE RIESGO Y ESTRÉS OXIDATIVO RELACIONADOS CON EL AUTISMO PRIMARIO -----	11
1.1 Objetivo general -----	11
1.2 Metodología -----	11
1.3 Desarrollo -----	12
1.3.1 Trastornos del espectro autista (TEA) -----	12
1.3.2 Epidemiología -----	13

1.3.3	Clasificación de los TEA -----	13
1.3.4	Autismo primario -----	14
1.3.4.1	Manifestaciones clínicas -----	14
1.3.4.2	Diagnóstico -----	14
1.3.4.3	Etiología -----	15
1.3.4.3.1	Factores genéticos -----	15
1.3.4.3.1.1	Variaciones del número de copias -----	16
1.3.4.3.1.2	Estudios de asociación del genoma completo -----	17
1.3.4.3.1.3	Otros genes asociados con el autismo -----	19
1.3.4.3.2	Factores ambientales -----	21
1.3.4.3.2.1	Factores de riesgo prenatal -----	21
1.3.4.3.2.1.1	Vacunas y medicación -----	21
1.3.4.3.2.1.2	Edad de los padres -----	21
1.3.4.3.2.1.3	Afecciones maternas -----	22
1.3.4.3.2.1.4	Salud mental materna -----	23
1.3.4.3.2.2	Factores de riesgo perinatales -----	24
1.3.4.3.3	Epigenética, microARN y autismo -----	25
1.3.4.4	Estrés oxidativo y antioxidantes -----	27
1.4	Conclusiones -----	30
CAPÍTULO 2. FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON EL		
AUTISMO PRIMARIO EN PACIENTES CUBANOS -----		31
2.1	Introducción -----	31
2.1.1	Hipótesis científica -----	31
2.2	Objetivos -----	32

2.2.1	Objetivo general -----	32
2.2.2	Objetivos específicos -----	32
2.3	Material y método -----	32
2.3.1	Tipo de estudio -----	32
2.3.2	Universo y muestra -----	32
2.3.3	Operacionalización de variables -----	34
2.3.4	Técnicas y procedimientos -----	38
2.3.5	Procesamiento estadístico -----	40
2.3.6	Análisis estadístico -----	40
2.3.7	Consideraciones éticas -----	43
2.4	Resultados -----	43
2.4.1	Evaluación dismorfológica -----	43
2.4.2	Factores de riesgo heredofamiliares neuropsiquiátricos --	50
2.4.3	Factores de riesgo ambientales prenatales -----	52
2.4.4	Factores de riesgo ambientales perinatales -----	54
2.4.5	Análisis multivariado de los factores de riesgo -----	55
2.5	Discusión -----	58
2.5.1	Patrón dismórfico -----	58
2.5.2	Factores de riesgo heredofamiliares neuropsiquiátricos --	61
2.5.3	Factores de riesgo ambientales prenatales -----	64
2.5.4	Factores de riesgo ambientales perinatales -----	68
2.5.5	Análisis multivariado -----	69

2.5.6 Propuesta del panel cubano para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación -----	70
2.6 Conclusiones parciales -----	73
2.7 Limitaciones -----	74
CAPÍTULO 3: VARIACIÓN DEL ESTADO REDOX POSTERIOR A TERAPIA ANTIOXIDANTE EN PACIENTES CON AUTISMO PRIMARIO -----	75
3.1 Introducción -----	75
3.1.1 Hipótesis científica -----	76
3.2 Objetivos -----	76
3.2.1 Objetivo general -----	76
3.2.2 Objetivos específicos -----	76
3.3 Material y métodos -----	76
3.3.1 Tipo de estudio -----	76
3.3.2 Universo y muestra -----	76
3.3.3 Operacionalización de variables -----	77
3.3.4 Técnicas y procedimientos -----	79
3.3.5 Procesamiento estadístico -----	81
3.3.6 Análisis estadístico -----	81
3.3.7 Consideraciones éticas -----	82
3.4 Resultados -----	82
3.4.1 Marcadores de daño oxidativo -----	82
3.4.2 Marcadores de defensa antioxidante -----	84

3.5 Discusión -----	87
3.6 Conclusiones parciales -----	95
3.7 Limitaciones -----	95
3.8 Otras consideraciones -----	97
CONCLUSIONES -----	98
RECOMENDACIONES -----	99

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

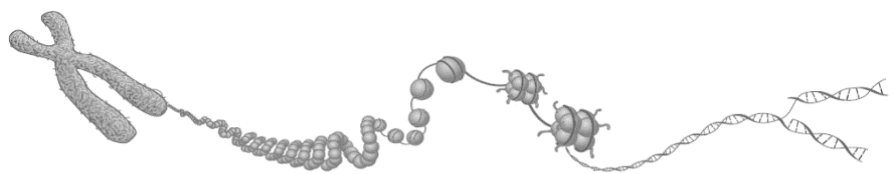
ANEXOS

- Anexo 1. Diagrama de flujo para selección de la bibliografía
- Anexo 2. Diferencias entre autismo primario y autismo sintomático
- Anexo 3. DSM-5. Criterios diagnósticos de trastornos del espectro autista
- Anexo 4. CIE-11. Criterios diagnósticos de trastornos del espectro autista
- Anexo 5. Señales de alerta para el autismo
- Anexo 6. Distribución de casos en número y porcentaje según provincia de residencia
- Anexo 7. Historia clínica genética
- Anexo 8. Instrumento de recolección de datos para casos
- Anexo 9. Instrumento de recolección de datos para controles
- Anexo 10. Formulario de Consentimiento Informado para padres y/o tutores de pacientes con autismo primario
- Anexo 11. Formulario de Consentimiento Informado para padres y/o tutores de los controles

- Anexo 12. Dismorfias según región topográfica y grupo de estudio
- Anexo 13. Distribución de casos y controles según medicamentos utilizados en etapa prenatal
- Anexo 14. Distribución de casos y controles según infecciones maternas en etapa prenatal
- Anexo 15. Curva ROC con las probabilidades de padecer de autismo según el modelo de regresión logística condicional estimado
- Anexo 16. Propuesta del panel cubano para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación
- Anexo 17. Causas de autismo secundario
- Anexo 18. Valores de referencia de marcadores de daño oxidativo y defensa antioxidante para pacientes entre 0 – 15 años
- Anexo 19. Técnicas utilizadas en el procesamiento de muestras de sangre en el laboratorio de estrés oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica
- Anexo 20. Características del patrón alimentario recomendado a pacientes autistas con desbalance redox
- Anexo 21. Alimentos permitidos y prohibidos en dieta antioxidante libre de gluten y caseína
- Anexo 22. Prueba de Kolmogorov – Smirnov para una muestra
- Anexo 23. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos para la determinación plasmática de MDA en dos tiempos muestrales

- Anexo 24. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la determinación plasmática de PAOP en dos tiempos muestrales
- Anexo 25. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la determinación plasmática de SOD1 en dos tiempos muestrales
- Anexo 26. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la determinación plasmática de CAT en dos tiempos muestrales
- Anexo 27. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la relación SOD1 / CAT en dos tiempos muestrales
- Anexo 28. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la determinación plasmática de GPx en dos tiempos muestrales
- Anexo 29. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la determinación plasmática de GSH en dos tiempos muestrales
- Anexo 30. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la capacidad antioxidante total en dos tiempos muestrales
- Anexo 31. Algoritmo de trabajo para el genetista clínico en la consulta multidisciplinaria de diagnóstico de autismo
- Anexo 32. Estimación del riesgo en el autismo primario
- Anexo 33. Orientaciones generales para padres y familiares

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

El manual diagnóstico y estadístico de trastornos mentales en su quinta edición (DSM-5), define el trastorno del espectro autista como una “alteración neuroconductual que se manifiesta en un período de desarrollo temprano caracterizado por déficit persistente en la comunicación e interacción social en múltiples contextos, por patrones repetitivos y restringidos de conductas, actividades e intereses. Los síntomas ocasionan alteraciones clínicamente significativas a nivel social, ocupacional u otras áreas importantes del funcionamiento individual”.¹

Aproximadamente el 30 % de los pacientes presentan discapacidad intelectual, epilepsia o anomalías epileptiformes en el electroencefalograma. Con frecuencia se presentan otras afecciones psiquiátricas y médicas que incluyen episodios de ansiedad, depresión, trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), trastornos del sueño, problemas gastrointestinales, entre otros.²⁻⁹

Las capacidades y necesidades de personas con autismo son variables y pueden evolucionar con el tiempo. Aunque algunos afectados pueden vivir de manera independiente, hay otros con discapacidades graves que necesitan constante atención y apoyo durante toda su vida.¹⁰

1. Antecedentes

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y varios autores señalan que aproximadamente uno de cada 100 niños tiene autismo, que la prevalencia observada varía considerablemente entre los distintos estudios y que en algunas investigaciones bien controladas se han registrado cifras notablemente mayores, como la reportada en Estados Unidos que notifica un afectado por cada 54 niños. Existe un predominio en la prevalencia del sexo masculino en proporción estimada de 4:1 con relación al femenino.^{1,3,10-13}

La prevalencia del autismo en muchos países de ingresos bajos y medianos es hasta ahora desconocida. Cuba, durante el estudio psicosocial de las personas con discapacidades y estudio psicopedagógico, social, clínico-genético de las personas con retraso mental desarrollado en el periodo 2001 - 2003, reportó una prevalencia de 0,4 afectados por cada 1 000 habitantes.^{10,14}

Aunque la mayoría de los casos se clasifican como autismo primario o idiopático dado que se desconoce la causa exacta del trastorno, tanto las nuevas tecnologías como los grandes estudios poblacionales han proporcionado novedosos conocimientos sobre determinados factores de riesgo y el posible papel de estos en su origen. Los estudios de gemelos han sugerido una heredabilidad del 80 - 90 %; sin embargo, la evidencia reciente plantea hasta un 40 % de la varianza está determinada por factores no genéticos, lo que orienta que tanto los genes como el entorno están involucrados en el desarrollo del autismo. Dada la vulnerabilidad del cerebro en desarrollo a los factores ambientales, la asociación causal entre estos y el autismo es biológicamente plausible.¹⁵⁻²¹

Actualmente, la epigenética se presenta como el mediador más importante entre las interacciones del medio ambiente y el genoma. Los factores ambientales pueden afectar la calidad y cantidad de expresión génica sin cambiar la secuencia del ADN a través de mecanismos epigenéticos, incluida la metilación del ADN, los cambios en proteínas histonas y la expresión de ARN no codificantes. De esta manera, se pueden transferir a la siguiente generación celular o incluso a la siguiente generación de organismos. Como resultado, la exposición a factores ambientales nocivos puede cambiar la expresión de genes claves del desarrollo en períodos críticos de formación de embriones y aumentar el riesgo de enfermedades con determinada impronta genómica como el autismo.^{22,23}

La investigación biológica en el autismo ha intentado mejorar la comprensión de sus mecanismos neurobiológicos. Se han realizado estudios en ciencias como la genética, neuroquímica, neurofarmacología, neuroendocrinología, neuroanatomía, neuroimágenes y neuroinmunología. Sin embargo, a pesar de los numerosos avances científicos de las últimas décadas, aún no se ha identificado un modelo causal, marcador biológico -

conductual, o proceso psicopatológico específico, obteniéndose frecuente resultados negativos, contradictorios o asociaciones no replicadas.²⁴

En cuanto a los factores genéticos se ha avanzado en la identificación de una cierta arquitectura genética subyacente, que incluye reordenamientos cromosómicos conocidos, trastornos con herencia mendeliana, variaciones en el número de copias (CNV, por sus siglas en inglés de *Copy Number Variation*), pequeñas inserciones / deleciones (indels), y polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés de *Single Nucleotide Polymorphism*). Los patrones poligénicos, epistáticos y de herencia compleja, como la heterocigosidad oligogénica, parecen contribuir a la etiopatogenia del autismo. Aunque los genes identificados hasta ahora son funcionalmente heterogéneos, muchos de ellos están significativamente involucrados en la formación sináptica, regulación transcripcional y remodelación de la cromatina, estimándose que hay entre 400 y 1 000 genes asociados con en el autismo.^{4,24-26}

A pesar de la significativa heredabilidad reportada en estudios familiares y de gemelos, constituye un reto para los equipos médicos que atienden niños con estos trastornos neuropsiquiátricos, definir la causa del autismo debido a la complejidad genética y la variación fenotípica. Tal heterogeneidad en el autismo ha llevado a los investigadores a buscar instrumentos de diagnóstico fiables para crear subgrupos fenotípicamente homogéneos que permitan sugerir paneles de secuenciación genómica de nueva generación.²⁷

Varios estudios indican que el autismo está asociado con una mayor tasa de variaciones morfológicas y que estas son más frecuentes entre niños con autismo que en los grupos de comparación o población general.²⁸

Los signos o rasgos dismórficos son de gran valor porque pueden utilizarse como indicadores fenotípicos de interacciones génicas o para la identificación de mutaciones de los numerosos genes involucrados en el desarrollo embrionario de las estructuras cráneo faciales y del sistema nervioso central. En su conjunto pueden formar patrones dismórficos que permitan llegar a un diagnóstico. Permiten además según la topografía

de las dismorfias orientar la posible causa del autismo, ya que podrían revelar la interacción de las complejas regulaciones celulares que dependen de interacciones génicas; ya sean con expresión codificante o reguladora, que incluyen las epigénicas durante los períodos críticos de desarrollo, generalmente dentro del primer trimestre de gestación e inicios del segundo.²⁷

A nivel mundial no existen consensos sobre el uso de tratamientos efectivos, dando lugar a dificultades con el manejo de estos pacientes tanto para las familias como para la sociedades, lo que hace cada vez más importante investigar las causas de este trastorno, sus factores de riesgo y formas de prevenirlo.

El creciente interés en la patogénesis del autismo ha llevado a evidenciar el papel del estrés oxidativo para el neurodesarrollo, hecho este científicamente plausible dado que el cerebro tiene una gran capacidad oxidativa con múltiples fuentes de especies reactivas de oxígeno (ERO). Sin embargo, este órgano no dispone de una efectiva respuesta para combatir dicho desbalance, hecho que hace vulnerable al organismo a la neurodegeneración. Como resultado, el daño derivado del desbalance redox en biomoléculas como los ácidos nucleicos, los lípidos y las proteínas puede resultar en disfunción neuronal y pérdida de tejido cerebral.^{29,30}

El estrés oxidativo se define como un desbalance entre moléculas oxidantes y antioxidantes a favor de las oxidantes, lo que conduce a una interrupción de la señalización, del control redox y/o al daño molecular. Surge de la producción excesiva de ERO, que se origina de varias fuentes exógenas y endógenas, el metabolismo normal, la inflamación o la reducción de las defensas antioxidantes, o una combinación de las mismas. Los estudios sobre el tema sugieren un desbalance redox que puede contribuir al desarrollo del autismo tanto en términos de patogénesis como de gravedad de síntomas clínicos. De igual modo, se ha determinado que los factores de riesgo genético ambiental pueden intensificar la vulnerabilidad al estrés oxidativo en estos pacientes. La suplementación con antioxidantes u otras medidas para mejorar los niveles de metabolitos

alterados en las vías interconectadas en la transmetilación y transulfuración, se han asociado con mejoría conductual en este trastorno.³¹

En la Consulta de Referencia Nacional de Genética Clínica del Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez”, las dificultades en las habilidades lingüísticas del niño son motivo de consulta frecuente, donde son referidos para precisar si la causa del defecto es de origen genético. En la estadística de los años 2008 y 2009 de un total de 451 pacientes inscriptos en el servicio 93 fueron remitidos por esta causa lo que representó el 20,6 % del total, siendo el principal motivo de admisión de dicho servicio.³²

En la tesis de terminación de la residencia de genética clínica del autor, se realizó un estudio observacional descriptivo transversal, en 59 casos con trastornos en el desarrollo del lenguaje, atendidos en la mencionada consulta. Dentro de las principales conclusiones a que se llegaron con ese trabajo estuvieron:

1. En los pacientes con trastornos en el desarrollo del lenguaje son frecuentes factores estresantes e hipoxémicos para el desarrollo embriológico del feto, tales como la amenaza de aborto, la diabetes gestacional y la cesárea de urgencia.
2. Existe un solapamiento entre los perfiles lingüísticos del trastorno específico del lenguaje, el autismo y la histidinemia; que puede constituir en el futuro una arista para el estudio de un posible genotipo común y compartido, entre las enfermedades que afectan el lenguaje y neurodesarrollo.

2. Justificación del estudio

Conocer los factores de riesgo genéticos y no genéticos implicados en el autismo primario representa una herramienta útil para la prevención primaria dado que permite modificar estilos de vida desfavorables, la toma de decisiones médicas más acertadas, clasificar cada caso lo más precoz y acertadamente posible, al utilizar sólo los medios diagnósticos eminentemente necesarios. Orienta además hacia pronósticos mejor fundamentados.

Ante la diversidad de factores causales que se invocan en el autismo primario, esta investigación contribuye a esclarecer la influencia de los factores genéticos y no genéticos

en pacientes cubanos, lo que aportará, a la prevención primaria secundaria y terciaria, fundamentos causales a tener en cuenta en el proceso del asesoramiento genético.

En el autismo primario, las investigaciones se han centrado fundamentalmente en los aspectos neurobiológicos, electrofisiológicos, de imágenes y estudios moleculares, con el fin de describir los defectos genéticos subyacentes en esta enfermedad. Sin embargo, aunque se ha avanzado en este campo, las terapias génicas todavía no están disponibles para la gran mayoría de las enfermedades genéticas. Por esta razón, la evaluación del estado redox en afectados con este tipo de autismo, podría proveer nuevas informaciones para la interpretación de los diversos mecanismos patogénicos involucrados en esta entidad así como para la aplicación de estrategias terapéuticas basadas en antioxidantes, lo que en su conjunto influirá en un mejoramiento de la calidad de vida de los pacientes. En Cuba existe cobertura nacional de los servicios de salud, gratuitos, de calidad, al alcance de todos e incluyen una fortalecida Red Nacional de Genética Médica, donde la prevención es uno de sus pilares fundamentales. Sin embargo, dada la heterogeneidad causal del autismo primario, las investigaciones sobre los factores de riesgo que predominan en la población cubana aún son insuficientes, además, no se conocen las variaciones del estado redox que tienen los casos atendidos en los Servicios de Genética Médica.

3. Problema científico

- ¿Qué factores de riesgo y alteraciones del estado redox están relacionados con el autismo primario en pacientes cubanos atendidos en el Servicio de Referencia Nacional de Genética Médica del Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez” de La Habana y la Consulta Provincial de Neurodesarrollo de Mayabeque; en el período comprendido entre octubre de 2014 – septiembre de 2019?

4. Objetivos de la tesis

- Profundizar en el estado actual del conocimiento sobre algunos factores de riesgo genéticos y no genéticos relacionados con la aparición del autismo primario.

- Identificar signos dismórficos, antecedentes heredofamiliares, así como eventos hipoxémicos de naturaleza prenatal y perinatal en pacientes con autismo primario.
- Caracterizar las alteraciones en el estado redox en la muestra.

5. Hipótesis

- Los antecedentes de determinadas enfermedades heredofamiliares neuropsiquiátricas, la presencia de rasgos dismórficos como resultados de eventos prenatales de naturaleza inespecífica, de factores ambientales de origen prenatal y perinatal relacionados con eventos hipoxémicos y alteraciones del estado redox podrían caracterizar al autismo primario en la muestra de niños cubanos atendidos.

6. Diseño metodológico de la investigación

Con estos antecedentes y la creciente demanda de asistencia que tienen estos pacientes en las consultas de genética clínica, se decidió desarrollar esta investigación, en opción de grado científico de Doctor en Ciencias, la que se ha conceptualizado en capítulos tal y como se describe a continuación.

En el capítulo uno se realiza una revisión bibliográfica donde se profundiza en aspectos teóricos, conceptuales y clínico - epidemiológicos sobre los trastornos del espectro autista, en especial del autismo primario. También se aborda sobre las variaciones del estrés oxidativo y el efecto de las terapias antioxidantes.

En el capítulo dos se presenta un estudio de 126 casos hospitalarios y 126 controles comunitarios (pareados), para identificar eventos o factores de riesgo relacionados con el autismo primario, en pacientes atendidos en el Servicio de Referencia Nacional de Genética Médica del Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez” en La Habana y la Consulta Provincial de Neurodesarrollo en Mayabeque, en el período comprendido entre octubre de 2014 – septiembre de 2019. Se incluyeron variables como variaciones dismorfológicas, la historia familiar de enfermedades neuropsiquiátricas y los antecedentes prenatales y perinatales. Se estimó a través de una regresión logística condicional la relación entre la probabilidad de presentar autismo o no. Otros dos modelos de regresión logística binaria condicional fueron realizados: uno simple para estudiar

la influencia del número de dismorfias en la presencia de autismo primario, y otro multivariado para estimar el grado de asociación independiente entre cada una de las regiones topográficas y la presencia de autismo primario.

En el capítulo tres se presenta una investigación aplicada, con diseño cuasiexperimental de estrategia longitudinal, y enfoque cuantitativo en 40 niños afectados, seleccionados de la muestra de casos participantes en el estudio anterior; con el objetivo de caracterizar las variaciones en el estado redox antes y después de las orientaciones ofrecidas en el asesoramiento genético que incluyó, recomendaciones nutricionales y el uso de suplementación vitamínica con efecto antioxidante. Se aplicaron estadísticas descriptivas para variables cuantitativas continuas con el objetivo de calcular estadígrafos de tendencia central y se verificó si existían diferencias entre las medias de los valores obtenidos en los dos momentos del estudio.

7. Beneficios esperados

Sociales:

- Para los pacientes: Este trabajo contribuye a optimizar la atención de los niños con autismo primario al identificar precozmente los factores de riesgo que pueden contribuir a que se desarrolle la enfermedad, amplía las herramientas que apoyan su atención y tratamiento, todo lo cual se traduce en un incremento de la calidad de vida de los mismos.
- Para la familia: Contribuye a incrementar el conocimiento de la individualidad de los hijos; en primer lugar, ofrece mayor información acerca de los factores de riesgo que poseen y que pueden conducir a desarrollar el autismo; y en segundo lugar, la relación entre el daño oxidativo y la enfermedad, que favorece la utilización de una terapia antioxidante que ayuda a mejorar la calidad de vida del paciente.
- Para la sociedad: Al mejorar el estado de salud y por consiguiente la calidad de vida de los niños con autismo, podrán ellos convertirse en personas con cierto nivel de independencia en las actividades de la vida diaria y poder ser parte de la vida social

de acuerdo a sus capacidades. Ofrece a la Red Nacional de Genética Médica conocimientos para lograr un asesoramiento genético de excelencia desde la genética comunitaria y clínica en los diferentes niveles de atención médica.

Económicos:

- Al mejorar la calidad de vida de estos pacientes, se consigue una atención personalizada en los tres niveles de salud y de prevención, así como un estado de bienestar individual y familiar incrementado, lo que contribuye a disminuir gastos en tratamientos y rehabilitación, a la vez, reduce la realización de estudios complementarios con escaso rendimiento diagnóstico.

Científicos:

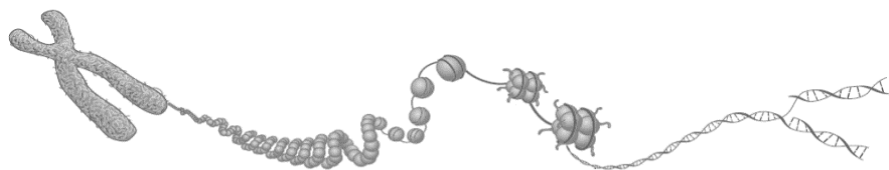
- Se deriva un algoritmo de trabajo para los genetistas clínicos que permite optimizar los recursos necesarios para el diagnóstico y clasificación del autismo, a la vez incrementa las herramientas de trabajo para ofrecer un mejor asesoramiento genético a familiares de pacientes afectados.

8. Novedad de la investigación

- Desarrolla dos de las líneas de investigación priorizadas por el Centro Nacional de Genética Médica (CNGM), al identificar por primera vez en el país factores de riesgo relacionados con el autismo primario en niños cubanos, donde se integra el método clínico-epidemiológico en la evaluación de estos pacientes como principal fortaleza en el diagnóstico de dicho trastorno. La otra línea de investigación analiza las variaciones del estado redox en individuos con autismo primario.
- Establece pautas para el asesoramiento genético a familiares de los afectados en los diferentes niveles de prevención, al proveer de un algoritmo de trabajo al genetista clínico y asesor genético para uso en la consulta multidisciplinaria de diagnóstico de autismo, optimizando los recursos clínicos, de laboratorio y terapéuticos disponibles en el país.

- Constituye la base para proponer al grupo de trabajo que desarrolla la estrategia de medicina de precisión en Cuba, estudios de secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés de *Next Generation Sequencing*) para realizar pilotaje, con un panel de genes candidatos que apoyen el diagnóstico molecular de autismo primario, y pudieran ser utilizados en el futuro de la práctica clínica, en el diagnóstico precoz de niños cubanos con sospechas del trastorno.

**CAPITULO 1. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO
SOBRE FACTORES DE RIESGO Y ESTRÉS OXIDATIVO
RELACIONADOS CON EL AUTISMO PRIMARIO**



CAPITULO 1. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO SOBRE FACTORES DE RIESGO Y ESTRÉS OXIDATIVO RELACIONADOS CON EL AUTISMO PRIMARIO.

Aún con los avances más recientes en el terreno de las neurociencias, cuadros clínicos tan severos como el autismo plantean enormes retos a clínicos e investigadores. En este capítulo se abordarán aspectos de la clínica, de los factores de riesgo tanto genéticos como no genéticos implicados en la génesis de este trastorno, y de las variaciones del estado redox en estos pacientes.

1.1 Objetivo general

- Profundizar en el estado actual del conocimiento sobre factores de riesgo y estrés oxidativo relacionados con el autismo primario.

1.2 Metodología

Se realizó la búsqueda en *PubMed/Medline*, *Scopus*, *Scielo*, *Bireme*, *Imbiomed* y *Google Académico* con los siguientes términos y frases (combinando dos) y se utilizó el operador booleano “AND”: *primary autism*, *genetics risk factors*, *environment risk factors*, *biomarkers*, *epigenetics*, *oxidative stress*, *antioxidants*. Se establecieron los siguientes límites: *only ítems with links to free full text*, *humans*, *meta-analysis*, *systematic review*, *practice guideline*, *review*, *english*, *spanish*, *published in the last five years*.

En algunas oportunidades se incluyeron referencias bibliográficas históricas sobre el tema o con información vigente y de importancia para el desarrollo de la revisión independientemente del año de su publicación.

Se utilizaron como referencias, solamente aquellos artículos en que se pudo revisar el texto completo y se descartaron los que se consideraron con deficiencias metodológicas importantes, los que no fueron adecuados al tema específico, o que presentaron información ofrecida de manera suficiente en otros considerados de mayor calidad y/o actualización (Anexo 1).

1.3 Desarrollo

1.3.1 Trastornos del espectro autista (TEA)

El DSM-5 incluye los TEA dentro de la categoría de trastornos del neurodesarrollo, junto a entidades nosológicas tales como la discapacidad intelectual, los trastornos de la comunicación, el trastorno por déficit de atención e hiperactividad, los trastornos específicos del aprendizaje y los trastornos motores. Esta misma clasificación erige como sus principales características, la presencia de deficiencias persistentes en la comunicación y en la interacción social en diversos contextos, así como la manifestación de patrones restrictivos y repetitivos de comportamientos, intereses o actividades.¹

No existen marcadores biológicos por lo que el diagnóstico se fundamenta en aspectos clínicos. Los signos y síntomas aparecen de forma variadas a partir de los 18 meses y se consolidan a los 36 meses de edad. La causa es desconocida y multifactorial, puede ser por antecedentes familiares de trastornos del desarrollo, así como historial de riesgo neurológico perinatal y epilepsia.³³

Fue *Kanner* en 1943 quien describió en su artículo *Autistic disturbances of affective contact*, los casos de once niños (ocho varones y tres hembras) que, a pesar de presentar diferencias individuales, mostraban un amplio rango de patrones comunes de comportamiento y conciencia social. Los infantes descritos por este autor constituyeron durante mucho tiempo el paradigma del niño autista: manifestaban un mejor ánimo cuando se encontraban solos, solían actuar como si la gente de su alrededor no estuviera presente y mostraban dificultad a la hora de establecer relaciones adecuadas con los demás.³⁴

Más adelante, en la década de los ochenta, otros investigadores destacaron entre las características de los niños autistas sus dificultades en el ámbito relacional, sus déficits en el área comunicativa y el retraso o ausencia del juego de ficción. En el año 2014, el trabajo de *Czermainski* y colaboradores, puso de manifiesto la existencia de diferencias estadísticamente significativas en las áreas de planificación, flexibilidad cognitiva, inhibición conductual, fluidez verbal y memoria de trabajo entre niños diagnosticados de TEA y niños con desarrollo neurotípico.³⁵⁻³⁷

1.3.2 Epidemiología

Durante los últimos años se han informado incrementos en la prevalencia de los TEA. Diferentes publicaciones muestran el aumento de este indicador desde 45/10 000 habitantes en los años sesenta hasta 260/10 000 o más en las primeras décadas del siglo XXI. Investigaciones epidemiológicas más recientes, apuntan un aumento significativo de la prevalencia de los TEA, hasta afectar en los últimos años entre el 1 - 2 % de la población infantil. Por lo tanto, las variaciones en los resultados de la prevalencia de estos trastornos es motivo de discusión constante. Algunos estudios apuntan que son trastornos con una incidencia creciente; otros resaltan que el incremento, puede ser explicado por varias razones de orden metodológico, como los cambios de criterios diagnósticos o una mayor divulgación y conocimiento de la sintomatología entre profesionales y familiares o el desarrollo de mejores métodos de detección.^{38,39}

1.3.3 Clasificación de los TEA

El autismo es uno de los trastornos del neurodesarrollo en el que frecuentemente no es posible determinar su causa. Con el fin de poder clasificar de forma comprensible todos los casos, se definen dos grupos: el primario o idiopático y el secundario o sindrómico.³³ Las principales diferencias entre el autismo primario y el autismo sindrómico están referidas en el Anexo 2.^{40,41}

1.3.4 Autismo primario

1.3.4.1 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas del autismo generalmente están presentes entre el año y medio y dos años de edad que se mantienen estables durante la etapa preescolar y escolar. Por lo general, el intervalo medio desde que los padres comienzan a preocuparse hasta que solicitan ayuda puede llegar a ser después del año. Durante el primer año de vida los comportamientos más consistentes en niños con autismo son: el no responder a su nombre y el no mirar a la cara o hacerlo escasamente. En el segundo año destaca la ausencia de interés por compartir experiencias y la incapacidad para prestar atención.⁴²

En un tercio de los casos el desarrollo es normal entre el primer y segundo año, posteriormente pueden experimentar regresión gradual o de manera inesperada y ocasionar un retraso del desarrollo previo. También puede ocurrir que los síntomas no sean aparentes para los padres ni los profesores hasta los cuatro o seis años de edad.⁴²

Los pacientes pueden presentar variabilidad en su capacidad cognitiva e ir desde una discapacidad intelectual profunda, a una normal o superior en las pruebas de coeficiente intelectual.⁴²

1.3.4.2 Diagnóstico

El diagnóstico de autismo se realiza a través de la observación de los criterios clínicos que se recogen en los manuales diagnósticos DSM-5 (Anexo 3) y CIE-11 (Anexo 4), los que definen sus características nucleares en dos categorías: a) dificultades para la interacción y comunicación social, y b) intereses restringidos y comportamientos repetitivos. Ambas clasificaciones señalan también la importancia de examinar sensibilidades sensoriales inusuales, algo común entre las personas con autismo. Hasta el momento no existe prueba médica o biomarcador para confirmar el autismo. Según estas herramientas, para un diagnóstico de autismo, los síntomas deben estar presentes en el periodo de desarrollo temprano (Anexo 5).^{1,43,44}

Para el diagnóstico es importante la participación y criterio conjunto de especialistas de diversos perfiles (psiquiatría infantil, psicología, neurología, logopedia, pediatría,

genética clínica, neurofisiología, psicopedagogía, entre otros). Además, la observación grupal del paciente y la aplicación de instrumentos psicológicos como:

- ADOS-2 (programa de observación de diagnóstico de autismo, segunda edición): es un sistema de evaluación estandarizado y semiestructurado de la interacción social, la comunicación y otras conductas relevantes que aparecen en niños y adolescentes de 12 meses a 16 años de edad con sospecha de trastorno del espectro autista.⁴⁵
- ADI-R (entrevista de diagnóstico de autismo revisada): es una herramienta considerada también como estándar de oro para diagnosticar el trastorno del espectro autista en niños con más de 18 meses de edad. Las preguntas están orientadas a la exploración de la historia sintomatológica del menor y también aborda aspectos sociales y comunicacionales a partir de la información que brindan los padres.⁴⁶
- CARS (escala de evaluación del autismo infantil): es una escala elaborada para realizar observaciones del niño (mayor de 24 meses de edad) en los distintos contextos que participa. Evalúa las siguientes dimensiones: relación interpersonal, imitación, respuesta emocional, uso del cuerpo y objetos, adaptación al cambio, respuesta visual y auditiva, comunicación verbal y no verbal, así como el nivel de actividad. La información recopilada en estas áreas del desarrollo psicosocial permite a los especialistas establecer una gradación en el comportamiento del niño: grave, moderado, leve y no autista.⁴⁷
- *Bo Olsson*: es una herramienta útil para establecer el diagnóstico diferencial entre autismo, síndrome Rett y el daño cerebral temprano en niños por debajo de los dos años.⁴⁸

1.3.4.3 Etiología

Las teorías sobre el origen del autismo han cambiado a lo largo de los años. Hasta la década de 1970, se pensaba que la causa eran problemas relacionados con la crianza, pero ésta ha sido categóricamente rechazada. Actualmente, se considera un trastorno multifactorial causado por factores genéticos, epigenéticos y ambientales.⁴⁹

1.3.4.3.1 Factores genéticos

Los estudios familiares y de gemelos han demostrado que aproximadamente el 10 % de los niños son diagnosticados con autismo como parte de otros trastornos genéticos o

neurológicos, como el síndrome frágil X, el complejo esclerosis tuberosa, la fenilcetonuria o las infecciones congénitas secundarias al virus de la rubeola y el citomegalovirus.⁵⁰

Dado que el trastorno es heterogéneo, es un desafío identificar con precisión la genética subyacente. Los principales estudios incluyen análisis citogenético, de asociación y ligamiento, CNV y más recientemente, análisis cromosómico por micromatrices (MCA, por sus siglas en inglés de *Chromosomal Microarray Analysis*), así como análisis de secuenciación completo del exoma y análisis transcriptómico.^{15,25,51-56}

Se estima que las técnicas citogenéticas pueden revelar aberraciones cromosómicas en aproximadamente el 2 al 5 % de los individuos con autismo, por lo tanto estos casos se clasifican como autismo sindrómico. La anomalía cromosómica más frecuente detectada en el 13 % de estos niños es la duplicación 15q11-q13 heredada de la madre. Muchos genes de esta región cromosómica tienen funciones esenciales en el cerebro, como *GABRA5* y *GABRB3* (receptores GABA), *UBE3A* y *HERC2* (componentes del complejo proteasómico) y *SNRPN* (ribonucleoproteína del péptido N), así como *CYFIP1* (proteína que interactúa con FMRP). Otras regiones candidatas y aberraciones cromosómicas asociadas con el autismo, incluyen genes del sistema de la serotonina (*SLC6A4*) en 17q11.1-q12 y otros como *PIK3CG* (7q22), *RELN* (7q22), *NRCAM* (7q22.3), *LAMB1* (7q31.1), *WNT2* (7q31.2) y *FOXP2* (7q31).^{2,57-60}

Se han definido varias regiones citogenéticas de interés que combinadas con datos sobre la expresión y funciones de los genes contenidos en estas regiones pueden contribuir a la identificación de genes candidatos del autismo. Dentro de estas regiones se encuentran 2q37, 5p15, 11q25, 16q22.3, 17p11.2, 18q21.1, 18q23, 22q11.2, 22q13.3 y Xp22.2-p22.3.⁵⁸

1.3.4.3.1 Variaciones del número de copias

La hibridación genómica comparativa (HGC) permite detectar microdeleciones y microduplicaciones cromosómicas que son muy pequeñas para ser identificadas por el cariotipo convencional. Las investigaciones han demostrado que las CNV se presentan

entre el 7–14 % de los casos con autismo primario. Las variantes raras *de novo* se identifican con mayor frecuencia en personas con autismo primario y así se describe hasta en el 10 % de los pacientes sin otro familiar afectado, en el 3 % de los casos con antecedente familiar de autismo, y solo en el 1 % de los controles.^{2,61-64}

La mayoría de las CNV detectadas en personas con autismo son esporádicas y no recurrentes, lo que demuestra la heterogeneidad genética de estos trastornos. Las CNV recurrentes asociadas con el autismo primario más comunes son las microdeleciones y microduplicaciones de aproximadamente 600 kb en la región p11.2 del cromosoma 16, que se identifican en aproximadamente el 1 % de los individuos con autismo. La característica fenotípica común en pacientes con la delección 16p11.2 es la macrocefalia, mientras que los portadores de duplicación tienen microcefalia. Otras CNV recurrentes detectadas en casos de autismo incluyen 1q21.1, 15q13.3, 17p11.2, 22q11.2, 16p13.1 y microduplicación de 7q11.23. Además, el análisis de MCA reveló varias microdeleciones no recurrentes que incluyen regiones de 2p16.3, 7q22q31, 22q13.3 y Xp22. La mayoría de las CNV implican numerosos genes que pueden contribuir aditivamente al fenotipo del autismo.^{2,55,65}

Otras CNV asociadas a genes funcionales se describen en las vías de la ubiquitina: *SHANK2*, *DLGAP2*, *SYNGAP1*, *UBE3A*, *DPP10*, *PLCB1*, *TRPM1*, *NRXN1*, *FHIT*, *HYDIN*, *PARK2*, *RFWD2*, *AUTS1*, *AUTS5*, *IMMP2L – DOCK4*, *FBXO40* y *DDX53*. Los genes *NLGN1*, *NLGN2*, *NLGN3*, *NLGN4* y *NLGN4Y* desempeñan un papel en la formación y función sináptica.⁵⁶

1.3.4.3.1.2 Estudios de asociación del genoma completo

La investigación de variantes hereditarias dentro de las familias con autismo está respaldada por la alta recurrencia entre hermanos. Sin embargo, los estudios de ligamiento tienen poca potencia para los trastornos de origen complejo y variantes heredadas de significado incierto. De este modo se han identificado señales en casi todos los cromosomas, pero la región más replicada ha sido 7q35.^{2,59,66}

Los genomas de las personas se diferencian entre sí por SNP. A pesar de que la mayoría de estas variantes son comunes y ocurren al menos en el 1 % de la población, algunos de estos SNP pueden aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades poligénicas complejas. Se cree que las variantes individuales comunes contribuyen al desarrollo de trastornos genéticos heterogéneos por interacción epistática, pero los resultados de los estudios indican que los SNP tienen un efecto pequeño en el autismo. Varios estudios de asociación del genoma completo a gran escala (GWAS, por sus siglas en inglés de *Genome Wide Association Study*) han encontrado varios marcadores específicos significativamente asociados con el autismo pero han sido estudios escasamente replicativos.^{2,67,68}

Las tecnologías de NGS permiten un análisis preciso del exoma o genoma completo del paciente y detecta cambios de un solo nucleótido. Hasta ahora, los estudios genéticos identificaron más de 1 000 genes asociados con el autismo y se han identificado mutaciones exónicas *de novo* en los genes expresados en el cerebro en aproximadamente 15 % de los individuos con este trastorno.^{25,69-71}

En los estudios de secuenciación del exoma completo se han identificado genes candidatos, por ejemplo, *FOXP1*, *GRIN2B*, *SCN1A* y *LAMC3*, cuyas mutaciones clasifican como potencialmente patógenos y probablemente asociados con el autismo primario, la discapacidad intelectual y la epilepsia. El gen *FOXP1* codifica un factor de transcripción necesario para el desarrollo adecuado del cerebro. El gen *GRIN2B* codifica el receptor de glutamato que se une al ácido glutámico, el principal neurotransmisor del sistema nervioso central. El gen *SCN1A* codifica una subunidad del canal de sodio, previamente asociado con la epilepsia e indicado como gen candidato para el autismo, mientras que el gen *LAMC3* codifica la subunidad gamma 3 de la laminina que se expresa en la corteza y el sistema límbico en desarrollo.⁷²

En otras 343 familias con autismo primario, la secuenciación del exoma completo informó que las mutaciones a nivel de los genes relacionados con el trastorno, aparecían dos veces más frecuentes en los pacientes afectados que en la cohorte de hermanos no afectados. Además, afirmaron que muchos de los genes de susceptibilidad al autismo

estaban relacionados con la proteína frágil X (*FMRP*), lo que apoya la asociación entre autismo y plasticidad sináptica.⁶⁹

Otros estudios informan la contribución de otras mutaciones *de novo* que incrementan el riesgo de autismo. Se ha comprobado asociación entre variantes o mutaciones de los genes *SCN2A*, *KATNAL2* y *CHD8* y el autismo. El gen *KATNAL2* juega un papel importante en el desarrollo del sistema nervioso. Además, el número de mutaciones *de novo* se correlacionó positivamente con la edad paterna.^{2,22,72-74}

Otros siete genes (*ABCA1*, *ANK3*, *CLCN6*, *HTR3A*, *RIPK2*, *SLIT3* y *UNC13B*), desempeñan un importante papel en el desarrollo neurológico y la función sináptica, y mutaciones en ellos han sido reportadas en pacientes con autismo. En la secuenciación también se encontraron mutaciones sin sentido del gen *ANK3* en individuos con otros trastornos psiquiátricos, específicamente con esquizofrenia o trastorno bipolar y con susceptibilidad al autismo.⁷⁵

Con la NGS se ha comenzado a explorar la incidencia de mutaciones somáticas, en pacientes con autismo primario. Estudios recientes, a pesar de tener un reducido número de casos, sugieren que hasta el 7,5 % de las mutaciones *de novo* en individuos afectados son de origen postcigótico. La identificación de estas mutaciones incrementa la comprensión de la heterogénea patogenia del autismo y a la vez, permite conocer el posible origen del trastorno en afectados sin causa reconocida.⁷⁶⁻⁷⁸

Interesantes estudios también se desarrollan en el área de la neurogenética en el sistema de neuronas en espejo y su relación con el desarrollo de alteraciones en el ámbito social y conductual de pacientes con autismo. Dentro de los genes relacionados con la disfunción de este sistema, se encuentra el gen *FOXP1* el cual se expresa ampliamente en las neuronas del prosencéfalo que se proyectan al cuerpo estriado.⁷⁹

1.3.4.3.1.3 Otros genes asociados con el autismo

Se han descrito mutaciones y CNV en genes que codifican proteínas que juegan un importante papel en la remodelación de la cromatina, específicamente los genes *CHD8* y *SMARCC1*, así como moléculas de adhesión celular sináptica tales como las neurexinas,

neuroliginas y la *CNTN4*, neurotransmisores, proteína de andamiaje sináptico como *SHANK2* y *SHANK3* y proteínas de canales iónicos (*CACNA1A*, *CACNA1H*, *SCN1A*, *SCN2A*).^{2,59,80}

Otras proteínas también están involucradas en las vías de señalización y redes neuronales vinculadas a vías de transcripción y traducción de genes sinápticos, dentro de las que se encuentran la *FMRI*, *TSC1*, *TSC2*, *PTEN*, *NF1* y *CYFIP1*, vinculadas a vías de ubiquitinación como la *UBE3A*, *PARK2* y *TRIM33*, a la síntesis y degradación de proteínas, y otras que participan en el desarrollo, formación y función de la sinapsis neuronal.^{2,59,80}

Las mutaciones en genes involucrados en la sinapsis neuronal, como *NRXN1*, *NLGN4X*, *NLGN3*, *SHANK2* y *SHANK3*, se consideran las variaciones patogénicas más frecuentes asociadas con el autismo. Estas mutaciones no son específicas de este trastorno ya que también están asociadas con otros trastornos neuropsiquiátricos.^{56,81-83}

Otros estudios indican que el desequilibrio en la excitación inhibición sinápticas podrían explicar los déficits en las funciones sociales y cognitivas presentes en los pacientes con autismo. La remodelación de la cromatina regula la expresión génica y puede influir en la formación y diferenciación neuronal. Investigadores del tema demostraron que mutaciones del gen *CHD8* está fuertemente asociado con el autismo y es un gen que codifica la proteína de unión al ADN de cromodominio helicasa que regula la expresión de muchos otros genes de riesgo en el autismo a nivel de la corteza media durante la vida fetal.^{84,85}

Los desequilibrios en la excitación inhibición sinápticas descritos anteriormente, afectan la actividad neuronal, las modificaciones postraduccionales y la transcripción de genes que regulan la formación, maduración y función sináptica. Las mutaciones en los genes involucrados en esta actividad dan como resultado la desregulación de la red y predisponen al desarrollo del autismo.⁸⁶⁻⁸⁸

1.3.4.3.2 Factores ambientales

Estudios en gemelos han sugerido que el 80 - 90 % de los casos de autismo son causados por factores hereditarios, con poca contribución ambiental. Sin embargo, estudios recientes informaron que entre el 40 % y el 50 % de la variación se debe a factores ambientales y que los estudios en gemelos sugieren que contribuyen tanto factores genéticos como ambientales.⁵⁶

Estos factores ambientales se analizan en detalle a continuación.

1.3.4.3.2.1 Factores de riesgo prenatal

1.3.4.3.2.1.1 Vacunas y medicación

La vacunación es un tema muy controversial que se ha debatido a nivel mundial en diferentes ocasiones. El timerosal, un conservante que contiene un 50 % de etilmercurio es utilizado frecuentemente en vacunas multiviales y se ha demostrado una falsa asociación entre la vacuna contra la papera, rubéola y sarampión (PRS) y el autismo, lo que también sucede con el uso de inmunoglobulina Rh durante la gestación.⁸⁹

El uso de medicación prenatal materna puede estar asociado con más de un 46 % de riesgo de autismo en la descendencia, dado el efecto negativo que pueden tener estas sustancias químicas en el desarrollo fetal.⁸⁹

Investigaciones sobre diferentes tipos de medicamentos han revelado un aumento significativo hasta del 68 % de riesgo de autismo en relación con el uso prenatal de medicación psiquiátrica, en especial de los antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina. Otros fármacos como el ácido valproico puede aumentar el estrés oxidativo y provocar un variado patrón de expresión génica y el paracetamol (acetaminofen) puede inducir apoptosis y necrosis a nivel cerebral, estrés oxidativo y desregulación inmunológica.⁸⁹⁻⁹⁴

1.3.4.3.2.1.2 Edad de los padres

La edad avanzada de los padres (en particular la edad paterna) ha sido identificada como uno de los factores de riesgo más importantes del autismo. La probable explicación de

este fenómeno es la formación de mutaciones *de novo* en las células de la línea germinal y modificaciones en la metilación del ADN, que pueden resultar en alteraciones epigenéticas generales, con efecto en la expresión de genes de desarrollo neural y, finalmente, trastornos en la impronta genómica espermática. Como resultado, aumenta la probabilidad de alteraciones neuronales, como el autismo. La edad paterna avanzada también afecta la función del sistema inmunológico y, en consecuencia, el desarrollo del sistema nervioso.⁹⁵⁻⁹⁷

En estudios en los que se ha correlacionado la edad materna extrema con el autismo primario se plantea que cuando la edad materna es avanzada hay mayor probabilidad de anomalías cromosómicas, expansión de repeticiones de trinucleótidos en el óvulo, y aumento de la intervención obstétrica. Las madres adolescentes pueden estar expuestas a un retraso del crecimiento intrauterino del feto y al parto prematuro, que ambos están asociados con un mayor riesgo de autismo.⁹⁸

1.3.4.3.2.1.3 Afecciones maternas

Las gestorragias, el síndrome metabólico y la infección durante el embarazo son algunas de las afecciones maternas que están relacionadas con el autismo infantil. El sangrado vaginal y el síndrome metabólico, incluyendo la diabetes pregestacional (DPG), hipertensión, y obesidad, predisponen para la hipoxia intraútero, se favorece así un desarrollo cerebral deficiente y se inducen cambios en la mielinización, adhesión a la membrana y alteraciones neuronales del hipocampo (un área muy involucrada en el autismo).^{94,99-108}

Las infecciones virales y bacterianas en el segundo trimestre que requieren hospitalización, aumentan el riesgo de autismo. Dicha relación se debe a una activación inmunitaria materna anormal y, en consecuencia, niveles elevados de citocinas inflamatorias que afectan el desarrollo del cerebro embrionario, lo que incrementa el riesgo de autismo y otros estados neurofisiopatológicos.^{102,109}

Tanto la DPG como la diabetes gestacional (DG), están asociados con un gran número de complicaciones del embarazo. Los estudios indican una asociación ligeramente

significativa en la tasa de autismo en la descendencia de madres diabéticas, sin embargo, cuando la DPG está asociada a la obesidad la asociación de diabetes materna y autismo muestra una tasa de prevalencia superior. En una investigación de cohorte recientemente realizado en Boston, se encontró que la coexistencia de obesidad y diabetes aumenta el riesgo de autismo, tanto para la diabetes gestacional (RR 3,04) como para la pregestacional (RR 3,91).^{94,107,110,111}

El mecanismo de asociación entre diabetes y autismo se desconoce en gran medida. A juzgar por los mecanismos propuestos de los efectos de la diabetes materna en el embrión y el feto, el aumento de la tasa de autismo en los embarazos diabéticos puede deberse a un aumento del estrés oxidativo fetal, a modificaciones epigenéticas en la expresión de varios genes y otros cambios del neurodesarrollo inducidos por la diabetes materna.¹¹²⁻¹¹⁵

Dado el papel de la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo en el neurodesarrollo, también se ha considerado la preeclampsia - eclampsia como un factor de riesgo para el autismo. La preeclampsia puede desencadenar un desarrollo neurológico aberrante a través de mecanismos fisiopatológicos de origen placentario - materno - fetal, y está asociada con un mayor de riesgo de padecer autismo, sobre todo cuando se trata de una variante grave.¹¹⁶

También existe consenso general de que la confluencia de múltiples complicaciones prenatales, perinatales y neonatales está significativamente asociada con el autismo. La hipoxia fetal se ha implicado en el origen de estos trastornos neuropsiquiátricos, basándose en varios factores perinatales que pueden servir como marcadores de hipoxia, incluida la puntuación de Apgar baja, la cesárea y el retraso del crecimiento.¹¹⁷

1.3.4.3.2.1.4 Salud mental materna

La relación entre el historial psiquiátrico de los padres y el riesgo de trastornos mentales de sus hijos es frecuente. Por ejemplo, la asociación de antecedentes psiquiátricos como trastornos de la personalidad, esquizofrenia, ansiedad o depresión materna, incrementa el riesgo de padecer autismo.¹¹⁸⁻¹²¹

En las madres que han experimentado trastornos psiquiátricos entre las 21 y 32 semanas de gestación, período de mayor plasticidad en la formación y desarrollo neuronal. Se han descrito efectos importantes, a través de mecanismos epigenéticos en la expresión de genes de respuesta al estrés en el feto, genes implicados en la neurobiología, el metabolismo y la fisiología que pueden persistir a lo largo de la vida. El inadecuado estado psicológico de la madre, especialmente grandes y duraderas tensiones pueden resultar en trastornos de la personalidad, exponer al feto a niveles elevados de cortisol al interrumpir el eje hipotálamo – pituitario – adrenal (HPA) de la madre, incrementar los esteroides suprarrenales como el cortisol y aumentar la permeabilidad placentaria a estas hormonas. En consecuencia, la programación del desarrollo fetal (a través del epigenoma) se vería muy afectada al interrumpir el sistema de respuesta al estrés fetal, por lo que predispone entre otras al autismo.¹⁰²

1.3.4.3.2 Factores de riesgo perinatales

Se ha descrito que el parto pretérmino y postérmino, así como con producto bajo peso al nacer confieren un mayor riesgo para el autismo. De igual manera condiciones hipoxiantes para el feto como el sangrado vaginal durante el embarazo, el sufrimiento fetal, las complicaciones del cordón umbilical y el parto por cesárea ofrecen hasta un 26 % más de riesgo de padecer autismo. Se han descrito tres regiones del cerebro, incluidos los ganglios basales, el hipocampo y los ventrículos laterales muy vulnerables a la hipoxia y en estos niños el cerebro exhibe frecuentemente ventriculomegalia, anomalías morfológicas del hipocampo y aumento de la actividad dopaminérgica, lo que puede ser relacionado con la hipoxia.^{89,102,122}

Además, el daño hipóxico - isquémico induce inflamación, daño oxidativo y excitotoxicidad, todo lo cual puede conducir a la exacerbación del daño neuronal. Las regiones que están implicadas en la función cognitiva, como el hipocampo y la corteza, suelen lesionarse después de la hipoxia neonatal. Un estudio reciente ha proporcionado información sobre el posible mecanismo del daño hipóxico con respecto al autismo. Los autores examinaron el papel de la proteína de retraso mental frágil (*FMRP*, por sus siglas

en inglés de *Fragile Mental Retardation Protein*) y la vía de señalización diana de la rapamicina en mamíferos (*mTOR*, por sus siglas en inglés de *Mammalian Target Of Rapamycin*) en la patogénesis de la encefalopatía hipóxico-isquémica.¹²³⁻¹²⁵

El deterioro de *FMRP* se observa en casos de síndrome frágil X que es una causa bien reconocida de autismo sindrómico. Es importante destacar que los autores observaron una sobreexpresión de *FMRP* entre las semanas 36 y 39 de embarazo en el cerebro normal, lo que sugirió un papel fisiológico importante de *FMRP* en la plasticidad sináptica durante este período. Al comparar los tejidos cerebrales de los recién nacidos con encefalopatía hipóxico-isquémica con controles sanos, encontraron una expresión de *FMRP* significativamente menor en el cerebro de niños con daño hipóxico que los controles neurotípicos. Con base en estos hallazgos, los autores sugirieron que la interrupción de *FMRP* podría ser uno de los mecanismos a través del cual se relaciona la privación de oxígeno fetal con el autismo.¹²³⁻¹²⁵

1.3.4.3.3 Epigenética, microARN y autismo

Los mecanismos epigenéticos modulan la conformación de la cromatina y regulan la expresión de muchos genes sin alterar la secuencia de ADN. Varios estudios demostraron el papel de la desregulación epigenética en el origen del autismo primario e informaron mutaciones en genes que codifican proteínas implicadas en el mecanismo epigenético de pacientes con este trastorno o discapacidad intelectual. Un ejemplo de lo señalado anteriormente lo constituyen las mutaciones *de novo* en el gen *HIST1H1E* que codifica la proteína enlazadora de histonas H1, la cual contribuye a la organización de las estructuras de la cromatina y a la regulación de la transcripción génica.^{126,127}

Numerosos estudios a escala del genoma revelaron múltiples alteraciones en la metilación del ADN en los cerebros de individuos con autismo. Un metanálisis que incluyó casi 800 pacientes autistas mostró que 55 sitios *CpG* analizados estaban asociados con este trastorno.¹²⁸

Los mecanismos epigenéticos también se han relacionado con el incremento de la respuesta inmunitaria durante el embarazo y el aumento de la susceptibilidad al autismo.¹²⁸⁻¹³⁰

Recientemente, varios estudios exploraron el papel de los microARN (miARN) en el origen del autismo y demostraron la alteración de la expresión de este ARN monocatenario en pacientes afectados. Estas moléculas controlan la expresión de muchos genes mediante la regulación de diferentes ARNm que resultan en la inhibición de la síntesis de proteínas o la degradación del ARNm.¹³¹

Aproximadamente la mitad de todos los miARN humanos conocidos se expresan en el cerebro. Se cree que alrededor del 50 % de los genes humanos están regulados por estas moléculas y los miARN controlan adecuadamente todas las vías funcionales que intervienen en la diferenciación, proliferación, desarrollo y apoptosis celular. Cada miARN puede potencialmente, regular la expresión de numerosos genes y cada gen puede ser regulado por diferentes miARN. Se ha demostrado que los miARN regulan procesos fundamentales para el desarrollo y función del cerebro, incluida la neurogénesis, maduración neuronal y plasticidad sináptica. Los estudios en modelos de animales mostraron que la desregulación de la síntesis de miARN conduce a trastornos del desarrollo neurológico.^{132,133}

Recientemente, se investigó el perfil de expresión de 42 miARN de 30 pacientes con autismo. Los resultados mostraron que los niveles de expresión de tres miARN eran evidentemente más altos y otros cinco eran más bajos en los casos afectados que en el grupo control por lo tanto, se comprobó que existía una desregulación de la expresión de los mismos. El análisis de genes que están regulados por estos miARN informó que algunos de estos genes son importantes para el desarrollo del sistema nervioso central. Por lo tanto, los autores postularon que algunas de estas moléculas pueden desempeñar un papel como biomarcadores del autismo, lo que debe ser evaluado en otros estudios.^{134,135}

1.3.4.4 Estrés oxidativo y antioxidantes

La creciente incidencia de autismo en la población pediátrica y la falta de terapias curativas exitosas hacen que este sea uno de los trastornos más desafiantes para la medicina. Se plantea que la neurobiología del autismo está asociada con el estrés oxidativo, como lo demuestra el aumento de los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) y de la peroxidación lipídica (POL), así como de otros indicadores de estrés oxidativo. Los niños afectados se consideran más vulnerables al estrés oxidativo debido a su desequilibrio en los niveles de glutatión intracelular y extracelular y la disminución de la capacidad de reserva de glutatión. Varios estudios han sugerido que el desbalance redox y el estrés oxidativo son partes integrales de la fisiopatología del autismo. La evaluación y el tratamiento tempranos del estado antioxidante pueden resultar en un mejor pronóstico, ya que podría disminuir el estrés oxidativo en el cerebro antes de que pueda inducir un daño cerebral más irreversible.^{31,136}

Las ERO pueden actuar como segundos mensajeros y ejercer una actividad oxidativa sobre las proteínas para influir en los procesos de señalización inmunes, inflamatorios y de otro tipo.¹³⁷

Además de su papel en las vías de señalización y en las alteraciones redox celulares, las ERO también influyen en los factores de transcripción y por ende en la expresión génica. Específicamente, están involucradas en la activación de factores de transcripción, remodelación de la cromatina y desacetilación de proteínas histonas.¹³⁷

En situaciones normales, existe un equilibrio dinámico entre la producción de ERO y la capacidad antioxidante de la célula. Las ERO dentro de las células se neutralizan con la ayuda de mecanismos de protección antioxidante. La superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx) son las principales enzimas implicadas en la eliminación directa de las ERO. En pacientes con autismo se han descrito niveles elevado de ERO y bajos de marcadores de defensa antioxidante.^{136,138,139}

La neuroinflamación descrita en autistas se ha relacionado con altos niveles de ERO que provocan aumento de citocinas proinflamatorias, interleucinas y acumulación de

proteínas oxidadas, y estas a su vez pueden resultar en la secreción de señales inflamatorias que estimulan a los macrófagos a producir el factor de necrosis tumoral (TNF). Los niveles de glutatión reducido (GSH) también pueden contribuir a la inflamación.^{136,140}

El desequilibrio entre la síntesis de especies reactivas de oxígeno / nitrógeno (ERO/ERN) y la capacidad del organismo para bloquear sus efectos deletéreos al utilizar sistemas antioxidantes es la causa del estrés oxidativo. La disfunción mitocondrial se ha asociado con la acumulación de ERO dentro de las células que, cuando no se eliminan adecuadamente, pueden provocar estrés oxidativo. Para contrarrestar esta condición, se requieren varios mecanismos que logren la desintoxicación de compuestos tóxicos y la neutralización de los radicales de oxígeno / nitrógeno que están presentes en cada célula.^{141,142}

El superóxido (O_2^-) se puede formar como un subproducto del metabolismo normal del oxígeno. Aunque esta molécula, al igual que las otras especies de oxígeno, puede desempeñar un papel importante en la señalización celular y la homeostasis, su acumulación puede dañar las estructuras celulares y, por lo tanto, favorecer el estrés oxidativo.¹⁴²

El cerebro representa uno de los principales metabolizadores del oxígeno y, por lo tanto, se acumulan grandes cantidades de ERO en varias regiones. A pesar de esto, al menos en algunas condiciones, existen mecanismos de protección relativamente débiles. Por esta razón, el cerebro puede ser muy sensible a las agresiones provocadas por la acumulación de radicales libres.¹⁴³

El cerebro tiene una vulnerabilidad relativamente grande a la lesión oxidativa en comparación con otros órganos, la que está involucrada en el proceso patológico de los principales trastornos psiquiátricos. Varios informes han indicado niveles acumulados de diferentes marcadores de la peroxidación lipídica (POL) en el autismo, lo que confirma un aumento del estrés oxidativo en el autismo.¹⁴⁴

Por su parte, los niveles de enzimas depuradoras de ERO (SOD, CAT, GPx) y el tripéptido GSH son más bajas en individuos con autismo, lo que condiciona que para mantener una mejor homeostasis del medio interno en estos pacientes sea necesario, en muchas ocasiones, utilizar terapéuticas antioxidantes y dentro de estas la vitamina E y vitamina C que junto al glutatión forman una red antioxidante para el control del estrés oxidativo.³¹

De la vitamina E se han identificado ocho isoformas diferentes: tocoferoles α , β , γ , δ y tocotrienoles α , β , γ , δ . Se incorpora a las membranas celulares, en las que inhibe eficazmente la POL ya que tanto los tocoferoles como los tocotrienoles eliminan los radicales peroxilo altamente reactivos. Se plantea que no actúa aisladamente de otros antioxidantes, pero es parte de un conjunto interconectado de ciclos redox antioxidantes conocidos como “red antioxidante”. Cuando todas las isoformas de vitamina E reaccionan contra los radicales libres, se convierten en sus formas oxidadas de tocoferoxilo / tocotrienoxilo. Para volver a ser activa, la vitamina E se convierte de su forma de radicales libres a su estado nativo reducido después de la interacción entre sustancias solubles en agua y lípidos, para lo que utiliza mecanismos enzimáticos y no enzimáticos.¹⁴⁵

La vitamina C reducida (dehidroascorbato, DHA) puede regenerar directamente la vitamina E después de convertirse en ascorbato, su forma oxidada. Los antioxidantes tiol como el glutatión, pueden convertir el ascorbato en DHA, que luego está disponible para regenerar nuevamente la vitamina E. Por lo tanto, la vitamina C es particularmente efectiva para reducir el daño oxidativo cuando se usa junto con la vitamina E. Cuando los sistemas de vitamina E, vitamina C y glutatión actúan sinérgicamente, las células tienen concentraciones bajas en estado estacionario de radicales de vitamina E y ascorbato, y se evita la pérdida o el consumo de vitaminas.¹⁴⁵

La vitamina C es un potente antioxidante que puede neutralizar y eliminar oxidantes, como moléculas altamente reactivas generadas en procesos metabólicos del cerebro y otros órganos. La vitamina C desempeña un papel vital en el crecimiento tisular, la síntesis de agentes vasoactivos, la regulación inmunitaria y muchas otras funciones

metabólicas. La importancia biológica de la vitamina C en el cerebro está relacionada con el desarrollo de las neuronas, su maduración funcional y las respuestas antioxidantes. Cuando hay una deficiencia de vitamina C, las neuronas muestran una disminución del crecimiento y actividad, así como una mayor susceptibilidad al daño oxidativo.¹⁴⁵

Otra molécula importante dentro de la red de antioxidantes, necesaria para la reconversión del ascorbato en DHA, es el glutatión. El glutatión es un tripéptido (cisteína, glicina y ácido glutámico) presente en la mayoría de las células, que existe en dos formas, reducida (GSH) y oxidada (GSSG).¹⁴⁵

En el autismo se han detectado alteraciones en la expresión de las principales enzimas antioxidantes del sistema captador de ERO, tanto a nivel cerebral como periférico, lo que indica que existen niveles elevados de estrés oxidativo en estos pacientes.^{138,145}

Investigaciones recientes vinculan la dieta en el autismo con en el denominado eje intestino - cerebro, el cual se refiere a la conexión y comunicación bidireccional entre el tracto gastrointestinal y el sistema nervioso central, en especial por su relación con la epigenética y la señalización redox. La microbiota intestinal puede potencialmente inducir cambios epigenéticos en el intestino y cerebro a través de sus productos de fermentación, los que actúan a nivel del sistema nervioso central (SNC) como neurotransmisores.^{137,146}

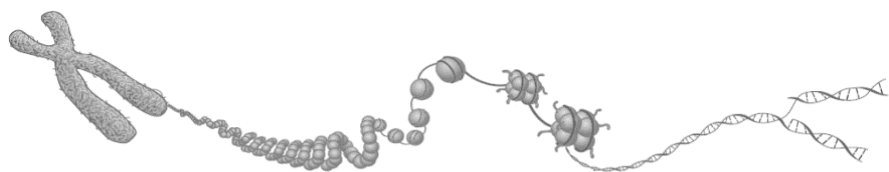
Los productos enteromicrobianos, a través de los metabolitos derivados de bacterias intestinales, también pueden actuar como agentes epigenéticos sobre la regulación y expresión génica. Además, pueden influir en mecanismos de señalización del huésped contribuyendo incluso a la producción de ERO.¹³⁷

1.4 Conclusiones

1. La literatura actual apoya la hipótesis de que el origen del autismo primario se basa en un modelo multifactorial, resultado de los efectos de diversos factores genéticos, ambientales y las interacciones entre genes y el entorno. La epigenética es considerada como el mecanismo biológico candidato en dichas interacciones.

2. Varios factores de riesgos ambientales prenatales y perinatales, la mayoría estresantes e hipoxiantes para el feto, están relacionados con el autismo primario.
3. En el autismo las terapias antioxidantes, con frecuencia, tienden a mejorar la desregulación metabólica entre moléculas prooxidantes y antioxidantes, favorece la disminución del estrés oxidativo en el sistema nervioso central, y por consiguiente, ayuda a reducir el daño cerebral por el desbalance redox.

**CAPÍTULO 2: FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS
CON EL AUTISMO PRIMARIO EN
PACIENTES CUBANOS**



CAPÍTULO 2: FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON EL AUTISMO PRIMARIO EN PACIENTES CUBANOS

2.1 Introducción

A pesar de la extensa investigación sobre la biología subyacente, poco se sabe sobre el desarrollo del autismo, se estima que los mecanismos poligénicos y multifactoriales estén involucrados, y que el trastorno se debe a interacciones genético - ambientales. Algunos estudios plantean que la etapa con mayor susceptibilidad es la que ocurre en el desarrollo intrauterino; otros sugieren que los factores genéticos solo representan aproximadamente el 35 al 40 % de los elementos contribuyentes, mientras que el 60 al 65 % restante pueden ser prenatales, perinatales y postnatales.¹⁴⁷

Los fenómenos que comprometen los distintos procesos epigenéticos, también han demostrado tener importancia en la génesis de los trastornos del neurodesarrollo, en especial del autismo.¹⁴⁸

En este capítulo se abordaron los factores de riesgo genéticos y no genéticos asociados al autismo primario.

2.1.1 Hipótesis científica

- Las variaciones morfológicas, los antecedentes de determinadas enfermedades heredofamiliares neuropsiquiátricas y factores de riesgo prenatales y perinatales, están relacionados con la aparición del autismo primario en niños cubanos.

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo general

- Identificar alteraciones dismorfológicas, antecedentes heredofamiliares, así como otros eventos hipoxémicos de naturaleza prenatal y perinatal en pacientes con autismo primario.

2.2.2 Objetivos específicos

1. Determinar los rasgos dismórficos más frecuentes en pacientes con autismo primario.
2. Identificar los factores de riesgos heredofamiliares neuropsiquiátricos, según grados de parentesco relacionados con el autismo primario.
3. Identificar factores de riesgos no genéticos prenatales y perinatales, que se relacionan con la aparición del autismo primario.
4. Estimar la probabilidad de presentar autismo, a partir del análisis de los factores de riesgos.
5. Realizar propuesta de un panel para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación.

2.3 Material y método

2.3.1 Tipo de estudio

Se realizó una investigación observacional de casos y controles (tipo casos hospitalarios, controles poblacionales, pareados en proporción 1:1) en niños con autismo primario, atendidos en el Servicio de Referencia Nacional de Genética Médica del Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez” en La Habana y la Consulta Provincial de Neurodesarrollo en Mayabeque, Cuba; en el período comprendido entre octubre de 2014 – septiembre de 2019.

2.3.2 Universo y muestra

Universo: estuvo constituido por 137 niños referidos de las consultas multidisciplinarias de neurodesarrollo con diagnóstico de autismo, para lo que se utilizaron los criterios del

DSM-5 y de la clasificación internacional de enfermedades de la Organización Mundial de la Salud (CIE-11), apoyados de la aplicación de instrumentos psicológicos: escala de evaluación de autismo infantil (CARS) y prueba de *Bo Olsson*.^{1,44,47,48}

Muestra: la selección de los casos se realizó por criterios de inclusión y exclusión:

- Criterios de inclusión: niños de ambos sexos entre tres y siete años de edad, con diagnóstico de autismo primario.
- Criterios de exclusión: cuando los potenciales evocados auditivos de tallo cerebral, las pruebas metabólicas en orina y cuantificación de histidina resultaron positivas, en esta última se consideró un resultado superior a 3,76 mg/dl. También se excluyeron pacientes con antecedentes personales de síndromes genéticos, retraso del desarrollo psicomotor y/o infección del sistema nervioso central. En los casos con sospecha clínica de síndrome frágil X (puntuación de *Hagerman* simplificada igual o mayor de seis puntos) se les realizó estudio molecular y se exceptuaron los que resultaron positivo con 200 o más repeticiones del triplete CGG del gen FMR1.¹⁴⁹

La muestra quedó constituida por 126 pacientes que residían en las 15 provincias cubanas (Anexo 6).

La selección de los 126 controles neurotípicos fue prefijado a razón de 1:1, para lo cual se tuvieron en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

- Criterios de inclusión: niños de igual sexo y edad con más menos dos años que el caso y que residieran en las proximidades del mismo.
- Criterios de exclusión: cuando reportaron alguna enfermedad neurológica, antecedente de infección del sistema nervioso central, retraso del neurodesarrollo, trastornos del desarrollo del lenguaje o conducta, historia prenatal con diagnóstico de defectos congénitos y/o marcadores indirectos de cromosomopatías.

Con el tamaño muestral obtenido, la relación de un control por caso logró una potencia estadística de 99,9 %.

2.3.3 Operacionalización de variables:

Para dar salida a los objetivos propuestos se utilizaron las siguientes variables:

- Áreas anatómicas del cuerpo: cualitativa nominal politómica, se definió según la región anatómica en la que se describió la dismorfia:
 - o Cabeza – cuello (cráneo, cara y cuello hasta columna cervical).
 - o Tronco (regiones dorsal, pectoral, abdominal y perineal - se excluyeron genitales externos).
 - o Miembros superiores e inferiores (miembros superiores: región deltoidea, brazo, codo, antebrazo y mano; miembros inferiores: región glútea, muslo, rodilla, pierna y pie).
 - o Genitales (genitales externos de ambos sexos).
 - o Tegumentos (piel, uñas y glándulas anexas).
- Clasificación según patrón dismórfico: cualitativa nominal dicotómica. Se consideró:
 - o No dismórfico (hasta dos rasgos dismórficos).¹⁵⁰
 - o Dismórfico (tres o más rasgos dismórficos).¹⁵⁰
- Evaluación del crecimiento cefálico: cualitativa nominal politómica. Se consideró según la evaluación de la circunferencia cefálica en la tabla de desviaciones estándar (DS):
 - o Macrocefalia (mayor o igual a más dos DS).
 - o Normocefalia (entre menos dos DS y más dos DS).
 - o Microcefalia (menor o igual a dos DS).
- Antecedentes heredofamiliares neuropsiquiátricos: cualitativa nominal politómica. Cuando en la historia clínica del paciente, se registraron familiares con alguna de las siguientes categorías:
 - o Trastorno del lenguaje (dificultades en la comunicación oral, ya sea en la expresión y/o comprensión de ideas o pensamientos).

- Trastorno del espectro autista (alteración neuroconductual caracterizada por su inicio antes de los tres años de edad y que provoca alteraciones de la conducta social, perturbación en la comunicación verbal y no verbal y patrones de comportamientos inusuales y repetitivos).
 - Discapacidad intelectual (individuo que antes de los 18 años presentó limitaciones en el funcionamiento intelectual con un coeficiente inferior a 70, y trastornos en la conducta adaptativa).
 - Otras enfermedades psiquiátricas (espectro de esquizofrenia y otras psicosis, trastorno bipolar, de ansiedad, obsesivos compulsivos, entre otros).
 - Epilepsia (convulsiones recurrentes ya sean parciales o generalizadas, acompañadas o no de pérdida de conciencia y control e la función intestinal o vesical).
- Antecedentes prenatales: cualitativa nominal politómica. Se incluyeron:
- Avanzada edad materna (madre de 35 o más años en el momento de la concepción).
 - Avanzada edad paterna (padre de 40 o más años en el momento de la concepción).
 - Vacunación con gammaglobulina hiperinmune Anti D (cuando la gestante recibió inmunización con gammaglobulina hiperinmune Anti D).
 - Sangrado vaginal durante el embarazo (cualquier salida de sangre por la vagina procedente del útero durante el embarazo, independientemente del tiempo de gestación y no asociada al ciclo menstrual).
 - Amenaza de aborto (cuando la madre presentó sangrado vaginal antes de las 22 semanas del embarazo del propósito, dolores bajo vientre o contracciones uterinas y/o modificaciones cervicales constatadas por ecografía o examen ginecológico con espéculo).

- Diabetes pregestacional (DPG) (antecedentes maternos de diabetes mellitus previo a la concepción del embarazo o durante el curso del mismo, antes de las 22 semanas).
- Diabetes gestacional (DG) (diabetes que se desarrolló durante la gestación posterior a la semana 22).
- Hipertensión arterial (cifras de tensión arterial por encima de 140/90 mmHg. A partir de las 20 semanas también se incluyeron cifras de tensión arterial sistólica superiores a 30 mmHg o 15mmHg de diastólica, con relación a la cifra obtenida en el primer control prenatal).
- Asma bronquial (asmática que tuvo cuadro de sibilancia y dificultad).
- Anemia (cuando se constató hemoglobina menor o igual de 10 g/L).
- Hipotiroidismo (hipofunción tiroidea durante la gestación).
- Uso de medicamentos durante el embarazo (uso por vía oral, inhalatoria o parenteral de algún fármaco. No se incluyeron las tabletas prenatales y el ácido fólico).
- Fumadora activa (madre que fumó cigarrillos).
- Consumo de bebidas alcohólicas (uso de bebidas alcohólicas, independientemente del tipo, cantidad o edad gestacional).
- Infección durante el embarazo (algún cuadro de sepsis).
- Restricción del crecimiento fetal (inadecuado crecimiento fetal con peso por debajo del tercer percentil o peso por debajo del décimo percentil con flujo *Doppler* obstétrico alterado).
- Oligoamnios (evaluación cualitativa del líquido amniótico disminuido antes de las 26 semanas y/o bolsón mayor de líquido amniótico inferior de 20 mm. A partir de las 26 semanas se consideró cuando el índice de líquido amniótico fue menor de cinco).
- Polihidramnios (evaluación cualitativa del líquido amniótico aumentado antes de las 26 semanas y/o bolsón mayor de líquido amniótico superior de 80 mm).

A partir de las 26 semanas se consideró cuando el índice de líquido amniótico fue mayor de 25).

- Embarazo múltiple (gestación con más de un feto).
- Antecedentes perinatales: cualitativa nominal politómica. Se incluyeron:
 - Alteraciones del trabajo de parto:
 - Prolongado (dilatación cervical o descenso fetal anormalmente lentos es decir, mayor de 90 minutos en las primíparas o de 30 minutos en las multíparas).
 - Inducido (Estimulación de las contracciones uterinas para desencadenar el parto vaginal, ya sea con el uso de oxitocina, ruptura del saco amniótico u otras técnicas).
 - No tuvieron (cuando la dilatación cervical o descenso fetal ocurrió antes de los 90 minutos en las primíparas o de 30 minutos en las multíparas y no fue necesario estimular las contracciones uterinas para desencadenar el parto vaginal).
 - Distocias del parto:
 - Instrumentado (obtención transvaginal del feto se utilizaron elementos externos como espátulas, fórceps o ventosas).
 - Cesárea de urgencia (cirugía transabdominal para obtener el feto, dadas condiciones obstétricas que llevaron al proceder sin que este fuese planificado previamente).
 - Cesárea electiva (proceder quirúrgico planificado previamente para obtener el feto, por vía transabdominal).
 - No tuvieron (cuando la obtención del feto ocurrió por vía transvaginal sin utilizar instrumentación).
 - Presentación fetal anómala:
 - Pelviana (cuando el polo pélvico o caudal del feto estaba en relación directa con el estrecho superior de la pelvis materna).

- De cara (se consideró cuando la cara fue lo primero que salió por el canal del parto).
- No tuvieron (cuando el polo cefálico del feto estaba en relación directa con el estrecho superior de la pelvis materna).
- Complicaciones del cordón umbilical:
 - Prolapso (cuando el cordón umbilical precedió al bebé a través de la vagina).
 - Circular laxa al cuello (situación en la que el cordón umbilical estaba enrollado alrededor del cuello del feto).
 - No tuvieron (no se describieron alteraciones a ese nivel).
- Alteraciones del término de la gestación:
 - Pretérmino (edad gestacional al parto inferior de 37 semanas).
 - Postérmino (edad gestacional al parto igual o superior a 42 semanas).
 - No tuvieron (cuando el nacimiento ocurrió entre las 37 y 41,6 semanas)
- Líquido amniótico meconial (líquido amniótico expulsado durante el trabajo de parto de coloración negra parduzca por el contenido de meconio expulsado por el feto).
- Rotura prematura de membranas (pérdida de líquido amniótico previo al trabajo de parto, independientemente del tiempo de gestación).

Las variables fueron seleccionadas por criterios de expertos y revisión sistemática de la literatura consultada.^{89,102,123,147}

2.3.4 Técnicas y procedimientos

Se confeccionó la historia clínica genética (Anexo 7) y un instrumento de recolección de datos, el cual se validó según criterios de expertos (Anexo 8). Se incluyeron los antecedentes prenatales, perinatales y familiares. Estos datos se obtuvieron de la tarjeta de salud del menor, resumen de historia clínica u otros documentos médico legales que

avalaron el antecedente reportado y de esta forma se evadieron los sesgos de reporte de la información.

En la historia clínica genética se realizó un árbol genealógico con un mínimo de tres generaciones. Para designar el grado de parentesco con el propósito se definió como:

- Primer grado: padres y hermanos
- Segundo grado: abuelos, tíos, sobrinos y medios hermanos
- Tercer grado: primos hermanos

A través de la visita o comunicación telefónica con los consultorios médicos de la familia donde pertenecen los niños incluidos en el estudio, se obtuvieron los controles, se entrevistaron previo consentimiento informado con la familia y la información obtenida fue llevada a un instrumento de recolección de datos, el cual se validó según criterios de expertos (Anexo 9), todo con el apoyo de la Red Nacional de Genética Médica y el equipo de atención primaria de salud del área de salud perteneciente.

Los casos fueron examinados por un genetista clínico del equipo de trabajo para descartar enfermedades o síndromes genéticos. Los controles neurotípicos fueron examinados por dos especialistas de genética clínica de la provincia de residencia, quienes siguieron el patrón de examen del equipo de investigación.

Se realizó un examen físico completo, con énfasis en la búsqueda de signos dismórficos cualitativos y cuantitativos. Para la evaluación antropométrica se utilizaron tablas de acuerdo a la edad y el sexo.^{151,152} Se emplearon instrumentos de medición clásicos en la clínica médica como la balanza con tallímetro, cinta métrica y la regla milimétrica.

En los padres de casos y controles, siempre que fue posible, también fueron evaluadas las dismorfias para descartar síndromes genéticos excluyentes o rasgos étnicos que podrían considerarse dismorfias. De existir ausencia de uno o ambos padres se evaluaron fotografías, para no incluir rasgos familiares.

2.3.5 Procesamiento estadístico

La información obtenida se llevó a una base de datos por medio de la aplicación Microsoft Excel 2010 y procesado con el programa estadístico SPSS (acrónimo en inglés de *Statistical Package for the Social Sciences*) versión 21.

2.3.6 Análisis estadístico

Las variables cualitativas se resumieron con números absolutos y porcentajes. Se estimó el *odds ratio* (OR) para casos y controles pareados, con un intervalo de confianza de 95 %.

La comparación de proporciones se realizó con la prueba Chi cuadrado (χ^2). En el caso de tablas de dos entradas (2×2) se utilizó la prueba Chi cuadrado (χ^2) de homogeneidad con corrección de *Yates* y cuando existieron 25 % o más de frecuencias esperadas menores que cinco, se utilizó la prueba exacta de *Fisher*. Se utilizó la prueba Chi cuadrado (χ^2) de linealidad para comparar entre el sexo masculino y femenino según el número de dismorfias dentro de casos y controles, así como la *U de Mann - Whitney* para comparar las medianas dentro de casos y controles según sexo.

Debido a la presencia de colinealidad entre las diferentes áreas topográficas de las dismorfias y el número de ellas, se ajustaron dos modelos de regresión logística binaria condicional, uno simple para ver la influencia del número de esas alteraciones en la presencia de autismo primario y otro multivariado para estimar el grado de asociación independiente entre cada una de esas regiones y la presencia de autismo primario.

Para los dos modelos la variable dependiente fue la presencia de autismo primario. En el caso del primero la variable independiente fue el número de dismorfias y en el segundo fueron las regiones topográficas: cabeza - cuello, miembros superiores e inferiores, los genitales y tegumentos. Se estimaron los OR con sus respectivos intervalos de confianza de 95 %. No se incluyó el tronco y columna vertebral por no existir ninguna frecuencia en los controles, lo que provocaría resultados imprecisos del OR.

En la búsqueda de factores de riesgo para presentar autismo se realizó una función de regresión logística condicional con respuesta dicotómica, la cual modela la relación entre la probabilidad de presentar autismo o no (variable dependiente) y las variables independientes: edad materna avanzada, edad paterna avanzada, antecedentes de sangrado vaginal durante el embarazo, de amenaza de aborto, DPG, DG, antecedentes de anemia en el embarazo, restricción del crecimiento fetal, oligoamnios, líquido meconial, la edad gestacional al parto, la circunferencia cefálica en la primera consulta, el antecedente familiar de primer grado de trastornos del lenguaje y el antecedente familiar de primer grado de epilepsia.

La selección de variables se hizo por el método de algoritmo *Backward*, para lo cual se partió de un modelo muy complejo, que incorporó todos los efectos que podían influir en la respuesta, y en cada etapa se eliminó la variable menos influyente, hasta que no fue necesario suprimir más términos.

Con el propósito de evaluar la existencia de una correlación excesiva entre las variables independientes (colinealidad) que introdujera imprecisiones en las estimaciones se evaluó la asociación entre éstas. Para las variables cualitativas se aplicó la prueba de homogeneidad χ^2 , acompañada de un coeficiente de correlación (*Phi o V de Cramer*, según se tratara de tablas de un grado de libertad o más de un grado de libertad respectivamente). No existió ningún valor de los coeficientes calculados superior a 0.8, cifra que se consideró para afirmar que existía correlación importante entre las variables.

El modelo de regresión logística condicional establece que si se tiene una variable dicotómica "Y" (que en este caso es autismo sí o no), la probabilidad de que un paciente presente autismo puede expresarse en función de las variables X_1, X_2, \dots, X_n de la siguiente manera:

$$P(Y = 1) = \frac{1}{1 + \exp-(b_0 + b_1X_1 + \dots + b_nX_n)}$$

Donde:

b_0 : es el término independiente

b_1, \dots, b_n : son los coeficientes respectivos de las variables independientes

El modelo se ajustó con todas las variables y según el estadígrafo X^2 de *omnibus* ($p < 0,001$) fue significativo. Posteriormente mediante el estadígrafo de *Wald* se identificaron aquellas variables cuyos coeficientes fueron significativamente diferentes de 0 ($p < 0,05$). Además, se estimaron los OR puntuales y por intervalos para cada variable seleccionada, los que fueron interpretados. La función obtenida permitió determinar la probabilidad de tener autismo en función de éstas y paralelamente estimar la influencia independiente de cada variable.

La bondad de ajuste del modelo se verificó con el valor de Chi cuadrado de *omnibus*, el R cuadrado de *Cox y Snell* así como el R cuadrado de *Nagelkerke*. En el caso del Chi cuadrado de *omnibus* si la significación es menor que 0,05 indica que el modelo ayuda a explicar el evento (autismo), es decir las variables independientes explican a la dependiente. Por otra parte el R cuadrado de *Cox y Snell* así como el R cuadrado de *Nagelkerke*, a mayor valor de estos, se dice que explican en mayor por ciento la varianza de la variable dependiente que en este caso es la presencia o no de autismo.

La calibración (medida de que la probabilidad de tener autismo estimado refleje correctamente el verdadero riesgo de padecer la enfermedad) se estimó mediante la prueba de *Hosmer - Lemeshow*.

Para evaluar la discriminación de la función de regresión logística condicional (capacidad de distinguir entre pacientes con y sin autismo) se construyó una curva ROC. La evaluación de la discriminación se realizó por el examen visual de la curva (en tanto más alejada del eje de las abscisas, por encima de la bisectriz del primer cuadrante donde quedarían aquellos puntos de una prueba positiva o negativa por casualidad, más eficaz resultará la función para la predicción) y por el cálculo del área bajo la curva con su intervalo de confianza de 95 por ciento.

En todas las pruebas de hipótesis se fijó un nivel de significación de 0,05.

2.3.7 Consideraciones éticas

En la presente investigación se tuvieron en cuenta y se veló por el cumplimiento de los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, establecidos en la Declaración de *Helsinki de la Asociación Médica Mundial*, durante la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013.¹⁵³

A través del proceso de Consentimiento Informado, todos los posibles participantes (familiares o tutores de casos y controles) recibieron amplia información sobre las características generales del estudio, sus objetivos, beneficios y posibles consecuencias para ellos y otros pacientes, la opción de salida de la investigación los que así lo quisieran y en el momento que lo decidieran, sin que esto repercutiera en su seguimiento por el equipo de trabajo, y otras consideraciones. Al final de dicho proceso, y después que tuvieron la oportunidad de aclarar todas sus dudas, se obtuvo la firma del formulario de consentimiento informado por padres o tutores, que voluntariamente decidieron participar en el estudio (Anexo 10 y 11).

Esta investigación recibió el aval del Comité de Ética de la Investigación y el Consejo Científico del CNGM.

2.4 Resultados

2.4.1 Evaluación dismorfológica

En ambos grupos de estudio predominaron los no dismórficos (Tabla 1); sin embargo, en los casos el 21,0 % eran dismórficos y en los controles el 8,7 %. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas, con un OR de 4,5. Por lo que el riesgo de tener autismo es aproximadamente cinco veces mayor en los niños que tienen tres o más dismorfias con respecto a los que poseen menos de tres.

Existieron diferencias significativas entre los casos y controles del sexo masculino dismórficos o no. Los casos no dismórficos fueron el 56,0 % mientras que los controles el 91,7 %; por su parte los casos dismórficos representaron el 44,0 %, y los controles el 8,3 %. En el sexo femenino no existieron diferencias significativas.

Tabla 1. Frecuencia del patrón dismórfico según grupos de estudio y sexo

Grupos	No dismórficos		Dismórficos		OR (IC de 95 %)	P
	Nº (%)	IC de 95,0 %	Nº (%)	IC de 95,0 %		
Casos n=126	73 (57,9)	48,9-59,0	53 (42,1)	33,3-50,8	4,5 (2,1-10,3)	<0,001 ^a
Controles n=126	115 (91,3)	85,9-96,6	11 (8,7)	3,7-13,7		
- Casos masculinos n=109	61 (56,0)	46,2-65,7	48 (44,0)	34,3-53,8		<0,001 ^a
- Controles masculinos n=109	100 (91,7)	86,1-97,4	9 (8,3)	2,6-13,9		
- Casos Femeninos n= 17	12 (70,6)	44,0-89,7	5 (29,4)	10,3-56,0		0,398 ^b
- Controles femeninos n= 17	15 (88,2)	63,6-98,5	2 (11,8)	1,5-36,4		

Leyenda: a- prueba Chi cuadrado (χ^2) de homogeneidad con corrección de Yates, b- prueba exacta de Fisher.

Al realizar la descripción del número de dismorfias por grupos de estudio (Tabla 2) se obtuvo que en 101 casos (82,2 %) se describieron variaciones dismórficas, mientras que estas se precisaron solo en 51 controles (40,5 %), e incluso con cinco, seis o siete dismorfias se delinearón 27 casos (21,4 %) y solo un control (0,9 %). En los casos del sexo femenino el 41,2 % no tuvo dismorfias; sin embargo solo el 16,5 % de los varones tenía esa categoría. En cuanto a los valores de las medianas del número de dismorfias, según sexo, dentro de los casos y los controles, no existieron diferencias significativas ($p>0,05$).

Tabla 2. Distribución de los pacientes según número de dismorfias, grupos de estudio y sexo

Número de dismorfias	Casos ^a		Controles ^b	
	Masculinos	Femeninos	Masculinos	Femeninos
	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)
0	18 (16,5)	7 (41,2)	62 (56,9)	13 (76,5)
1	24 (22,0)	2 (11,8)	27 (24,8)	1 (5,9)
2	19 (17,4)	3 (17,6)	11 (10,1)	1 (5,9)
3	14 (12,8)	1 (5,9)	5 (4,6)	2 (11,8)
4	11 (10,1)	0 (0,0)	3 (2,8)	0 (0,0)
5	7 (6,4)	0 (0,0)	1 (0,9)	0 (0,0)
6	9 (8,3)	3 (17,6)	0 (0,0)	0 (0,0)
7	7 (6,4)	1 (5,9)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	109 (100)	17 (100)	109 (100)	17 (100)
Mediana/RI^c	2,0/3,0	1,0/4,5	0,0/1,0	0,0/1,0
p^c	0,186		0,229	

Leyenda: RI - rango intercuartílico; a- prueba Chi cuadrado (χ^2) de linealidad no válida por existir 50,0 % de celdas con frecuencias esperadas menores que cinco; b- Prueba Chi cuadrado (χ^2) de linealidad no válida por existir 58,3 % de celdas con frecuencias esperadas menores que cinco; c- prueba U de Mann - Whitney

En la Tabla 3 se distribuyeron casos y controles según las regiones topográficas. Fueron más frecuentes las dismorfias a nivel de cabeza – cuello, tegumentos y miembros superiores e inferiores. Existieron diferencias significativas para todas las regiones, excepto para el tronco que no se pudieron hacer las estimaciones.

Tabla 3. Grupos de estudio según región topográfica de la dismorfia

Región topográfica	Casos	Controles	OR	p ^a
	Nº (%)	Nº (%)	(IC de 95 %)	
Cabeza - cuello	79 (62,7)	24 (19,0)	3,2 (1,8 - 5,7)	<0,001
Miembros superiores e inferiores	38 (30,2)	14 (11,1)	2,6 (1,2 - 5,7)	0,002
Tronco^b	8 (6,3)	0 (0,0)	-	-
Genitales	9 (7,1)	2 (1,6)	10 (1,4 -34,0)	0,012
Tegumentos	44 (34,9)	15 (11,9)	3 (1,4 - 6,4)	<0,001

Leyenda: a- prueba Chi cuadrado (χ^2) de homogeneidad con corrección de Yates, b- No se puede calcular p porque falta una pareja discordante en que los casos no tengan esa dismorfia y los controles sí.

Se describieron un total de 66 dismorfias (Anexo 12). Dentro de las 15 variaciones fenotípicas más frecuentes, la macrocefalia en ambos grupos (casos: 42,9 %; controles: 16,7 %) fue el principal hallazgo (Tabla 4). En los casos también fueron frecuentes la frente amplia (19,0 %), la hiperlaxitud articular (13,5 %) y las manchas café con leche (10,3 %), mientras que en los controles esta última se presentó en el 6,3 % de los estudiados. El resto de las dismorfias fueron menos frecuentes en ambos grupos.

Tabla 4. Descripción de las 15 dismorfias más frecuentes según región topográfica y grupo de estudio

Dismorfias	Casos	Controles
	Nº (%)	Nº (%)
Cabeza – Cuello		
Macrocefalia	54 (42,9)	21 (16,7)
Frente amplia	24 (19,0)	5 (4,0)
Puente nasal ancho	10 (8,0)	0 (0,0)
Cara alargada	9 (7,1)	4 (3,2)
Orejas prominentes	9 (7,1)	2 (1,6)
Puente nasal deprimido	8 (6,3)	0 (0,0)
Occipucio prominente	7 (5,6)	0 (0,0)
Narinas antevertidas	7 (5,6)	1 (0,8)
Epicanto interno	7 (5,6)	1 (0,8)
Miembros Superiores e Inferiores		
Hiperlaxitud articular	17 (13,5)	0 (0,0)
Clinodactilia del quinto dedo de la mano	10 (7,9)	1 (0,8)
Pie plano	9 (7,1)	8 (6,3)
Sindactilia	9 (7,1)	2 (1,6)
Tegumentos		
Manchas café con leche	13 (10,3)	8 (6,3)
Mancha hipocrómica	10 (7,9)	3 (2,4)

Al valorar las curvas de crecimiento cefálico (Tabla 5), al nacer hubo un predominio en ambos grupos de normocefálicos; sin embargo, fueron macrocefálicos 43 (34,1 %) casos y 20 controles (15,9 %). La microcefalia se presentó sólo en cinco (4,0 %) casos.

Las curvas de crecimiento cefálico en primera consulta de genética clínica mostraron predominio, tanto de casos como controles con circunferencia cefálica normal; sin embargo, en la relación circunferencia cefálica / edad cronológica quedaron como macrocefálicos 54 (42,9 %) casos y 21 (16,7 %) controles.

Tabla 5. Distribución de casos y controles según valoración de las curvas de crecimiento cefálico al nacer y en primera consulta de genética clínica.

Valoración de las curvas de crecimiento cefálico		Casos	Controles
		Nº (%)	Nº (%)
Al nacer			
Circunferencia Cefálica / Edad Gestacional	Microcefalia	5 (4,0)	0 (0,0)
	Normocefalia	78 (61,9)	106 (84,1)
	Macrocefalia	43 (34,1)	20 (15,9)
En primera consulta de genética clínica			
Circunferencia Cefálica / Edad cronológica	Microcefalia	4 (3,2)	0 (0,0)
	Normocefalia	68 (54,0)	105 (83,3)
	Macrocefalia	54 (42,9)	21 (16,7)

Al realizar el análisis de la evolución clínica de los casos según crecimiento cefálico (Tabla 6), 18 pacientes (14,3 %) no tuvo un crecimiento diagonal, es decir al nacer cuatro microcefálicos (3,2 %) evolucionaron a la normocefalia y tres normocefálicos (2,4 %) a la microcefalia. La mayor variación estuvo dada en 11 casos (8,7 %) que nacieron normocefálicos y en el primer control de la consulta de genética clínica resultaron macrocefálicos. El análisis fue estadísticamente significativo con un $p=0,005$.

Tabla 6. Distribución de casos según curvas de crecimiento cefálico al nacer y en primera consulta de genética clínica.

Circunferencia cefálica al nacer	Circunferencia cefálica en primera consulta				p ^a
	Microcefalia	Normocefalia	Macrocefalia	Total	
	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)	
Microcefalia	1 (0,8)	4 (3,2)	0	5 (4,0)	0,005
Normocefalia	3 (2,4)	64 (50,8)	11 (8,7)	78 (61,9)	
Macrocefalia	0	0	43 (34,1)	43 (34,1)	
Total	4 (3,2)	68 (54,0)	54 (42,9)	126 (100)	

Leyenda: a- Prueba Chi cuadrado (χ^2) con prueba de homogeneidad marginal

El análisis de la evolución clínica de los controles según crecimiento cefálico (Tabla 7) indica que un paciente (0,8 %) no tuvo un crecimiento diagonal, el cual al nacer clasificó como normocefálico y evolucionó a la macrocefalia. El análisis no fue estadísticamente significativo con un p=0,317.

Tabla 7. Distribución de controles según curvas de crecimiento cefálico al nacer y en primera consulta de genética clínica.

Circunferencia cefálica al nacer	Circunferencia cefálica en primera consulta			p ^a
	Normocefalia	Macrocefalia	Total	
	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)	
Normocefalia	105 (83,3)	1 (0,8)	106 (84,1)	0,317
Macrocefalia	0	20 (15,9)	20 (15,9)	
Total	105 (83,3)	21 (16,7)	126 (100)	

Leyenda: a- Prueba Chi cuadrado (χ^2) con prueba de homogeneidad marginal

La regresión logística simple para el número de dismorfias demostró una asociación independiente entre su número y la presencia de autismo primario. El OR fue de 1,994 (IC de 95 %: 1,613-2,463) con una $p < 0,001$. El *odds* de presentar este trastorno se incrementa a medida que el número de dismorfias es mayor.

Las regiones topográficas con variaciones dismórficas que estuvieron asociadas de manera independiente con el autismo primario, cuando el resto de las variables se mantienen constantes, fueron las de cabeza – cuello ($p < 0,001$) y tegumentos ($p = 0,039$). El OR para las variaciones dismórficas de cabeza - cuello fue de 5,750 (IC de 95 %: 3,149-10,498), es decir el riesgo de presentar autismo primario es aproximadamente seis veces mayor en los que tienen alteraciones en la región de cabeza – cuello con respecto a los que no las presentan. El OR para los tegumentos fue de 2,174 (IC de 95 %: 1,041-4,541), lo que implica que el *odds* de tener autismo primario es dos veces mayor en los pacientes con alteraciones en piel y faneras en relación con los que no las tienen (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis multivariado para las regiones topográficas de las dismorfias y el autismo primario

Regiones topográficas	OR	IC de 95 %	p
Cabeza - cuello	5,750	3,149 - 10,498	<i><0,001</i>
Miembros superiores e inferiores	1,692	0,766 - 3,734	0,193
Genitales	4,040	0,735 - 22,210	0,108
Tegumentos	2,174	1,041 - 4,541	<i>0,039</i>

2.4.2 Factores de riesgo heredofamiliares neuropsiquiátricos

En la distribución de casos y controles según antecedentes heredofamiliares neuropsiquiátricos (Tabla 9), los trastornos en el desarrollo del lenguaje en familiares de primer grado se reportó en 18 casos (14,3 %) y un control (0,8 %), y de segundo grado en 12 casos (9,5 %) y un control (0,8 %). Ambos grados de parentesco tuvieron resultados estadísticamente significativos ($p < 0,001$).

Con historia de autismo en familiares de primer grado en los casos se reportaron dos pacientes (1,6 %) y de tercer grado ocho (6,3 %). Ningún control refirió el antecedente de autismo en miembros de su familia. El análisis estadístico en esta variable no fue significativo.

La epilepsia se reportó en familiares de primer y segundo grado de 13 (10,3 %) y 18 (14,3 %) casos, respectivamente. De los controles sólo uno refirió este antecedente familiar en ascendientes de primer grado (0,8 %) y ninguno de los de segundo grado. Estos resultados fueron estadísticamente significativos ($p < 0,001$).

Tabla 9. Distribución de casos y controles según factores de riesgo heredofamiliares neuropsiquiátricos.

Factores de riesgo		Casos	Controles	p
Heredofamiliares		Número (%)	Número (%)	
Trastornos del lenguaje	Primer grado	18 (14,3)	1 (0,8)	<0,001 ^a
	Segundo grado	12 (9,5)	1 (0,8)	<0,001 ^a
	Tercer grado	6 (4,8)	0 (0,0)	0,029 ^b
Autismo	Primer grado	2 (1,6)	0 (0,0)	0,498 ^b
	Segundo grado	0 (0,0)	0 (0,0)	c
	Tercer grado	8 (6,3)	0 (0,0)	0,007 ^b
Discapacidad intelectual	Primer grado	2 (1,6)	0 (0,0)	0,498 ^b
	Segundo grado	10 (7,9)	2 (1,6)	0,014 ^a
	Tercer grado	9 (6,3)	2 (1,6)	0,045 ^a
Otras enfermedades psiquiátricas	Primer grado	3 (2,4)	0 (0,0)	0,247 ^b
	Segundo grado	9 (7,1)	2 (1,6)	0,025 ^a
	Tercer grado	3 (2,4)	3 (2,4)	1,000 ^b
Epilepsia	Primer grado	13 (10,3)	1 (0,8)	<0,001 ^a
	Segundo grado	18 (14,3)	0 (0,0)	<0,001 ^a
	Tercer grado	8 (6,3)	1 (0,8)	0,036 ^b

Leyenda: a- prueba Chi cuadrado (χ^2) con corrección, b- Prueba exacta de Fisher, c- Prueba no válida por existir 25 % o más de frecuencias esperadas menores que cinco.

2.4.3 Factores de riesgo ambientales prenatales

Al realizar la distribución de la muestra según factores de riesgo ambientales prenatales (Tabla 10), fue más frecuente la avanzada edad materna (27 / 21,4 %) y paterna (26 / 20,6 %) en los casos que en los controles (siete / 5,6 % y ocho / 6,3 %, respectivamente). Tuvieron más historia de sangrado vaginal en algún momento del embarazo los casos (21 / 16,7 %) que los controles (tres / 2,4 %). El antecedente de DPG se reportó en 19 casos (15,1 %) y sólo en dos controles (1,6 %), mientras que la anemia durante el embarazo se presentó en 22 casos (17,5 %) y cuatro controles (3,2 %). Todas las variables descritas tuvieron un nivel de significación estadística de $p < 0,001$.

El antecedente de hipertensión arterial durante la gestación se presentó en 24 casos (19,0 %) y 11 controles (8,7 %), mientras que la restricción del crecimiento fetal se presentó en diez casos (7,9 %) y dos controles (1,6 %). Estas variables fueron estadísticamente significativas ($p=0,017$ y $p=0,014$, respectivamente).

El uso de medicamentos durante el embarazo tuvo lugar en 46 casos (36,5 %) y 22 controles (17,5 %), cuyos resultados fueron estadísticamente significativo ($p < 0,001$). El de mayor uso fue la metildopa en 11 casos (8,7 %) y cinco controles (4,0 %) (Anexo 13).

El antecedente de padecer alguna infección durante la gestación tuvo una distribución similar en ambos grupos (casos: 52 / 41,3 % y controles: 54 / 42,9 %). Las infecciones respiratorias altas fueron más frecuentes en casos (18 / 14,3 %) que en controles (15 / 11,9 %). Estos resultados no fueron estadísticamente significativos (Anexo 14).

Los hábitos tóxicos tuvieron una baja frecuencia de presentación. El tabaquismo activo fue reportado por tres casos (2,4 %) y dos controles (1,6 %) mientras que el consumo de alcohol sucedió en tres casos (2,4 %) y ningún control.

Tabla 10. Distribución de casos y controles según factores de riesgo ambientales prenatales.

Factores de riesgo ambientales prenatales	Casos	Controles	p
	Nº (%)	Nº (%)	
Avanzada edad materna	27 (21,4)	7 (5,6)	<0,001 ^a
Avanzada edad paterna	26 (20,6)	8 (6,3)	<0,001 ^a
Vacunación con gammaglobulina hiperinmune Anti D	3 (2,4)	2 (1,6)	1,000 ^b
Sangrado vaginal durante el embarazo	21 (16,7)	3 (2,4)	<0,001 ^a
Amenaza de aborto	16 (12,7)	4 (3,2)	0,004 ^a
Diabetes pregestacional	19 (15,1)	2 (1,6)	<0,001 ^a
Diabetes gestacional	9 (7,1)	3 (2,4)	0,070 ^a
Hipertensión arterial	24 (19,0)	11 (8,7)	0,017 ^a
Asma bronquial	6 (4,8)	7 (5,6)	0,776 ^a
Anemia	22 (17,5)	4 (3,2)	<0,001 ^a
Hipotiroidismo	7 (5,6)	9 (7,1)	0,605 ^a
Medicamentos	46 (36,5)	22 (17,5)	<0,001 ^a
Fumadora activa	3 (2,4)	2 (1,6)	1,000 ^b
Consumo de alcohol	3 (2,4)	0 (0,0)	0,247 ^b
Infecciones	52 (41,3)	54 (42,9)	0,898 ^a
Restricción del crecimiento fetal	10 (7,9)	2 (1,6)	0,014 ^a
Oligoamnios	7 (5,6)	1 (0,8)	0,066 ^b
Embarazo múltiple	5 (4,0)	2 (1,6)	0,447 ^b

Leyenda: a- prueba Chi cuadrado (χ^2) con corrección, b- prueba exacta de Fisher

2.4.4 Factores de riesgo ambientales perinatales

En relación con los factores de riesgo ambientales perinatales (Tabla 11) se obtuvo que el parto distócico fue más frecuente en los casos (68 / 54,0 %) que en los controles (31 / 24,6 %), la cesárea de urgencia tuvo lugar en 41 casos (32,5 %) y 12 controles (9,5 %) y la cesárea electiva en 24 casos (19,0 %) y 19 controles (15,1 %). El líquido amniótico meconial se describió en 33 casos (26,2 %) y 14 controles (11,1 %), se obtuvo una significación estadística de $p=0,004$. El parto postérmino se presentó en 20 casos (15,9 %) y cuatro controles (3,2 %), mientras que el parto pretérmino ocurrió en ocho casos (6,3 %) y dos controles (1,6 %).

En los casos se describió el trabajo de parto prolongado en seis embarazos (4,8 %) y el parto inducido en nueve (7,1 %). En los controles no hubo reportes de complicaciones del cordón umbilical, mientras que en los casos, cuatro (3,2 %) tuvieron prolapso y tres (2,4 %) circular laxa al cuello. La rotura prematura de membranas se presentó en seis casos (4,8 %). En los controles estas variables no reportaron casuística.

Tabla 11. Distribución de casos y controles según factores de riesgo ambientales perinatales.

Factores de riesgo ambientales perinatales		Casos	Controles	P
		Estimación puntual (%)	Estimación puntual (%)	
Alteraciones del trabajo de parto	Prolongado	6 (4,8)	0 (0,0)	a
	Inducido	9 (7,1)	0 (0,0)	
	No tuvieron	111 (88,1)	126 (100,0)	
Distocias del parto	Instrumentado	3 (2,4)	0 (0,0)	a
	Cesárea de urgencia	41 (32,5)	12 (9,5)	
	Cesárea electiva	24 (19,0)	19 (15,1)	
	No tuvieron	58 (46,0)	95 (75,4)	
Presentación fetal anómala	Pelviano	5 (4,0)	2 (1,6)	a
	De cara	1 (0,8)	0 (0,0)	
	No tuvieron	120 (95,2)	124 (98,4)	
Complicaciones del cordón umbilical	Prolapso	4 (3,2)	0 (0,0)	a
	Circular laxa al cuello	3 (2,4)	0 (0,0)	
	No tuvieron	119 (94,4)	126 (100,0)	
Alteraciones del término de la gestación	Pretérmino	8 (6,3)	2 (1,6)	a
	Postérmino	20 (15,9)	4 (3,2)	
	No tuvieron	98 (77,8)	12 (95,2)	
Líquido amniótico meconial		33 (26,2)	14 (11,1)	0,004 ^b
Rotura prematura de membranas		6 (4,8)	0 (0,0)	0,029 ^c

Leyenda: a- Prueba no válida por existir 25 % o más de frecuencias esperadas menores que cinco, b- prueba Chi cuadrado (χ^2) con corrección, c- Prueba exacta de Fisher

2.4.5 Análisis multivariado de los factores de riesgo

Las variables que se relacionaron de manera independiente en la presencia de autismo cuando las demás se mantuvieron constantes fueron: la edad materna y paterna avanzadas, el sangrado vaginal durante el embarazo, la DPG, la anemia, la edad gestacional

postérmino, la macrocefalia, los antecedentes de trastornos del lenguaje y epilepsia de primera generación (Tabla 12).

El OR para la edad materna avanzada fue de 6,583 (IC de 95 %: 2,026 - 21,391; p=0,002), el *odds* de presentar autismo es aproximadamente siete veces mayor en los hijos de madres con edad avanzada con respecto a los que nacen a otras edades de la madre. El OR para la edad paterna avanzada fue de 3,880 (IC de 95 %: 1,215 - 12,391; p=0,022), el *odds* de presentar autismo es aproximadamente cuatro veces mayor en los hijos de padres en edad avanzada con respecto a los que nacen a otras edades del padre.

El OR para el sangrado vaginal durante el embarazo y la DPG fue de 8,066 (IC de 95 %: 1,497 - 43,478; p=0,015) y 18,260 (IC de 95 %: 3,260 - 102,282; p=0,001), respectivamente. El *odds* de presentar autismo es aproximadamente ocho veces para los hijos de madres con antecedentes de sangrado vaginal durante el embarazo, en relación con los que no tienen esta alteración y el *odds* de presentar autismo es 18 veces mayor en los hijos de madres con antecedentes de DPG.

El OR para la anemia fue de 9,954 (IC de 95 %: 2,722 - 36,405; p=0,001), el *odds* de presentar autismo es aproximadamente diez veces mayor en los hijos de madre con antecedentes de anemia con respecto a los que no tiene esa condición.

El OR para el parto postérmino fue de 6,368 (IC de 95 %: 1,635 - 24,810; p=0,008) y para la macrocefalia de 3,951 (IC de 95 %: 1,756 - 8,888; p=0,001). El *odds* de presentar autismo es seis veces mayor en los niños cuyo parto fue postérmino con respecto a los de parto normal y el *odds* de presentar autismo es aproximadamente cuatro veces mayor en los niños con macrocefalia en relación con los que tienen normocefalia.

El OR para los trastornos del lenguaje de primera generación fue de 27,821 (IC de 95 %: 3,056 - 253,277; p=0,003) y para los antecedentes de epilepsia de primera generación fue de 24,436 (IC de 95 %: 2,584 - 231,063; p=0,005). El *odds* de presentar autismo es aproximadamente 28 veces mayor en niños con antecedentes de trastornos del lenguaje de primera generación y el *odds* de presentar autismo es aproximadamente 24 veces mayor en los que tiene antecedentes de epilepsia de primera generación.

Tabla 12. Resultados del análisis multivariado para la presencia de autismo.

Variables	OR	IC de 95 %	p
Edad materna avanzada	6,583	2,026 - 21,391	0,002
Edad paterna avanzada	3,880	1,215 - 12,391	0,022
Sangrado vaginal durante el embarazo	8,066	1,497 - 43,478	0,015
Amenaza de aborto	1,506	0,284 - 7,992	0,630
Diabetes pregestacional	18,260	3,260 - 102,282	0,001
Diabetes gestacional	4,049	0,727 - 22,544	0,110
Anemia	9,954	2,722 - 36,405	0,001
Restricción del crecimiento fetal	6,517	0,855 - 49,667	0,070
Oligoamnios	10,224	0,831 - 125,839	0,070
Líquido amniótico meconial	2,399	0,949 - 6,069	0,065
Alteraciones del término de la gestación^a	<u>Dummy</u>		
- Pretérmino	2,981	0,363 - 24,484	0,309
- Postérmino	6,368	1,635 - 24,810	0,008
Alteraciones de la circunferencia cefálica^b	<u>Dummy</u>		
- Microcefalia^c			0,999
- Macrocefalia	3,951	1,756 - 8,888	0,001
Antecedente familiar de primer grado de trastornos del lenguaje	27,821	3,056 - 253,277	0,003
Antecedente familiar de primer grado de epilepsia	24,436	2,584 - 231,063	0,005

Leyenda: OR- odds ratio. IC- intervalo de confianza, a- categoría de referencia a término, b- categoría de referencia normocefalia, c- no se estima OR por pequeño tamaño de muestra

La bondad de ajuste del modelo obtuvo un valor de Chi cuadrado de *omnibus* de 153,273, significativamente diferente de cero ($p < 0,001$). Los valores del R cuadrado de *Cox y Snell* (0,456) así como el R cuadrado de *Nagelkerke* (0,608) indicaron que las variables independientes se relacionaron en un porcentaje considerable, con la varianza de la variable dependiente (presencia de autismo).

El modelo estimado tuvo la capacidad de discriminar entre pacientes con y sin autismo dado por el valor de 0,899 del área bajo la curva ROC ($p < 0,001$; IC de 95 %: 0,860 - 0,938) (Tabla 13, Anexo 15).

La calibración del modelo estimado con el estadístico de *Hosmer y Lemeshow* tuvo un valor de 1,120 ($p = 0,981$) el cual no fue significativamente diferente de 0,05. La bondad de ajuste de ese modelo fue adecuada.

Tabla 13. Área bajo la curva ROC para probabilidades estimadas de padecer autismo según el modelo de regresión logística condicional estimado.

Área	IC de 95 %	p
0,899	0,860 - 0,938	<0,001

Leyenda: IC intervalo de confianza

2.5 Discusión

2.5.1 Patrón dismórfico

Los signos dismórficos son considerados marcadores del neurodesarrollo, que se manifiestan como características morfológicas inusuales de las diferentes regiones del cuerpo.¹⁵⁴

Investigaciones realizados por otros autores coinciden con los de esta investigación y han declarado que las anomalías congénitas menores son más prevalentes entre individuos con autismo primario que en la población general.¹⁵⁵

Algunos estudios sugieren que la comorbilidad del autismo primario con signos dismórficos, es más frecuente en niños con trastornos del desarrollo intelectual, que en otros niños autistas sin discapacidad intelectual.¹⁵⁶

En el diseño del estudio presentado no se tuvo en cuenta el coeficiente intelectual de los casos y controles dado que el grupo estudiado incluye niños por debajo de los cinco años y se han reportado problemas, aún sin resolver, con los estudios psicométricos realizados a este grupo de pacientes. Alrededor del 75 % de los autistas son diagnosticados con trastornos del desarrollo intelectual al ser evaluados con pruebas para estimar la inteligencia durante la edad preescolar; sin embargo, cuando se usan instrumentos que miden las habilidades cognitivas no verbales, se ha observado que el 45 % de los afectados presentan déficit cognitivo en edad escolar.^{154,156,157}

Las anomalías craneofaciales ocurren con frecuencia en los trastornos del neurodesarrollo dado por el origen neuroectodérmico que tienen sus estructuras. Varios autores las relacionan como biomarcadores putativos en el autismo al proporcionar percepción del desarrollo neurológico temprano.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰

Diferentes estudios coinciden en plantear que dentro de las desviaciones del desarrollo predominan las de cabeza - cuello y en especial la macrocefalia. En un estudio de la Universidad de *Missouri* se reportó macrocefalia en el 30 % de los niños con autismo primario, mientras que en el Instituto de Medicina Genómica de *Cleveland (Ohio, Estados Unidos)* se consignó entre el 15 y 35 % de los niños con autismo primario, constituyendo en ambos estudios, el hallazgo físico más frecuente. En los controles también fue el hallazgo más frecuente; sin embargo, en la literatura consultada este hallazgo se describe sólo en el 2 % de los controles neurotípicos.^{154,161}

Varios investigadores han presentado evidencias de mutaciones del gen *PTEN* en aproximadamente el 20 % de los niños con autismo y macrocefalia, sin existir manifestaciones clínicas sugestivas de otros síndromes.¹⁶²⁻¹⁶⁴

El *PTEN* es un gen supresor de tumores ubicado en el locus 10q23, codifica una fosfatasa que afecta la detención del ciclo celular en G1 y está relacionado también con el proceso

de apoptosis. Este gen está asociado con la desregulación de la vía *PI3K-AKT-mTOR* en pacientes con autismo y macrocefalia, donde existe una inhibición de la señalización de fosfoinositida-3-quinasa / proteína quinasa B. En el sistema nervioso central, la inactivación de *PTEN* produce un crecimiento dendrítico y axonal excesivo con un mayor número de sinapsis. Las mutaciones de la línea germinal que resultan en la haploinsuficiencia de *PTEN* facilitan la progresión del ciclo celular y la oncogénesis, lo que lleva a la macrocefalia / macrosomía y al desarrollo del cáncer, respectivamente. Esta última condición se incrementa en la edad adulta, lo que debe ser objeto del asesoramiento genético. ^{154,161,165-172}

Otros estudios recientes examinaron cuidadosamente el fenotipo asociado con mutaciones en el gen *CHD8* (implicado en las alteraciones de la remodelación de la cromatina), que se ha asociado con el autismo en estudios de secuenciación de exomas múltiples. En comparación con otros individuos con autismo, los portadores de *CHD8* eran más propensos a tener síntomas de macrocefalia y gastrointestinales, rápido crecimiento postnatal en la primera infancia, un fenotipo facial marcado por frente prominente, tendencia al hipertelorismo y mentón puntiagudo, rasgos estos descritos en casos de esta serie en mayor porcentaje que en los controles, hecho este que se debería tener en cuenta para estudios futuros. ¹⁷³⁻¹⁸⁰

La microcefalia se presentó con una frecuencia inferior (3,2 %) a la reportada internacionalmente (5 % - 15 %) en niños con autismo. Este trastorno del crecimiento cefálico se ha asociado fuertemente con alteraciones de los sistemas de estimulación del neurodesarrollo, principalmente del lenguaje, esferas cognitiva y conductual, así como mayor incidencia de epilepsia de difícil control. ¹⁵⁴

En cuanto a las dismorfias en piel, en pacientes con autismo primario fueron más frecuentes las alteraciones pigmentarias (lesiones hiperocrómicas tipo manchas café con leche e hipocrómicas) que en los controles neurotípicos. Al respecto, existe una conocida relación entre alteraciones pigmentarias y trastornos del neurodesarrollo y se considera

que esta asociación se debe a que las células neuroectodérmicas embrionarias dan lugar a los elementos gliales del cerebro y a los melanocitos en la piel.¹⁸¹

UBE3A es un gen que participa en la vía de señalización molecular que controla el ritmo de la biosíntesis proteica en los ribosomas. HERC2, es un gen que interactúa con UBE3A, codifica el receptor dos del factor de crecimiento epidérmico humano y funciona como una ligasa de ubiquitina E3. Las variaciones genéticas en el gen HERC2 están asociadas con la variabilidad de la pigmentación de la piel, cabello y ojo.^{182,183}

El predominio de dismorfias en las regiones de cabeza - cuello y tegumentos establece un posible origen embriológico común de estas variaciones morfológicas y el posible efecto disruptivo de factores exógenos en genes del neurodesarrollo.

En el estudio de pacientes con autismo, como en otros, se requiere especial atención en la recogida de datos de la historia personal, pre y perinatal, los antecedentes familiares, el examen clínico detallado, incluyendo la antropometría y demás elementos anatómicos comparables con datos de tablas específicas, en relación con la edad y el sexo.¹⁸⁴

La medicina personalizada o de precisión está emergiendo en la práctica clínica, basada en patrones genéticos individuales que contribuyen a la farmacogenética, particularmente en el campo de la psiquiatría y el tratamiento de personas con autismo.^{185,186}

Resulta interesante tener en cuenta los hallazgos reportados en el fenotipo de estos pacientes para dirigir nuevos estudios que contribuyan a un mejor manejo terapéutico y procesos de asesoramiento genético, de ahí que en la propuesta del panel cubano para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación (subacápite 2.5.6) se incluyeron genes posiblemente relacionados con las variaciones morfológicas descritas en la presente investigación.

2.5.2 Factores de riesgo heredofamiliares neuropsiquiátricos

Varias investigaciones han centrado su objetivo en describir los antecedentes familiares de enfermedades neurológicas, psiquiátricas y del desarrollo en pacientes con autismo primario. Así por ejemplo, en un estudio de agregación familiar de trastornos

psiquiátricos en familiares de 99 afectados se reportó que los tics motores, el trastorno obsesivo compulsivo (TOC) y los trastornos afectivos eran significativamente más comunes en los familiares de autistas. Los datos de la entrevista directa confirmaron el aumento de la tasa de trastornos afectivos (especialmente el trastorno depresivo mayor) en los familiares de primer grado.¹⁸⁷

Se ha descrito un aumento de 2,5 veces en el riesgo de autismo en la descendencia de madres con TDAH en comparación con las madres sin este antecedente y 3,7 veces mayor riesgo de TDAH en hermanos de casos con autismo.^{188,189}

Estudios familiares han demostrado que la historia familiar de esquizofrenia, trastorno bipolar, TDAH y autismo se asocian a un riesgo cruzado, es decir que individuos poseedores de alguna de estas enfermedades pueden desarrollar las otras. A su vez, se ha observado que los hijos de los afectados por alguno de estos trastornos tienen mayor riesgo de desarrollar patologías psiquiátricas.¹⁹⁰

Un estudio reciente identificó 23 genes comunes asociados con la esquizofrenia, el trastorno bipolar, la depresión mayor, el TDAH y el autismo, los cuales están involucrados en diferentes procesos de señalización, mielinización y metabolismo de los neurotransmisores. Dentro de estos genes se encuentran *BDNF*, *ANK3*, *CACNA1C*, *CNTNAP5*, *FOXP2*, *MTHFR* y *SLC6A3*.¹⁹¹

Otro estudio informó una carga familiar elevada para los trastornos generalizados del desarrollo en familiares de pacientes con autismo (2,9 %), evidenció la agregación familiar de una variante menor del autismo entre el 12,4 y el 20,4 % de los hermanos del caso que comprendía deficiencias comunicativas o sociales más sutiles, y comportamientos estereotipados sin discapacidad intelectual. Los hallazgos sugirieron que el fenotipo del autismo se extiende más allá como se diagnostica tradicionalmente y está dado por un espectro de síntomas y severidad clínica, que la causa involucra varios genes y su base es muy heterogénea.¹⁹²

La epilepsia es uno de los trastornos de mayor frecuencia de asociación (comorbilidad) en los pacientes con autismo y se corresponde aproximadamente con un 30 %. Ello significa que es aproximadamente 50 veces más frecuente en los que padecen trastornos del espectro autista que en la población general. Por otra parte, la actividad paroxística en el electroencefalograma de los autistas también es más frecuente, sin que hasta el momento esté clara la influencia de la epilepsia y/o la actividad paroxística en la regresión autista. La asociación de autismo y epilepsia sugiere que ambos trastornos comparten posiblemente mecanismos genéticos, moleculares y fisiopatológicos.^{193,194}

Múltiples estudios han identificado alrededor de 205 genes candidatos comunes para la epilepsia y el autismo. Dentro de estos genes se encuentran ANK3, CACNA1H, LAMB1, POGZ, PTEN, RELN, SCN2A, SYNGAP1, SHANK3, SLC6A1, SLC6A4, TSC1, TSC2 y UBE3A. Desde el punto de vista neurobiológico, estas dos condiciones pueden tener en común la interrupción de vías compartidas del desarrollo neurológico implicadas por el número relativamente alto de genes asociados con ambos trastornos.¹⁹⁵⁻¹⁹⁹

Un estudio realizado en Suecia planteó que los antecedentes familiares de múltiples trastornos mentales y neurológicos se asociaban con mayores probabilidades de autismo con y sin discapacidad intelectual; que estas asociaciones estaban dadas principalmente por la responsabilidad genética compartida y cuanto más estrechamente relacionado estaba el miembro de la familia con el trastorno mental o neurológico, mayor era el riesgo de autismo.²⁰⁰

Los niños con autismo primario muestran importantes deficiencias lingüísticas en comparación con niños neurotípicos. En el análisis estadístico de la presente investigación los familiares de primer y segundo grado que reportaron trastornos en el desarrollo del lenguaje obtuvieron resultados significativos, lo que se corresponde con otros reportes de la literatura. Un metanálisis de 34 estudios publicados entre 1994 y 2016 revisó los estudios que informaron sobre las habilidades lingüísticas y motoras en hermanos de

niños con autismo en comparación con hermanos de niños con desarrollo típico. A los 12 meses, los hermanos de niños con autismo no tenían buenas habilidades del lenguaje expresivo y receptivo, y estos efectos se mantuvieron a los 24 y 36 meses de edad, se obtuvo en todos los grupos de edades una $p < 0,001$ concluyendo que en comparación con los hermanos de niños con desarrollo típico, los bebés que tienen hermanos con autismo tenían habilidades lingüísticas inferiores.²⁰¹

2.5.3 Factores de riesgo ambientales prenatales

Varios autores coinciden con el presente estudio al plantear que dentro de los factores ambientales prenatales que se describen en pacientes con autismo primario son más frecuentes la avanzada edad de los padres, el sangrado vaginal durante el embarazo, la diabetes pregestacional, la anemia, la hipertensión arterial y el consumo de medicamentos.^{24,56,89,94,102,123}

Otros autores reportan estos y otros factores de riesgo prenatales ambientales en el autismo primario. En un estudio de casos y controles pareados realizado en la ciudad de Monterrey se reportó un incremento del riesgo de padecer autismo en los casos con antecedentes de abortos previos ($p=0,001$; $OR=2,291$), sangrado durante el primer y segundo trimestre ($p < 0,001$; $OR=4,112$), diabetes gestacional ($p=0,005$; $OR=2,529$), enfermedad tiroidea ($p=0,026$; $OR=8,175$), infecciones ($p < 0,001$; $OR=2,591$), consumo de alcohol ($p=0,037$; $OR=3,037$), tabaquismo ($p < 0,001$; $OR=53,340$), uso de drogas ($p=0,012$; $OR=3,050$) y estrés materno ($p < 0,001$; $OR=10,324$).²⁰²

Recientemente, un metanálisis de 27 estudios observacionales que investigaban la asociación entre la edad avanzada de los padres y el riesgo de autismo encontró que la categoría de edad óptima de los padres (20 – 35 años) se asociaba con una disminución del riesgo de padecer autismo en la descendencia con un $OR=0,89$ (IC del 95 %: 0,75 - 1,06). La categoría mayor edad de la madre se asoció con un mayor riesgo de autismo en la descendencia con un $OR=1,41$ (IC del 95 %: 1,29 - 1,55) y en el caso de los padres el $OR=1,55$ (IC del 95 %: 1,39 - 1,73). Se ha estimado que el aumento de diez

años en la edad materna se asocia hasta con un 18 % más de riesgo de padecer autismo (OR=1,18; IC del 95 %: 1,10 - 1,26), y con un 21 % más cuando es el padre (OR 1,21; IC del 95 %: 1,18 - 1,24).^{12,95}

Si bien se han planteado varias hipótesis sobre los mecanismos biológicos de los efectos de la edad materna y paterna, se ha sugerido una asociación entre la avanzada edad de los padres y el aumento de la probabilidad de mutaciones *de novo* en la línea germinal. Lo más probable es que esto se explique por un riesgo acumulado de mutaciones durante la espermatogénesis a lo largo de la vida.²⁰³⁻²⁰⁶

En el autismo primario se han considerado numerosas exposiciones ambientales prenatales presentes en el entorno inmediato al feto en desarrollo. Si bien el origen de estos riesgos puede estar en el acervo genético, hay que tener en cuenta las interacciones ambientales que involucran tanto a la madre como al feto en el sistema fetal – materno – placentario.^{13,207,208}

El desajuste endocrino – metabólico es frecuente durante el seguimiento prenatal. La DPG y DG, se reporta en aproximadamente el 1 % y 7 % de todos los embarazos, respectivamente.²⁰⁹

Los estudios que examinan el posible efecto de la diabetes materna en el desarrollo de autismo en la descendencia han resultado inconsistentes. Sin embargo, en el análisis por estratos, la DPG reporta un efecto estimado superior (RR=1,72; IC del 95 %: 1,34–2,21), resultados que coinciden con los presentados en este trabajo.¹⁰⁸

En estudios realizados en la placenta humana, la disglucemia materna durante el embarazo se asoció con alteraciones de la metilación del ADN a nivel del gen *SLC6A4*.^{210,211}

Aunque las evidencias epidemiológicas sólidas son limitadas y existen hallazgos controvertidos, se plantea que los mecanismos subyacentes a los efectos de la hiperglucemia materna en el feto en desarrollo, pueden implicar un aumento del estrés oxidativo, hipoxia, apoptosis y cambios epigenéticos.^{108,212,213}

Recientemente investigadores integraron estudios que examinaron la asociación entre los trastornos hipertensivos del embarazo y el riesgo de trastornos del desarrollo neurológico en la descendencia, identificaron 20 trabajos que estimaron el riesgo de autismo, 11 de ellos con estimaciones ajustadas que incluían 777 518 participantes con un OR combinado para el riesgo de autismo de 1,35 (IC del 95 %: 1,11 - 1,64).¹⁰³

El presente estudio coincide con otros realizados anteriormente al demostrar que la hipertensión arterial gestacional es un factor de riesgo significativo para el autismo primario.²¹⁴⁻²¹⁶

Algunas moléculas funcionan como desencadenantes moleculares en la preeclampsia y posiblemente contribuyan al empeoramiento del riesgo de padecer autismo en la descendencia. Este conjunto incluye seis genes reguladores positivos en el autismo que son estimulados en la preeclampsia (*PRF1*, *MTOR*, *IFNG*, *APP*, *CYBB* y *MAPK1*) y un gen inhibidor (*IGF1*) que resulta desactivado. Por ejemplo, en ambas entidades se encuentran disminuido los niveles séricos de transferrina, en cambio, los niveles de *IL-6*, *TNF-alfa* e *IL-17* se encuentran elevados.²¹⁷⁻²²³

Entre otros factores ambientales que afectan el desarrollo fetal, la hipoxia gestacional es una causa importante de estrés fetal que afecta la plasticidad del desarrollo y varios de los resultados del estudio se relacionan con esta condición, dentro de ellos la anemia, gestorragias, amenaza de aborto, hipertensión arterial, diabetes materna, entre otras. La plasticidad del desarrollo es la capacidad de un organismo para modificar los patrones de expresión y regulación génica frente a un entorno cambiante, de forma tal que induce variaciones fenotípicas en el individuo.²²⁴

Estudios en animales de experimentación y humanos indican que la hipoxia prenatal da como resultado cambios en la programación del desarrollo que predisponen a la descendencia a diversas disfunciones y enfermedades, que incluyen trastornos neuropsiquiátricos y otras afecciones, incluidos el autismo.^{224,225}

Dentro de los genes implicados en la hipoxia materna asociados a la disfunción mitocondrial, la regulación del metabolismo redox y el autismo se encuentran el factor inducible por hipoxia – 1 alfa (*HIF1α*), *mTORC1*, *AMPK* y *SOD2*.^{226,227}

En el estudio presentado, la exposición al tabaquismo no mostró evidencias de ser un factor de mayor riesgo para el autismo. En un metaanálisis realizado en 2017 se obtuvieron resultados similares en la mayoría de los trabajos incluidos; sin embargo, algunos autores encontraron que el tabaquismo pasivo materno durante el embarazo se asociaba con un mayor riesgo de autismo, lo que no fue estudiado en la presente investigación, por el riesgo a sesgos en la obtención de la información. Se plantea que hay varias sustancias químicas con efectos adversos para la salud, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos y los metales, que provocan hipoxia fetal e influyen en el desarrollo del cerebro.¹⁴⁷

Otro factor de riesgo ambiental prenatal evaluado fue el uso de medicamentos durante el embarazo. El mecanismo subyacente a la asociación sugerida con el uso de fármacos en este periodo no está bien definido, debido a la variedad consumida y tipo de ellos evaluados en diferentes estudios. Si bien muchos pueden atravesar la placenta y afectar el desarrollo fetal, el análisis actual no puede indicar cuáles pueden ser perjudiciales. Algunos estudios que han analizado el empleo de psicofármacos, sugieren un aumento significativo de riesgo para el autismo hasta del 68 % posterior a la exposición.²²⁸

Los resultados presentados son significativamente estadísticos en la relación del autismo primario y el consumo de medicamentos; sin embargo, ninguno de ellos por separado tuvo una *p* estadísticamente significativa. Un estudio realizado en Dinamarca reportó un 50 % más de riesgo de autismo asociado con el uso materno de medicamentos en casos que en controles y tampoco observaron una asociación significativa para los antiepilépticos, antihipertensivos, fármacos cardiovasculares, tocolíticos ni el uso de esteroides.²²⁹

En la muestra estudiada se evidenciaron, con resultados estadísticamente significativos, tres grupos de factores de riesgo ambiental prenatal; el primero relacionado con las modificaciones epigenéticas y mutaciones *de novo* a nivel de la línea germinal en padres y madres de avanzada edad. El segundo con factores hipoxiantes y de estrés oxidativo que comprometen la plasticidad del desarrollo cerebral como son la hipertensión arterial, DPG / DG, gestorragias y anemia materna. El tercer grupo corresponde con el uso de medicamentos durante el embarazo, de los cuales dada la variedad del consumo, no hay un único mecanismo causal definido.

2.5.4 Factores de riesgo ambientales perinatales

Dentro de los factores de riesgo ambientales perinatales destacaron el parto distócico por cesárea de urgencia, fuera del término (pretérmino y posttérmino) y el líquido amniótico meconial. Todos ellos descritos como factores estresantes durante el embarazo de niños que padecen autismo primario y relacionados con posibles fenómenos hipóxicos y daños en el desarrollo neurológico a largo plazo del recién nacido.^{102,230-232}

Varios autores han fundamentado sus estudios con resultados similares, aunque falta claridad con respecto al efecto de cada uno de estos factores en el desarrollo del autismo en la descendencia.¹⁴⁷

La maduración del SNC se inicia aproximadamente a las 27 semanas del desarrollo fetal y se produce hasta la adultez, en este periodo sucede además, una verdadera interconexión funcional de los diversos circuitos neuronales preformados durante la migración y diferenciación, como el que se requiere para la integración de las neuronas gabaérgicas con las glutamatérgicas. Se estima que alrededor de la semana 34 de gestación, el cerebro fetal tiene un aproximado de 40 000 uniones sinápticas nuevas por segundo y que durante la neurogénesis interviene cerca de un tercio del genoma humano para garantizar el correcto desarrollo, mantenimiento y comunicación de las estructuras nerviosas.²³³

Eventos o situaciones ambientales estresantes e hipoxiantes para el SNC en el periodo pre y/o perinatal, como las referidas en el presente trabajo, pueden tener efecto de

estimulación / inhibición de genes que codifican proteínas que se expresan a nivel sináptico, por ejemplo de *FMRP*, *mTORC1*, *AKT*, *CYFIP1*, *PTEN*, *SHANK2*, *SHANK3*, *SYNGAP1*, *TSC1*, *TSC2*, *NLGN*, *NRX1*, *ANK2*, *KATNAL2*, entre otras. Todo ello puede ocasionar alteraciones del neurodesarrollo y constituir un nexo entre los factores de riesgo prenatales y perinatales con el autismo.²³⁴

Un estudio reciente ha proporcionado información sobre un posible mecanismo de daño hipóxico con respecto al autismo. Los autores examinaron el papel de la *FMRP* y la vía de señalización *mTOR* y observaron una sobreexpresión de *FMRP* entre las semanas 36 y 39 de embarazo en el cerebro normal, lo que sugirió un papel fisiológico importante de *FMRP* en la plasticidad sináptica durante este período. Al comparar el tejido cerebral de recién nacidos expuestos a eventos hipóxicos y controles neurotóxicos, encontraron una expresión de *FMRP* significativamente menor en el cerebro hipóxico que los controles sanos. Con base en estos hallazgos, los autores sugirieron que la interrupción de *FMRP* podría ser uno de los mecanismos a través del cual la hipoxia se relaciona con el autismo en las proximidades del término de la gestación.¹²⁵

En un estudio poblacional realizado en cuatro países nórdicos y Australia Occidental se compararon el OR ajustado para el autismo entre el parto vaginal y por cesárea de urgencia y planificada, donde el OR del parto por cesárea en niños autistas resultó ser de 1,26 (IC del 95 %: 1,22 - 1,30). Los OR estratificados de parto por cesárea se asociaron significativamente con el riesgo de autismo para cada semana de gestación, por debajo de las 37 semanas fue de 1,25 (IC del 95 %: 1,15 - 1,37) y de 1,17 (IC del 95 %: 1,04 - 1,30) para los nacidos con 42 o más semanas. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la cesárea de urgencia y la planificada en el riesgo de autismo.²³⁵

2.5.5 Análisis multivariado

Estudios similares coinciden y describen múltiples variables que se relacionan de manera independiente en la presencia de autismo cuando las demás se mantienen constantes donde se incluyen: la edad avanzada de los padres, el sangrado vaginal durante el

embarazo, la DPG, la anemia, la edad gestacional postérmino, la macrocefalia, los antecedentes de trastornos del lenguaje y epilepsia de primera generación. Estos resultados hacen consonancia con un modelo multifactorial en el que con una base genética que predispone al autismo, los factores ambientales que inducen el estrés oxidativo, la hipoxia y las modificaciones epigenéticas pueden conducir a cambios neuroestructurales que causen fenotipos de comportamientos atípicos como los trastornos del neurodesarrollo, donde la contribución de factores genéticos y / o ambientales varía según los casos.^{24,56,89,94,102}

En la práctica clínica, la identificación de estos factores de riesgo desde las primeras edades, puede ser útil en el diagnóstico temprano y tratamiento oportuno de los casos con un enfoque personalizado, además puede contribuir a la toma de estrategias de salud pública con un fin preventivo en la modificación de los factores de riesgo no genéticos y en el desarrollo de estudios genéticos que contribuyan al diagnóstico de autismo en la población infantil.

Otros estudios han descrito en la evaluación de modelos de regresión logística factores similares. Una investigación con corte epidemiológico desarrollada en la ciudad de *Coimbatore* – India, informó que la edad paterna mayor de 40 años, antecedentes familiares de autismo, alteraciones en la nutrición durante el embarazo, modalidad de parto, hipoxia fetal y estancia en Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales estaban estrechamente relacionadas con el desarrollo del autismo primario.^{24,236,237}

2.5.6 Propuesta del panel cubano para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación

Dada la etiopatogenia multifactorial del autismo, su diagnóstico en la actualidad se basa en el método clínico y se realiza a través de entrevistas estructuradas o la aplicación de test específicos.^{45-47,238}

Se plantea que en los individuos en los que hay evidencia de daño en la morfogénesis temprana, desarrollan el autismo de una manera diferente que aquellos en los cuales la morfogénesis se produjo aparentemente normal. Un importante subgrupo de pacientes presenta rasgos o signos dismórficos en el examen físico, un menor puntaje en la evaluación del coeficiente intelectual, anormalidades en las imágenes de cerebro por resonancia magnética, peor rendimiento funcional, una menor brecha en la relación hombre/mujer en cuanto a frecuencia de presentación y una menor recurrencia entre hermanos.²³⁸

Así, la racionalidad del estudio genético se basa en lograr un diagnóstico causal y definitivo, lo que da lugar a la identificación de riesgos médicos asociados, que facilita al rastreo y potencial prevención de los mismos, así como al estudio de familiares. Se asume que una vez establecido el diagnóstico, se evitarían estudios innecesarios.²³⁹

El MCA es actualmente el estudio más utilizado. El mismo es capaz de detectar deleciones o duplicaciones del ADN, muy similar a un cariotipo pero con una mayor resolución. Otras técnicas son la GWAS y la secuenciación del exoma completo (WES, por sus siglas en inglés de *Whole Exome Sequencing*).^{239,240}

Los paneles de genes proveen datos secuenciados de un subgrupo seleccionado de genes, considerándose actualmente como una alternativa para el estudio causal del autismo.

La guía de práctica clínica (GPC) del Colegio Americano de Genética Médica y Genómica de 2013, recomienda en primera instancia indagar acerca de la presencia de antecedentes familiares en tres generaciones previas, una evaluación inicial para identificar síndromes conocidos o condiciones asociadas, MCA y, en los hombres, pruebas genéticas para síndrome frágil X. En una segunda instancia plantean considerar la realización de secuencia genética MECP2 en las mujeres; pruebas de duplicación de genes MECP2 en hombres, sólo si el fenotipo es sugestivo; evaluar mutaciones del gen PTEN cuando la circunferencia de cráneo es mayor a 2,5 desviaciones

estándar sobre la media; y resonancia magnética de cerebro en situaciones específicas, como microcefalia.²³⁹

La actualización 2013 de la GPC del Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica del Reino Unido (NICE, por sus siglas en inglés *National Institute for Health and Clinical Excellence*) para el diagnóstico de autismo en niños y jóvenes, recomienda no realizar estudios genéticos de rutina como parte de la evaluación, pero sí considerarlos en circunstancias particulares, basadas en el examen físico, el criterio médico y el perfil del paciente. A su vez, recomienda basarse en los lineamientos aprobados en los servicios de genética en cada país o región, no haciendo referencia a ningún tipo de estudio genético en particular.²⁴¹

Las pautas varían con respecto a si se recomiendan o no las pruebas genéticas para todas las personas con autismo, en función de factores de riesgo particulares, como la discapacidad intelectual, la epilepsia o los signos dismórficos. Si bien es posible que los resultados de las pruebas genéticas no tengan consecuencias para los cambios de tratamiento, los resultados podrían informar sobre el riesgo de recurrencia y proporcionar a las familias acceso a información sobre la clínica del trastorno y el pronóstico. En el futuro, la terapia génica, CRISPR/Cas9 y las tecnologías de edición del genoma pueden conducir al diseño específico de genes para establecer una medicina de precisión dirigida a formas sindrómicas raras de autismo.²⁴²

Investigaciones recientes a gran escala y de colaboración internacional han llevado a una mejor comprensión de las contribuciones genéticas al autismo. Esto incluye identificar las primeras variantes genéticas comunes fuertemente asociadas con pequeños efectos individuales y más de 100 genes implicados en variantes raras, en su mayoría *de novo* y con grandes efectos. Estos y otros hallazgos muestran que la arquitectura genética del autismo es compleja, diversa y dependiente del contexto, lo que destaca la necesidad de estudiar la interacción entre los diferentes tipos de variantes genéticas, identificar los

factores genéticos y no genéticos que influyen en su penetrancia y mapear las variantes genéticas en la heterogeneidad fenotípica del autismo.²⁴³⁻²⁴⁶

Las pruebas genéticas pueden ser útiles en el futuro para la detección de casos, el triaje en las evaluaciones de diagnóstico y la identificación de sujetos con mayor o menor probabilidades de responder a una intervención específica.²⁴⁷

Con estos antecedentes y fundamentos, dada la política de desarrollo del Ministerio de Salud Pública en Cuba que incluye la medicina de precisión y como resultado del presente trabajo, se hace la propuesta de un panel cubano para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación, a individuos que presenten factores de riesgo y rasgos dismórficos, incluidos en el análisis multivariado del presente estudio con *odds ratio* que evidencian asociación con el autismo primario. Este panel está formado por 31 genes, los cuales también han sido relacionados en la literatura internacional como candidatos a estudios de este trastorno, tal y como se refiere en el texto de los capítulos dos y tres (Tabla 14, Anexo 16).

Tabla 14. Propuesta del panel cubano para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación.

ANK3, AMPK, CACNA1H, CHD8, CNTN4, HERC2, FMR1, FOXP1, FOXP2, GABRA5, GABRB3, KATNAL2, LAMB1, LAMC3, MECP2, MTOR, NLGN3, NLGN4X, NRXN1, POGZ, PTEN, RELN, SCN2A, SYNGAP1, SHANK2, SHANK3, SLC6A1, SLC6A4, TSC1, TSC2, UBE3A

2.6 Conclusiones parciales

1. El predominio de casos dismórficos con autismo primario, fundamentalmente en cabeza – cuello y tegumentos, evidenció el posible efecto disruptivo de factores prenatales sobre genes del neurodesarrollo.
2. El presente estudio documenta que el autismo primario tiene un origen heterogéneo, que existe solapamiento entre este trastorno y el acervo genético

heredado relacionado con las enfermedades neuropsiquiátricas, así como con factores de riesgo hipoxiantes que pueden incidir en el neurodesarrollo durante la etapa prenatal y perinatal.

3. A medida que avanzada la edad de los padres, se incrementa el riesgo de padecer autismo primario.
4. La propuesta del panel cubano para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación, constituye la base de la integración clínico – epidemiológica en la medicina de precisión.

2.7 Limitaciones

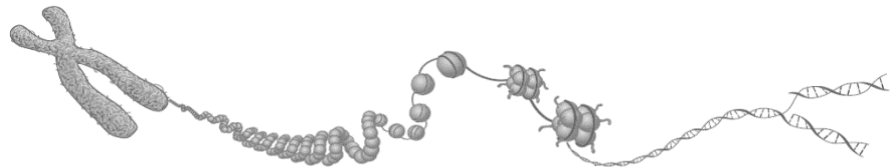
En este estudio se clasificaron los casos como autismo primario con un mínimo de estudios para descartar causas secundarias (Anexo 17), se hizo fundamentalmente uso de herramientas clínica - epidemiológicas y no bioquímicas y moleculares como se hace internacionalmente. Estos últimos estudios tampoco estuvieron disponibles para identificar posibles factores de riesgo genéticos subyacentes.

En la delineación fenotípica de los casos no se tuvo en cuenta la evaluación psicométrica para determinar el coeficiente de inteligencia, por las razones descritas en el acápite resultados, lo que pudiera considerarse un posible sesgo al realizar la evaluación dismorfológica, dado que en los casos con discapacidad intelectual severa profunda son más frecuentes estas variaciones del desarrollo que en otros con intelecto conservado.

A pesar de realizar el examen dismorfológico de los controles por facultativos especialistas de genética clínica, no se logró determinar la concordancia interobservadores con un método estadístico apropiado (coeficiente de correlación de *Kendall*), lo que haría más robustos los resultados obtenidos.

La propuesta para diseñar el panel cubano de diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación, se basó en informes internacionales, los hallazgos dismorfológicos y principales factores de riesgo descritos en la muestra, pero no contó con la evidencia de los genes que con mayor frecuencia reportan mutaciones en estos pacientes.

**CAPITULO 3: VARIACIÓN DEL ESTADO
REDOX POSTERIOR A TERAPIA
ANTIOXIDANTE EN PACIENTES CON
AUTISMO PRIMARIO**



CAPITULO 3: VARIACIÓN DEL ESTADO REDOX POSTERIOR A TERAPIA ANTIOXIDANTE EN PACIENTES CON AUTISMO PRIMARIO

3.1 Introducción

A pesar de las teorías e investigaciones dirigidas a identificar las causas del autismo primario y el por qué del incremento en su prevalencia, estas aún se desconocen. Se plantea un origen multifactorial y heterogéneo, se reconoce la influencia del ambiente sobre el cerebro en desarrollo del niño, la implicación de alergias, intolerancias químicas y alimentarias, neurotoxinas y otros factores, que comparten la propiedad de incrementar el estrés oxidativo y así causar daño en diferentes macromoléculas, especialmente en proteínas y ADN.²⁴⁸

Varios estudios en niños con autismo muestran que el desbalance entre las especies prooxidantes / antioxidantes puede contribuir a la patogénesis de este trastorno. En estos casos se han encontrado cambios en la fluidez de las membranas, pérdida neuronal en el cerebelo y alteración de los marcadores de estrés oxidativo.^{31,249}

El riesgo que implica un estrés oxidativo mantenido a nivel cerebral en individuos con trastornos del neurodesarrollo, hace muy importante tratar de mantener un estado redox adecuado lo cual se puede lograr con modificaciones en los estilos de vida y el uso de productos con acción antioxidante.¹⁴²

En el presente capítulo se aborda el estudio de los marcadores de daño oxidativo y capacidad de defensa antioxidante en pacientes con autismo primario, antes y después de una terapia combinada antioxidante.

3.1.1 Hipótesis científica

- El uso de terapias con acción antioxidante tendrá un efecto beneficioso al lograr un adecuado control del estado redox en niños con autismo primario.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo general

- Caracterizar las variaciones en el estado redox de pacientes con autismo primario antes y después de la terapia antioxidante.

3.2.2 Objetivos Específicos

1. Identificar si existen diferencias entre los resultados de los valores de los marcadores prooxidantes en casos con autismo primario, antes y después de la terapia antioxidante.
2. Identificar si existen diferencias entre los resultados de los valores de los marcadores de defensa antioxidante enzimáticos y no enzimáticos en casos con autismo primario, antes y después de la terapia antioxidante.

3.3 Material y métodos

3.3.1 Tipo de estudio

Se realizó una investigación aplicada, con diseño cuasiexperimental de estrategia longitudinal con medición antes y después, y enfoque cuantitativo en niños con autismo primario, atendidos en el lugar y tiempo referidos en el capítulo dos.

3.3.2 Universo y muestra

El universo estuvo dado por los 126 niños que formaron parte del estudio descrito en el capítulo dos, los que además como criterios de inclusión debieron tener realizado, al menos, un estudio de estrés oxidativo antes de iniciar la terapia recomendada en el marco clínico del asesoramiento genético y otro evolutivo a los seis meses. Se excluyeron además aquellos individuos que usaban medicamentos que podían tener interacciones con la vitaminoterapia (anticoagulantes, flufenacina, barbitúricos, difenilhidantoína,

primidona, fluorouracilo, sulfasalazina o cloranfenicol). En total se excluyeron 86 casos y la muestra quedó formada por 40 pacientes con desbalance redox, dado que al menos uno de los marcadores de daño prooxidante se encontraba elevado al inicio del estudio.

Para reducir la posibilidad de alteración de los resultados por agentes exógenos, se tuvo en cuenta como criterios para la toma de la muestra de sangre que: 1) los niños no hayan padecido enfermedades infecciosas agudas en el último mes. En este caso se esperó un mes para realizar la toma de la muestra, 2) no hayan recibido radiaciones (rayos X) el mes anterior al estudio, en este caso se coordinó la extracción de la muestra pasado un mes de haber recibido las radiaciones y 3) si el niño utilizaba antioxidantes en el momento del estudio, se suspendió el tratamiento un mes previo a la toma de la muestra.

A todos los casos se les realizaron estudios de estrés oxidativo. Para el análisis de los resultados se tuvieron en cuenta los valores de referencia estandarizados para niños entre 0 y 15 años, registrado en el documento de procedimiento normalizado de operaciones del Laboratorio de Estrés Oxidativo del CNGM (PNO-EO.001) (Anexo 18). A los 40 casos se les procedió a indicar una terapia antioxidante en el marco clínico del asesoramiento genético por un período de seis meses, se orientó suspender tratamiento por un mes y se les repitió la toma de muestra para evaluar el estado redox del niño.

3.3.3 Operacionalización de variables:

Para dar salida a los objetivos propuestos se utilizaron las siguientes variables:

- Marcadores de daño oxidativo:

1. Determinación de la concentración plasmática de malonildialdehído (MDA): cuantitativa continua. Se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.010. Este marcador se genera como consecuencia de la POL y mide el daño oxidativo a lípidos en el plasma. Se expresa en $\mu\text{mol/L}$.
2. Determinación de la concentración plasmática de productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP): cuantitativa continua. Se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.011. Este marcador permite estimar el grado de

oxidación de las proteínas plasmáticas, en especial de la albúmina. Se expresa en $\mu\text{mol/L}$.

3. Concentración plasmática de peróxidos totales (Ensayo *FOX*): cualitativa ordinal politómica. Se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.012. El ensayo se basa en la oxidación de iones ferrosos (Fe^{2+}) a iones férricos (Fe^{3+}) mediado por el peróxido de hidrógeno en condiciones acídicas. Se consideró:

- Disminuido: cuando la concentración estaba por debajo de $1 \mu\text{mol/L}$.
- Normal: cuando la concentración estaba entre $1 - 2,81 \mu\text{mol/L}$.
- Aumentado: cuando la concentración estaba por encima de $2,81 \mu\text{mol/L}$.

- Marcadores de defensa antioxidante:

a) Enzimáticos

1. Actividad de la enzima Cu/Zn superóxido dismutasa intraeritrocitaria (SOD1): cuantitativa continua. Se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.015. Mide la actividad catalítica de la reacción de dismutación del anión superóxido a nivel intraeritrocitario en peróxido de hidrogeno y oxígeno. Se expresa en U/ml.
2. Actividad de la enzima catalasa intraeritrocitaria (CAT): cuantitativa continua. Se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.017. Mide la actividad peroxidativa de la catalasa a nivel intraeritrocitario al catalizar la descomposición de peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. Se expresa en U/ml.
3. Actividad de la enzima glutatión peroxidasa intraeritrocitaria (GPx): cuantitativa continua. Se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.019. Mide la actividad de la glutatión peroxidasa a nivel intraeritrocitario, la cual cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno o lipoperóxido, utilizando como agente reductor el GSH. Se expresa en U/ml.

b) No enzimáticos

1. Grupos tioles proteicos libres plasmáticos (glutación reducido - GSH): cuantitativa continua. Se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.014. Mide los tioles plasmáticos, específicamente el glutación reducido. Se expresa en $\mu\text{mol/L}$.
2. Capacidad antioxidante total plasmática: cuantitativa continua. Se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.013. Se refiere a la capacidad del plasma de reducir iones férricos (Fe^{3+}) a ferrosos (Fe^{2+}). Se expresa en $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$.

En el caso de la concentración plasmática de peróxidos totales (ensayo *FOX*) se operacionalizó como variable cualitativa porque el informe de laboratorio no cuantifica los resultados menores de 1 $\mu\text{mol/L}$, hecho que ocurre por limitaciones técnicas del estudio.

3.3.4 Técnicas y procedimientos

Las muestras de sangre periférica se obtuvieron en la Consulta de Referencia Nacional de Genética Clínica del Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez” y del Centro Provincial de Genética Médica de Mayabeque, por parte de técnicos acreditados para estos fines, las cuales fueron trasladadas al Laboratorio de Estrés Oxidativo del CNGM.

Para los estudios de estrés oxidativo se realizó una venipuntura con jeringuillas desechables y se obtuvieron 5 ml de sangre venosa, bajo condiciones asepsia y antisepsia debidamente establecidas en cada departamento. Las muestras fueron dispensadas en tubos con EDTA como anticoagulante, transportadas inmediatamente en termo refrigerado a 8 °C y se recibieron en el laboratorio como máximo 4 horas después de haberse realizado la extracción.

Los procedimientos analíticos empleados en la investigación están estandarizados y recogidos en los PNO del Laboratorio de Estrés Oxidativo del CNGM (Anexo 19). Las muestras recibieron un código que permitió omitir la identificación de los casos por el personal técnico del laboratorio y se les ofreció sólo datos de interés clínico para su análisis.

Una vez recibido el resultado y constatado el desbalance redox, se procedió a realizar el asesoramiento genético correspondiente con recomendaciones nutricionales y uso de suplementos vitamínicos antioxidantes por un periodo de seis meses, descansaron un mes sin tratamiento y se les repitió la toma de muestra para evaluar el estado redox del niño. Se recomendó un patrón alimentario completo, variado, equilibrado, inocuo, suficiente y adecuado (Anexo 20).

De forma general se orientó el consumo de productos frescos y mínimamente procesados, de origen vegetal fundamentalmente, para proporcionar una amplia variedad de antioxidantes dietarios como las vitaminas C y E, carotenoides, flavonoides y otros compuestos fenólicos.²⁵⁰

No se recomendó el consumo de productos ricos en gluten y caseína, ya que estos se relacionan con la liberación de péptidos con actividad opioide en los intestinos, los cuales pueden cruzar la mucosa intestinal. Los opioides son un grupo de compuestos químicos que actúan a través de receptores de opioides y afectan el funcionamiento del cerebro y del sistema nervioso (Anexo 21).²⁵¹

Estos compuestos afectan la percepción de las emociones y la conducta. El fundamento principal de la teoría es que en personas con autismo se incrementa la permeabilidad intestinal y hay una producción inadecuada de las enzimas digestivas relacionadas con el gluten y la caseína, lo que ocasiona fallos en su transformación en aminoácidos. La hidrólisis de estas proteínas generaría neuropéptidos exógenos (exorfinas), tales como gluteomorfina de gluten y betacasomorfina de caseína. Además, el aumento de la permeabilidad del intestino permite fugas en la corriente sanguínea, que pueden atravesar la barrera hematoencefálica (BHE).^{251,252}

Suplementos vitamínicos con actividad antioxidante:

En todos los casos se orientó a los padres cómo utilizar cada vitamina, posible efectos adversos y medidas a tomar si hubiese toxicidad. En este último caso se asesoró suspender su uso y comunicarse con el investigador para reevaluación del tratamiento.

- **Vitamina C (ácido ascórbico):** la dosis prescrita (500 mg/día) no fue superior a los niveles de ingesta máximos tolerados para la edad que se corresponde con 650 mg/día. Contraindicada si existía hipersensibilidad al ácido ascórbico. No se asocia a efectos adversos significativos ni tóxicos específicos e incluyen: gastrointestinales (nauseas, vómitos) y en tales casos se orientó suspender su uso. Se recomendó su uso en la mañana acompañada de alimentos.²⁵³
- **Vitamina E (alfatocoferol):** la dosis prescrita (150 UI/día) no fue superior a los niveles de ingesta máximos tolerados para la edad que se corresponde con 200 mg/día. Contraindicada si existía hipersensibilidad al alfatocoferol. Usualmente bien tolerada, con reacciones adversas descritas cuando la dosis diaria excede los 300 mg e incluyen gastrointestinales (nauseas, vómitos) y alteraciones de la coagulación, los que desaparecen rápidamente al suspender o reducir la dosis. Se recomendó su uso en la mañana acompañada de alimentos.²⁵³
- **Ácido Fólico:** la dosis prescrita fue de 1 mg/día. El ácido fólico es eliminado en la orina por lo que no se relacionan efectos adversos. Contraindicado si existía hipersensibilidad al ácido fólico o anemia megaloblástica por deficiencia de vitamina B12. Se recomendó su uso en ayunas para mejorar su absorción. ²⁵³

3.3.5 Procesamiento estadístico

La información obtenida se llevó a una base de datos por medio de la aplicación Microsoft Excel 2010 y procesado con el programa estadístico SPSS versión 21.

3.3.6 Análisis estadístico

Se aplicaron estadísticas descriptivas para variables cuantitativas continuas con el objetivo de calcular estadígrafos de tendencia central (media, mediana y moda), tendencia de dispersión (desviación estándar, mínimo y máximo).

Se aplicó el *test* no paramétrico de *Kolmogorov – Smirnov* con el objetivo de demostrar la distribución normal o no de las variables, necesario para aplicar un test que demostrara las diferencias entre medias de las variables analizadas (Anexo 22).

Una vez que se analizó la distribución normal o no de las variables, se decidió utilizar una prueba para verificar si existían diferencias entre las medias de los valores obtenidos en los dos momentos del estudio (antes y después de la terapia antioxidante), aplicándose un *test* no paramétrico para muestras pareadas como es el de rangos con signos de *Wilcoxon*, dado que la mayoría de las variables no tuvieron una distribución normal que permitiera aplicar un test paramétrico (t - *Student* para muestras pareadas).

En el caso del análisis estadístico de la *FOX* se utilizaron medidas de resumen (porcentajes) y se aplicó la prueba de *McNemar*.

Todos los análisis se realizaron con un nivel de significación estadística de $\alpha=0,05$.

Se diseñaron gráficos de cajas y bigotes para demostrar visualmente las diferencias en los resultados obtenidos antes y después de la terapia antioxidante.

3.3.7 Consideraciones éticas

Se tuvieron en cuenta las ya descritas en el sub-acápito 2.3.7 del capítulo dos.

3.4 Resultados

3.4.1 Marcadores de daño oxidativo

En el marcador MDA, las variaciones de medias aritméticas fueron de 1,30 $\mu\text{mol/L}$ en el primer tiempo a 1,13 $\mu\text{mol/L}$ en el segundo, manteniéndose por encima de los valores de referencia en ambos momentos; mientras que en el marcador PAOP, la media aritmética previa a la terapia antioxidante fue de 85,41 $\mu\text{mol/L}$ y en el evolutivo de 50,26 $\mu\text{mol/L}$, es decir, inicialmente estaba por encima de los valores de referencia y en el segundo momento se logró la normalización. Los análisis de ambos marcadores fueron estadísticamente significativas con una $p=0,043$ y $p<0,001$, respectivamente (Tabla 1, Anexo 23 y 24).

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de los marcadores redox de daño oxidativo antes y después de realizar la terapia antioxidante

Marcadores de daño oxidativo	Estadísticos	Antes	Después	P
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	Media \pm DE	1,30 \pm 0,54	1,13 \pm 0,53	0,043
	IC de 95 %	1,13 - 1,47	0,96 - 1,30	
	Mínimo	0,58	0,56	
	Máximo	2,54	2,59	
PAOP ($\mu\text{mol/L}$)	Media \pm DE	85,41 \pm 34,46	50,26 \pm 25,98	<0,001
	IC de 95 %	74,39 - 96,43	41,95 - 58,57	
	Mínimo	27,14	26,98	
	Máximo	145,58	131,19	

Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Con relación al marcador peróxidos totales se encontró que 16 pacientes presentaban cifras disminuidas antes de iniciar la terapia antioxidante (40 %) y de estos 12 las mantuvieron disminuidas posterior a la misma (30 %). En 13 casos (32,50 %) este indicador estaba normal al inicio y posterior a la terapia disminuyó en 11 (27,5 %). En ocho casos (20 %) los peróxidos totales estaban elevados en la primera determinación y en el segundo control tuvieron valores disminuidos. El marcador estuvo elevado en 11 casos (27,5 %) en el primer control y en solo un caso (2,50 %) en el segundo. Se obtuvo una $p=0,001$ (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de pacientes según la concentración plasmática de peróxidos totales antes y después de aplicada la terapia antioxidante.

Peróxidos totales en primer momento	Peróxidos totales en segundo momento								p ^a
	Disminuido		Normal		Elevado		Total		
	#	%	#	%	#	%	#	%	
Disminuido	12	30,00	3	7,50	1	2,50	16	40,00	0,001
Normal	11	27,50	2	5,00	0	0	13	32,50	
Elevado	8	20,00	3	7,50	0	0	11	27,50	
Total	31	77,50	8	20,00	1	2,50	40	100	

Leyenda: a- Prueba de McNemar

3.4.2 Marcadores de defensa antioxidante

Dentro de los marcadores de defensa antioxidante la actividad de la enzima SOD1 tuvo una media aritmética inicial en 169,43 U/ml que descendió en el segundo momento muestral a 166,77 U/ml. La actividad de la enzima catalasa intraeritrocitaria mostró un ligero ascenso con la terapia realizada, al incrementar la media aritmética de 61,57 U/ml en el primer tiempo a 64,77 U/ml en el segundo. Ambos marcadores se mantuvieron en el rango de referencia establecido en ambos momentos muestrales. Los resultados fueron estadísticamente significativos tanto para la SOD1 ($p=0,476$) como para la catalasa ($p=0,248$) (Tabla 3, Anexo 25 y 26).

La relación SOD/CAT tuvo una media aritmética que descendió de 3,22 en el primer tiempo muestral a 2,74 en el segundo. Este índice se mantuvo elevado en ambos tiempos muestrales, pero las variaciones anteriormente señaladas no fueron estadísticamente significativas ($p=0,107$) (Tabla 3, Anexo 27).

El otro marcador enzimático evaluado fue la concentración plasmática de GPx, el cual mostró variaciones mínimas de su actividad, al tener en el primer momento un valor de la media aritmética de 45517,03 U/ml y al realizar la terapia antioxidante de 45951,37 U/ml. Se mantuvo en el rango de referencia establecido en ambos momentos muestrales, pero las variaciones obtenidas no fueron estadísticamente significativas ($p=0,211$) (Tabla 3, Anexo 28).

El GSH obtuvo una media aritmética en un primer momento del estudio de 26,15 $\mu\text{mol/L}$ y en el segundo de 26,53 $\mu\text{mol/L}$. Los resultados de las medias obtenidas antes y después de la terapia antioxidante de mantuvieron en el rango de referencia normal y el análisis estadístico no resultó ser significativo ($p=0,757$) (Tabla 3, Anexo 29).

La capacidad antioxidante total del plasma se mantuvo elevada en ambos tiempos muestrales. Se obtuvo una media aritmética en el primer momento de 0,25 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$ y en el segundo tiempo de 0,20 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$, cuyo análisis fue estadísticamente significativo con una $p=0,032$ (Tabla 3, Anexo 30).

Tabla 3. Estadísticos descriptivos de los marcadores redox de defensa antioxidante antes y después de realizar terapia antioxidante

Marcadores de defensa antioxidante	Estadísticos	Antes	Después	p^a
SOD1 (U/ml)	Media ± DE	169,43 ±18,10	166,77 ±18,10	0,476
	IC de 95 %	163,64 - 175,22	160,98 - 172,56	
	Mínimo	123,55	126,49	
	Máximo	211,23	210,41	
CAT (U/ml)	Media ± DE	61,57 ±19,09	64,77 ±14,52	0,248
	IC de 95 %	55,47 - 67,68	60 ,13 - 69,41	
	Mínimo	13,11	25,00	
	Máximo	100,02	100,00	
SOD/CAT	Media ± DE	3,22 ±1,75	2,74 ±0,93	0,107
	IC de 95 %	2,66 - 3,78	2,45 - 3,04	
	Mínimo	1,75	1,60	
	Máximo	9,42	6,99	
GPx (U/ml)	Media ± DE	45517,03 ±14191,54	45951,37 ±16716,99	0,211
	IC de 95 %	36978,36 - 46055,71	40605,02 - 51297,73	
	Mínimo	20157,39	19225,39	
	Máximo	69458,36	69224,19	
GSH (µmol/L)	Media ± DE	26,15 ±11,91	26,53 ±10,27	0,757
	IC de 95 %	22,34 - 29,96	23,24 - 29,82	
	Mínimo	9,25	11,29	
	Máximo	46,25	49,22	
Capacidad Antioxidante Total (µmol Fe ²⁺ /L)	Media ± DE	0,25 ±0,17	0,20 ±0,05	0,032
	IC de 95 %	0,19 - 0,30	0,19 - 0,22	
	Mínimo	0,12	0,12	
	Máximo	1,19	0,38	

Legenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

3.5 Discusión

En la literatura se ha documentado ampliamente que los pacientes con autismo son más propensos a sufrir estrés oxidativo, y por consiguiente, se consideran más vulnerables al daño mediado por ERO y la toxicidad neuronal.²⁵⁴

Dado que la expresión de enzimas y niveles de moléculas antioxidantes endógenas se reducen en los individuos con autismo respecto a sujetos sanos, se ha investigado el efecto de tratamientos con suplementos antioxidantes para estimular el sistema antioxidante endógeno y contrarrestar el estrés oxidativo.³¹

En la selección de un candidato terapéutico antioxidante óptimo para los pacientes con autismo, estos deben cruzar la BHE y entrar en el parénquima cerebral, en el que deben alcanzar sus concentraciones terapéuticas óptimas. Se ha demostrado también que una correcta alimentación contribuye a un adecuado control redox en el organismo.^{147,255,256}

Los peróxidos lipídicos, derivados de los ácidos grasos poliinsaturados, son inestables y se descomponen en una serie de compuestos, entre los que se encuentra el MDA. Razón por la cual, la medición de las concentraciones de MDA son un indicador de la ocurrencia de la POL. El proceso de POL, es un mecanismo bien establecido de daño celular y es utilizado como indicador de estrés oxidativo en células y tejidos.²⁵⁷⁻²⁵⁹

En el presente estudio se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en las variaciones obtenidas en las medias aritméticas de las concentraciones de MDA, siendo inferiores luego del uso de la terapia antioxidante combinada. No obstante, hay que señalar que la concentración plasmática de MDA se mantuvo por encima de los valores de referencia emitidos por el laboratorio, es decir, desde el punto de vista biológico se mantiene el daño oxidativo a lípidos, lo que indica que la terapia con la dieta y la suplementación antioxidante no pareció tener suficiente efecto para contrarrestar el daño oxidativo a los lípidos.

Estos resultados pueden estar en relación con la actividad enzimática descrita, donde la glutatión peroxidasa se mantuvo en el rango normal pero la catalasa disminuida en los

dos momentos del estudio y ambas tienen como función la descomposición de hidroperóxidos y peróxido de hidrógeno, respectivamente.²⁶⁰

Existen evidencias de la interrupción del proceso de propagación de la peroxidación lipídica con la actividad de antioxidantes no enzimáticos hidrosolubles (vitamina C) y liposolubles (vitamina E);²⁶¹ sin embargo, este efecto no se logró con la terapia orientada. Tampoco se logró incrementar los niveles de GSH, otro antioxidante no enzimático hidrosoluble, el cual se mantuvo en un rango de normalidad pero que no fue suficiente para contrarrestar la peroxidación lipídica.

Algunos autores plantean que el deterioro en diferentes pasos de la ruta metabólica de los lípidos puede contribuir al desarrollo del autismo. Sugieren que la señalización lipídica juega un papel importante en el período prenatal y posnatal en la formación y desarrollo de estructuras cerebrales. A su vez enuncian, que las alteraciones en esta vía pueden impactar negativamente en el desarrollo del sistema nervioso y conducir al progreso del autismo infantil.²⁶²

En la mencionada ruta metabólica de los lípidos, se han implicado los ácidos grasos omega 3 y 6,²²⁵ los cuales no fueron incluidos en el esquema terapéutico prescrito en la terapia antioxidante, y pudiera ser un elemento a tener en cuenta al evaluar las causas del incremento sostenido de la peroxidación lipídica en estos pacientes.

Investigadores del tema sugieren añadir selenio a la terapia antioxidante y con esto estimular el incremento de la actividad de la GPx y de esta forma incidir en la disminución de la peroxidación lipídica.²⁶³

Una investigación en la se determinó el efecto de una dieta sin gluten y caseína en niños autista, obtuvo que el 19 % de los pacientes no normalizaba este marcador y alrededor de un tercio de ellos no estaban siguiendo la dieta indicada.²⁶⁴

Las madres y familiares de los niños de la muestra en estudio también refirieron lo difícil de llevar a cabo la dieta con exactitud.

Con relación a las variaciones de la media aritmética de los PAOP, se obtuvo una normalización en el segundo tiempo muestral, lo que indica que la terapia con la dieta y

la suplementación antioxidante pareció tener un efecto positivo para contrarrestar el daño oxidativo a las proteínas. Resultados similares describen otros estudios que plantean que este marcador mejora sustancialmente con terapia antioxidante.²⁶⁵

La importancia de lograr un adecuado control en este marcador radica en que la oxidación de las proteínas implica alteraciones directas en su estructura y función, así como un incremento marcado de la susceptibilidad a la proteólisis.^{266,267}

Los peróxidos son especies con un alto poder oxidante y de generación de otras como el ion hidroxilo, por lo que su medición es útil como indicador de condiciones oxidativas en células y tejidos. El estudio de la concentración plasmática de peróxidos totales, evidenció que aproximadamente un tercio de la muestra que inicialmente tenía valores elevados normalizó sus resultados, lo que orienta que la terapia antioxidante utilizada pudo tener un efecto favorable en la disminución de especies con alto poder oxidante, sin embargo, en los productos de la peroxidación lipídica no logró dicho efecto.

Es evidente que las modificaciones obtenidas en los marcadores de daño oxidativo, no se logró por la acción del sistema enzimático antioxidante dado que la SOD1, GPx y CAT no se incrementaron durante la terapia, manteniendo el mismo rango de valores en ambos momentos del estudio, por lo que el efecto observado probablemente se debió a la acción directa de los antioxidantes que neutralizaron a las ERO, en especial a los peróxidos.

Con el sinergismo entre las vitaminas C y E, es posible que se lograran neutralizar los efectos sobre las proteínas, reducir así la formación de radicales libres como el peróxido de hidrógeno, y por ende los niveles de PAOP en la muestra de los casos estudiados, aun cuando la dieta no haya sido cumplida estrictamente según la prescripción facultativa.

El ácido fólico también pudo tener un efecto beneficioso en los resultados obtenidos dada su capacidad de oxidarse cediendo protones y actuar como agente reductor.²⁶⁸

En el estudio realizado se obtuvo que los marcadores de defensa antioxidante enzimáticos SOD1 y GPx se mantuvieron normales antes y después de la terapia. La catalasa no logró normalización y el ligero aumento que presentó, no fue estadísticamente significativo pero además carece de significación biológica, dado que no alcanzó los valores de

referencia determinados por el laboratorio. El hecho de que los niveles de su actividad enzimática se mantuvieran disminuidos tras la terapia antioxidante puede ser un indicio de que existía una baja producción de peróxido de hidrógeno intraeritrocitaria, lo que también se puede suponer por los resultados obtenidos en la actividad enzimática de la SOD1 (rango normal en ambos momentos). El comportamiento de esta última sugiere que la producción del anión superóxido dentro del eritrocito también se mantuvo sin variaciones importantes.

La GPx es una de las enzimas que participan en el denominado “ciclo redox del glutatión”. La GPx es una enzima selenio-dependiente, catalizadora de la reducción de lipoperóxidos y peróxido de hidrógeno, para lo que utiliza como agente reductor al glutatión reducido.²⁶⁹ La actividad de esta enzima tuvo una tendencia a variaciones muy discretas luego de aplicado el tratamiento, no obstante, en ambos momentos mantuvo cifras dentro del rango normal establecidos para el marcador. Estos resultados pudieran guardar relación con la tendencia a la normalización observada de los niveles de peróxidos, sustrato de esta enzima.

Dada las características nutricionales de estos pacientes, quizás fuera necesario tener en cuenta lo planteado por otros autores que sugieren la asociación de suplementos de zinc, cobre, magnesio y selenio a las terapias con vitaminas, ya que se estima que la deficiencia de estos en la dieta provoca disminución de la efectividad de los sistemas de defensa antioxidante, principalmente a nivel de las enzimas que utilizan estos metales como la SOD1 (Cu/Zn SOD) y la GPx), con el consiguiente incremento de la POL y el estrés oxidativo.²⁷⁰

En el estudio, el GSH mostró estabilidad durante el periodo evaluado, lo que sugiere que el estado redox intracelular era adecuado. De esta manera garantizó su amplia gama de funciones, dentro de las que se encuentran: la desintoxicación de xenobióticos, el mantenimiento del equilibrio redox intracelular, y ser el principal antioxidante endógeno producido para combatir las agresiones de los radicales libres.^{248,259,271}

Un estudio realizado en Estados Unidos afirma que para obtener la normalización total del glutatión en el plasma, se debe asociar cianocobalamina (vitamina B12) a la terapia antioxidante,²⁷⁰ lo que pudiera ser un elemento a tener en cuenta para estudios posteriores con el objetivo de mejorar los resultados de los casos que se encuentran fuera del rango de normalidad. En otros estudios revisados también se utiliza la piridoxina (vitamina B6) como tratamiento para el autismo, casi todos estos estudios encontraron que entre el 30 % y 40 % de los niños y adultos se beneficiaron de una alta dosis de suplementos de vitamina B6 con magnesio para normalizar este biomarcador.²⁷²

Las defensas antioxidantes extracelulares se miden a través de la denominada capacidad antioxidante total, en la cual se considera la acción acumulativa de todos los antioxidantes presentes en el plasma y los fluidos corporales.²⁷³

En el análisis estadístico de la capacidad antioxidante total se obtuvieron resultados significativos, sin embargo en ambos momentos del estudio mantuvo la media aritmética por encima de los valores de referencia para este marcador, aumento que puede ser parte de la respuesta al daño oxidativo provocado por la peroxidación lipídica mantenida, en ambos momentos del estudio.

Se plantea que la capacidad antioxidante total amortigua la generación de radicales hidróxilos, que se difunden al líquido extracelular.²⁷³ Estos resultados son esperados al tener en cuenta los valores plasmáticos de MDA, marcador que representa el daño oxidativo a lípidos, y que se mantuvo elevado en los dos momentos de la investigación. El efecto esperado de la dieta/suplementación es que el aporte de antioxidantes, incremente el poder reductor del plasma. Sin embargo, la terapia mantuvo elevada la capacidad antioxidante del mismo, de manera que pudo contrarrestar los niveles elevados de peroxidación lipídica, pero sin lograr la normalización de la concentración de MDA, situación probablemente debida a condiciones oxidantes mantenidas.

Las recomendaciones nutricionales constituyen un elemento importante de la conducta terapéutica. El aumento de la actividad opioide debido a un exceso de péptidos también se supone que es el origen de algunos de los síntomas descritos en estos pacientes. Dietas

libres de gluten y/o caseína por lo tanto se han probado en estudios controlados, con resultados contradictorios. Con este tipo de dietas, algunos estudios muestran la regresión de los síntomas, pero otros reportan efectos secundarios negativos, esencialmente, la desnutrición proteica,²⁷⁴⁻²⁷⁶ de ahí que se diseñó un estudio cuasiexperimental que tuviera un control limitado sobre esta variable dando orientaciones precisas a los padres durante el proceso de asesoramiento genético sobre las restricciones en cuanto al tipo de alimento a consumir por sus hijos pero sin reducción de calorías en la dieta, no reportándose en ningún caso desnutrición u otro problema asociado a la dieta indicada.

En una encuesta realizada en Reino Unido, más del 80 % de los padres de niños con trastorno del espectro autista informaron algún tipo de terapia nutricional para sus hijos (dieta sin gluten y caseína en el 29 % de los casos). Cuando se les preguntó acerca de los efectos de esta dieta, el 20 - 29 % de los padres informaron mejoras significativas en las dimensiones centrales de la alteraciones conductuales y lingüísticas descritas en los pacientes autistas.²⁷⁷ Aunque estos resultados no fueron concluyentes y en la presente investigación no se evaluó la evolución clínica de los casos, sí hubo una reducción significativa de los marcadores prooxidantes con la terapia combinada para los PAOP y peróxidos totales, no así para el MDA que permaneció elevado; los marcadores de defensa antioxidante enzimáticos se mantuvieron normales, excepto la catalasa que no incrementó sus niveles, GSH estuvo normal en los dos tiempos del estudio y la capacidad antioxidante total del plasma se mantuvo elevada.

Aunque el estudio se limitó a evaluar el comportamiento de los marcadores de estrés oxidativo antes y después de instaurada una terapia antioxidante, es importante destacar que la acción de la vitaminoterapia utilizada también pudo tener efecto positivo a otros niveles, por ejemplo, mejorar la función inmunológica, la señalización celular, la regulación de la expresión génica, la homeostasis celular y otros procesos metabólicos.²⁷⁸ Con relación a la vitaminoterapia, la mayoría de los estudios sugieren el uso de folatos en las terapias realizadas en niños autistas con estrés oxidativo. La relación entre el folato y el autismo primario es extremadamente compleja dado a que la baja hipometilación del

ADN dependiente de folato puede deberse no solo a una ingesta reducida sino también a un metabolismo alterado del folato, un ejemplo de lo cual es el papel epigenético debatido de los polimorfismos del gen metiltetrahidrofolato reductasa (C677T y A1298C) en la metilación del ADN.²⁷⁹

Algunos autores sugieren el uso de ácido folínico (5 - formil tetrahidrofolato) en lugar de ácido fólico porque el primero se absorbe como el metabolito reducido y puede ingresar al metabolismo del folato como 5,10 - metiltetrahidrofolato, lo que reduce la posibilidad de promover la trampa de folatos.²⁸⁰ A los participantes en la investigación se les prescribió ácido fólico, lo que también pudo influir en los resultados obtenidos.

La denominada “trampa de folatos”, ocurre cuando los folatos resultan atrapados como 5 - metiltetrahidrofolato, la principal forma circulante del folato a nivel celular y plasmático, dando lugar a un proceso de síntesis de metionina ineficiente, afectándose la formación de glutatión.²⁸⁰ En este caso los valores de GSH permanecieron normales en ambos momentos del estudio lo que indica que la dosis de ácido fólico utilizada fue suficiente, no obstante, esta observación se debe tener en cuenta para futuras investigaciones.

Otros reportes apoyan la decisión de diseño seguida en la investigación al declarar que sólo una terapia dietética es insuficiente para tratar eficazmente el autismo. Numerosos estudios demuestran la necesidad de complementar las dietas con ácidos grasos omega 3 y 6, probióticos, vitaminas y minerales en combinación con intervenciones médicas y psicológicas.²⁸¹⁻²⁸⁴

Con relación a la dieta, es importante considerar los alimentos no solo como la fuente de energía y nutrientes básicos, cruciales para la vida y el desarrollo del organismo, sino también como el factor que influye en la salud/enfermedad, los mecanismos bioquímicos y la activación de las vías bioquímicas. Los componentes bioactivos de la dieta regulan la expresión génica a través de cambios en la estructura de la cromatina (incluida la metilación del ADN y modificación de las histonas), ARNs no codificante, la activación

de factores de transcripción mediante cascadas de señalización o la unión directa de ligandos a los receptores nucleares.²⁸⁵

Varios autores señalan que las personas con autismo tienen problemas en su nutrición. Los niños afectados muestran una alta selectividad hacia los alimentos que contienen almidón, bocadillos y alimentos procesados, pero niegan las frutas, verduras y proteínas. La mayoría de los niños autistas consumen dietas bajas en fibras dietéticas, vitaminas, calcio, hierro y potasio.²⁸⁶⁻²⁸⁸ Todo ello pudiera estar en relación con los resultados obtenidos pues no se trata de la efectividad de la vitaminoterapia de forma aislada, sino que es también muy importante el cumplimiento de la dieta con potencial antioxidante.

Algunos autores plantean el uso de antioxidantes como controvertido dadas las experiencias clínicas en la neuroprotección que han sido generalmente negativas, fundamentalmente con los antioxidantes clásicos como la vitamina C y vitamina E pues la selectividad de la BHE, reduce la difusión de esta última.²⁸⁹⁻²⁹² Sin embargo, otros plantean la necesidad de tratamiento antioxidante concomitante con una dieta rica en vitaminas antioxidantes en sus fuentes naturales y no en suplementos, ya que esto permite que interactúen en forma sinérgica con otros nutrientes orgánicos e inorgánicos presentes en los alimentos, potenciándose así la capacidad antioxidante.²⁸⁴

Es importante resaltar la notable interacción existente entre vitaminas y minerales respecto a sus efectos antioxidantes. Mientras las vitaminas actúan donando o aceptando electrones en las reacciones de óxido-reducción, los minerales regulan la actividad de las enzimas antioxidantes. Algunos autores han investigado el efecto de la suplementación de la mezcla de vitaminas y minerales, describiendo efectos favorables sobre los niveles plasmáticos de MDA. Sin embargo, no observaron efectos de las vitaminas C y E sobre los niveles de MDA cuando no se mezclaron con otras vitaminas y minerales,²⁹³ lo que pudiera ser la explicación de los resultados obtenidos, a lo que se le suma la no adherencia en su totalidad a la dieta orientada referida por familiares de los pacientes estudiados.

También se debe señalar que el efecto antioxidante de las vitaminas y minerales depende además de otros factores, entre ellos la absorción y biodisponibilidad en condiciones

fisiológicas, concentración plasmática o sérica ideal para desempeñar su actividad antioxidante, el tipo de radicales libres o especies reactivas generados en el proceso oxidativo, el compartimento donde fueron generados, la heterogeneidad individual, entre otras,²⁹⁴ condiciones todas que no se tuvieron en cuenta en el diseño de la investigación y que pueden resultar en discrepancias con otros estudios al valorar e interpretar los resultados.

Otro elemento a tener en cuenta es que con el uso de la terapia antioxidante prescrita no se reportaron reacciones adversas en ningún caso por lo que se considera que la dosis recomendada además de tener un efecto antioxidante en algunos marcadores, estuvo en un rango de dosificación no tóxico.

3.6 Conclusiones parciales

- La terapia antioxidante con vitaminas asociadas a modificaciones nutricionales constituyó un recurso terapéutico importante para modificar los marcadores de daño oxidativo a proteínas y concentraciones plasmática de peróxidos totales en niños con autismo primario; sin embargo, dicha terapia no logró un adecuado control de la peroxidación lipídica.
- La terapia antioxidante no fue capaz de incrementar los niveles de antioxidantes enzimáticos depuradores de ERO, fundamentalmente de la catalasa intraeritrocitaria. Los componentes del plasma para reducir las sustancias oxidadas, respondieron adecuadamente al desbalance redox. Los tioles proteicos libres en el plasma no se modificaron lo suficiente para contrarrestar la peroxidación lipídica.

3.7 Limitaciones

Hay ciertas limitaciones que deben tenerse en cuenta al interpretar los resultados. En primer lugar, el tamaño de la muestra no es suficientemente grande para generalizar los resultados, y aunque proporciona la potencia estadística necesaria para los análisis cuantitativos, algunos análisis categóricos pueden sufrir limitaciones de potencia debido al número relativamente pequeño de casos.

En segundo lugar, la terapia antioxidante utilizada se limitó a tres vitaminas (vitamina E, Vitamina C y ácido fólico), sin embargo otros autores han descrito buenos resultados con la utilización de un número superior de vitaminas y oligoelementos (cobre, zinc, selenio, magnesio, hierro, entre otras).

En tercer lugar, el diseño de la investigación se limitó a ofrecer recomendaciones nutricionales a los padres sobre frecuencias y tipo de alimento que debían o no, consumir sus hijos. Dada las características del fenotipo conductual de estos pacientes (selectividad alimentaria), se hizo muy difícil garantizar un adecuado control de los requerimientos dietéticos establecidos, lo que puede tener su influencia en los resultados y por consiguiente en la eficacia de la terapia antioxidante prescrita.

En cuarto lugar, las posibles variaciones del fenotipo conductual y de lenguaje no se evaluaron en los dos tiempos del estudio ($t_0 \dots t_1$), es decir, previo al inicio de la terapia antioxidante y al corte realizado seis meses después, dado que para ello se necesitaba de la participación de recursos humanos que no forman parte de la investigación, los casos provienen de diferentes instituciones de salud del país y la posible falta de homogeneidad en la evaluación que debía realizarse básicamente por expertos en psiquiatría infantil, psicología, logopedia y neuropediatría.

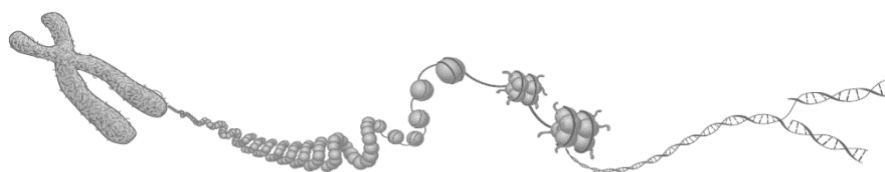
En quinto lugar, no hubo control sobre la dieta recomendada ni se cuantificaron los niveles séricos de las vitaminas utilizadas, ni de otras sustancias endógenas como transferrina y ceruloplasmina, en un antes y un después, y de esta forma determinar si la prescripción realizada en el asesoramiento genético tenía acción antioxidante.

En sexto y último lugar, se demostraron cambios en la concentración de marcadores de estrés oxidativo en la sangre periférica de niños con autismo, pero se desconoce en qué medida las mediciones periféricas reflejan la actividad del estrés oxidativo a nivel cerebral. Las muestras de líquido cefalorraquídeo pueden ser útiles para comprender mejor el posible papel causal del desbalance redox en este trastorno, aunque éticamente es prácticamente imposible obtener muestras de líquido cefalorraquídeo de pacientes pediátricos con estos fines.

3.8. Otras consideraciones

Como resultado de la investigación, se realizó un algoritmo de trabajo del procedimiento seguido para el diagnóstico, clasificación, evaluación y toma de conductas con pacientes que asisten a consultas de genética clínica referidos de las consultas multidisciplinarias con autismo primario, lo que permite ofrecer un mejor asesoramiento genético a familiares de los afectados (Anexo 31); a la vez que se incluyen dentro de los anexos documentos que son de interés en la práctica clínica, como son los fundamentos para la estimación del riesgo de recurrencia en familiares de individuos afectados (Anexo 32). También se detallan un grupo de orientaciones para estimular el neurodesarrollo en niños con trastornos generalizados del desarrollo, que incluyen actividades para estimular conductas positivas, la comunicación, las relaciones sociales, desarrollar la actividad intelectual y la independencia (Anexo 33).

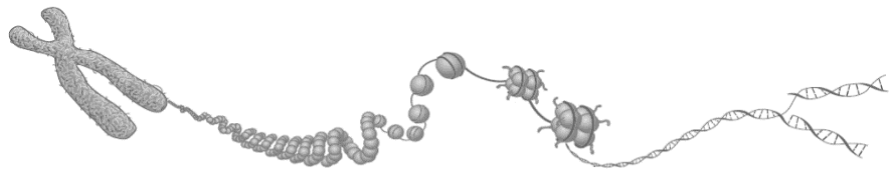
CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

1. Los antecedentes de enfermedades heredofamiliares neuropsiquiátricas, de avanzada edad de los padres en el momento de la concepción, y de factores ambientales prenatales y perinatales relacionados con eventos hipoxémicos, constituyeron factores de riesgo para el autismo primario en la muestra de niños cubanos estudiados.
2. El aporte de los factores genéticos y ambientales en el autismo primario fue muy heterogéneo y varió según los casos, estableciéndose que algunos de ellos tenían mayor magnitud en esa contribución.
3. La presencia de rasgos dismórficos como resultados de eventos prenatales de naturaleza inespecífica fueron frecuentes en niños con autismo primario. Se describieron dismorfias en todas las regiones anatómicas del cuerpo y en especial el excesivo crecimiento cefálico postnatal, el cual resultó el hallazgo más significativamente relacionado con dicho trastorno.
4. La terapia antioxidante recomendada durante el asesoramiento genético, no logró un adecuado balance redox en niños con autismo primario, en especial, de los marcadores vinculados con el proceso de peroxidación lipídica. Tampoco logró una adecuada respuesta de los sistemas depuradores de ERO.

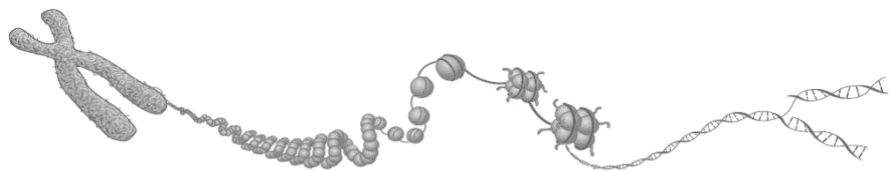
RECOMENDACIONES



RECOMENDACIONES

1. Proponer a la Red Nacional de Genética Médica continuar la investigación con la secuenciación de paneles de genes involucrados en la patogenia del autismo primario que podrían estar presentes en los casos cubanos y ofrecerlo en la práctica asistencial como una herramienta para identificar individuos en riesgo y así adoptar medidas preventivas y estrategias terapéuticas personalizadas.
2. Proponer a la Red Nacional de Genética Médica un algoritmo de trabajo para los pacientes con diagnóstico de autismo y recomendaciones útiles en el asesoramiento genético que deben ser personalizadas en cada caso (Anexos 31-33).
3. Proponer a la Red Nacional de Genética Médica continuar la investigación con un estudio cuasiexperimental de estrategia longitudinal para evaluar impacto en el estado redox y clínico (neuroconductual y psicolingüístico) de individuos con autismo primario que utilicen una terapia antioxidante.
4. Proponer a la industria alimentaria de Cuba la elaboración de productos bajos en gluten y caseína, con los requerimientos nutricionales adecuados para los niños con autismo primario que les permita mejorar los indicadores de estrés oxidativo y de forma general su estado de salud integral.
5. Proponer a la industria farmacéutica cubana realizar un ensayo clínico con una formulación oral para uso pediátrico en concentraciones antioxidante que puedan ser utilizadas en terapias a niños autistas con estrés oxidativo alterado. Se debe considerar que contengan vitaminas (vitamina A, C, D, E, biotina, B6, B12, ácido folínico), minerales (zinc, cobre, magnesio, selenio, hierro), L-carnitina, ácidos grasos omega 3 y 6.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5 - ed. Washington DC: American Psychiatric Association; 2013.
Disponible en:
https://www.appi.org/Diagnostic_and_Statistical_Manual_of_Mental_Disorders_DSM5_Fifth_Edition
2. Wiśniowiecka Kowalik B, Nowakowska BA. Genetics and epigenetics of autism spectrum disorder current evidence in the field. J Appl Genet. 2019;60(1):3747. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s1335301800480w>
3. Baio J, Wiggins L, Christensen DL, Maenner MJ, Daniels J, Warren Z, Kurzius Spencer M, Zahorodny W, Robinson Rosenberg C, White T, et al. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2014. MMWR Surveill Summ. 2018;67:1–23. Disponible en:
<https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6706a1>
4. de la Torre Ubieta L, Won H, Stein JL, Geschwind DH. Advancing the understanding of autism disease mechanisms through genetics. Nat Med. 2016; 22(4): 345–361. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nm.4071>
5. Hawks ZW, Constantino JN. Neuropsychiatric "comorbidity" as causal influence in autism. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 2020;59(2):229235. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2019.07.008>
6. Tye C, Runicles AK, Whitehouse AJO, Alvares GA. Characterizing the interplay between autism spectrum disorder and comorbid medical conditions: an integrative review. Front Psychiatry. 2018;9:751. Disponible en:
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00751>

7. Rosen TE, Mazefsky CA, Vasa RA, Lerner MD. Co-occurring psychiatric conditions in autism spectrum disorder. *Int Rev Psychiatry*. 2018;30(1):4061. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/09540261.2018.1450229>
8. Pan PY, Tammimies K, Bölte S. The association between somatic health, autism spectrum disorder, and autistic traits. *Behav Genet*. 2020;50(4):233246. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10519019099863>
9. Isaksson J, Pettersson E, Kostrzewa E, Diaz Heijt R, Bölte S. Brief report: association between autism spectrum disorder, gastrointestinal problems and perinatal risk factors within sibling pairs. *J Autism Dev Disord*. 2017;47(8):26212627. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s1080301731692>
10. Organización Mundial de la Salud. *Autism*. Ginebra: OMS; 2022. Disponible en: <https://www.who.int/newsroom/factsheets/detail/autismspectrumdisorders>
11. Maenner MJ, Shaw KA, Baio J, Washington A, Patrick M, Di Rienzo M, et al. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years — autism and developmental disabilities monitoring Network, 11 sites, United States, 2016. *MMWR Surveill Summ*. 2020; 69(4): 1–12. Disponible en: <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6904a1>
12. Lai MC, Lerch JP, Floris DL, Ruigrok AN, Pohl A, Lombardo MV, et al. Imaging sex/gender and autism in the brain: etiological implications. *J Neurosci Res*. 2017;95:380–397. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jnr.23948>
13. Zeidan J, Fombonne E, Scora J, Ibrahim A, Durkin MS, Saxena S, et al. Global prevalence of autism: A systematic review update. *Autism Res*. 2022;15(5):778790. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/aur.2696>
14. Colectivo de autores. *Por la vida. Estudio psicosocial de las personas con discapacidades y estudio psicopedagógico, social, clínico genético de las personas con retraso mental en Cuba*. Editorial Abril, La Habana, 2003.

15. Choi L, An JY. Genetic architecture of autism spectrum disorder: Lessons from large scale genomic studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;128:244257. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.028>
16. Lord C, Elsabbagh M, Baird G, Veenstra Vanderweele J. Autism spectrum disorder. *Lancet.* 2018;392:508–520. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S01406736\(18\)311292](https://doi.org/10.1016/S01406736(18)311292)
17. Yip BHK, Bai D, Mahjani B, Klei L, Pawitan Y, Hultman CM. Heritable variation, with little or no maternal effect, accounts for recurrence risk to autism spectrum disorder in Sweden. *Biol Psychiatry.* 2018;83(7):589597. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.09.007>
18. Xie S, Karlsson H, Dalman C, Widman L, Rai D, Gardner RM, et al. The familial risk of autism spectrum disorder with and without intellectual disability. *Autism Res.* 2020;13(12):22422250. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/aur.2417>
19. Mehra C, Sil A, Hedderly T, Kyriakopoulos M, Lim M, Turnbull J, et al. Childhood disintegrative disorder and autism spectrum disorder: a systematic review. *Dev Med Child Neurol.* 2019;61(5):523534. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/dmcn.14126>
20. Taylor MJ, Rosenqvist MA, Larsson H, Gillberg C, D' Onofrio BM, Lichtenstein P, et al. Etiology of autism spectrum disorders and autistic traits over time. *JAMA Psychiatry.* 2020;77(9):936943. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2020.0680>
21. de Zeeuw EL, van Beijsterveldt CEM, Hoekstra RA, Bartels M, Boomsma DI. The etiology of autistic traits in preschoolers: a population based twin study. *J Child Psychol Psychiatry.* 2017;58(8):893901. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jcpp.12741>
22. Siu MT, Weksberg R. Epigenetics of autism spectrum disorder. *Adv Exp Med Biol.* 2017;978:6390. Disponible en: https://doi.org/10.1007/9783319538891_4

23. Hamza M, Halayem S, Mrad R, Bourgou S, Charfi F, Belhadj A. Epigenetics' implication in autism spectrum disorders: A review. *Encephale*. 2017;43(4):374381. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.encep.2016.07.007>
24. Tordjman S, Somogyi E, Coulon N, Kermarrec S, Cohen D, Bronsard G, et al. Gene × Environment interactions in autism spectrum disorders: role of epigenetic mechanisms. *Front Psychiatry*. 2014;5:53. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2014.00053>
25. Huguet G, Benabou M, Bourgeron T, SassoneCorsi P, Christen Y. The genetics of autism spectrum disorders. In: *A Time for Metabolism and Hormones* [Internet]. Cham (CH): Springer; 2016. Disponible en: https://doi.org/10.1007/9783319270692_11
26. Hashem S, Nisar S, Bhat AA, Yadav SK, Azeem MW, Bagga P, et al. Genetics of structural and functional brain changes in autism spectrum disorder. *Transl Psychiatry*. 2020;10(1):229. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41398020009213>
27. Ozgen H, Hellemann GS, Stellato RK, Lahuis B, van Daalen E, Staal WG, et al. Morphological features in children with autism spectrum disorders: a matched case-control study. *J Autism Dev Disord*. 2011;41(1):2331. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s1080301010187>
28. Timonen Soivio L, Vanhala R, Malm H, Leivonen S, Jokiranta E, Hinkka Yli Salomäki S, et al. The association between congenital anomalies and autism spectrum disorders in a Finnish national birth cohort. *Dev Med Child Neurol*. 2015;57(1):7580. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/dmcn.12581>
29. Burke SL, Cobb J, Agarwal R, Maddux M, Cooke MS. How Robust is the Evidence for a Role of Oxidative Stress in Autism Spectrum Disorders and Intellectual Disabilities? *J Autism Dev Disord*. 2021;51(5): 1428–1445. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10803020046113>

30. Liu Z, Zhou T, Ziegler AC, Dimitrion P, Zuo L. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: From molecular mechanisms to clinical applications. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017: 2525967. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2017/2525967>
31. Manivasagam T, Arunadevi S, Essa MM, SaravanaBabu C, Borah A, Thenmozhi AJ, et al. Role of oxidative stress and antioxidants in autism. *Adv Neurobiol*. 2020;24:193206. Disponible en: https://doi.org/10.1007/9783030304027_7
32. Quintana Hernández D. Enfoque clínicogenético para el estudio de pacientes con trastornos en el desarrollo del lenguaje. [Tesis]. La Habana: Universidad de Ciencias Médicas de la Habana; 2010.
33. Reynoso C, Rangel MJ, Melgar V. El trastorno del espectro autista: aspectos etiológicos, diagnósticos y terapéuticos. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2017;55(2),214-22. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2017/im172n.pdf>
34. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child*. 1943;2:217–250.
35. Wing L. Language, social, and cognitive impairments in autism and severe mental retardation. *J Autism Dev Disord*. 1981;11(1):31-44. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/BF01531339>
36. Frith U. A new look at language and communication in autism. *Br J Disord Commun*. 1989;24(2):123-50. Disponible en: <https://doi.org/10.3109/13682828909011952>
37. Czermainski F, Riesgo R, Pinto L, Fumagalli de Salles J, Alves C. Executive functions in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Paidéia*. 2014;24(57):87-94. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/1982-43272457201411>

38. Presmanes Hill A, Zuckerman K, Fombonne E. Epidemiology of autism spectrum disorders. In: Robinson-Agramonte M. (eds) *Translational Approaches to Autism Spectrum Disorder*. 2015. Springer, Cham. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-319-16321-5_2
39. Marín FA, Alonso Y, Yturralde SM. Prevalencia de los trastornos del espectro autista: revisión de datos. *Siglo Cero*. 2017;47(4),7-26. Disponible en: <https://doi.org/10.14201/scero2016474726>
40. Artigas Pallarés J, Gabau Vila E, Guitart Feliubadaló M. El autismo sindrómico: I. Aspectos generales. *Rev Neurol* 2005;40 (Supl 1):S143S149. Disponible en: <https://doi.org/10.33588/rn.40S01.2005072>
41. Balbuena F. Etiología del autismo: el continuo idiopático sindrómico como tentativa explicativa. *Rev chil neuropsiquiatr*. 2015;53(4):269276 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S071792272015000400007>
42. Ruiz Lázaro PM, Posada de la Paz M, Hijano Bandera F. Trastornos del espectro autista: Detección precoz, herramientas de cribado. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2009;11(Suppl 17):381397. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113976322009000700009&lng=es
43. Carrascón Carabantes C. Señales de alerta de los trastornos del espectro autista. En: AEPap (ed). *Congreso de Actualización Pediatría 2019*. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2019. p. 333336.
44. World Health Organization. *International classification of diseases for mortality and morbidity statistics (11th Revision)*. WHO, 2018. Disponible en: <https://icd.who.int/browse11/lm/en>
45. Lord C, Cook EH, Leventhal BL, Amaral DG. Autism spectrum disorders. *Neuron*. 2000;28(2):355-63. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)00115-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)00115-x)

46. Lord C, Rutter M, Le Couteur A. Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord*. 1994;24(5):659-85. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/BF02172145>
47. Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism DevDisord* 1980; 10: 91–103. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/BF02408436>
48. Bo Olsson. Autistic traits in the Rett syndrome. *Brain & Development*. 1987;9(5):491-498. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0387-7604\(87\)80071-2](https://doi.org/10.1016/S0387-7604(87)80071-2)
49. Posar A, Visconti P. Actualización en los trastornos del espectro del autismo. *Revista de toxicomanías*. 2017;80:3-13. Disponible en: https://www.cat-barcelona.com/uploads/rets/RET_80_trastornos_del_autismo.pdf
50. Fernandez BA, Scherer SW. Syndromic autism spectrum disorders: moving from a clinically defined to a molecularly defined approach. *Dialogues Clin Neurosci*. 2017;19(4):353371. Disponible en: <https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.4/sscherer>
51. Taylor MJ, Rosenqvist MA, Larsson H, Gillberg C, D'Onofrio BM, Lichtenstein P, et al. Etiology of autism spectrum disorders and autistic traits over time. *JAMA Psychiatry*. 2020;77(9):936943. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2020.0680>
52. de Zeeuw EL, van Beijsterveldt CEM, Hoekstra RA, Bartels M, Boomsma DI. The etiology of autistic traits in preschoolers: a population based twin study. *J Child Psychol Psychiatry*. 2017;58(8):893901. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jcpp.12741>

53. Freitag CM. Genetic findings in autism spectrum disorders. *Nervenarzt*. 2017;88(7):760764. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s001150170351x>
54. Ramaswami G, Geschwind DH. Genetics of autism spectrum disorder. *Handb Clin Neurol*. 2018;147:321329. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B9780444632333.00021X>
55. Chang YS, Lin CY, Huang HY, Chang JG, Kuo HT. Chromosomal microarray and whole exome sequence analysis in Taiwanese patients with autism spectrum disorder. *Mol Genet Genomic Med*. 2019;7(12):e996. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/mgg3.996>
56. Almandil NB, Alkuroud DN, Abdul Azeez S, Al Sulaiman A, Elaissari A, Borgio F. Environmental and genetic factors in autism spectrum disorders: special emphasis on data from Arabian studies. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16:658; Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijerph16040658>
57. Díaz Anzaldúa A, Díaz Martínez A. Contribución genética, ambiental y epigenética en la susceptibilidad a los trastornos del espectro autista. *Rev Neurol* 2013; 57: 55668. Disponible en: <https://www.neurologia.com/pdf/5712/bk120556.pdf>
58. Vorstman JA, Staal WG, van Daalen E, van Engeland H, Hochstenbach PF, Franke L. Identification of novel autism candidate regions through analysis of reported cytogenetic abnormalities associated with autism. *Mol Psychiatry*. 2006;11(1):1, 1828. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001781>
59. Reilly J, Gallagher L, Chen JL, Leader G, Shen S. Biocollections in autism research. *Mol Autism*. 2017;8:34. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1322901701548>
60. Muller CL, Anacker AMJ, Veenstra Vander Weele J. The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to animal models. *Neuroscience*. 2016;321:2441. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.010>

61. Shailesh H, Gupta I, Sif S, Ouhtit A. Towards understanding the genetics of Autism. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2016 Jun 1;8:41226.
<https://doi.org/10.2741/e776>
62. Vicari S, Napoli E, Cordeddu V, Menghini D, Alesi V, Loddo S. Copy number variants in autism spectrum disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;92:421427. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.02.012>
63. Woodbury Smith M, Zarrei M, Wei J, Thiruvahindrapuram B, O'Connor I, Paterson AD, et al. Segregating patterns of copy number variations in extended autism spectrum disorder (ASD) pedigrees. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2020;183(5):268276. Disponible en:
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32785>
64. Woodbury Smith M, Paterson AD, O'Connor I, Zarrei M, Yuen RKC, Howe JL, et al. A genome wide linkage study of autism spectrum disorder and the broad autism phenotype in extended pedigrees. *J Neurodev Disord*. 2018;10(1):20.
Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1168901892389>
65. Doelken SC, Köhler S, Mungall CJ, Gkoutos GV, Ruef BJ, Smith C, et al. Phenotypic overlap in the contribution of individual genes to CNV pathogenicity revealed by cross species computational analysis of single gene mutations in humans, mice and zebrafish. *Dis Model Mech*. 2013;6(2):35872. Disponible en:
<https://doi.org/10.1242/dmm.010322>
66. Cafiero PJ, Gómez de la Fuente I, Napoli S, Vitale P, Rodríguez E. Estudio de riesgo de recurrencia de Trastorno del Espectro Autista (TEA) en hermanos de niños con diagnóstico de TEA. *Medicina Infantil*. 2019;XXVI(1):59. Disponible en:
<https://www.medicinainfantil.org.ar/index.php/2019volumenxxvi/535estudioderiesgoderrecurrenciadetrastornodelespectroautistateaenhermanosdeninoscondiagnosticodeatea>

67. An JY, Claudianos C. Genetic heterogeneity in autism: From single gene to a pathway perspective. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016;68:442453. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.06.013>
68. Searles Quick VB, Wang B, State MW. Leveraging large genomic datasets to illuminate the pathobiology of autism spectrum disorders. *Neuropsychopharmacology.* 2021; 46(1):55–69. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s413860200768y>
69. Iossifov I, Ronemus M, Levy D, Wang Z, Hakker I, Rosenbaum J, et al. De novo gene disruptions in children on the autistic spectrum. *Neuron.* 2012;74(2):28599. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.009>
70. Sener EF, Canatan H, Ozkul Y. Recent advances in autism spectrum disorders: applications of whole exome sequencing technology. *Psychiatry Investig.* 2016;13(3):25564. Disponible en: <https://doi.org/10.4306/pi.2016.13.3.255>
71. AlMubarak B, Abouelhoda M, Omar A, AlDhalaan H, Aldosari M, Nester M, et al. Whole exome sequencing reveals inherited and de novo variants in autism spectrum disorder: a trio study from Saudi families. *Sci Rep.* 2017;7(1):5679. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598017060331>
72. O'Roak BJ, Deriziotis P, Lee C, Vives L, Schwartz JJ, Girirajan S, et al. Exome sequencing in sporadic autism spectrum disorders identifies severe de novo mutations. *Nat Genet.* 2011;43(6):5859. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ng.835>
73. Hurley S, Mohan C, Suetterlin P, Ellingford R, Riegman KLH, Ellegood J, et al. Distinct, dosage sensitive requirements for the autism associated factor CHD8 during cortical development. *Mol Autism.* 2021;12(1):16. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13229020004093>
74. Kruth KA, Grisolano TM, Ahern CA, Williams AJ. SCN2A channelopathies in the autism spectrum of neuropsychiatric disorders: a role for pluripotent stem

cells? *Mol Autism*. 2020;11(1):23. Disponible en:

<https://doi.org/10.1186/s13229020003309>

75. Bi C, Wu J, Jiang T, Liu Q, Cai W, Yu P, et al. Mutations of ANK3 identified by exome sequencing are associated with autism susceptibility. *Hum Mutat*. 2012;33(12):16358. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/humu.22174>
76. D'Gama AM. Somatic Mosaicism and Autism Spectrum Disorder. *Genes (Basel)*. 2021;12(11):1699. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/genes12111699>
77. Dias CM, Walsh CA. Recent Advances in Understanding the Genetic Architecture of Autism. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2020;21:289304. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurevgenom121219082309>
78. Freed D, Pevsner J. The contribution of mosaic variants to autism spectrum disorder. *PLoS Genet*. 2016;12(9):e1006245. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006245>
79. Garcia-Oscos F, Koch TMI, Pancholi H, Trusel M, Daliparthi V, Co M, Park SE, et al. Autism-linked gene FoxP1 selectively regulates the cultural transmission of learned vocalizations. *Sci Adv*. 2021;7(6):eabd2827. Disponible en: doi: <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd2827>
80. Fernandez BA, Scherer SW. Syndromic autism spectrum disorders: moving from a clinically defined to a molecularly defined approach. *Dialogues Clin Neurosci*. 2017; 19(4):353–371. Disponible en: <https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.4/sscherer>
81. Yoo H. Genetics of Autism Spectrum Disorder: Current Status and Possible Clinical Applications. *Exp Neurobiol*. 2015;24(4):257–272. Disponible en: <https://doi.org/10.5607/en.2015.24.4.257>

82. Rylaarsdam L, GuemezGamboa A. Genetic Causes and Modifiers of Autism Spectrum Disorder. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:385. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00385>
83. Gilbert J, Man HY. Fundamental elements in autism: from neurogenesis and neurite growth to synaptic plasticity. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:359. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00359>
84. Ronan JL, Wu W, Crabtree GR. From neural development to cognition: unexpected roles for chromatin. *Nat Rev Genet.* 2013;14(5):34759. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrg3413>
85. Cotney J, Muhle RA, Sanders SJ, Liu L, Willsey AJ, Niu W, et al. The autism associated chromatin modifier CHD8 regulates other autism risk genes during human neurodevelopment. *Nat Commun.* 2015;6:6404. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ncomms7404>
86. Siu MT, Butcher DT, Turinsky AL, Cytrynbaum C, Stavropoulos DJ, Walker S, et al. Functional DNA methylation signatures for autism spectrum disorder genomic risk loci: 16p11.2 deletions and CHD8 variants. *Clin Epigenetics.* 2019;11(1):103. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1314801906843>
87. Ebert DH, Greenberg ME. Activity dependent neuronal signalling and autism spectrum disorder. *Nature.* 2013;493(7432):32737. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nature11860>
88. Voineagu I, Wang X, Johnston P, Lowe JK, Tian Y, Horvath S, et al. Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature.* 2011;474(7351):3804. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nature10110>
89. Ng M, de Montigny JG, Ofner M, Do MT. Environmental factors associated with autism spectrum disorder: a scoping review for the years 2003-2013. *Health Promot Chronic Dis Prev Can.* 2017;37(1):123. Disponible en: <https://doi.org/10.24095/hpcdp.37.1.01>

90. Kobayashi T, Matsuyama T, Takeuchi M, Ito S. Autism spectrum disorder and prenatal exposure to selective serotonin reuptake inhibitors: a systematic review and metaanalysis. *Reprod Toxicol.* 2016;65:170–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.07.016>
91. Boukhris T, Sheehy O, Mottron L, Berard A. Antidepressant use during pregnancy and the risk of autism spectrum disorder in children. *JAMA Pediatr.* 2016;170(2):11724. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2015.3356>
92. Stadelmaier R, Nasri H, Deutsch CK, Bauman M, Hunt A, Stodgell CJ, et al. Exposure to Sodium Valproate during Pregnancy: Facial Features and Signs of Autism. *Birth Defects Res.* 2017;109(14):11341143. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/bdr2.1052>
93. Bauer AZ, Kriebel D, Herbert MR, Bornehag CG, Swan SH. Prenatal paracetamol exposure and child neurodevelopment: A review. *Horm Behav.* 2018;101:125147. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.01.003>
94. Bölte S, Girdler S, Marschik PB. The contribution of environmental exposure to the etiology of autism spectrum disorder. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(7):12751297. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s0001801829884>
95. Wu S, Wu F, Ding Y, Hou J, Bi J, Zhang Z. Advanced parental age and autism risk in children: a systematic review and metaanalysis. *Acta Psychiatr Scand.* 2017;135(1):2941. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/acps.12666>
96. Halvaei I, Litzky J, Esfandiari N. Advanced paternal age: effects on sperm parameters, assisted reproduction outcomes and offspring health. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):110. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1295802000668y>
97. Yassin W, Kojima M, Owada K, Kuwabara H, Gonoj W, Aoki Y, et al. Paternal age contribution to brain white matter aberrations in autism spectrum disorder.

Psychiatry Clin Neurosci. 2019;73(10):649659. Disponible en:

<https://doi.org/10.1111/pcn.12909>

98. Kojima M, Yassin W, Owada K, Aoki Y, Kuwabara H, Natsubori T, et al. Neuroanatomical correlates of advanced paternal and maternal age at birth in autism spectrum disorder. *Cereb Cortex*. 2019;29(6):25242532. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy122>
99. Jiang HY, Xu LL, Shao L, Xia RM, Yu ZH, Ling ZX, et al. Maternal infection during pregnancy and risk of autism spectrum disorders: a systematic review and metaanalysis. *Brain Behav Immun*. 2016;58:165–72. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.06.00>
100. HertzPicciotto I, Schmidt RJ, Krakowiak P. Understanding environmental contributions to autism: Causal concepts and the state of science. *Autism Res*. 2018;11(4):554586. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/aur.1938>
101. Armaly Z, Jadaon JE, Jabbour A, Abassi ZA. Preeclampsia: novel mechanisms and potential therapeutic approaches. *Front Physiol*. 2018;9:973. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00973>
102. Karimi P, Kamali E, Mousavi SM, Karahmadi M. Environmental factors influencing the risk of autism. *J Res Med Sci*. 2017;22:27. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/1735-1995.200272>
103. Maher GM, O'Keeffe GW, Kearney PM, Kenny LC, Dinan TG, Mattsson M, et al. Association of hypertensive disorders of pregnancy with risk of neurodevelopmental disorders in offspring: a systematic review and metaanalysis. *JAMA Psychiatry*. 2018;75(8):809819. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.0854>
104. Sanchez CE, Barry C, Sabhlok A, Russell K, Majors A, Kollins SH, et al. Maternal prepregnancy obesity and child neurodevelopmental outcomes: a

- metaanalysis. *Obes Rev.* 2018;19(4):464484. Disponible en:
<https://doi.org/10.1111/obr.12643>
105. Contu L, Hawkes CA. A review of the impact of maternal obesity on the cognitive function and mental health of the offspring. *Int J Mol Sci.* 2017;18(5):1093. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms18051093>
106. Edlow AG. Maternal obesity and neurodevelopmental and psychiatric disorders in offspring. *Prenat Diagn.* 2017;37(1):95110. Disponible en:
<https://doi.org/10.1002/pd.4932>
107. Li M, Fallin MD, Riley A, Landa R, Walker SO, Silverstein M, et al. The association of maternal obesity and diabetes with autism and other developmental disabilities. *Pediatrics.* 2016;137(2):e20152206. Disponible en:
<https://doi.org/10.1542/peds.20152206>
108. Wan H, Zhang C, Li H, Luan S, Liu C. Association of maternal diabetes with autism spectrum disorders in offspring: A systemic review and metaanalysis. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(2):e9438. Disponible en:
<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000009438>
109. Maeyama K, Tomioka K, Nagase H, Yoshioka M, Takagi Y, Kato T, et al. Congenital cytomegalovirus infection in children with autism spectrum disorder: systematic review and metaanalysis. *J Autism Dev Disord.* 2018;48(5):14831491. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s108030173412x>
110. Chen S, Zhao S, Dalman C, Karlsson H, Gardner R. Association of maternal diabetes with neurodevelopmental disorders: autism spectrum disorders, attention deficit/hyperactivity disorder and intellectual disability. *Int J Epidemiol.* 2021;50(2):459474. Disponible en:
<https://doi.org/10.1093/ije/dyaa212>
111. Carpita B, Muti D, Dell'Osso L. Oxidative stress, maternal diabetes, and autism spectrum disorders. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:3717215. Disponible en:
<https://doi.org/10.1155/2018/3717215>

112. Chen S W, Zhong XS, Jiang LN, Zheng XY, Xiong YQ, Ma SJ, et al. Maternal autoimmune diseases and the risk of autism spectrum disorders in offspring: a systematic review and metaanalysis. *Behav. Brain Res.* 2016;296,61–69.
Disponibile en: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.08.035>
113. Ozonoff S, Hansen RL, Hertz Picciotto I. Maternal metabolic conditions and risk for autism and other neurodevelopmental disorders. *Pediatrics.* 2012;129(5):e11218. Disponibile en: <https://doi.org/10.1542/peds.20112583>
114. Xiang AH, Wang X, Martinez MP, Page K, Buchanan TA, Feldman RK. Maternal type 1 diabetes and risk of autism in offspring. *JAMA.* 2018;320(1):8991. Disponibile en: <https://doi.org/10.1001/jama.2018.7614>
115. Xiang AH. Association of maternal diabetes with autism in offspring. *JAMA.* 2017;317(5):537538. Disponibile en: <https://doi.org/10.1001/jama.2016.20122>
116. Ratsep MT, Paolozza A, Hickman AF, Maser B, Kay VR, Mohammad S, et al. Brain structural and vascular anatomy is altered in offspring of preeclamptic pregnancies: a pilot study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2016;37,939–945.
Disponibile en: <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4640>
117. Guinchat V, Thorsen P, Laurent C, Cans C, Bodeau N, Cohen D. Pre, peri and neonatal risk factors for autism. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012;91(3):287300. Disponibile en:
<https://doi.org/10.1111/j.16000412.2011.01325.x>
118. Abbott PW, Gumusoglu SB, Bittle J, Beversdorf DQ, Stevens HE. Prenatal stress and genetic risk: How prenatal stress interacts with genetics to alter risk for psychiatric illness. *Psychoneuroendocrinology.* 2018;90:921. Disponibile en:
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.01.019>
119. Van den Bergh BRH, van den Heuvel MI, Lahti M, Braeken M, de Rooij SR, Entringer S, et al. Prenatal developmental origins of behavior and mental health:

The influence of maternal stress in pregnancy. *Neurosci Biobehav Rev.* 2020;117:2664. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.07.003>

120. Pohl AL, Crockford SK, Blakemore M, Allison C, BaronCohen S. A comparative study of autistic and non-autistic women's experience of motherhood. *Mol Autism.* 2020;11(1):3. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1322901903042>
121. Daniels JL, Forssen U, Hultman CM, Cnattingius S, Savitz DA, Feychting M, et al. Parental psychiatric disorders associated with autism spectrum disorders in the offspring. *Pediatrics.* 2008;121(5):e135762. Disponible en: <https://doi.org/10.1542/peds.20072296>
122. Persson M, Opdahl S, Risnes K, Gross R, Kajantie E, Reichenberg A, et al. Gestational age and the risk of autism spectrum disorder in Sweden, Finland, and Norway: a cohort study. *PLoS Med.* 2020;17(9):e1003207. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003207>
123. Modabbernia A, Velthorst E, Reichenberg A. Environmental risk factors for autism: an evidencebased review of systematic reviews and metaanalyses. *Mol Autism.* 2017;8:13. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1322901701214>
124. Gilbert J, Man HY. Fundamental elements in autism: from neurogenesis and neurite growth to synaptic plasticity. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:359. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00359>
125. Lechpammer M, Wintermark P, Merry KM, Jackson MC, Jantzie LL, Jensen FE. Dysregulation of FMRP/mTOR signaling cascade in hypoxicischemic injury of premature human brain. *J Child Neurol.* 2016;31(4):42632. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0883073815596617>

126. Schiele MA, Domschke K. Epigenetics at the crossroads between genes, environment and resilience in anxiety disorders. *Genes Brain Behav.* 2018;17(3):e12423. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/gbb.12423>
127. Duffney LJ, Valdez P, Tremblay MW, Cao X, Montgomery S, McConkie Rosell A, et al. Epigenetics and autism spectrum disorder: A report of an autism case with mutation in H1 linker histone HIST1H1E and literature review. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2018;177(4):426433. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32631>
128. Andrews SV, Sheppard B, Windham GC, Schieve LA, Schendel DE, Croen LA, et al. Case-control metaanalysis of blood DNA methylation and autism spectrum disorder. *Mol Autism.* 2018;9:40. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1322901802246>
129. Ellis SE, Gupta S, Moes A, West AB, Arking DE. Exaggerated CpH methylation in the autism affected brain. *Mol Autism.* 2017;8:6. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s132290170119y>
130. Vogel Ciernia A, Careaga M, LaSalle JM, Ashwood P. Microglia from offspring of dams with allergic asthma exhibit epigenomic alterations in genes dysregulated in autism. *Glia.* 2018;66(3):505521. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/glia.23261>
131. Fregeac J, Colleaux L, Nguyen LS. The emerging roles of MicroRNAs in autism spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016;71:729738. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.10.018>
132. Wu YE, Parikshak NN, Belgard G, Geschwind DH. Genome wide, integrative analysis implicates microRNA dysregulation in autism spectrum disorder. *Nat Neurosci.* 2016;19(11):1463–1476. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nn.4373>

133. Wu X, Li W, Zheng Y. Recent Progress on Relevant microRNAs in Autism Spectrum Disorders. *Int J Mol Sci.* 2020;21(16):5904. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms21165904>
134. Kichukova TM, Popov NT, Ivanov IS, Vachev TI. Profiling of circulating serum microRNAs in children with autism spectrum disorder using stem loop qRT-PCR assay. *Folia Med (Plovdiv)* 2017;59:43–52. Disponible en: <https://doi.org/10.1515/folmed20170009>
135. Kichukova T, Petrov V, Popov N, Minchev D, Naimov S, Minkov I, et al. Identification of serum microRNA signatures associated with autism spectrum disorder as promising candidate biomarkers. *Heliyon.* 2021;7(7):e07462. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07462>
136. Bjørklund G, Meguid NA, ElBana MA, Tinkov AA, Saad K, Dadar M, et al. Oxidative stress in autism spectrum disorder. *Mol Neurobiol.* 2020;57(5):23142332. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12035019017422>
137. Doenya C. Potential role of epigenetics and Redox signaling in the gut-brain communication and the case of autism spectrum disorder. *Cell Mol Neurobiol.* 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10571021011673>
138. Meguid NA, Ghazlan SAS, Mohamed MF, Ibrahim MK, Dawood RM, Din NGBE, et al. Expression of reactive oxygen species related transcripts in Egyptian children with autism. *Biomark Insights.* 2017;12:1177271917691035. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1177271917691035>
139. Carrasco M, Salazar C, Tiznado W, Ruiz LM. Alterations of mitochondrial biology in the oral mucosa of Chilean children with autism spectrum disorder (ASD). *Cells.* 2019;8(4):367. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cells8040367>

140. Nadeem A, Ahmad SF, Attia SM, AlAyadhi LY, Bakheet SA, AlHarbi NO. Oxidative and inflammatory mediators are up regulated in neutrophils of autistic children: Role of IL17A receptor signaling. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;90:204211. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.12.002>
141. Georgieva E, Ivanova D, Zhelev Z, Bakalova R, Gulubova M, Aoki I. Mitochondrial Dysfunction and Redox Imbalance as a Diagnostic Marker of “Free Radical Diseases”. *Anticancer Res*. 2017;37. Disponible en: <https://doi.org/10.21873/anticancer.11963>
142. Pangrazzi L, Balasco L, Bozzi Y. Oxidative stress and immune system dysfunction in autism spectrum disorders. *Int J Mol Sci*. 2020;21(9):3293. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms21093293>
143. Popa Wagner A, Mitran S, Sivanesan S, Chang E, Buga AM. ROS and brain diseases: the good, the bad, and the ugly. *Oxidative Med Cell Longev*. 2013;2013:1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2013/963520>
144. Balachandar V, Rajagopalan K, Jayaramayya K, Jeevanandam M, Iyer M. Mitochondrial dysfunction: A hidden trigger of autism? *Genes Dis*. 2021 Sep; 8(5): 629–639. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.07.002>
145. Pangrazzi L, Balasco L, Bozzi Y. Natural antioxidants: a novel therapeutic approach to autism spectrum disorders? *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(12):1186. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antiox9121186>
146. Cupertino MC, Resende MB, Veloso IF, Carvalho CA, Duarte VF, Ramos GA. Transtorno do espectro autista: uma revisão sistemática sobre aspectos nutricionais e eixo intestino-cérebro. *ABCS Health Sci*. 2019; 44(2):120130. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.7322/abcshs.v44i2.1167>

147. Wang C, Geng H, Liu W, Zhang G. Prenatal, perinatal, and postnatal factors associated with autism: A metaanalysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(18):e6696. Disponible en:
<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006696>
148. Arberas C, Ruggieri V. Autismo y epigenética: Un modelo de explicación para la comprensión de la génesis en los trastornos del espectro autista. *Medicina (Buenos Aires)*. 2013;73(supl 1):209. Disponible en:
<https://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol7313/supl1/2029Supl%204A%20%20OK.pdf>
149. Giangreco CA, Steele MW, Aston CE, Cummins JH, Wenger SL. A simplified six-item checklist for screening for fragile X syndrome in the pediatric population. *J Pediatr*. 1996 Oct;129(4):611-4. Disponible en:
[https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(96\)70130-0](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(96)70130-0)
150. Angkustsiri K, Krakowiak P, Moghaddam B, Wardinsky T, Gardner J, Kalamkarian N, et al. Minor physical anomalies in children with autism spectrum disorders. *Autism*. 2011;15(6):74660. Disponible en:
<https://doi.org/10.1177/1362361310397620>
151. Valdés Martín S, Gómez Vasallo A, Báez Martínez JM. *Temas de pediatría*. 2da ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2011.
152. Lyons Jones, K. Smith. *Patrones reconocibles de malformaciones humanas*. 6ta ed. Madrid: Elsevier; 2007.
153. Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. Wma.net. [citado 2022 Jun 27]. Disponible en: <https://www.wma.net/wp-content/themes/med/assets/img/icon/pdf.png>
154. Cheng H, Chang CC, Chang YC, Lee WK, Tzang RF. A pilot study: association between minor physical anomalies in childhood and future mental problems. *Psychiatry Investig*. 2014;11(3):22831. Disponible en:
<https://doi.org/10.4306/pi.2014.11.3.228>

155. Chan AJS, Engchuan W, Reuter MS, Wang Z, Thiruvahindrapuram B, Trost B, et al. Genome-wide rare variant score associates with morphological subtypes of autism spectrum disorder. *Nat Commun.* 2022 Oct 29;13(1):6463. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34112-z>
156. Bonilla M, Chaskel R. Trastorno del espectro autista. *CCAP.* 2016;15(1):19-29. Disponible en: http://chamilo.cut.edu.mx:8080/chamilo/courses/TRASTORNOYDIFICULTAD ESDEAPRENDIZAJE/document/PDF/Trastornos_del_aprendizaje/2.-Trastorno-espectro.pdf
157. Albores Gallo L, Hernández Guzmán L, Díaz Pichardo JA, Cortes Hernández B. Dificultades en la evaluación y diagnóstico del autismo. Una discusión. *Salud Mental.* 2008;31(1):3744. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/salmen/sam2008/sam081f.pdf>
158. Tripi G, Roux S, Matranga D, Maniscalco L, Glorioso P, BonnetBrilhault F, et al. Craniofacial characteristics in children with autism spectrum disorders (ASD). *J Clin Med.* 2019;8(5):641. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jcm8050641>
159. Boutrus M, Maybery MT, Alvares GA, Tan DW, Varcin KJ, Whitehouse AJO. Investigating facial phenotype in autism spectrum conditions: The importance of a hypothesis driven approach. *Autism Res.* 2017;10(12):19101918. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/aur.1824>
160. Maniscalco L, Frédérique BB, Roccella M, Matranga D, Tripi G. A Preliminary study on craniofacial characteristics associated with minor neurological dysfunctions (MNDs) in children with autism spectrum disorders (ASD). *Brain Sci.* 2020;10(8):566. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/brainsci10080566>
161. Hobert JA, Embacher R, Mester JL, Frazier TW 2nd, Eng C. Biochemical screening and PTEN mutation analysis in individuals with autism spectrum

- disorders and macrocephaly. *Eur J Hum Genet.* 2014;22(2):2736. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.114>
162. Zahedi Abghari F, Moradi Y, Akouchekian M. PTEN gene mutations in patients with macrocephaly and classic autism: A systematic review. *Med J Islam Repub Iran.* 2019;33:10. Disponible en: <https://doi.org/10.34171/mjiri.33.10>
163. Kurata H, Shirai K, Saito Y, Okazaki T, Ohno K, Oguri M, et al. Neurodevelopmental disorders in children with macrocephaly: A prevalence study and PTEN gene analysis. *Brain Dev.* 2018;40(1):3641. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2017.07.005>
164. Kaymakcalan H, Kaya İ, Cevher Binici N, Nikerel E, Özbaran B, Görkem Aksoy M, et al. Prevalence and clinical/molecular characteristics of PTEN mutations in Turkish children with autism spectrum disorders and macrocephaly. *Mol Genet Genomic Med.* 2021;9(8):e1739. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/mgg3.1739>
165. Goikolea Vives A, Stolp HB. Connecting the Neurobiology of Developmental Brain Injury: Neuronal Arborisation as a Regulator of Dysfunction and Potential Therapeutic Target. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(15): 8220. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms22158220>
166. Yeung KS, Tso WWY, Ip JJK, Mak CCY, Leung GKC, Tsang MHY, et al. Identification of mutations in the PI3K-AKT-mTOR signalling pathway in patients with macrocephaly and developmental delay and/or autism. *Mol Autism.* 2017;8:66. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1322901701824>
167. Mariani J, Coppola G, Zhang P, Abyzov A, Provini L, Tomasini L, et al. FOXP1 dependent dysregulation of GABA/Glutamate neuron differentiation in autism spectrum disorders. *Cell.* 2015;162(2):375390. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.06.034>

168. Lee BH, Smith T, Paciorkowski AR. Autism spectrum disorder and epilepsy: Disorders with a shared biology. *Epilepsy Behav.* 2015;47:191201. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.03.017>
169. Sánchez Alegría K, Flores León M, Avila Muñoz E, Rodríguez Corona N, Arias C. PI3K signaling in neurons: a central node for the control of multiple functions. *Int J Mol Sci.* 2018;19(12):3725. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms19123725>
170. Chen CJ, Sgritta M, Mays J, Zhou H, Lucero R, Park J, et al. Therapeutic inhibition of mTORC2 rescues the behavioral and neurophysiological abnormalities associated with Pten deficiency. *Nat Med.* 2019;25(11):1684-1690. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s415910190608y>
171. Griesi Oliveira K, Sertié AL. Autism spectrum disorders: an updated guide for genetic counseling. *Einstein (Sao Paulo).* 2017;15(2):233-238. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S167945082017RB4020>
172. Kim SK. Recent update of autism spectrum disorders. *Korean J Pediatr.* 2015;58(1):814. Disponible en: <https://doi.org/10.3345/kjp.2015.58.1.8>
173. Robinson EB, Neale BM, Hyman SE. Genetic research in autism spectrum disorders. *Curr Opin Pediatr.* 2015;27(6):685-91. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000278>
174. Yasin H, Gibson WT, Langlois S, Stowe RM, Tsang ES, Lee L, et al. A distinct neurodevelopmental syndrome with intellectual disability, autism spectrum disorder, characteristic facies, and macrocephaly is caused by defects in CHD8. *J Hum Genet.* 2019;64(4):271-280. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s1003801905610>
175. Bernier R, Golzio C, Xiong B, Stessman HA, Coe BP, Penn O, et al. Disruptive CHD8 mutations define a subtype of autism early in development. *Cell.* 2014;158(2):263-276. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.017>

176. Barnard RA, Pomaville MB, O'Roak BJ. Mutations and modeling of the chromatin remodeler CHD8 define an emerging autism etiology. *Front Neurosci.* 2015;9:477. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00477>
177. Sugathan A, Biagioli M, Golzio C, Erdin S, Blumenthal I, Manavalan P, et al. CHD8 regulates neurodevelopmental pathways associated with autism spectrum disorder in neural progenitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(42):E446877. Disponible en: <https://doi.org/10.1073/pnas.1405266111>
178. Xu Q, Liu YY, Wang X, Tan GH, Li HP, Hulbert SW, et al. Autism associated CHD8 deficiency impairs axon development and migration of cortical neurons. *Mol Autism.* 2018;9:65. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s1322901802442>
179. Pinto D, Delaby E, Merico D, Barbosa M, Merikangas A, Klei L, et al. Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. *Am J Hum Genet.* 2014;94(5):67794. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.03.018>
180. Gamsiz ED, Sciarra LN, Maguire AM, Pescosolido MF, van Dyck LI, Morrow EM. Discovery of rare mutations in autism: elucidating neurodevelopmental mechanisms. *Neurotherapeutics.* 2015;12(3):55371. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s1331101503639>
181. Schaefer GB. Clinical genetic aspects of autism spectrum disorders. *Int J Mol Sci.* 2016;17(2):180. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms17020180>
182. Lopez SJ, Segal DJ, La Salle JM. UBE3A: an E3 ubiquitin ligase with genome-wide impact in neurodevelopmental disease. *Front Mol Neurosci.* 2019;11:476. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00476>
183. Pérez-Villegas EM, Ruiz R, Bachiller S, Ventura F, Armengol JA, Rosa JL. The HERC proteins and the nervous system. *Semin Cell Dev Biol.* 2021:S1084-9521(21)00293-7. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.11.017>

184. Ruggieri VL, Arberas CL. Autismo: importancia de la dismorfología en la identificación de entidades médicas asociadas. *Rev Neurol* 2017; 64 (Supl 1): S27-31. Disponible en: <https://www.neurologia.com/pdf/64S01/brS01S027.pdf>
185. Butler MG. Pharmacogenetics and psychiatric care: A review and commentary. *J Ment Health Clin Psychol*. 2018;2:17–24. Disponible en: <https://doi.org/10.29245/2578-2959/2018/2.1120>
186. Butler MG, Rafi SK, Manzardo AM. High-resolution chromosome ideogram representation of currently recognized genes for autism spectrum disorders. *Int J Mol Sci*. 2015;16(3):6464-95. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms16036464> .
187. Bolton PF, Pickles A, Murphy M, Rutter M. Autism, affective and other psychiatric disorders: patterns of familial aggregation. *Psychol Med*. 1998;28(2):385-95. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/s0033291797006004>
188. Musser ED, Hawkey E, KachanLiu SS, Lees P, Rouillet JB, Goddard K et al. Shared familial transmission of autism spectrum and attention deficit/hyperactivity disorders. *J Child Psychol Psychiatry*. 2014;55:819–27. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jcpp.12201>
189. Jokiranta Olkonieni E, Cheslack Postava K, Sucksdorff D, Suominen A, Gyllenberg D, Chudal R, et al. Risk of psychiatric and neurodevelopmental disorders among siblings of probands with autism spectrum disorders. *JAMA Psychiatry*. 2016;73(6):622-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2016.0495>
190. Brennand KJ, Simone A, Tran N, Gage F. Modeling psychiatric disorders at a cellular and network levels. *Mol Psychiatry*. 2012;17(12):1239-1253. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/mp.2012.20>

191. Khanzada NS, Butler MG, Manzardo AM. GeneAnalytics Pathway analysis and genetic overlap among autism spectrum disorder, bipolar disorder and schizophrenia. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):527. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms18030527>
192. Bolton P, Macdonald H, Pickles A, Rios P, Goode S, Crowson M, Bailey A, Rutter M. A case-control family history study of autism. *J Child Psychol Psychiatry.* 1994;35(5):877900. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.14697610.1994.tb02300.x>
193. Guglielmi L, Servettini I, Caramia M, Catacuzzeno L, Franciolini F, Cristina D'Adamo M, et al. Update on the implication of potassium channels in autism: K⁺ channel autism spectrum disorder. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:34. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00034>
194. Loussouarn A, Dozières Puyravel B, Auvin S. Autistic spectrum disorder and epilepsy: diagnostic challenges. *Expert Rev Neurother.* 2019;19(6):579585. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14737175.2019.1617699>
195. Peng J, Zhou Y, Wang K. Multiplex gene and phenotype network to characterize shared genetic pathways of epilepsy and autism. *Sci Rep.* 2021;11(1):952. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78654-y>
196. Tuchman R, Cuccaro M. Epilepsy and autism: neurodevelopmental perspective. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2011;11:428–434. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11910-011-0195-x> .
197. Lee BH, Smith T, Paciorkowski AR. Autism spectrum disorder and epilepsy: disorders with a shared biology. *Epilepsy Behav.* 2015;47:191–201. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.03.017> .
198. Bozzi Y, Provenzano G, Casarosa S. Neurobiological bases of autism-epilepsy comorbidity: a focus on excitation/inhibition imbalance. *Eur J Neurosci.* 2018;47:534–548. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/ejn.13595>

199. Chow J, Jensen M, Amini H, Hormozdiari F, Penn O, Shifman S, et al. Dissecting the genetic basis of comorbid epilepsy phenotypes in neurodevelopmental disorders. *Genome Med.* 2019;11(1):65. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0678-y>
200. Xie S, Karlsson H, Dalman C, Widman L, Rai D, Gardner RM, et al. Family history of mental and neurological disorders and risk of autism. *JAMA Netw Open.* 2019;2(3):e190154. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.0154>
201. Garrido D, Petrova D, Watson LR, Garcia Retamero R, Carballo G. Language and motor skills in siblings of children with autism spectrum disorder: A metaanalytic review. *Autism Res.* 2017;10(11):17371750. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/aur.1829>
202. Lemus Roldán K. Factores pre y perinatales como riesgo en el desarrollo del trastorno del espectro autista primario [tesis]. NL, México: Tecnológico de Monterrey; 2019. Disponible en: https://repositorio.tec.mx/bitstream/handle/11285/633088/Lemus%20Roldan_Tesis%20Especialidad_PDFa.pdf?sequence=6&isAllowed=y
203. Goldmann JM, Wong WS, Pinelli M, Farrah T, Bodian D, Stittrich AB, et al. Parent of origin specific signatures of de novo mutations. *Nat Genet.* 2016;48:935–939. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ng.3597>
204. Jónsson H, Sulem P, Kehr B, Kristmundsdottir S, Zink F, Hjartarson E, et al. Parental influence on human germline de novo mutations in 1,548 trios from Iceland. *Nature.* 2017;549(7673):519522. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nature24018>
205. Atsem S, Reichenbach J, Potabattula R, Dittrich M, Nava C, Depienne C, et al. Paternal age effects on sperm FOXP1 and KCNA7 methylation and transmission into the next generation. *Hum Mol Genet.* 2016;25(22):49965005. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw328>

206. Kojima M, Yassin W, Owada K, Aoki Y, Kuwabara H, Natsubori T, et al. Neuroanatomical Correlates of Advanced Paternal and Maternal Age at Birth in Autism Spectrum Disorder. *Cereb Cortex*. 2019;29(6):2524-2532. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy122>
207. Kosidou K, Dalman C, Widman L, Arver S, Lee BK, Magnusson C, et al. Maternal polycystic ovary syndrome and risk for attention deficit/hyperactivity disorder in the offspring. *Biol Psychiatry*. 2017;82(9):651-659. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.09.022>
208. Esposito G, Azhari A, Borelli JL. Gene × Environment interaction in developmental disorders: where do we stand and what's next? *Front Psychol*. 2018;9:2036. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.02036>
209. Lawrence JM, Contreras R, Chen W, Sacks DA. Trends in the prevalence of preexisting diabetes and gestational diabetes mellitus among a racially/ethnically diverse population of pregnant women, 1999–2005. *Diabetes Care*. 2008;31:899–904. Disponible en: <https://doi.org/10.2337/dc072345>
210. Rodriguez Gomez DA, Garcia Guaqueta DP, Charry Sánchez JD, Sarquis Buitrago E, Blanco M, Velez van Meerbeke A, et al. A systematic review of common genetic variation and biological pathways in autism spectrum disorder. *BMC Neurosci*. 2021;22(1):60. <https://doi.org/10.1186/s1286802100662z>
211. Blazevic S, Horvaticek M, Kesic M, Zill P, Hranilovic D, Ivanisevic M, et al. Epigenetic adaptation of the placental serotonin transporter gene (SLC6A4) to gestational diabetes mellitus. *PLoS One*. 2017;12(6):e0179934. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179934>
212. Jin Y, Wang G, Han SS, He MY, Cheng X, Ma ZL, et al. Effects of oxidative stress on hyperglycaemia induced brain malformations in a diabetes mouse model. *Exp Cell Res*. 2016;347(1):201-211. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.08.002>

213. Ornoy A, Becker M, WeinsteinFudim L, Ergaz Z. Diabetes during pregnancy: a maternal disease complicating the course of pregnancy with long term deleterious effects on the offspring. A Clinical Review. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):2965. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms22062965>
214. Dachew B, Mamun A, Maravilla J, Alati R. Preeclampsia and the risk of autism spectrum disorder in offspring: metaanalysis. *Br J Psychiatr*. 2018;212:142–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1192/bjp.2017.27>
215. Getahun D, Fassett M, Peltier M, Wing D, Xiang A, Chiu V, et al. . Association of perinatal risk factors with autism spectrum disorder. *Am J Perinatol*. 2017;34:295–304. Disponible en: <https://doi.org/10.1055/s00361597624>
216. Driscoll D, Felice V, Kenny L, Boylan G, O'Keeffe G. Mild prenatal hypoxiaischemia leads to social deficits and central and peripheral inflammation in exposed offspring. *Brain Behav Immun*. 2018;69:418–27. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.01.001>
217. Xie Q, Li Z, Wang Y, Zaidi S, Baranova A, Zhang F, et al. Preeclampsia Drives Molecular Networks to Shift Toward Greater Vulnerability to the Development of Autism Spectrum Disorder. *Front Neurol*. 2020;11:590. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00590>
218. Bjørklund G, Meguid N, ElAnsary A, ElBana M, Dadar M, Aaseth J, et al. Diagnostic and severity tracking biomarkers for autism spectrum disorder. *J Mol Neurosci*. 2018;66:492–511. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s1203101811921>
219. El Shahaway A, Yahia S, Abdelrhman A, Elhady R. Role of maternal serum interleukin 17 in preeclampsia: diagnosis and prognosis. *J Inflamm Res*. 2019;12:175–80. Disponible en: <https://doi.org/10.2147/JIR.S206800>

220. Daneva AM, HadžiLega M, Stefanovic M. Correlation of the system of cytokines in moderate and severe preeclampsia. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2016;43:220–224. Disponible en: <https://doi.org/10.12891/ceog2077.2016>
221. Salazar Garcia M, Mobley Y, Henson J, Davies M, Skariah A, Dambaeva S, et al. Early pregnancy immune biomarkers in peripheral blood may predict preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2018;125:25–31. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2017.10.048>
222. Black K, Horowitz J. Inflammatory markers and preeclampsia: a systematic review. *Nursing Res*. 2018;67:242–51. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000285>
223. Eftekharian M, GhafouriFard S, Noroozi R, Omrani M, Arsangjang S, Ganji M, et al. Cytokine profile in autistic patients. *Cytokine*. 2018;108:120–126. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.03.034>
224. Ducsay CA, Goyal R, Pearce WJ, Wilson S, Hu SQ, Zhang L. Gestational Hypoxia and Developmental Plasticity. *Physiol Rev*. 2018; 98(3): 1241–1334. Disponible en: <https://doi.org/10.1152/physrev.00043.2017>
225. Burstyn I, Wang X, Yasui Y, Sithole F, Zwaigenbaum L. Autism spectrum disorders and fetal hypoxia in a population based cohort: accounting for missing exposures via estimation maximization algorithm. *BMC Med Res Methodol*. 2011;11:2. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/14712288112>
226. Bennuri SC, Rose S, Frye RE. Mitochondrial dysfunction is inducible in lymphoblastoid cell lines from children with autism and may involve the TORC1 pathway. *Front Psychiatry*. 2019;10:269. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00269>
227. Miyazawa T, Burdeos GC, Itaya M, Nakagawa K, Miyazawa T. Vitamin E: Regulatory redox interactions. *IUBMB Life*. 2019;71(4):430–441. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/iub.2008>

228. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Prenatal risk factors for autism: comprehensive metaanalysis. *Br J Psychiatry*. 2009;195(1):714. Disponible en: <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.108.051672>
229. Maimburg RD, Vaeth M. Perinatal risk factors and infantile autism. *Acta Psychiatr Scand*. 2006;114(4):25764. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.16000447.2006.00805.x>
230. Oberg AS, D’Onofrio BM, Rickert ME, HernandezDiaz S, Ecker JL, Almqvist C, et al. Association of labor induction with offspring risk of autism spectrum disorders. *JAMA Pediatr*. 2016;170(9): e160965. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2016.0965>
231. Xia Y, Xiao J, Yu Y, Tseng WL, Lebowitz E, DeWan AT, et al. Rates of neuropsychiatric disorders and gestational age at birth in a Danish population. *JAMA Netw Open*. 2021;4(6): e2114913. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.14913>
232. Brumbaugh JE, Weaver AL, Myers SM, Voigt RG, Katusic SK. Gestational age, perinatal characteristics, and autism spectrum disorder: a birth cohort study. *J Pediatr*. 2020;220:175–183.e8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2020.01.022>
233. Hernández-Flórez CE, Beltrán MA, Contreras G. Desarrollo neuroembriológico: el camino desde la proliferación hasta la perfección. *Univ Med*. 2018;59(3):71-80. Disponible en: <https://doi.org/10.11144/javeriana.umed59-3.dneu>
234. Lord C, Traolach B, Charman T, Cusack J, Dumas G, Frazier T, et al. Autism spectrum disorder. *Nat Rev Dis Primers*. 2020; 6(1): 5. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0138-4>

235. Yip BHK, Leonard H, Stock S. Caesarean section and risk of autism across gestational age: a multinational cohort study of 5 million births. *Int J Epidemiol*. 2017;46(2):429-439. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ije/dyw336>
236. Vervoort I, Delger C, Soubry A. A multifactorial model for the etiology of neuropsychiatric disorders: the role of advanced paternal age. *Pediatr Res*. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41390021014354>
237. Geetha B, Sukumar C, Dhivyadeepa E, Reddy JK, Balachandar V. Autism in India: a case-control study to understand the association between socioeconomic and environmental risk factors. *Acta Neurol Belg*. 2019;119(3):393-401. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13760018010574>
238. Miles JH. Complex autism spectrum disorders and cutting-edge molecular diagnostic tests. *JAMA*. 2015;314(9):879-80. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jama.2015.9577>
239. Schaefer GB, Mendelsohn NJ; Professional Practice and Guidelines Committee. Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders: 2013 guideline revisions. *Genet Med*. 2013;15(5):399-407. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/gim.2013.32>
240. Barton KS, Tabor HK, Starks H, Garrison NA, Laurino M, Burke W. Pathways from autism spectrum disorder diagnosis to genetic testing. *Genetics in Medicine*. 2018;20(7):737-744. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/gim.2017.166>
241. Autism diagnosis in children and young people. Evidence Update 40. National Institute for Health and Care Excellence 2013. Disponible en: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg128/evidence>
242. Bengier M, Kinali M, Mazarakis N D. Autism spectrum disorder: Prospects for treatment using gene therapy. *Molecular Autism*. 2018;9:39. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13229-018-0222-8>

243. Palk AC, Dalvie S, de Vries J, Martin AR, Stein DJ. Potential use of clinical polygenic risk scores in psychiatry – ethical implications and communicating high polygenic risk. *Philosophy, Ethics, and Humanities in Medicine: PEHM*. 2019;14(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13010-019-0073-8>
244. Grove J, Ripke S, Als TD, Mattheisen M, Walters RK, Won H, et al. Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder. *Nature Genetics*. 2019;51(3):431. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0344-8>
245. Sanders SJ, He X, Willsey AJ, Ercan-Sencicek AG, Samocha KE, Cicek AE, et al. Insights into autism spectrum disorder genomic architecture and biology from 71 risk loci. *Neuron*. 2015;87(6):1215–1233. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.016>
246. Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, De Rubeis S, An JY, et al. Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism. *Cell*. 2020;180(3):568–584.e23. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.036>
247. Wray NR, Lin T, Austin J, McGrath JJ, Hickie IB, Murray GK, Visscher PM. From basic science to clinical application of polygenic risk scores: A primer. *JAMA Psychiatry*. 2021;78(1):101–109. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2020.3049>
248. Castejon AM, Spaw JA, Rozenfeld I, Sheinberg N, Kabot S, Shaw A, et al. Improving antioxidant capacity in children with autism: a randomized, double blind controlled study with cysteine-rich whey protein. *Front Psychiatry*. 2021;12:669089. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.669089>
249. Anashkina AA, Erlykina EI. Molecular mechanisms of aberrant neuroplasticity in autism spectrum disorders (Review). *Sovrem Tekhnologii Med*. 2021;13(1):7891. Disponible en: <https://doi.org/10.17691/stm2021.13.1.10>

250. Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(3 Suppl):517S520S. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ajcn/78.3.517S>
251. Gonzalez Domenech PJ. Influencia de una dieta libre de gluten y caseína sobre las alteraciones del comportamiento en niños y adolescentes diagnosticados de trastorno del espectro autista [tesis]. Granada, España: Universidad de Granada; 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.18827.31529>
252. Kałużna J, Jóźwik J. Nutritional strategies and personalized diet in autism choice or necessity? *Trends Food Sci Tech.* 2016;49:4550. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.005>
253. MINSAP. Formulario Nacional de Medicamentos. La Habana: Ecimed; 2019. Disponible en: <http://fnmedicamentos.sld.cu/>
254. Ohja K, Gozal E, Fahnstock M, Cai L, Cai J, Freedman JH, et al. Neuroimmunologic and neurotrophic interactions in autism spectrum disorders: relationship to neuroinflammation. *Neuro Molecular Med.* 2018;20:161–173. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s1201701884888>
255. Kępka A, Ochocińska A, Chojnowska S, et al. Potential Role of Lcarnitine in autism spectrum disorder. *J Clin Med.* 2021;10(6):1202. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jcm10061202>
256. Doenyas C. Gut Microbiota, Inflammation, and Probiotics on Neural Development in autism spectrum disorder. *Neuroscience.* 2018;374:271286. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.01.060>
257. Chauhan A, Chauhan V, Brown WT, Cohen I. Oxidative stress in autism: increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrinthe antioxidant proteins. *Life Sci.* 2004;75(21):253949. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.04.038>

258. Yui K, Imataka G, Sasaki H, Shiroki R. The role of lipid peroxidation in individuals with autism spectrum disorders. *Metab Brain Dis.* 2020;35(7):11011108. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11011020005854>
259. Mandic Maravic V, Pljesa Ercegovac M, Mitkovic Voncina M, Savic Radojevic A, Lecic Tosevski D, Simic T, et al. Impaired redox control in autism spectrum disorders: could it be the x in GxE? *Curr Psychiatry Rep.* 2017;19(8):52. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s1192001707991>
260. Sbodio JI, Snyder SH, Paul BD. Redox Mechanisms in Neurodegeneration: From Disease Outcomes to Therapeutic Opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 2019;30(11):14501499. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7321>
261. Cadenas Álvarez S. Efecto de las vitaminas C y E sobre el daño oxidativo a lípidos, proteínas y ADN, la razón GSHGSSG y la composición en ácidos grasos en el cobaya, la rata ODS y la orina humana [Tesis]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 1996. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/4252/1/T21166.pdf>
262. Tamiji J, Crawford DA. The neurobiology of lipid metabolism in autism spectrum disorders. *Neurosignals* 2010;18:98–112. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000323189>
263. Santamaría A, Salvatierra Sánchez R, Vázquez Román B, Santiago López D, Villeda Hernández J, Galván Arzate S, et al. Protective effects of the antioxidant selenium on quinolinic acid-induced neurotoxicity in rats: in vitro and in vivo studies. *J Neurochem.* 2003;86(2):47988. Disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.14714159.2003.01857.x>
264. Cade R, Privette M, Fregly M, Rowland N, Sun Z, Zele V, et al. Autism and schizophrenia: intestinal disorders. *Nutr Neurosci.* 2000;3(1):5772. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/1028415X.2000.11747303>

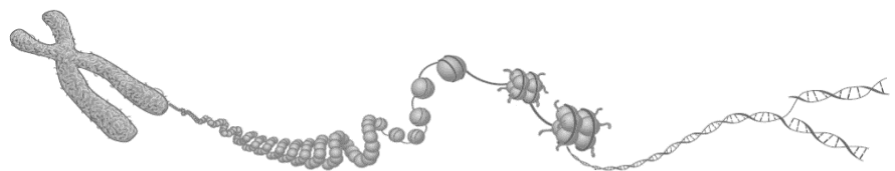
265. Kehm R, Baldensperger T, Raupbach J, Höhn A. Protein oxidation Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. Redox Biol. 2021;42:101901. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.Redox.2021.101901>
266. Olivares Corichi I, Medina Navarro R, Torres Ramos Y, Montes Cortés DH. Daño a proteínas por estrés oxidante: lipoproteínas de baja densidad e insulina. Revista de endocrinología y nutrición. 2006;14(4):237240. Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/endoc/er2006/er064e.pdf>
267. Viada Pupo E, Gómez Robles L, Campaña Marrero IR. Estrés oxidativo. CCM. 2017;21(1):171186. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156043812017000100014&lng=es.
268. Frye RE, Slattery JC, Quadros EV. Folate metabolism abnormalities in autism: potential biomarkers. Biomark Med. 2017;11(8):687699. Disponible en:
<https://doi.org/10.2217/bmm20170109>.
269. Venereo Gutiérrez JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cub Med Mil. 2002;31(2):126133. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S013865572002000200009
270. Adams JB, Bhargava A, Coleman DM, Frye RE, Rossignol DA. Ratings of the effectiveness of nutraceuticals for autism spectrum disorders: Results of a National Survey. J Pers Med. 2021;11(9):878. Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/jpm11090878>
271. Kim Y, Vadodaria KC, Lenkei Z, Kato T, Gage FH, Marchetto MC, Santos R. Mitochondria, metabolism, and Redox mechanisms in psychiatric disorders. Antioxid Redox Signal. 2019;31(4):275317. Disponible en:
<https://doi.org/10.1089/ars.2018.7606>

272. EstebanFiguerola P, Canals J, FernándezCao JC, Arija Val V. Differences in food consumption and nutritional intake between children with autism spectrum disorders and typically developing children: A metaanalysis. *Autism*. 2019;23(5):10791095. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1362361318794179>
273. Sánchez M. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquimia*. 2004;29(3):8190. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/bioquimia/bq2004/bq043c.pdf>
274. Hjiej H, Doyen C, Couprie C, Kaye K, Contejean Y. Substitutive and dietetic approaches in childhood autistic disorder: interests and limits. *Encephale* 2008;34(5):496503. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.encep.2007.10.011>
275. Croall ID, Hoggard N, Hadjivassiliou M. Gluten and Autism Spectrum Disorder. *Nutrients*. 2021;13(2):572. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu13020572>
276. Compart PJ. The pathophysiology of autism. *Glob Adv Health Med*. 2013;2(6):3237. Disponible en: <https://doi.org/10.7453/gahmj.2013.092>
277. Lange KW, Hauser J, Reissmann A. Gluten free and casein free diets in the therapy of autism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015;18(6):5725. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000228>
278. Chiroma AA, Khaza'ai H, Abd Hamid R, Chang SK, Zakaria ZA, Zainal Z. Analysis of expression of vitamin E binding proteins in H₂O₂ induced SKNSH neuronal cells supplemented with α tocopherol and tocotrienol rich fraction. *PLoS One*. 2020;15(11):e0241112. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241112>
279. Hoxha B, Hoxha M, Domi E, Gervasoni J, Persichilli S, Malaj V, Zappacosta B. Folic acid and autism: a systematic review of the current state of knowledge. *Cells*. 2021;10(8):1976. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cells10081976>

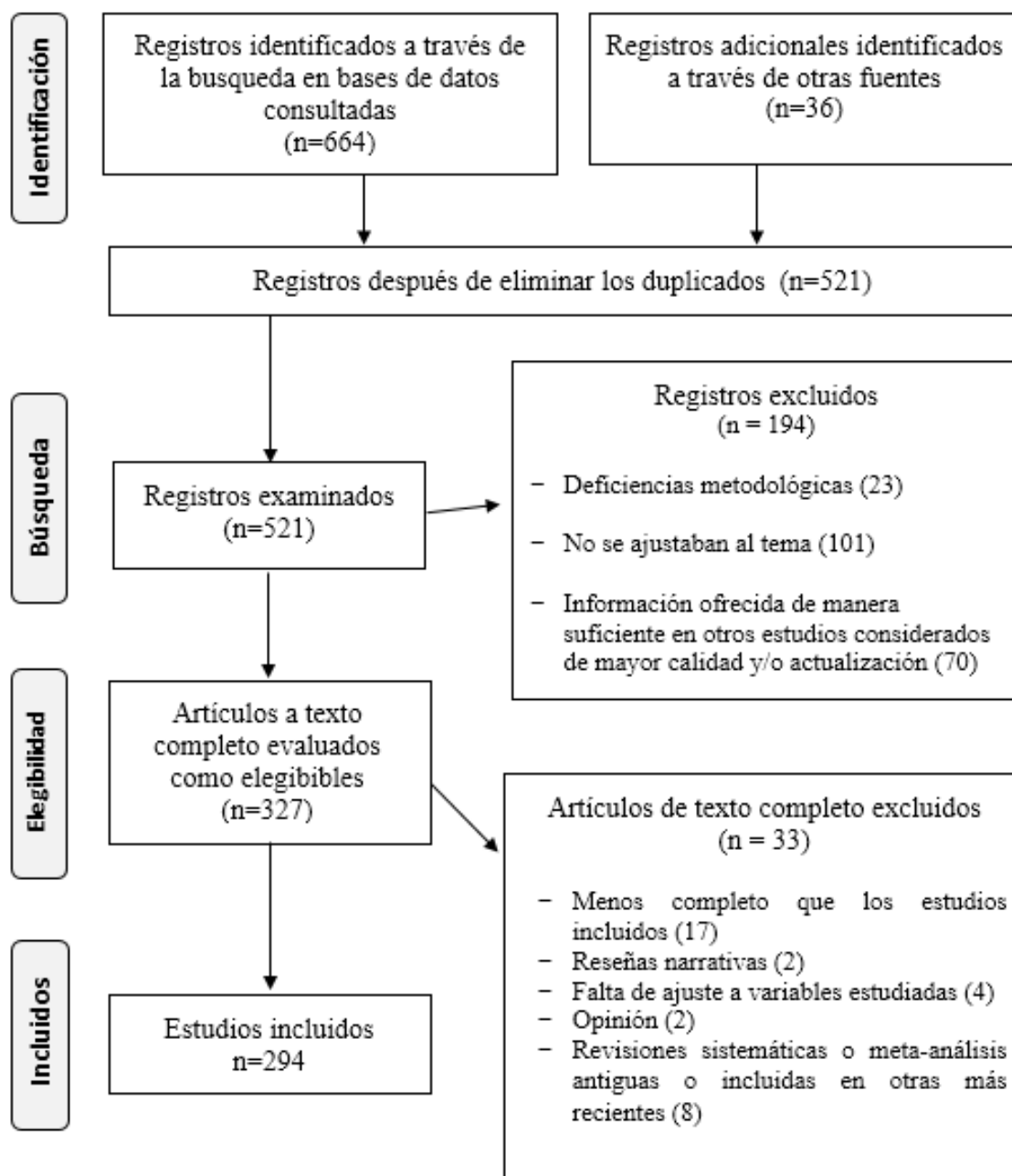
280. James SJ, Cutler P, Melnyk S, Jernigan S, Janak L, Gaylor DW, et al. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6):16117. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.6.1611>
281. Cekici H, Sanlier N. Current nutritional approaches in managing autism spectrum disorder: A review. *Nutr Neurosci.* 2019;22(3):145155. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/1028415X.2017.1358481>
282. Tas AA. Dietary strategies in autism spectrum disorder (ASD). *Prog. Nutr.* 2018;20:554–562. Disponible en: <https://doi.org/10.23751/pn.v20i4.6693>
283. Kawicka A, Regulska I, Ilow B. How nutritional status, diet and dietary supplements can affect autism. A review. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2013;64(1):112. Disponible en: http://wydawnictwa.pzh.gov.pl/roczniki_pzh/downloadarticle?id=958
284. Doreswamy S, Bashir A, Guarecuco JE, Lahori S, Baig A, Narra LR, Patel P, Heindl SE. Effects of diet, nutrition, and exercise in children with autism and autism spectrum disorder: a literature review. *Cureus.* 2020;12(12):e12222. Disponible en: <https://doi.org/10.7759/cureus.12222>
285. Mierziak J, Kostyn K, Boba A, Czemplik M, Kulma A, Wojtasik W. Influence of the bioactive diet components on the gene expression regulation. *Nutrients.* 2021;13(11):3673. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu13113673>
286. Dhaliwal KK, Orsso CE, Richard C, Haqq AM, Zwaigenbaum L. Risk Factors for Unhealthy Weight Gain and Obesity among Children with Autism Spectrum Disorder. *Int J Mol Sci.* 2019;20(13):3285. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms20133285>
287. Criado KK, Sharp WG, McCracken CE, De Vinck Baroody O, Dong L, Aman MG, et al. Overweight and obese status in children with autism spectrum disorder and disruptive behavior. *Autism.* 2018;22(4):450459. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1362361316683888>

288. Sivamaruthi BS, Suganthy N, Kesika P, Chaiyasut C. The role of microbiome, dietary supplements, and probiotics in autism spectrum disorder. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(8):2647. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijerph17082647>
289. González Fuentes J, Selva J, Moya C, Castro Vázquez L, Lozano MV, Marcos P, et al. Neuroprotective Natural Molecules, From Food to Brain. *Front Neurosci*. 2018;12:721. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00721>
290. Sathe N, Andrews JC, McPheeters ML, Warren ZE. Nutritional and dietary interventions for autism spectrum disorder: a systematic review. *Pediatrics*. 2017; 139(6):e20170346. Disponible en: <https://doi.org/10.1542/peds.20170346>
291. Fraguas D, Diaz Caneja CM, Pina Camacho L, Moreno C, Durán Cutilla M, Ayora M, et al. Dietary interventions for autism spectrum disorder: a metaanalysis . *Pediatrics*. 2019; 144(5):e20183218. Disponible en: <https://doi.org/10.1542/peds.20183218>
292. Pérez Moneo Agapito B, Molina Arias M. Trastorno del espectro autista: los escasos beneficios del tratamiento dietético. *Evid Pediatr*. 2020;16:18. Disponible en: <http://www.evidenciasenpediatria.es/EnlaceArticulo?ref=2020;16:18>.
293. Barbosa KBF, Bressan J, Zulet MA, Martínez JA. Influencia de la dieta sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. *Anales Sis San Navarra*. 2008;31(3):259280. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113766272008000500006&lng=es.
294. Rodrigo R, Guichard C, Charles R. Clinical pharmacology and therapeutic use of antioxidant vitamins. *Fundam Clin Pharmacol*. 2007;21(2):11127. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.14728206.2006.00466.x>

ANEXOS



Anexo 1. Diagrama de flujo para selección de la bibliografía



Anexo 2. Diferencias entre autismo primario y autismo sindrómico

Primario	Sindrómico
Causa desconocida	Causa conocida
Base genética poco esclarecida	En muchos casos la base genética se conoce
Pronóstico inicial incierto	Pronóstico determinado por la enfermedad de base
Ausencia de marcador biológico del trastorno de base	Pueden haber marcadores biológicos
Predominio en sexo masculino	Predominio determinado por el trastorno primario
Discapacidad intelectual en el 70 % en el autismo clásico	Discapacidad intelectual casi constante
Amplio espectro de gravedad	Predominan casos graves

Fuente: referencia bibliográfica 40

Anexo 3. DSM-5. Criterios diagnósticos de trastornos del espectro autista

A. Déficits persistentes en la comunicación social y en la interacción social en múltiples contextos, como se manifiesta por todo lo siguiente, actualmente o por los antecedentes (los ejemplos son ilustrativos pero no exhaustivos).

1. Las deficiencias en la reciprocidad socioemocional varían, por ejemplo, desde un acercamiento social anormal y fracaso de la conversación normal en ambos sentidos, pasando por la disminución en intereses, emociones o afectos compartidos, hasta el fracaso en iniciar o responder a interacciones sociales.

2. Las deficiencias en las conductas comunicativas no verbales utilizadas en la interacción social varían, por ejemplo, desde una comunicación verbal y no verbal poco integrada, pasando por anomalías del contacto visual y del lenguaje corporal o deficiencias de la comprensión y el uso de gestos, hasta una falta total de expresión facial y de comunicación no verbal.

3. Las deficiencias en el desarrollo, mantenimiento y comprensión de las relación varían, por ejemplo, desde dificultades para ajustar el comportamiento en diversos contextos sociales, pasando por dificultades para compartir juegos imaginativos o para hacer amigos, hasta la ausencia de interés por otras personas.

Especificar la severidad actual: la gravedad se basa en deterioros de la comunicación social y en de comportamientos repetitivos y restringidos.

B. Patrones repetitivos y restringidos de conductas, actividades e intereses, que se manifiestan en, al menos dos de los siguientes síntomas, actuales o pasados (los ejemplos son ilustrativos, no exhaustivos):

1. Movimientos motores, uso de objetos o habla estereotipados o repetitivos (ejemplo, movimientos motores estereotipados simples, alinear objetos, dar vueltas a objetos, ecolalia, frases idiosincrásicas).

2. Insistencia en la igualdad, adherencia inflexible a rutinas o patrones de comportamiento verbal y no verbal ritualizado (ejemplo, malestar extremo ante pequeños cambios, dificultades con las transiciones, patrones de pensamiento rígidos, rituales para saludar, necesidad de seguir siempre el mismo camino o comer siempre lo mismo).

3. Intereses altamente restringidos, obsesivos, que son anormales por su intensidad o su foco (ejemplo, apego excesivo o preocupación excesiva con objetos inusuales, intereses excesivamente circunscritos o perseverantes).

4. Hiper o hiporeactividad sensorial o interés inusual en aspectos sensoriales del entorno (ejemplo, indiferencia aparente al dolor/temperatura, respuesta adversa a sonidos o texturas específicas, oler o tocar objetos en exceso, fascinación por las luces u objetos que giran).

Especificar la severidad actual: la severidad se basa en la alteración social y comunicativa y en la presencia de patrones de comportamientos repetitivos y restringidos.

C. Los síntomas deben estar presentes en el período de desarrollo temprano (aunque pueden no manifestarse plenamente hasta que las demandas del entorno excedan las capacidades del niño, o pueden verse enmascaradas en momentos posteriores de la vida por habilidades aprendidas).

D. Los síntomas causan alteraciones clínicamente significativas a nivel social, ocupacional o en otras áreas importantes del funcionamiento actual.

E. Estas alteraciones no se explican mejor por la presencia de una discapacidad intelectual (trastorno del desarrollo intelectual) o un retraso global del desarrollo. La discapacidad intelectual y el trastorno del espectro de autismo con frecuencia coocurren; para hacer un diagnóstico de comorbilidad de trastorno del espectro de autismo y discapacidad intelectual, la comunicación social debe estar por debajo de lo esperado en función del nivel general de desarrollo.

Fuente: referencia bibliográfica 1

Anexo 4. CIE-11. Criterios diagnósticos de trastornos del espectro autista

Elementos principales

1. Déficit persistente y no apropiado a la edad y nivel de desarrollo intelectual para sostener: comunicación social e interacción social recíproca.

Las manifestaciones varían con la edad, desarrollo verbal e intelectual, así como con la severidad del trastorno

- a. Limitaciones en comprender, interesarse o responder a las comunicaciones sociales verbales y no verbales de otros.
 - b. Comprender la integración de componentes verbales y no verbales como el contacto visual, gestos, expresiones faciales, lenguaje corporal. Estos comportamientos no verbales también pueden estar reducidos en frecuencia e intensidad.
 - c. Limitaciones en comprender el uso del lenguaje en el contexto social apropiado y en la habilidad para sostener conversaciones recíprocas.
 - d. Limitaciones para reconocer claves sociales, esto conduce a comportamientos que no están modulados apropiadamente de acuerdo a determinado contexto social.
 - e. Limitaciones en la habilidad para imaginar y responder a los sentimientos, estados emocionales y actitudes de los otros.
 - f. Limitaciones para compartir intereses.
 - g. Limitaciones para establecer y mantener relaciones con sus pares.
-

2. Patrones de comportamiento e intereses restrictivos, repetitivos e inflexibles o actividades que son claramente atípicas o excesivas para la edad del individuo, su género y contexto sociocultural.

- a. Falta de adaptabilidad a nuevas experiencias y circunstancias, esto asocia cierto distrés que puede ser evocado incluso por cambios triviales en el ambiente que le es familiar o frente a eventos no anticipados.
- b. Inflexibilidad o adherencia al seguimiento estricto de determinadas rutinas.
- c. Excesiva adherencia a reglas.
- d. Patrones excesivos o persistentes de rituales.
- e. Patrones de movimientos repetitivos y estereotipados, particularmente comunes en la niñez temprana. Ejemplo: balanceos, marcha atípica (de puntillas, por ejemplo), movimientos inusuales de las manos o los dedos, posturas no usuales.
- f. Persiste preocupación con uno o más intereses especiales, partes de objetos, tipos de estímulos o adherencia inusualmente fuerte a objetos particulares.
- g. Hipersensibilidad o hiposensibilidad a estímulos sensoriales o interés en estímulos sensoriales que puede incluir sonidos, luces, texturas, olores, sabores, calor, frío o dolor.

El inicio es en la etapa temprana del desarrollo, típicamente en la niñez o infancia temprana. Los síntomas y signos pueden no estar claramente evidentes sino hasta más tardíamente cuando las demandas sociales exceden a las capacidades.

Los síntomas y signos son lo suficientemente severos para producir disfunción importante en el funcionamiento personal, familiar, social, educativo, ocupacional o en otras áreas importantes para el funcionamiento del individuo. Muchos individuos con TEA son capaces de funcionar adecuadamente en diferentes contextos con esfuerzo, de manea que pueden no resultar evidentes sus manifestaciones o conductas a otros.

Fuente: referencia bibliográfica 44

Anexo 5. Señales de alerta para el autismo

Inmediatas

No balbucea, no hace gestos (señalar, decir adiós con la mano) a los 12 meses

No dice palabras sencillas a los 18 meses

No dice frases espontáneas de dos palabras (no ecológicas) a los 24 meses

Cualquier pérdida de habilidades del lenguaje o a nivel social a cualquier edad

Antes de los 12 meses

Poca frecuencia del uso de la mirada dirigida a personas

No muestra anticipación cuando va a ser cogido

Falta de interés en juegos interactivos simples

Falta de sonrisa social

Falta de ansiedad ante los extraños sobre los 9 meses

Después de los 12 meses

Menor contacto ocular

No responde a su nombre

No señala para pedir algo

No muestra objetos

Respuesta inusual ante estímulos auditivos

Falta de interés en juegos interactivos simples

No mira hacia donde otros señalan

Ausencia de imitación espontánea

Ausencia de balbuceo social/comunicativo como si conversara con el adulto

Entre los 18-24 meses

No señala con el dedo para compartir un interés

Dificultades para seguir la mirada del adulto.

No mirar hacia donde otros señalan

Retraso en el desarrollo del lenguaje comprensivo y/o expresivo

Falta de juego funcional con juguetes o presencia de formas repetitivas de juego con objetos

Ausencia de juego simbólico

Falta de interés en otros niños o hermanos

No suele mostrar objetos

No responde cuando se le llama

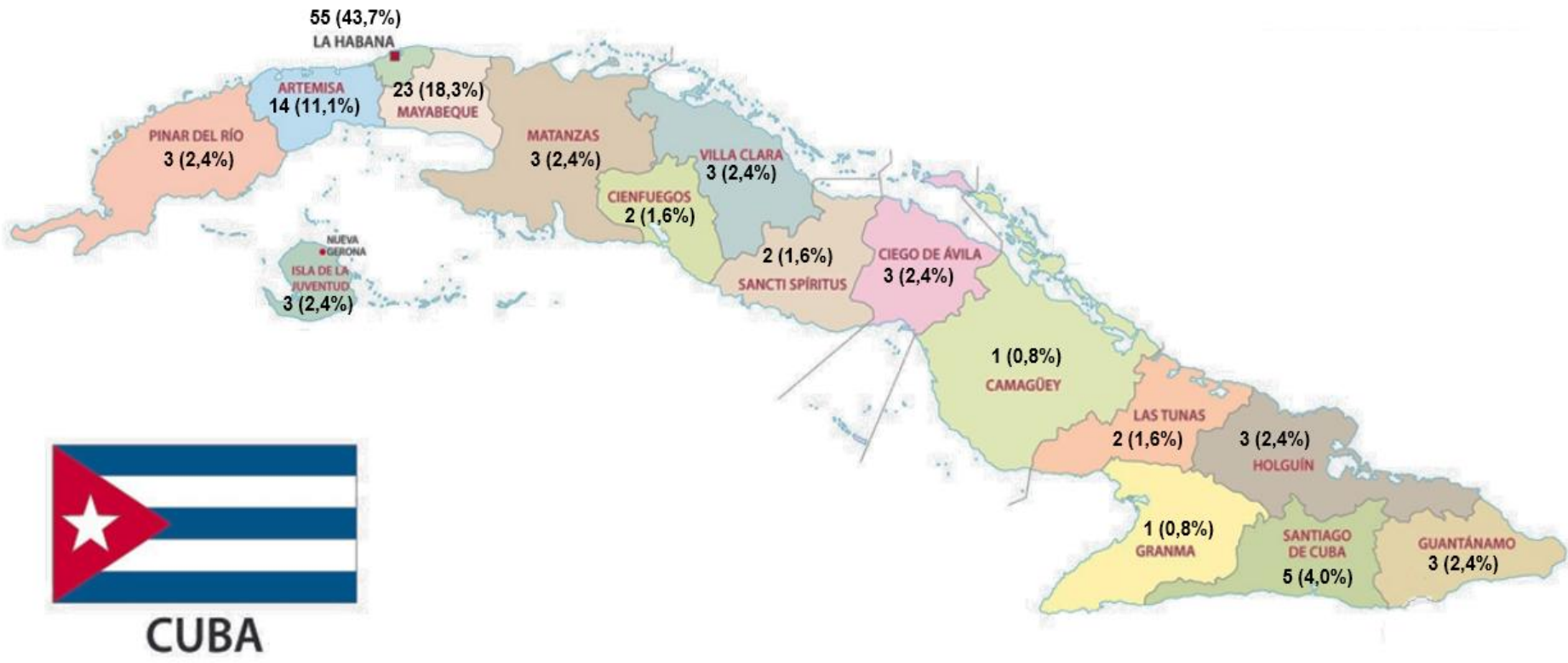
No imita ni repite gestos o acciones que otros hacen

Pocas expresiones para compartir afecto positivo


Antes usaba palabras, pero ahora no

Fuente: referencia bibliográfica 43

Anexo 6. Distribución de casos en número y por ciento según provincia de residencia



Anexo 7. Historia clínica genética

	Subdirección: <u>Asistencia Médica</u> Área o Lab:	PNO: <u>SAM.EVE.009</u>	RSAM.009 Edición: 01 Folio:
	HISTORIA CLÍNICA		

No. H.C. _____

HISTORIA Y EXAMEN FÍSICO.

Hospital _____ Fecha: _____

Nombre _____

Fecha de nacimiento _____ Edad: _____ Sexo: _____ Raza: _____

Dirección: _____

Centro y especialidad que remite: _____

Área de Salud: _____ Natural de: _____

Motivo de consulta: _____

PADRE (nombre, edad, escolaridad y ocupación) _____

MADRE (nombre, edad, escolaridad y ocupación) _____

HISTORIA REPRODUCTIVA:

EMBARAZO	FECHA	PRODUCTO
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

HISTORIA DEL EMBARAZO DEL PROPOSITUS:

Edad gestacional al parto: _____ Amenaza de aborto especificar) _____

Movimientos fetales (ausentes, fuertes, débiles): _____

Aclarar trimestre, tiempo, tratamiento y dosis en relación a: _____

Infecciones: _____

Drogas (medicamentos, alcohol, cigarro, otras): _____

Radiaciones: _____

Enfermedades maternas: _____

Historia de infertilidad: _____

Otros: _____

ESTUDIOS PRENATALES (tipos, edad gestacional, resultados): _____

ANTECEDENTES FAMILIARES (abortos, infertilidad, mortinatos, malformados, retraso, epilepsia u otras enfermedades genéticas) _____

ÁRBOL GENEALÓGICO (dibujar al dorso de la hoja, no menos de tres generaciones)

HISTORIA PERINATAL Y DESARROLLO PSICOMOTOR:

Parto: _____

Peso: _____ Talla: _____ C.C.: _____ APGAR: _____

ANOTACIONES DE NEONATOLOGÍA: _____

Succión (intolerancia a la leche): _____

Cianosis: _____ Ictero: _____ Convulsiones: _____

Otros (incluye hipotonía, ausencia de reflejo, hipertonía): _____

Sostuvo la cabeza: _____ Se sentó: _____ Se paró: _____ Caminó: _____

Control de esfínteres: _____ Lenguaje: _____

HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD (Al dorso de la hoja)

EXAMEN FISICO:

Talla: _____ Brazada: _____ Seg. Inferior: _____ C.C _____

Percentiles: (aclarar tablas utilizadas): _____

ORDEN DEL EXAMEN FÍSICO:

CABEZA (cráneo, cara, mentón, orejas, ojos, nariz, boca, cavidad oral): _____

CUELLO: _____

TORAX: _____

ABDOMEN: _____

EXTREMIDADES (articulaciones, manos y pies): _____

COLUMNA VERTEBRAL: _____

PIEL: _____

GENITALES Y DESARROLLO SEXUAL: _____

NEUROMUSCULAR (reflejos, hipotonía, hipertonía, hipertrofia, hipotrofia, atrofia, sensibilidad al dolor, convulsiones, ceguera, sordera, otros) _____

RETRASO MENTAL: _____

RETRASO DEL LENGUAJE Y CARACTERISTICAS DE LA VOZ: _____

TRASTORNOS DE CONDUCTA: _____

IMPRESION DIAGNOSTICA: _____

EXAMENES QUE SE INDICAN E INTERCONSULTAS: _____

ORIENTACIONES: _____

DISCUSIÓN DIAGNÓSTICA (al dorso de la hoja)

DIAGNOSTICO DEFINITIVO: _____

ASESORAMIENTO GENETICO Y EVOLUCIONES: _____

Anexo 8. Instrumento de recolección de datos para casos

Estrato: _____ Nombre y apellidos. _____ HC _____

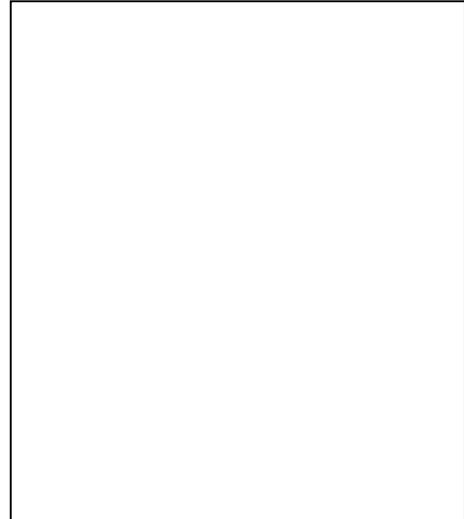
Servicio donde se atiende: JMM _____ MYB _____

ÁRBOL GENEALÓGICO:

ANTECEDENTES FAMILIARES:

¿Quién?

- Trastornos del lenguaje _____
- Autismo _____
- Discapacidad intelectual _____
- Enfermedad psiquiátrica _____
- Enfermedad genética _____
- Epilepsia _____
- Otras: _____



ANTECEDENTES PRENATALES:

Edad materna a la captación: _____ años

Edad paterna a la captación: _____ años

- Vacunación con gammaglobulina hiperinmune Anti D
- Sangramiento durante la gestación Amenaza de aborto
- Diabetes pregestacional Diabetes gestacional
- Hipertensión arterial Asma bronquial
- Anemia (menor de 10 g/L) Hipotiroidismo
- Fumadora activa Consumo de bebidas alcohólicas
- Restricción del crecimiento intrauterino Embarazo múltiple
- Oligoamnios Polihidramnios
- Uso de medicamentos durante el embarazo
 - Cuál: _____
 - _____
- Infección durante el embarazo
 - Cuál: _____
 - _____

ANTECEDENTES PERINATALES:

- Trabajo de parto
 - Normal Prolongado Inducido Precipitado
- Rotura Prematura de Membranas
- Tipo de parto
 - Eutócico Instrumentado Cesárea de urgencia Cesárea electiva
- Presentación fetal
 - Normal Pelviana
 - De frente De cara
 - De nalgas Transverso
- Complicaciones del cordón umbilical
 - Prolapso Circular al cuello Brevedad
- Líquido amniótico meconial
- Edad gestacional al nacer
 - Pretérmino
 - A término
 - Postérmino

RESULTADOS LABORATORIO ESTRÉS OXIDATIVO

Marcadores	1ra Muestra	2da Muestra	Valores de Referencia: Promedio (IC del 95%)
MDA			0,70 [0,53 - 0,87] $\mu\text{mol/L}$
PAOP			38,76 [26,82 - 50,70] $\mu\text{mol/L}$
FOX			1,15 [1 - 2,81] $\mu\text{mol/L}$
SOD1			169,59 [161,83 - 177,35] U/ml
CAT			72,88 [67,61 - 78,14] U/ml
Relación SOD1/CAT			2,44 [2,23 - 2,64]
GPx			41360,45 [29913,46 - 52807,44] U/ml
GSH			128,00 [60,55 - 195,45] U/ml
Capacidad Antioxidante Total			0,16 [0,14 - 0,18] $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$

Anexo 9. Instrumento de recolección de datos para controles

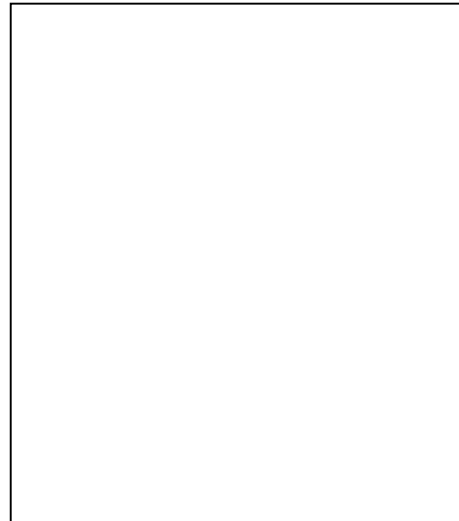
Estrato: _____ Nombre y apellidos. _____

ÁRBOL GENEALÓGICO:

ANTECEDENTES FAMILIARES:

¿Quién?

- Trastornos del lenguaje _____
- Autismo _____
- Discapacidad intelectual _____
- Enfermedad psiquiátrica _____
- Enfermedad genética _____
- Epilepsia _____
- Otras: _____



ANTECEDENTES PRENATALES:

Edad materna a la captación: _____ años

Edad paterna a la captación: _____ años

- Vacunación con gammaglobulina hiperinmune Anti D
- Sangramiento durante la gestación Amenaza de aborto
- Diabetes pregestacional Diabetes gestacional
- Hipertensión arterial Asma bronquial
- Anemia (menor de 10 g/L) Hipotiroidismo
- Fumadora activa Consumo de bebidas alcohólicas
- Restricción del crecimiento intrauterino Embarazo múltiple
- Oligoamnios Polihidramnios
- Uso de medicamentos durante el embarazo
 - Cuál: _____
 - _____
- Infección durante el embarazo
 - Cuál: _____
 - _____

ANTECEDENTES PERINATALES:

- Trabajo de parto
 ___ Normal ___ Prolongado ___ Inducido ___ Precipitado
- Rotura Prematura de Membranas
- Tipo de parto
 ___ Eutócico ___ Instrumentado ___ Cesárea de urgencia ___ Cesárea electiva
- Presentación fetal
 ___ Normal ___ Pelviana
 ___ De frente ___ De cara
 ___ De nalgas ___ Transverso
- Complicaciones del cordón umbilical
 ___ Prolapso ___ Circular al cuello ___ Brevedad
- Líquido amniótico meconial
- Edad gestacional al nacer
 ___ Pretérmino
 ___ A término
 ___ Postérmino

MENSURACIONES AL NACER Peso ___ g Talla ___ cm Circunferencia cefálica: ___ cm

EXAMEN FÍSICO DISMORFOLÓGICO

MENSURACIONES: Peso ___ kg Talla ___ cm Circunferencia cefálica: ___ cm

CABEZA (cráneo, cara, mentón, orejas, ojos, nariz, boca, cavidad oral): _____

CUELLO: _____

TORAX: _____

ABDOMEN: _____

EXTREMIDADES (articulaciones, manos y pies): _____

COLUMNA VERTEBRAL: _____

PIEL: _____

GENITALES Y DESARROLLO SEXUAL: _____

NEUROMUSCULAR (reflejos, hipotonía, hipertonía, hipertrofia, hipotrofia, atrofia, sensibilidad al dolor, convulsiones, ceguera, sordera, otros) _____

Anexo 10. Formulario de Consentimiento Informado para padres y/o tutores de pacientes con autismo primario

El Centro Nacional de Genética Médica, en colaboración con otras instituciones de salud del país, pretende llevar a cabo una investigación con el objetivo de estudiar los factores de riesgo y la respuesta a una terapia antioxidante en niños cubanos con diagnóstico de autismo, en los cuales la causa del trastorno no ha sido posible precisar.

Los resultados de dicha investigación permitirán identificar pacientes con riesgos de ser afectados, estableciéndose un diagnóstico precoz que conllevará iniciar un tratamiento adecuado y ajustado al caso, incluido en ello una intervención en el área escolar. A su hijo(a) o tutorado se le realizarán estudios de estrés oxidativo, al menos en dos ocasiones, y en dependencia de los resultados se le prescribirán recomendaciones nutricionales y vitaminas con potencial antioxidante que ayudarán a mejorar su estado de salud.

La participación de su hijo(a) o tutorado en este estudio será voluntaria y en caso de no querer formar parte del mismo esto no tendrá repercusión negativa sobre su persona, podrá recibir asistencia médica o cualquier otro servicio en la institución de salud que así lo desee. Incluso si acepta y desea retirarse de la investigación puede hacerlo en el momento que así lo decida.

Se le tomarán muestras de sangre según los procedimientos convencionales por personal técnico especializado, a partir de la cual se realizarán estudios de estrés oxidativo. Los riesgos de la extracción de sangre son poco frecuentes, pero pueden incluir dolor, formación de hematomas e infección del sitio de punción, en tales casos se le informará cuál debe ser la conducta a seguir.

Sus datos personales no serán revelados, se utilizará clave numérica para garantizar la confidencialidad de la información que sólo será conocida por los investigadores participantes en el estudio. Los resultados de esta investigación sólo serán utilizados para mejorar el diagnóstico de esta enfermedad.

Para cualquier información, duda o reclamación que puedan presentar, se pueden dirigir a la consulta de Genética y Trastornos del Lenguaje del centro de salud donde recibe la atención, donde será atendido por los investigadores del proyecto.

Yo _____ después de haber sido informado(a), aclarar mis dudas, conocer el propósito, los riesgos, ventajas y limitaciones de la investigación, doy mi consentimiento para la participación de mi hijo(a) o tutorado en la investigación y lo expreso con la firma del presente documento.

Firma _____ Grado de parentesco con el paciente _____

Investigador: Dr. Daniel Quintana Hernández Firma: _____

Contacto: daniel.quintana@infomed.sld.cu Teléfonos: 72609651 / 47524417

Fecha: _____ Observación: _____

Anexo 11. Formulario de Consentimiento Informado para padres y/o tutores de los controles

El Centro Nacional de Genética Médica, en colaboración con otras instituciones de salud del país, pretende llevar a cabo una investigación con el objetivo de estudiar los factores de riesgo y la respuesta a una terapia antioxidante en niños cubanos con diagnóstico de autismo, en los cuales la causa del trastorno no ha sido posible precisar.

Los resultados de dicha investigación permitirán identificar pacientes con riesgos de ser afectados, estableciéndose un diagnóstico precoz que conllevará iniciar un tratamiento adecuado y ajustado al caso, incluido en ello una intervención en el área escolar.

Su hijo tiene la condición de ser un niño sano, que por las características de su edad y sexo ha sido seleccionado para participar en el estudio como control, a través de una entrevista que se le realizará a usted sobre aspectos generales y relacionados al embarazo, parto, desarrollo del niño, antecedentes de enfermedades familiares y se le realizaran mediciones de la talla y circunferencia cefálica así como un examen físico, por especialistas de genética clínica de su área de salud.

La participación de su hijo(a) o tutorado en este estudio será voluntaria y en caso de no querer formar parte del mismo esto no tendrá repercusión negativa sobre su persona, podrá recibir asistencia médica o cualquier otro servicio en la institución de salud que así lo desee. Incluso si acepta y desea retirarse de la investigación puede hacerlo en el momento que así lo decida.

No será necesaria la toma de muestras de sangre ni ningún otro procedimiento médico, por lo que la investigación no entraña riesgos para el mismo. Sus datos personales no serán revelados, se utilizará clave numérica para garantizar la confidencialidad de la información que sólo será conocida por los investigadores participantes en el estudio. Los resultados de esta investigación no reportará beneficios personales para su hijo pero si serán utilizados para mejorar el diagnóstico de esta enfermedad.

Para cualquier información, duda o reclamación, se pueden dirigir a la consulta de Genética Clínica del Centro Municipal de Genética Médica correspondiente, y allí será atendido por el especialista que lo visitó.

Yo _____ después de haber sido informado(a), aclarar mis dudas, conocer el propósito, los riesgos, ventajas y limitaciones de la investigación, doy mi consentimiento para la participación de mi hijo(a) o tutorado en la investigación y lo expreso con la firma del presente documento.

Firma _____ Grado de parentesco con el control _____

Genetista Clínico: _____ Firma _____

Investigador: Dr. Daniel Quintana Hernández Firma: _____

Contacto: daniel.quintana@infomed.sld.cu Teléfonos: 72609651 / 47524417

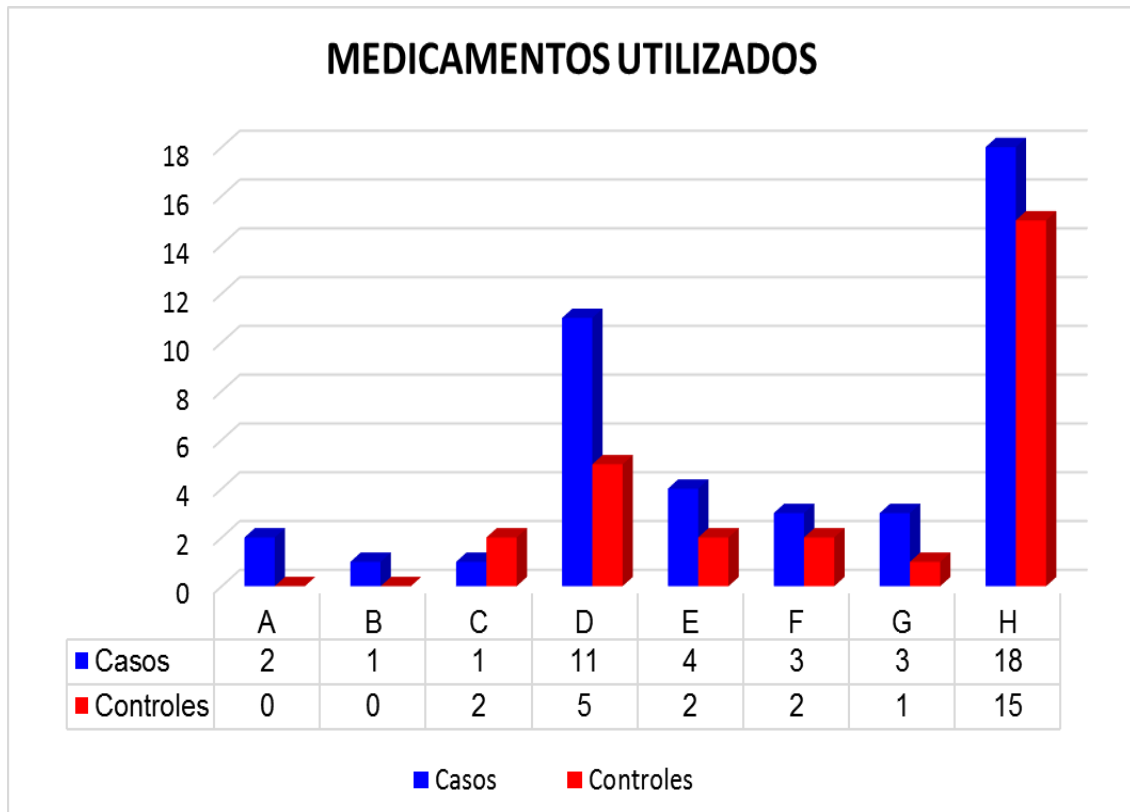
Fecha: _____ Observación: _____

Anexo 12. Dismorfias según región topográfica y grupo de estudio

Dismorfias	Casos	Controles
	Nº (%)	Nº (%)
CABEZA - CUELLO		
Macrocefalia	54 (42,9)	21 (16,7)
Frente amplia	24 (19,0)	5 (4,0)
Puente nasal ancho	10 (8,0)	0 (0,0)
Cara alargada	9 (7,1)	4 (3,2)
Orejas prominentes	9 (7,1)	2 (1,6)
Puente nasal deprimido	8 (6,3)	0 (0,0)
Occipucio prominente	7 (5,6)	0 (0,0)
Narinas antevertidas	7 (5,6)	1 (0,8)
Epicanto interno	7 (5,6)	1 (0,8)
Ojos prominentes	5 (4,0)	0 (0,0)
Hélix engrosado	5 (4,0)	3 (2,4)
Cuello corto	5 (4,0)	0 (0,0)
Microcefalia	4 (3,2)	0 (0,0)
Asimetría facial	4 (3,2)	1 (0,8)
Boca grande	4 (3,2)	1 (0,8)
Mentón puntiagudo	4 (3,2)	3 (2,4)
Punta nasal bulbosa	3 (2,4)	1 (0,8)
Ojos hundidos	3 (2,4)	0 (0,0)
Labios gruesos	3 (2,4)	3 (2,4)
Frente estrecha	2 (1,6)	0 (0,0)
Estrabismo convergente	2 (1,6)	1 (0,8)
Plagiocefalia	1 (0,8)	0 (0,0)
Hipoplasia medio facial	1 (0,8)	0 (0,0)
Pinzamiento de alas de la nariz	1 (0,8)	0 (0,0)
Ojos almendrados	1 (0,8)	1 (0,8)
Hipertelorismo	1 (0,8)	0 (0,0)
Hipotelorismo	1 (0,8)	0 (0,0)
Orejas pequeñas	1 (0,8)	1 (0,8)
Paladar alto	1 (0,8)	1 (0,8)
Labio superior fino	1 (0,8)	0 (0,0)
Labio superior en carpa	1 (0,8)	0 (0,0)
Dientes pequeños	1 (0,8)	0 (0,0)
Mentón hendido	1 (0,8)	1 (0,8)

MIEMBROS SUPERIORES E INFERIORES		
Hiperlaxitud articular	17 (13,5)	0 (0,0)
Clinodactilia del quinto dedo de la mano	10 (7,9)	1 (0,8)
Pie plano	9 (7,1)	8 (6,3)
Sindactilia	9 (7,1)	2 (1,6)
Pliegue simio unilateral	3 (2,4)	4 (3,2)
Pliegue simio bilateral	2 (1,6)	0 (0,0)
Falanges distales afinadas	1 (0,8)	0 (0,0)
Manos cortas	1 (0,8)	0 (0,0)
Manos secas	1 (0,8)	0 (0,0)
<i>Genus</i> valgo	1 (0,8)	0 (0,0)
Separación entre primer y segundo dedo del pie	1 (0,8)	1 (0,8)
TRONCO COLUMNA VERTEBRAL		
Mamila supernumeraria	2 (1,6)	0 (0,0)
<i>Pectus carinatum</i>	2 (1,6)	0 (0,0)
Hernia umbilical	1 (0,8)	0 (0,0)
Sobrecrecimiento de vertebras dorsales	1 (0,8)	0 (0,0)
Cifoescoliosis	1 (0,8)	0 (0,0)
GENITALES		
Prepucio redundante	5 (4,0)	2 (1,6)
Criptorquidia	3 (2,4)	0 (0,0)
Escroto en chal	2 (1,6)	0 (0,0)
Hipoplasia testicular unilateral	1 (0,8)	0 (0,0)
TEGUMENTOS		
Manchas café con leche	13 (10,3)	8 (6,3)
Mancha hipocrómica	10 (7,9)	3 (2,4)
Xinofris	5 (4,0)	0 (0,0)
Cejas pobladas	5 (4,0)	1 (0,8)
Implantación anómala del cabello	4 (3,2)	0 (0,0)
Hirsutismo	3 (2,4)	1 (0,8)
Discromía del cabello	3 (2,4)	0 (0,0)
Efélides	3 (2,4)	5 (4,0)
Cejas bien alineadas	2 (1,6)	0 (0,0)
Nevo hiperocrómico	2 (1,6)	1 (0,8)
Vorticilo de pelo doble	2 (1,6)	0 (0,0)
Vorticilo de pelo región frontal	1 (0,8)	0 (0,0)
Pestañas largas	1 (0,8)	0 (0,0)

Anexo 13. Distribución de casos y controles según medicamentos utilizados en etapa prenatal



LEYENDA:

A. Paracetamol (p=0,498^a)

F. Prednisona (p=1,000^a)

B. Sertralina (p=1,000^a)

G. Carbamazepina (p=0,622^a)

C. Otros antidepresivos (p=1,000^a)

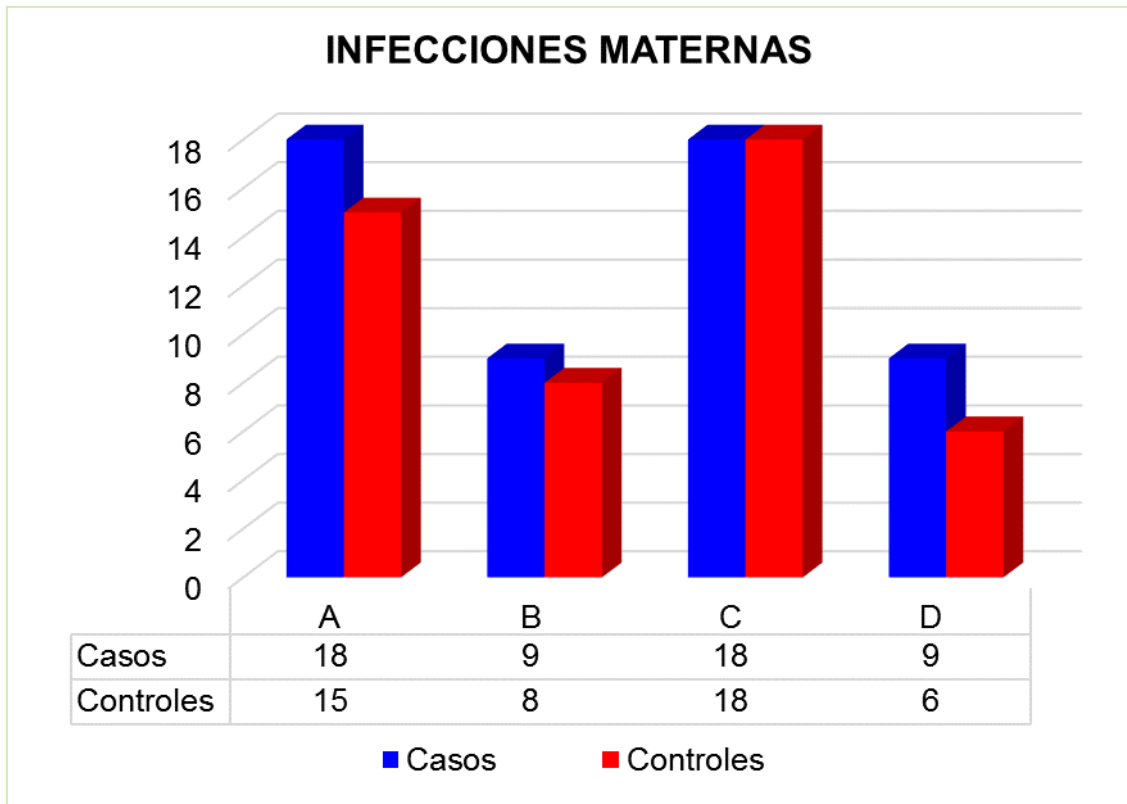
H. Otros (p=0,575^a)

D. Metildopa (p=0,117^a)

E. Salbutamol (p=0,684^a)

a: prueba exacta de Fisher

Anexo 14. Distribución de casos y controles según infecciones maternas en etapa prenatal

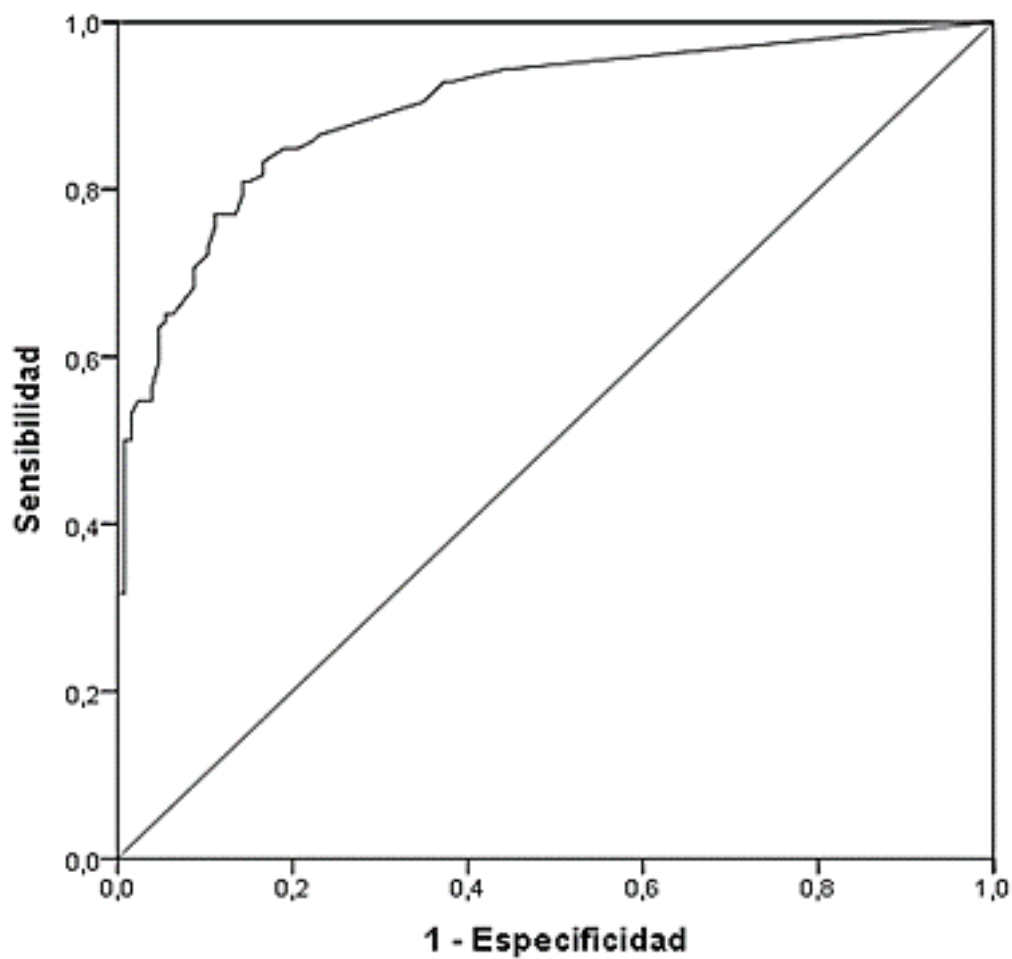


LEYENDA:

- A. Infección respiratoria alta ($p=0,709^a$)*
- B. Infección del tracto urinario ($p=0,802^a$)*
- C. Infección vaginal ($p=1,000^a$)*
- D. Otras ($p=0,423^a$)*

a: prueba Chi cuadrado (χ^2) con corrección

Anexo 15. Curva ROC con las probabilidades de padecer de autismo según el modelo de regresión logística condicional estimado



Anexo 16. Propuesta del panel cubano para el diagnóstico de autismo primario por estudios de secuenciación de nueva generación

#	A. Símbolo oficial (HGNC^a) B. Nombre oficial completo C. NCBI Gene^b D. Locus	Función
1	A. ANK3 B. ankyrin 3 C. 288 D. 10q21.2	<p>El gen ANK3 se expresa en el cerebro. Está asociado con la dinámica de los microtúbulos a través de un mecanismo dependiente de GSK3/CRMP2. También implicado en vías relacionadas con la regulación y la función de los microtúbulos, específicamente la señalización y orientación axonal, la fusión de vesículas, la organización del citoesqueleto y la extensión de las protuberancias celulares.</p>
2	A. AMPK B. AMP-activated protein kinase C. 9376 D. 5p13.1	<p>La proteína codificada por este gen pertenece a la familia de las proteínas quinasas ser/thr. Es la subunidad catalítica de la proteína quinasa activada por AMP 5' (AMPK). AMPK es un sensor de energía celular conservado en todas las células eucariotas. La actividad quinasa de AMPK es activada por los estímulos que aumentan la relación AMP/ATP celular. AMPK regula las actividades de varias enzimas metabólicas claves a través de la fosforilación. Protege a las células del estrés que causa el agotamiento de ATP al desactivar las vías biosintéticas que consumen ATP.</p>

3	<p>A. CACNA1H</p> <p>B. Calcium voltage-gated channel subunit alpha1 H</p> <p>C. 8912</p> <p>D. 16p13.3</p>	<p>Este gen codifica un miembro de tipo T de la familia de subunidades alfa1, una proteína en el complejo del canal de calcio dependiente de voltaje. Los canales de calcio median la entrada de iones de calcio en la célula tras la polarización de la membrana y consisten en un complejo de subunidades alfa1, alfa2/delta, beta y gamma en una proporción de 1:1:1:1. La subunidad alfa1 tiene 24 segmentos transmembrana y forma el poro a través del cual los iones pasan al interior de la célula. Hay múltiples isoformas de cada una de las proteínas en el complejo, ya sean codificadas por diferentes genes o como resultado de empalmes alternativos de transcritos. Se han caracterizado variantes de empalme transcripcional alternativos, que codifican diferentes isoformas del gen. Se expresa ampliamente en tejidos de mamíferos y células excitables, incluido el cerebro donde se expresa en gran medida en el tálamo, el hipocampo, la amígdala y el putamen, regula la concentración de calcio intracelular y juega un papel importante en la activación neuronal y en la liberación de neurotransmisores.</p>
4	<p>A. CHD8</p> <p>B. Chromodomain helicase DNA binding protein 8</p> <p>C. 57680</p> <p>D. 14q11.2</p>	<p>Este gen codifica un miembro de la familia de proteínas de unión cromodominio ADN helicasa. Se ha demostrado que este gen funciona en varios procesos que incluyen la regulación transcripcional, remodelación epigenética, proliferación celular y regulación de la síntesis de ARN. Las variantes</p>

		alélicas de este gen están asociadas con el trastorno del espectro autista.
5	<p>A. CNTN4</p> <p>B. Contactin 4</p> <p>C. 152330</p> <p>D. 3p26.3p26.2</p>	Este gen codifica un miembro de inmunoglobulinas de la familia de la contactinas. Las contactinas son moléculas de adhesión celular asociadas a axones que funcionan en la formación y plasticidad de redes neuronales. La proteína codificada por este gen es una proteína de la membrana neuronal que puede desempeñar un papel en la formación de conexiones axónicas en el sistema nervioso en desarrollo.
6	<p>A. HERC2</p> <p>B. HECT and RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2</p> <p>C. 8924</p> <p>D. 15q13.1</p>	Este gen pertenece a la familia de genes HERC, codifica el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano. Se desplaza entre el núcleo y el citoplasma y funciona como una ligasa de ubiquitina E3 para la ubiquitinación y degradación de proteínas dianas, como activador de otras ligasas de ubiquitina E3 y como adaptador para el ensamblaje de proteínas de respuesta al daño del ADN. Las variaciones genéticas en este gen están asociadas con la variabilidad de la pigmentación de la piel, cabellos y ojos.
7	<p>A. FMR1</p> <p>B. Fragile X messenger ribonucleoprotein 1</p> <p>C. 2332</p> <p>D. Xq27.3</p>	La proteína codificada por este gen se une al ARN y se asocia con polisomas. La proteína codificada está implicada en el tráfico de ARNm desde el núcleo hasta el citoplasma. La expansión de trinucleótidos CGG mayor de 200 repeticiones en la región 5' no traducida del gen FMR1 desencadena una cascada de modificaciones epigenéticas, resultando en la

		deficiencia o ausencia completa del producto codificado, FMRP. Esta es una proteína selectiva de unión al ARNm que regula (reprime) la traducción de un subconjunto de ARNm dendríticos desempeñando un papel clave en la maduración sináptica, la función y plasticidad neuronal. Su ausencia provoca aumento de la síntesis de proteínas dendríticas a nivel postsináptico y, por consiguiente, genera disregulación de la sinapsis.
8	<p>A. FOXP1</p> <p>B. Forkhead box P1</p> <p>C. 27086</p> <p>D. 3p13</p>	Este gen pertenece a la subfamilia P de la familia de factores de transcripción Forkhead box (FOX). Los factores de transcripción Forkhead box juegan un papel importante en la regulación de la transcripción de genes específicos del desarrollo y de la edad adulta. La proteína Forkhead box P1 contiene dominios tanto de unión al ADN como de unión a proteínaproteína.
9	<p>A. FOXP2</p> <p>B. Forkhead box P2</p> <p>C. 93986</p> <p>D. 7q31.1</p>	Este gen codifica un miembro de la familia de factores de transcripción que se expresa en el cerebro fetal y adulto, así como en otros órganos, como los pulmones y el intestino. Este gen es necesario para el desarrollo adecuado de las regiones cerebrales del habla y el lenguaje durante la embriogénesis, y puede estar involucrado en una variedad de vías y cascadas biológicas que pueden influir en el desarrollo del lenguaje.
10	A. GABRA5	GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio que actúa en los receptores GABAA del cerebro de los mamíferos (la subunidad alfa5 forma canales de

	<p>B. Gamma-aminobutyric acid type A receptor subunit alpha5</p> <p>C. 2558</p> <p>D. 15q12</p>	<p>cloruro controlados por ligandos). La conductancia del cloruro de estos canales puede ser modulada por agentes como las benzodiazepinas que se unen al receptor GABAA. Se han identificado al menos 16 subunidades distintas de receptores GABAA. Se han descrito variantes de transcripción que utilizan los tres primeros exones no codificantes alternativos diferentes.</p>
11	<p>A. GABRB3</p> <p>B. Gamma-aminobutyric acid type A receptor subunit beta3</p> <p>C. 2562</p> <p>D. 15q12</p>	<p>Este gen codifica un miembro de la familia de canales iónicos controlados por ligandos. La proteína codificada es una de las subunidades de un canal de cloruro de múltiples subunidades que sirve como receptor para el ácido gamma-aminobutírico, un importante neurotransmisor inhibidor del sistema nervioso de los mamíferos. Este gen puede estar asociado con la patogenia de varios trastornos, incluidos el síndrome de Angelman, el síndrome de Prader-Willi, epilepsia y autismo. GABRB3 se expresa en el cerebro en desarrollo, es fundamental para el ensamblaje y el tráfico del receptor GABAA, así como para la diferenciación de células madre en el cerebro embrionario.</p>
12	<p>A. KATNAL2</p> <p>B. Katanin catalytic subunit A1 like 2</p> <p>C. 83473</p> <p>D. 18q21.1</p>	<p>Codifica una ATPasa de corte de microtúbulos y son esenciales para el ensamblaje del huso, la ciliogénesis, la división celular y la motilidad celular. Se prevé que participe en la organización de los microtúbulos citoplasmáticos. Se estima que participe en la arborización dendrítica de neuronas en desarrollo.</p>

13	<p>A. LAMB1</p> <p>B. Laminin subunit beta 1</p> <p>C. 3912</p> <p>D. 7q31.1</p>	<p>Las lamininas son una familia de glicoproteínas de la matriz extracelular y el principal constituyente no colágeno de las membranas basales. Se han implicado en una amplia variedad de procesos biológicos que incluyen la adhesión celular, la diferenciación, la migración, la señalización y el crecimiento de neuritas. El gen LAMB1 codifica la cadena $\beta 1$ de la proteína laminina, presente en niveles bajos en el suero e involucrada en la unión celular y quimiotaxis. Se expresa altamente en el cerebro.</p>
14	<p>A. LAMC3</p> <p>B. Laminin subunit gamma 3</p> <p>C. 10319</p> <p>D. 9q34.12</p>	<p>Las lamininas se han implicado en una amplia variedad de procesos biológicos que incluyen la adhesión celular, la diferenciación, la migración, la señalización y el crecimiento de neuritas. Este gen codifica la subunidad gamma 3 de la laminina que se expresa en el cerebro fetal humano en desarrollo. A las 20 semanas posteriores a la concepción, está ampliamente presente en la placa cortical, la capa densa de neuronas piramidales posmigratorias, y en niveles más bajos en las zonas ventriculares y subventriculares. LAMC3 alcanza su punto máximo de expresión entre el desarrollo fetal tardío y la infancia tardía, coincidiendo con el período de organización cortical que tiene lugar después de la proliferación de células neurales madre y la migración de neuronas posmitóticas a la placa cortical. LAMC3 tiene una localización prominente en las regiones</p>

		temporo-occipital. Los hallazgos sugirieron un papel para LAMC3 en la organización cortical.
15	<p>A. MECP2</p> <p>B. Methylcpg binding protein 2</p> <p>C. 4204</p> <p>D. Xq28</p>	<p>La metilación del ADN es la principal modificación de los genomas eucariotas y juega un papel esencial en el desarrollo de los mamíferos. Las proteínas humanas MECP2, MBD1, MBD2, MBD3 y MBD4 comprenden una familia de proteínas nucleares relacionadas por la presencia en cada una de un dominio de unión a metil-CpG (MBD). Cada una de estas proteínas, con la excepción de MBD3, es capaz de unirse específicamente al ADN metilado. MECP2, MBD1 y MBD2 también pueden reprimir la transcripción de promotores de genes metilados. A diferencia de otros miembros de la familia MBD, MECP2 está ligado al cromosoma X y está sujeta a la inactivación del X. MECP2 es esencial para el desarrollo embrionario. Las mutaciones del gen MECP2 son la causa de la mayoría de los casos de síndrome de Rett. El empalme alternativo da como resultado múltiples variantes de transcripción que codifican diferentes isoformas.</p>
16	<p>A. MTOR</p> <p>B. Mechanistic target of rapamycin kinase</p> <p>C. 2475</p> <p>D. 1p36.22</p>	<p>La proteína codificada por este gen pertenece a una familia de quinasas relacionadas con la fosfatidilinositol quinasa. Estas quinasas median las respuestas celulares al estrés, como el daño al ADN y la privación de nutrientes. Esta quinasa es un componente de dos complejos distintos, mTORC1, que controla la síntesis de proteínas, el crecimiento y</p>

		<p>la proliferación celular, y mTORC2, que es un regulador del citoesqueleto de actina y promueve la supervivencia celular y la progresión del ciclo celular. Esta proteína actúa como diana para la detención del ciclo celular y los efectos inmunosupresores del complejo FKBP12-rapamicina.</p>
17	<p>A. NLGN3 B. Neuroligin 3 C. 54413 D. Xq13.1</p>	<p>Este gen codifica un miembro de una familia de proteínas de superficie celular neuronal. Los miembros de esta familia pueden actuar como ligandos específicos del sitio de empalme para las β neurexinas y pueden participar en la formación y remodelación de las sinapsis del sistema nervioso central. Las mutaciones en este gen pueden estar asociadas con el autismo.</p>
18	<p>A. NLGN4X B. Neuroligin 4 X-linked C. 57502 D. Xp22.32p22.31</p>	<p>Este gen codifica un miembro de la familia de proteínas carboxilesterasa /lipasa tipo β. La proteína codificada pertenece a una familia de proteínas de superficie celular neuronal. Los miembros de esta familia pueden actuar como ligandos específicos del sitio de empalme para las β neurexinas y pueden participar en la formación y remodelación de las sinapsis del sistema nervioso central. Las mutaciones en este gen se han asociado con el autismo.</p>
19	<p>A. NRXN1 B. Neurexin 1 C. 9378 D. 2p16.3</p>	<p>Este gen codifica una proteína de membrana tipo I de un solo paso que pertenece a la familia de las neurexinas. Las neurexinas son receptores de la superficie celular que se unen a las neuroliginas para formar complejos de neurexina / neuroliginas</p>

		dependientes de Ca (2+) en las sinapsis del sistema nervioso central. Este complejo es necesario para una neurotransmisión eficaz y está implicado en la formación de contactos sinápticos.
20	<p>A. POGZ</p> <p>B. Pogo transposable element derived with ZNF domain</p> <p>C. 23126</p> <p>D. 1q21.3</p>	La proteína codificada por este gen parece ser una proteína con dedos de zinc que interactúa con el factor de transcripción SP1. POGZ participa en la mitosis y se expresa en el cerebro humano fetal y adulto. Se supone que funciona como un regulador transcripcional en redes moleculares cruciales para la función neuronal. Se ha demostrado que POGZ se co-expresa con genes asociados al autismo y la discapacidad intelectual, involucrados en la remodelación de la cromatina y la transcripción de genes.
21	<p>A. PTEN</p> <p>B. Phosphatase and tensin homolog</p> <p>C. 5728</p> <p>D. 10q23.31</p>	Gen supresor de tumores. La proteína codificada por este gen es una fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato-3-fosfatasa. Contiene un dominio similar a la tensina, así como un dominio catalítico similar al de las proteínas tirosina fosfatasas de doble especificidad. A diferencia de la mayoría de las proteínas tirosina fosfatasas, esta proteína desfosforila preferentemente los sustratos de fosfoinositida. Regula negativamente los niveles intracelulares de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato en las células y funciona como un supresor de tumores al regular negativamente la vía de señalización de AKT/PKB.

22	<p>A. RELN</p> <p>B. Reelin</p> <p>C. 5649</p> <p>D. 7q22.1</p>	<p>Este gen codifica una gran proteína de matriz extracelular secretada que se piensa que controla las interacciones célula - célula críticas para el posicionamiento celular y la migración neuronal durante el desarrollo del cerebro. Esta proteína puede estar implicada en la esquizofrenia, el autismo, el trastorno bipolar, la depresión mayor y en los defectos de migración asociados a la epilepsia del lóbulo temporal. Las mutaciones de este gen se asocian con lisencefalia autosómica recesiva con hipoplasia cerebelosa.</p>
23	<p>A. SCN2A</p> <p>B. Sodium voltage-gated channel alpha subunit 2</p> <p>C. 6326</p> <p>D. 2q24.3</p>	<p>Los canales de sodio dependientes de voltaje son complejos de glicoproteínas transmembrana compuestos por una gran subunidad alfa con cuatro dominios repetidos, cada uno de los cuales está compuesto por seis segmentos que atraviesan la membrana y una o más subunidades beta reguladoras. Los canales de sodio dependientes de voltaje funcionan en la generación y propagación de potenciales de acción en neuronas y músculos. Este gen codifica un miembro de la familia de genes de la subunidad alfa del canal de sodio. Las variantes alélicas de este gen están asociadas con trastornos convulsivos y trastorno del espectro autista.</p>
24	<p>A. SHANK2</p> <p>B. SH3 and multiple ankyrin repeat domains 2</p>	<p>Este gen codifica un miembro de la familia de proteínas sinápticas Shank que puede funcionar como andamio molecular postsináptico de la actividad excitatoria.</p>

	<p>C. 22941</p> <p>D. 11q13.3q13.4</p>	
25	<p>A. SHANK3</p> <p>B. SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3</p> <p>C. 85358</p> <p>D. 22q13.33</p>	<p>Este gen es un miembro de la familia de genes Shank. Las proteínas Shank actúan en el andamiaje multidominio de densidad postsináptica que conectan receptores de neurotransmisores, canales iónicos y otras proteínas de membrana con el citoesqueleto de actina y las vías de señalización acopladas a proteína G. Las proteínas de Shank también desempeñan un papel en la formación de sinapsis y la maduración de las espinas dendríticas.</p>
26	<p>E. SYNGAP1</p> <p>F. Synaptic Ras gtpase activating protein 1</p> <p>G. 8831</p> <p>H. 6p21.32</p>	<p>Este gen codifica la proteína SynGAP (Ras activadora de GTPasa, miembro del complejo receptor de N-metil-D-aspartato). Se expresa desde fases embrionarias, principalmente en el cerebro. Es una de las proteínas más abundantes en la densidad postsináptica y en etapas iniciales del neurodesarrollo también tiene una localización y función no sináptica. Regula la plasticidad sináptica tanto a nivel estructural como funcional (ya sea regulando la morfología y composición de receptores de glutamato o modulando procesos de potenciación o inhibición a corto y largo plazo), eventos relacionados con la correcta conectividad neuronal y el balance excitatorio/inhibitorio. Las variantes alélicas de este</p>

		gen están asociadas con la discapacidad intelectual y el trastorno del espectro autista.
27	<p>A. SLC6A1</p> <p>B. Solute carrier family 6 member 1</p> <p>C. 6529</p> <p>D. 3p25.3</p>	La proteína codificada por este gen es un transportador de ácido gamma aminobutírico (GABA) que se localiza en la membrana plasmática. La proteína codificada elimina el GABA de la hendidura sináptica y lo restaura en las terminales presinápticas.
28	<p>A. SLC6A4</p> <p>B. Solute carrier family 6 member 4</p> <p>C. 6532</p> <p>D. 17q11.2</p>	Este gen codifica una proteína de membrana integral que transporta el neurotransmisor serotonina desde los espacios sinápticos hacia las neuronas presinápticas. La proteína codificada termina la acción de la serotonina y la recicla de manera dependiente del sodio. Se ha demostrado que un polimorfismo de longitud repetida en el promotor de este gen afecta la tasa de captación de serotonina.
29	<p>A. TSC1</p> <p>B. TSC complex subunit 1</p> <p>C. 7248</p> <p>D. 9q34.13</p>	Este gen es un gen supresor de tumores que codifica la hamartina, proteína inhibidora del crecimiento. La proteína codificada interactúa con la proteína tuberina activadora de GTPasa y la estabiliza. Este complejo de hamartina-tuberina regula negativamente la señalización del complejo de rapamicina 1 (mTORC1) en mamíferos, que es un importante regulador del crecimiento de las células anabólicas. Esta proteína también funciona como co-acompañante de Hsp90 que inhibe su actividad ATPasa. Esta proteína funciona como un facilitador del plegamiento mediado por Hsp90 dependiente de quinasa y no

		<p>quinasa, incluido TSC2 y, por lo tanto, previene su ubiquitinación y degradación proteasomal. Las mutaciones en este gen se han asociado con la esclerosis tuberosa.</p>
30	<p>A. TSC2 B. TSC complex subunit 2 C. 7249 D. 16p13.3</p>	<p>Este gen es un gen supresor de tumores que codifica la proteína tuberina inhibidora del crecimiento. La tuberina interactúa con la hamartina para formar el complejo proteico TSC que funciona en el control del crecimiento celular. Este complejo de proteína TSC regula negativamente la señalización del complejo de rapamicina 1 (mTORC1) en mamíferos, que es un importante regulador del crecimiento de células anabólicas. Las mutaciones en este gen se han asociado con la esclerosis tuberosa.</p>
31	<p>A. UBE3A B. Ubiquitin protein ligase E3A C. 7337 D. 15q11.2</p>	<p>Este gen codifica la ubiquitina proteína ligasa E3, parte del sistema de degradación de la proteína ubiquitina. Es un gen con impronta materna a nivel cerebral y se expresa bialélicamente en otros tejidos. La supresión de este gen heredada por vía materna causa el síndrome Angelman. La proteína también interactúa con la proteína E6 del virus del papiloma humano tipos 16 y 18, lo que da como resultado la ubiquitinación y proteólisis de la proteína tumoral p53. El empalme alternativo de este gen da como resultado tres variantes de transcripción que codifican tres isoformas con extremos N diferentes.</p>

Leyenda:

a: HGNC (Comité de nomenclatura de genes de la Organización del Genoma Humano). Disponible en: <https://www.genenames.org/>

b: NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica de los Estados Unidos). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Anexo 17. Causas de autismo secundario

a) Metabolopatías que pueden asociarse a autismo

-
- Deficiencia de adenilosuccinasa

 - Déficit de creatina cerebral

 - Hiperactividad del citosol 5 nucleotidasa

 - Leucodistrofia metacromática

 - Mucopolisacaridosis

 - Síndrome Sanfilippo

 - Síndrome Hurler

 - Enfermedades peroxosimales

 - Fenilcetonuria

 - Síndrome Smith Lemli Opitz

 - Síndrome piridoxina dependiente

 - Déficit de succínico semialdehído dehidrogenasa

 - Déficit de biotinidasa

 - Acidemia isovalérica

 - Histidinemia

 - Deficiencia de dihidropirimidina dehidrogenasa

 - Deficiencia de fosforribosil pirofosfato sintetasa

 - Xantinuria hereditaria tipo II

 - Déficit de acil CoA dehidrogenasa de cadena larga

 - Síndrome HEADD (hipotonía, epilepsia, autismo y retraso del desarrollo)

 - Deficiencia de folato cerebral
-

b) Síndromes neurocutáneos

-
- Neurofibromatosis

 - Esclerosis tuberosa

 - Hipomelanosis de Ito
-

c) Síndromes genéticos

-
- Síndrome Frágil X

 - Síndrome Angelman

 - Síndrome Prader Willi

 - Síndrome Williams

 - Síndrome Sotos

 - Síndrome Moebius

 - Síndrome Williams

 - Síndrome Timothy

 - Síndrome Joubert

 - Distrofia muscular Duchenne

 - Síndrome Smith Magenis

 - Síndromes de macrocefalia PTEN

 - Síndrome Rett

 - Síndrome Aarskog

 - Síndrome Cohen

 - Síndrome Noonan
-

d) Alteraciones cromosómicas

-
- Delección / Duplicación 1q21.1

 - Delección 2q37

 - Síndrome duplicación recíproca 7q11.23

 - Duplicación 15q11q13

 - Delección / Duplicación 16p11

 - Delección 22q13.3 (Síndrome Phelan McDermid)

 - Duplicación 22q13.3

 - Síndrome Turner

 - Síndrome 47 XYY

 - Trisomía 21
-

e) Otros

-
- Síndrome de West
-
- Síndrome displasia cortical - epilepsia focal
-
- Síndrome de Lennox Gastaut
-
- Síndrome de Landau Kleffner
-
- Epilepsia mioclónica severa
-

f) Infecciones intrauterinas

-
- Infección congénita por citomegalovirus
-
- Rubéola congénita
-

g) Infecciones postnatales

-
- Meningitis bacteriana por *Haemophilus*
-
- Encefalitis por herpes simple
-

Fuente: referencia bibliográfica 40

Anexo 18. Valores de referencia de marcadores de daño oxidativo y defensa antioxidante para pacientes entre 0 – 15 años

Marcadores de Daño Oxidativo	Valores de Referencia Promedio [IC 95%]
- Daño Oxidativo a Lípidos (MDA)	0,70 [0,53 - 0,87] $\mu\text{mol/L}$
- Daño Oxidativo a Proteínas (PAOP)	38,76 [26,82 - 50,70] $\mu\text{mol/L}$
- Concentraciones de Peróxidos (FOX)	1,15 [1-2,81] $\mu\text{mol/L}$
Marcadores de Defensa Antioxidante	Valores de Referencia Promedio (IC 95%)
- Actividad Enzimática SOD1	169,59 [161,83 - 177,35] U/ml
- Actividad Enzimática CAT	72,88 [67,61 - 78,14] U/ml
- Relación SOD1/CAT	2,44 [2,23 - 2,64]
- Actividad Enzimática Glutación Peroxidasa	41360,45 [29913,46 - 52807,44] mU/ml
- Concentraciones de Grupos Tioles (GSH)	28,75 [20,06 - 37,44] $\mu\text{mol/L}$
- Capacidad Antioxidante Total	0,16 [0,14 - 0,18] $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$

Fuente: PNO-EO.001 (Metodología para la recopilación de datos de las muestras recibidas, distribución del trabajo y preparación de los informes de análisis en el laboratorio de estrés oxidativo. CNGM)

Anexo 19. Técnicas utilizadas en el procesamiento de muestras de sangre en el laboratorio de estrés oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica

Una vez las muestras de sangre llegan al laboratorio, se obtiene el plasma por centrifugación (2500 rpm durante 5 minutos a 4 °C) y el lisado de eritrocitos por lavado con solución de NaCl 0,9 % fría y lisis con agua destilada fría. Se determina la concentración de hemoglobina en el lisado y las muestras se almacenan a 20 °C hasta la realización de las determinaciones de estrés oxidativo.

Determinaciones de estrés oxidativo.

1- Daño oxidativo a los lípidos:

1.1 Determinación de las concentraciones plasmáticas de Malonildialdehído (MDA).

La concentración plasmática de MDA se determinó a partir del método descrito en el PNO-EO.010. Este método se basa en la reacción del reactivo cromógeno N-metil-2-fenil-indol con el MDA a 45 °C en medio ácido. La concentración de MDA se estimó por la absorbancia a 532 nm a partir de una curva de calibración.

2- Daño oxidativo a las proteínas:

2.1 Determinación de las concentraciones plasmáticas de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP).

La determinación en plasma de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP) se realizó mediante la técnica espectrofotométrica descrita en el PNO-EO.011. Este método se basa en el hecho de que los PAOP reaccionan de la misma manera que la cloramina T (patrón) con el yoduro de potasio en medio ácido. Esta reacción rinde un compuesto coloreado que absorbe a 340 nm.

3- Determinación de peróxidos totales (Ensayo FOX):

La determinación de las concentraciones plasmáticas de peróxidos totales se realizó mediante la técnica descrita en el PNO-EO.012. El ensayo se basa en la oxidación de iones ferrosos (Fe^{2+}) a iones férricos (Fe^{3+}) mediado por el H_2O_2 en condiciones ácidas. El ión férrico formado reacciona con el indicador xilenol naranja para formar un complejo coloreado que se mide a 560 nm.

4- Determinación de la capacidad de respuesta antioxidante:

4.1 Determinación de la actividad enzimática de Cu/Zn Superóxido Dismutasa (Cu/Zn SOD) intraeritrocitaria.

La actividad intraeritrocitaria de la enzima Cu/Zn Superóxido Dismutasa (Cu/Zn SOD) se determinó mediante la técnica espectrofotométrica descrita en el PNO-EO.015. Este es un método cinético indirecto, que se basa en la capacidad de esta enzima para inhibir la reacción de reducción del Citocromo C.

4.2 Determinación de la actividad enzimática de la Catalasa intraeritrocitaria.

La actividad intraeritrocitaria de la enzima Catalasa se determinó mediante la técnica espectrofotométrica descrita en el PNO-EO.017. Este es un método cinético directo, que se basa en la capacidad de esta enzima transformar a su sustrato a 240 nm.

4.3 Determinación de la actividad enzimática de la Glutación Peroxidasa intraeritrocitaria.

La actividad intraeritrocitaria de la enzima Glutación peroxidasa se determinó mediante la técnica espectrofotométrica descrita en el PNO-EO.019. Este es un método cinético indirecto, que se basa en que el GSSG producido por la reacción de GPx es reciclado al estado reducido por la GR. La oxidación del NADPH a NADP + está acompañada por la disminución de la absorbancia a 340 nm.

4.4 Determinación de los niveles de tioles proteicos libres plasmáticos (GSH).

Los niveles de tioles proteicos libres plasmáticos (GSH) se determinó mediante la técnica espectrofotométrica descrita en el PNO-EO.014. El GSH presente en la muestra desproteinizada reacciona con el reactivo de *Ellman* (DTNB) para rendir un compuesto coloreado que absorbe la luz a 412 nm. La concentración de GSH se cuantifica utilizando una curva patrón de GSH.

4.5 Determinación de la Capacidad Antioxidante Total plasmática.

La Capacidad Antioxidante Total plasmática se determinó mediante la técnica espectrofotométrica descrita en el PNO-EO.013. Este ensayo permite determinar la habilidad del plasma de reducir a los iones férricos a ferrosos, representando el poder antioxidante. La reducción del ión férrico a ferroso a un pH bajo, da lugar a la formación del complejo Fe^{II}-Tripiridiltriazina, cromógeno azul, que se mide a 593 nm.

Anexo 20. Características del patrón alimentario recomendado a pacientes autistas con desbalance redox

-
- **Completo y variado:** Que tuviera todos los nutrimentos (incluido en cada comida alimentos de los tres grupos (verduras y frutas, cereales y tubérculos, leguminosas y alimentos de origen animal).

 - **Equilibrado:** Que los nutrimentos guardaran las proporciones apropiadas entre sí, haciéndose un estimado de proporciones de 10 - 15 % de proteínas, de 25 - 30 % de grasas y de 60 - 70 % de carbohidratos.

 - **Inocuo:** Que su consumo habitual no implicara riesgos para la salud, que estuviera exenta de microorganismos patógenos, toxinas y contaminantes.

 - **Suficiente y adecuado:** Que cubriera las necesidades de todos los nutrimentos y sus gustos, de tal manera que la limitación en el consumo de determinados alimentos no interfiriera en el correcto crecimiento y desarrollo de los casos.

Fuente: referencia bibliográfica 250

Anexo 21. Alimentos permitidos y prohibidos en dieta antioxidante libre de gluten y caseína

Grupo	Permitidos	No permitidos*
1) Leche y derivados	Yogurt de soya o probiótico, leche de camello o almendra	Todos excepto los permitidos
2) Carnes, pescados y huevos	Carnes frescas magras, huevos, pescados y mariscos al natural	Embutidos La piel del pollo y otras aves
3) Patatas, legumbres, frutos secos	Todos	-
4) Verduras y Hortalizas	Todos	-
5) Frutas	Todos (pueden ser jugos naturales)	-
6) Cereales y derivados, azúcar y dulces	Mieles. Reducir el consumo de azúcares. Cereales: arroz y maíz. Chocolate negro	Refrescos gaseosos y con colorantes. Trigo: en pan, sopas, pizzas, spaghetti, pasteles, entre otras preparaciones. Centeno, cebada y avena. Chocolates que contengan leche
7) Grasas, aceite y mantequilla	Aceites vegetales de oliva, girasol, soya, ajonjolí, maíz y palma	Mantequilla, margarina, grasas de origen animal, evitar comidas fritas

* No se recomienda el uso de consomé en polvo (glutamato monosódico), salsa de soya, inglesa, ketchup, vinagre, colorantes y sabores artificiales, aditivos como: hidroxianisol butilado (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), nitratos, nitritos, cafeína, aspartame, polisorbato 60 y 80, sacarina, quinina

- Las proteínas de la leche de vaca (caseínas) pueden aparecer bajo diversas denominaciones: leche como tal, caseinato de sodio, caseinato de calcio, caseinato potásico, caseinato magnésico, hidrolizado proteico, caseína, suero láctico, H4511, H4512, lactábumina, lactoglobulina, ácido láctico, lactosa de origen animal.
- La aparición de los siguientes ingredientes en la etiqueta de algún alimento, puede indicarnos la posible presencia del gluten, y por tanto hay que desechar su consumo: harinas, féculas, malta, sémola, almidón, aditivo cereal, cereal, emulsionante, esencia estabilizante, estabilizador, proteína vegetal hidrolizada, saborizante, fibra vegetal, jarabe de arroz tostado, monoglicéridos, diglicéridos.

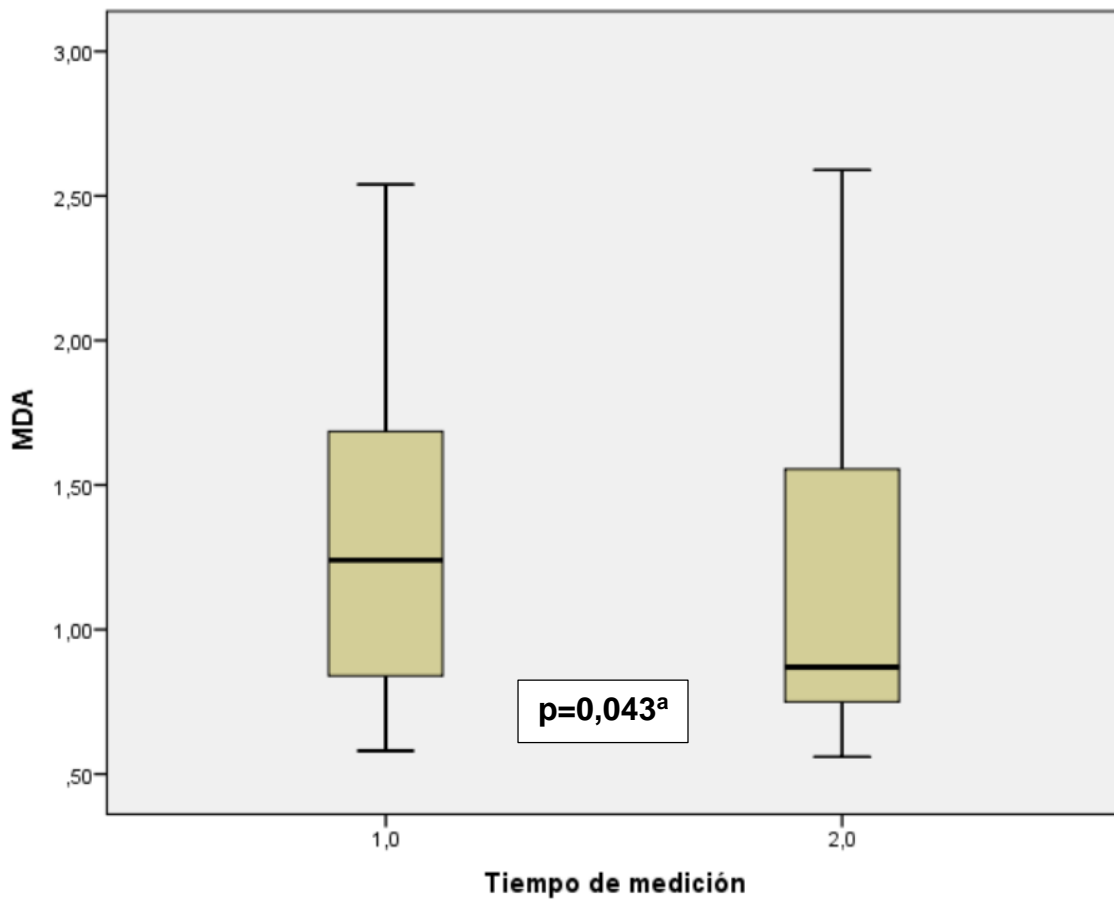
Fuente: referencia bibliográfica 251

Anexo 22. Prueba de Kolmogorov - Smirnov para una muestra

Marcador	μ	Parámetros normales ^{a,b}		Máximas diferencias extremas			Estadístico de prueba	p
		Media	Desviación estándar	Absoluta	Positivo	Negativo		
- MDA	1	1,300	0,535	0,174	0,174	0,110	0,174	0,004 ^c
	2	1,132	0,531	0,226	0,226	0,141	0,226	0,000 ^c
- PAOP1	1	85,407	34,461	0,129	0,129	0,124	0,129	0,093 ^c
	2	50,263	25,982	0,325	0,325	0,185	0,325	0,000 ^c
- SOD1	1	169,428	18,097	0,108	0,076	0,108	0,108	0,200 ^{c,d}
	2	166,767	18,096	0,146	0,146	0,098	0,146	0,032 ^c
- CAT	1	61,572	19,085	0,172	0,106	0,172	0,172	0,004 ^c
	2	64,769	14,521	0,170	0,099	0,170	0,170	0,005 ^c
- SOD1/ CAT	1	3,220	1,745	0,275	0,275	0,199	0,275	0,000 ^c
	2	2,744	0,934	0,197	0,195	0,197	0,197	0,000 ^c
- GPX	1	41517,034	14191,537	0,170	0,170	0,095	0,170	0,005 ^c
	2	45951,374	16716,992	0,135	0,115	0,135	0,135	0,063 ^c
- GSH	1	26,149	11,905	0,251	0,251	0,185	0,251	0,000 ^c
	2	26,529	10,274	0,210	0,210	0,120	0,210	0,000 ^c
- Capacidad antioxidante total	1	0,246	0,170	0,230	0,224	0,230	0,230	0,000 ^c
	2	0,200	0,047	0,143	0,143	0,114	0,143	0,038 ^c

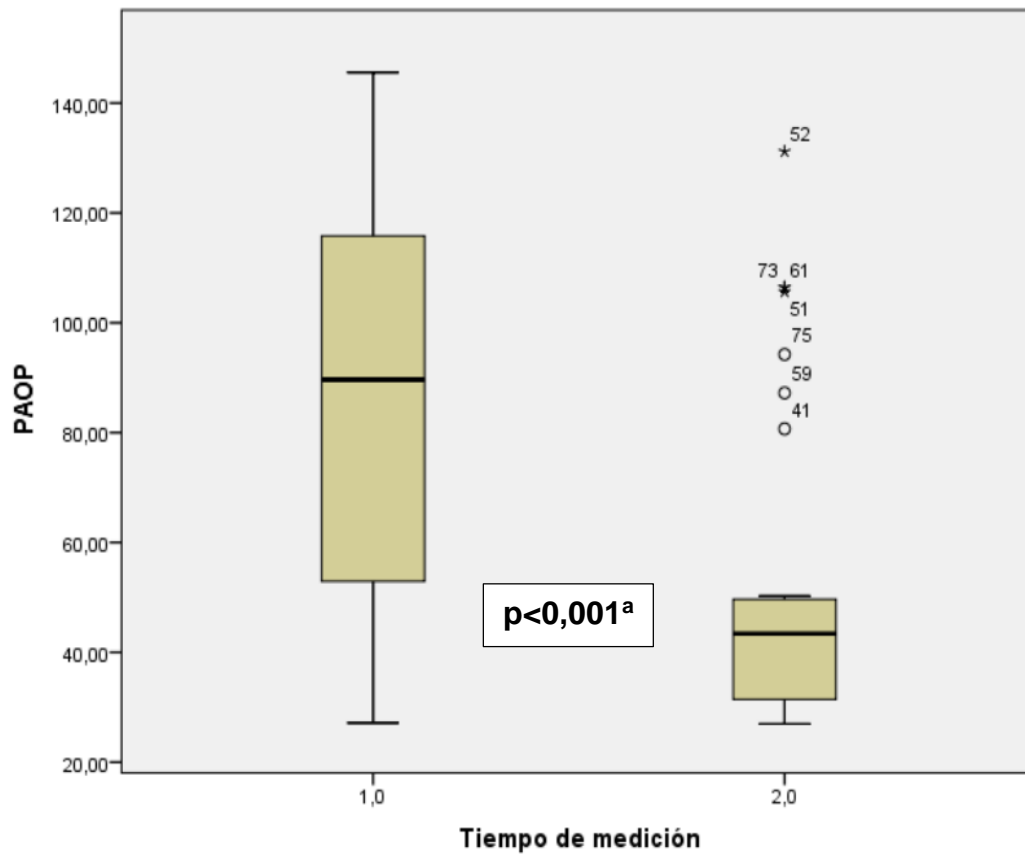
Legenda: a. La distribución de prueba es normal; b. Se calcula a partir de datos; c. Corrección de significación de Lilliefors; d. Esto es un límite inferior de la significación verdadera; μ . momento del estudio

Anexo 23. Representación gráfica de estadígrafos descriptivos para la determinación plasmática de MDA en dos tiempos muestrales



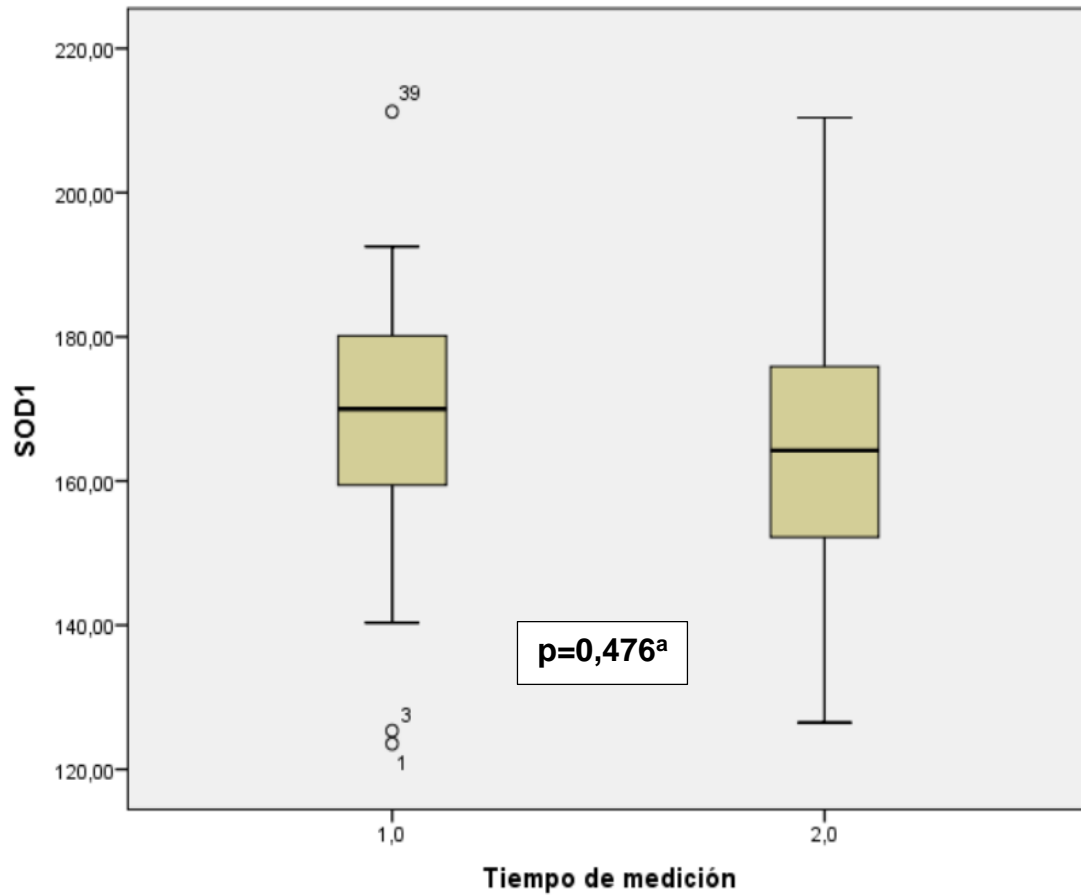
Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Anexo 24. Representación gráfica de estadígrafos descriptivos para la determinación plasmática de PAOP en dos tiempos muestrales



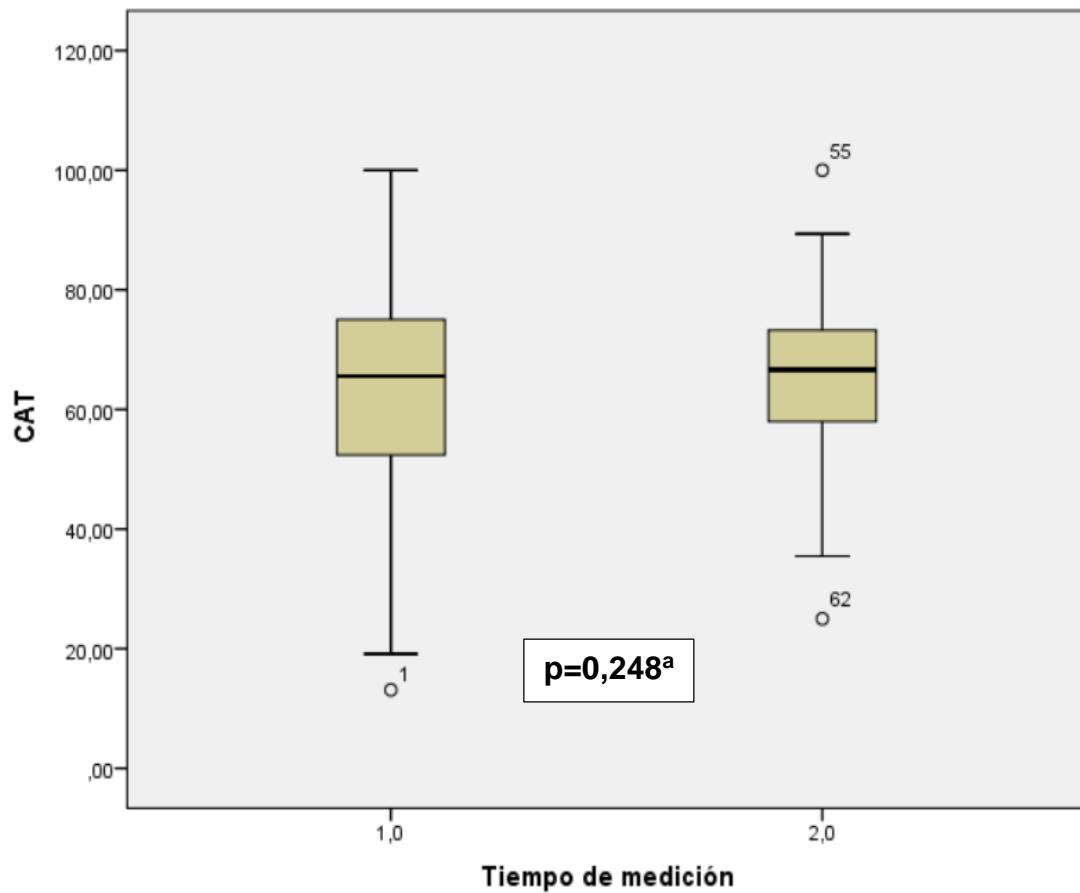
Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Anexo 25. Representación gráfica de estadígrafos descriptivos para la determinación enzimática en plasma de SOD1, en dos tiempos muestrales



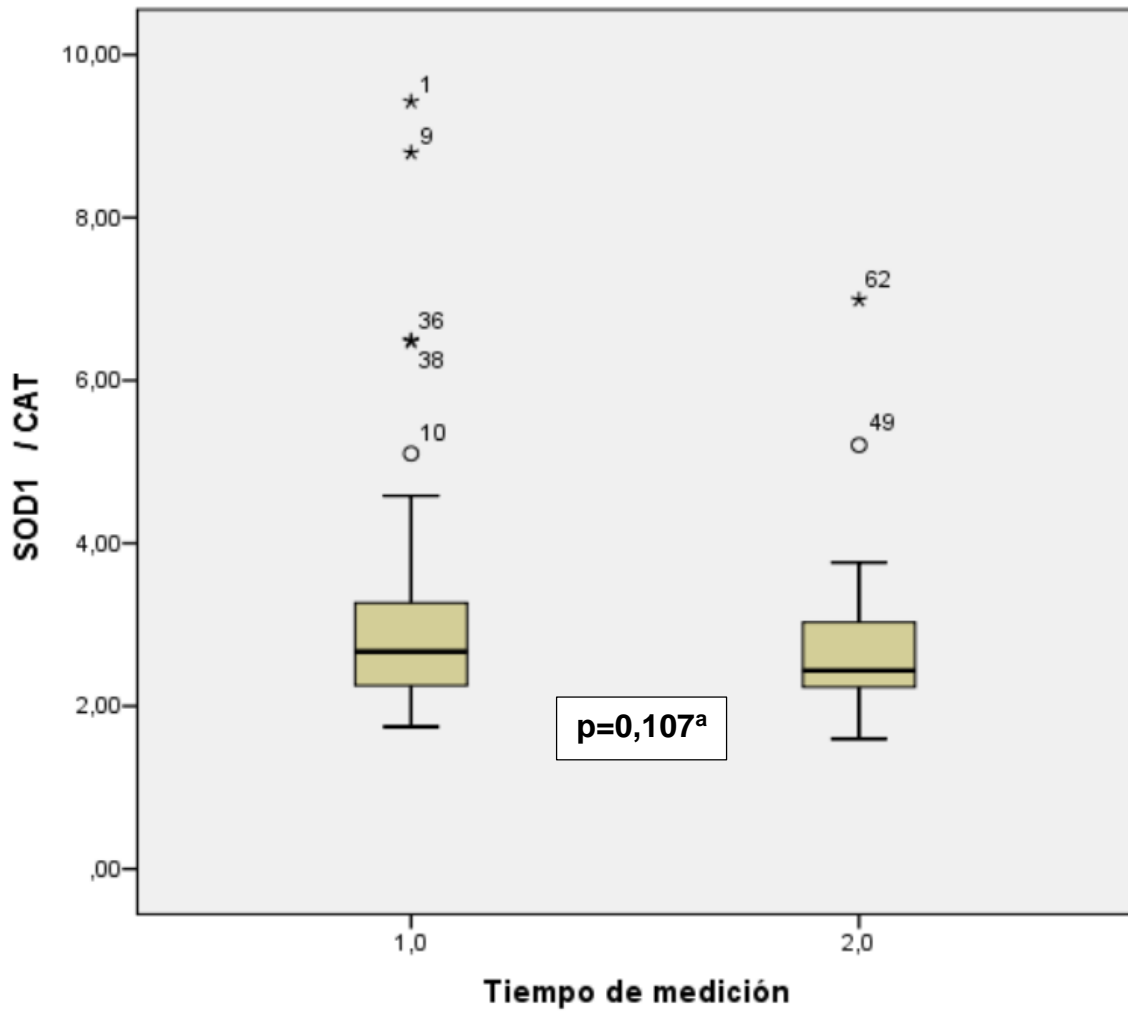
Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Anexo 26. Representación gráfica de estadígrafos descriptivos para la determinación enzimática en plasma de CAT, en dos tiempos muestrales



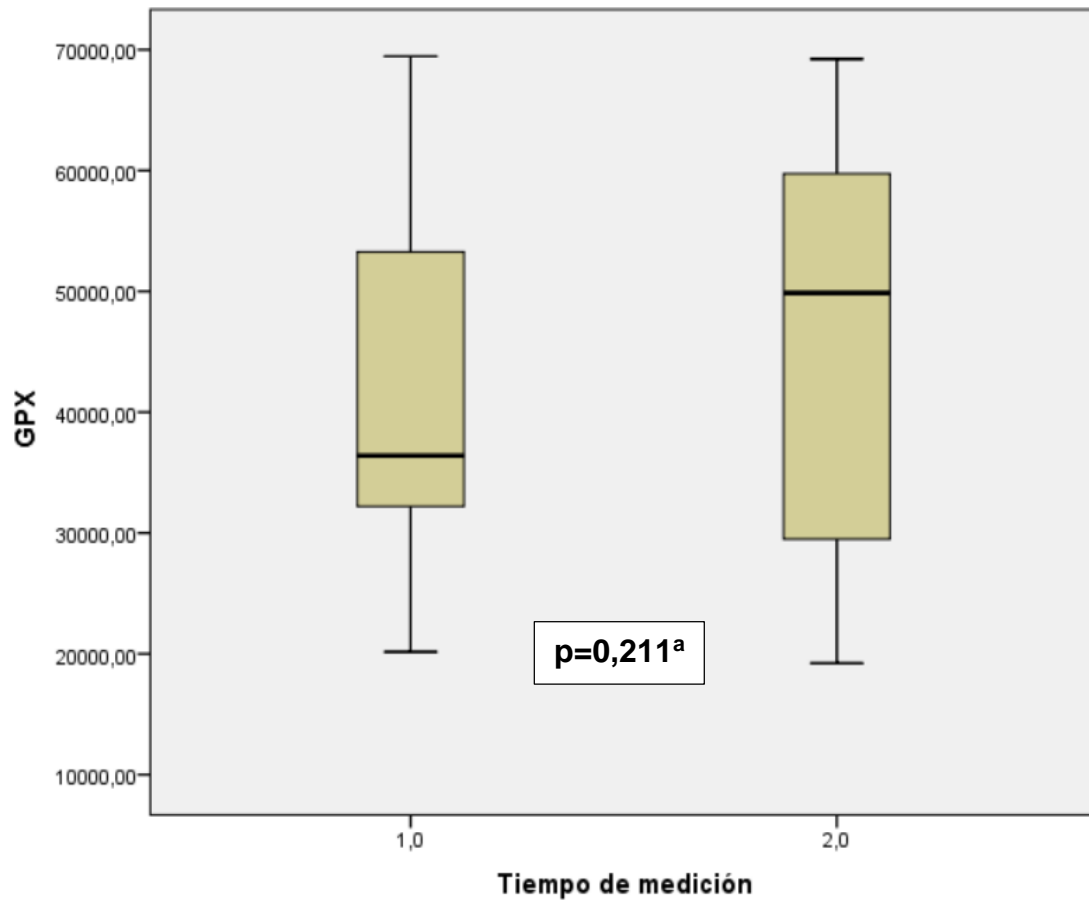
Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Anexo 27. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la relación SOD1 / CAT en dos tiempos muestrales.



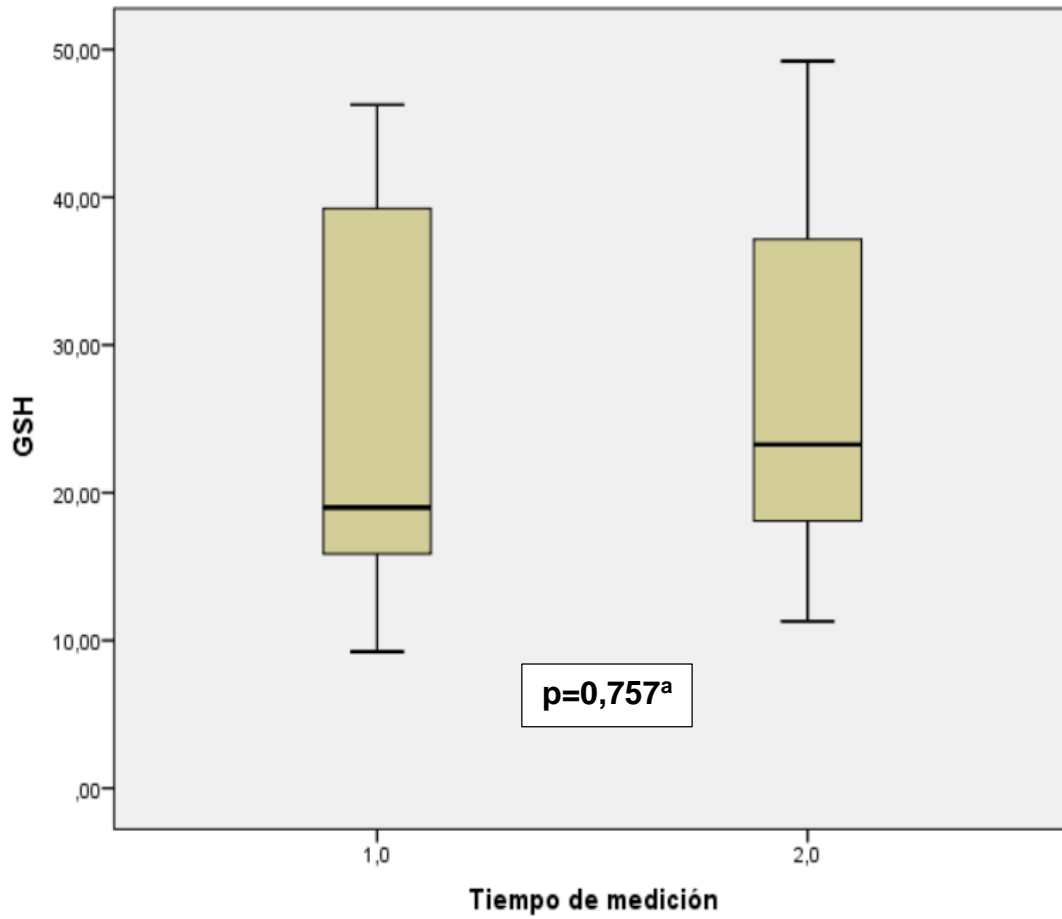
Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Anexo 28. Representación gráfica de estadígrafos descriptivos para la determinación enzimática en plasma de GPx, en dos tiempos muestrales.



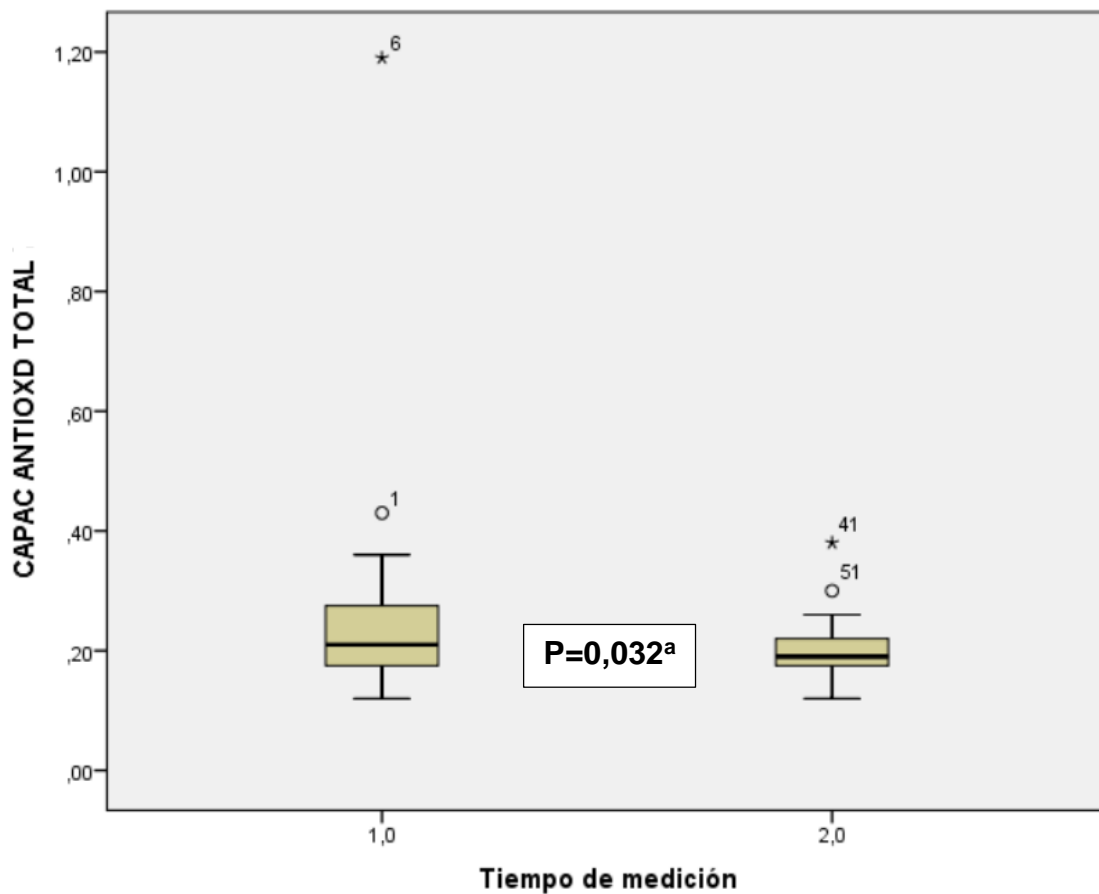
Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Anexo 29. Representación gráfica de los estadígrafos descriptivos de la determinación plasmática de GSH en dos tiempos muestrales.



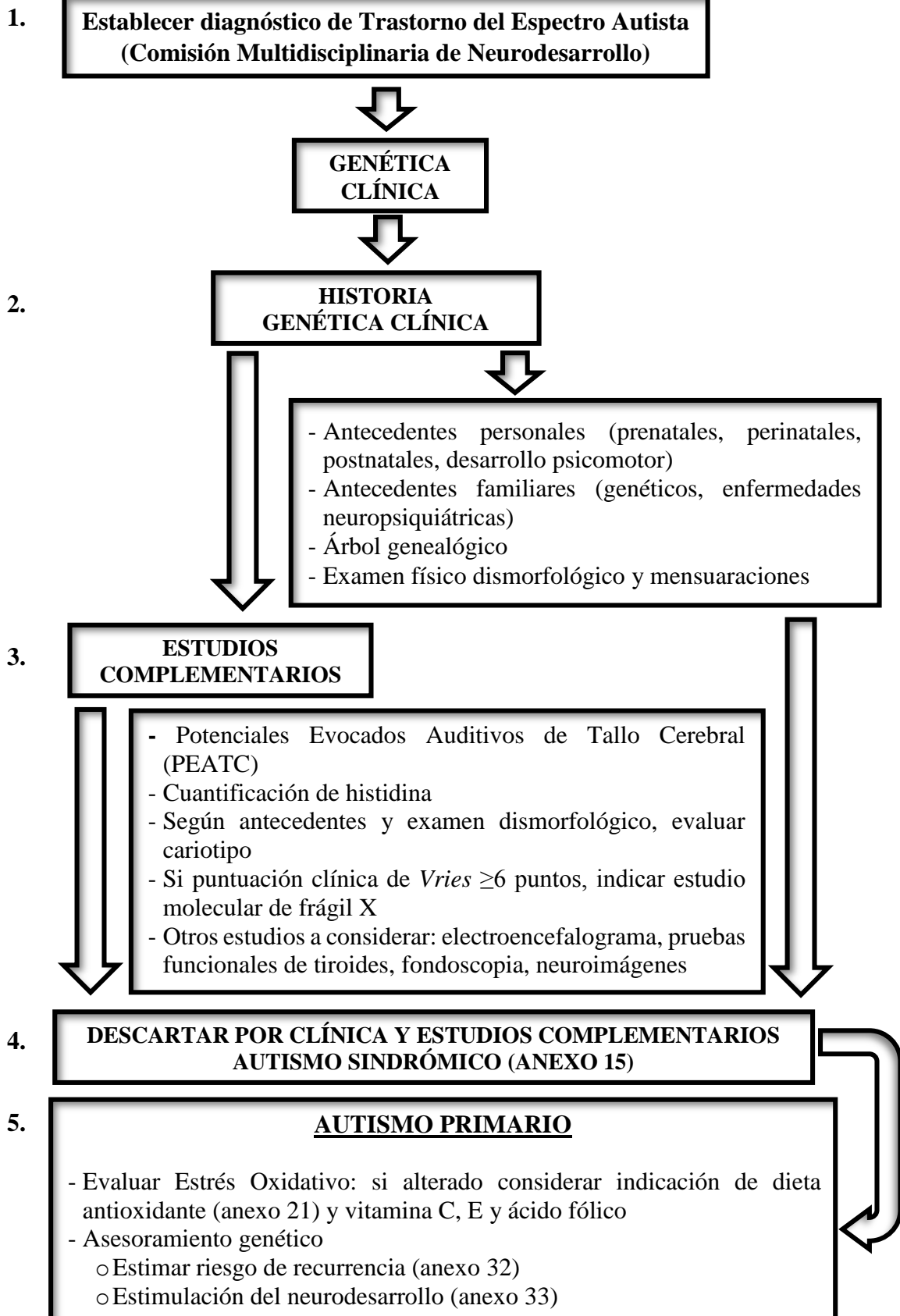
Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Anexo 30. Representación gráfica de estadígrafos descriptivos para la determinación enzimática en plasma de la capacidad antioxidante total, en dos tiempos muestrales.



Leyenda: a- Prueba de los rangos con signos de Wilcoxon

Anexo 31. Algoritmo de trabajo para el genetista clínico en la consulta multidisciplinaria de diagnóstico de autismo



Anexo 32. Estimación del riesgo en el autismo primario

1. Si se clasifica como autismo sindrómico la estimación del riesgo se realizará atendiendo a la causa (enfermedad mendeliana, cromosómica, error innato del metabolismo).
2. Si se clasifica como autismo primario se estima el riesgo a través de observaciones empíricas, donde:
 - Los hermanos de un caso índice tienen de un 5 - 10 % de riesgo de manifestar clínica de autismo, y entre un 10 - 15% pueden desarrollar síntomas leves tales como trastornos del lenguaje, interacción social y psiquiátricos.
 - Para los hermanos masculinos de una hembra afectada con autismo primario, tienen un riesgo de recurrencia del 7 %. Si el afectado es varón el riesgo de recurrencia es de un 4 %.
 - Para las familias con dos o más hijos afectados, el riesgo de recurrencia oscila entre 33 - 50 %.
 - Para la descendencia de un individuo afectado no se dispone de datos para establecer el riesgo de recurrencia del autismo.

Fuente: referencia bibliográfica 66, 171

Anexo 33. Orientaciones generales para padres y familiares

Objetivo: estimular el neurodesarrollo en niños con autismo primario

ESTIMULAR CONDUCTAS POSITIVAS

- Establece rutinas funcionales: cepillarse los dientes después de cada comida, guardar los juguetes cuando termine de jugar, lavarse las manos después de hacer caca.
 - Estimula las conductas positivas y establece límites para las conductas negativas, pero siempre manteniendo la misma respuesta ante determinada conducta.
 - Utiliza diferentes reforzadores: pueden ser aplausos ¡muy bien!, abrazos y cosas de su preferencia.
 - Utiliza el reforzador inmediatamente después de las conductas positivas.
 - Anticípale lo que va a suceder: enséñale objetos que tengan relación con la acción que va a realizar. Enséñale fotos, láminas o de forma concreta dile lo que va a hacer.
 - Realiza actividades funcionales a partir de sus propias conductas, cuando se balancea siéntalo en un sillón.
 - Realiza juegos donde tenga que trasladar objetos de un lugar a otro: cubos, pelotas, bolos.
 - Evita que se autolesione: si se muerde retírale la mano, si se golpea contra algo apártalo de ese lugar.
 - Anota en una libreta que piensas que influyó en su conducta, con quién estaba, como estaba vestido, etc. Mira si hay coincidencias para determinar que le incomoda.
 - Enséñalo a comer sentado a la mesa. Debes ser constante y sistemático.
 - No debes abusar de los dulces, golosinas, alimentos en conserva o artificiales.
 - Sírvele los alimentos por separado y ofrécele diferentes sabores y texturas. El alimento que le guste empléalo como reforzador. Puedes usar una bandeja.
-

ESTIMULAR LA COMUNICACIÓN

- Utiliza un lenguaje concreto y de pocas palabras. Dile exactamente lo que debe hacer.
 - Establece rutinas en el lenguaje: decirle hasta mañana todos los días cuando termine las actividades y vaya a casa.
 - Acompaña el mensaje de gestos siempre que le hables.
 - Si el niño tiene ecolalia puedes enseñarle su nombre, edad, nombre de la mamá, etc.
 - Háblale claro y sin diminutivos.
 - Nombra los objetos siempre de la misma forma.
 - No siempre tiene que decir lo que está haciendo, no lo agobie para que hable.
 - Háblale siempre de frente, nunca de espalda.
 - Enséñalo a señalar.
-

ESTIMULAR RELACIONES SOCIALES

- Repite con insistencia y en situaciones naturales los besos, las caricias, los abrazos, saludos, etc.
- Propicia el intercambio con otros niños y niñas de la familia, que vayan a la casa o vecinos.
- Utiliza muñecos, títeres que demuestren los diferentes estados de ánimo e interactúa con el niño o niña.
- Realiza juegos en los que puedas interactuar poco a poco sin que lo rechace (tope-tope, la carnicería, etc).
- Realiza las actividades con ayuda de otro adulto para que le enseñe a estirar los brazos cuando le tiras la pelota.
- Haz que ruede un carrito con un cordel.
- Organiza juegos donde tenga que esperar su turno: echar la pelota en el cesto, él debe ser el segundo en tirar.
- Enséñalo a recoger los juguetes.
- Realiza juegos de rondas con niños, niñas y adultos.
- Llévalo al parque y poco a poco incorpóralo a actividades con otros niños y niñas, pero tú lo guías.
- Planifica excursiones al Zoológico, al Acuario. Es una ocasión ideal para enseñarles a señalar.

DESARROLLAR ACTIVIDAD INTELECTUAL

- Asegura su atención para darle las instrucciones.
 - Planifica las tareas en pequeños pasos. Primero tú la realizas para que puedas dividirla lo mejor posible,
 - Antes de realizar las actividades muéstrale a través de fotos, láminas o dibujos la acción que va a realizar.
 - Dale la posibilidad de solucionar pequeños problemas: tapar y destapar un pomo, ofrecerle un bate para darle a la pelota, abrir su mochila, subirse a una silla para coger un objeto.
 - Dale pequeñas encomiendas para que las cumpla: dale el peine a José (hermano), guarda los zapatos en la caja, etc.
 - Invítalo a realizar actividades funcionales: Ensartar cuentas para armar un collar, unir bloques para hacer un tren, etc.
 - Enséñalo a asociar objetos buscando su pareja. Cada pareja debe ser de diferente tamaño, forma y color: dos flores rojas, dos carros azules, dos pelotas de varios colores.
-

DESARROLLO DE INDEPENDENCIA

- Manténlo limpio, bien vestido, con olor agradable.
- Bríndale afecto y comprensión.
- Sé sistemático, trabaja todos los días.
- Ten en cuenta sus gustos, preferencias, potencialidades. Importante: si el niño no aprende como yo lo enseño, entonces le enseño como él aprende.
- Enséñale las cosas que verdaderamente tienen sentido y que le son útiles. Trabaja todo con carácter funcional.
- Enséñalo a controlar los esfínteres en el orinal o en el baño.
- Que aprenda a ponerse el blúmer o calzoncillo, los zapatos, las medias o algo más sencillo.
- Nómbrale cada objeto que esté utilizando, háblale de cada cosa que esté haciendo, tenga o no lenguaje expresivo.
- Cada vez que interactúes debes lograr que te mire, aunque sea por poco tiempo. Puedes cogerle la cara para lograrlo.
- Utiliza un lenguaje concreto y de pocas palabras, demasiadas instrucciones y explicaciones crean frustración y confusión.
- Utiliza apoyos visuales.
- Divide las actividades por pasos.
- Usa reforzadores.

Fuente: Rodríguez Méndez O. Estimulación del niño autista. Conferencia: enfoques de tratamientos del autismo. Curso Precongreso. IV Congreso Panamericano de Salud Mental Infanto – Juvenil. 2010. La Habana, Cuba.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DEL AUTOR SOBBRE EL TEMA

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TEMA

1. Quintana Hernández D, Lantigua Cruz PA. Epigenética y trastornos del espectro autista. Rev. Hosp. Psiquiátrico de la Habana [Internet]. 2013 [citado 2013 May 1]; 10(1). Disponible en: <http://www.revistahph.sld.cu/hph0113/hphrev1-13.html>
2. Quintana Hernández D, Aguilar Fabr e L, Lantigua Cruz PA, Tas e Vila D, Calixto Robert Y, Contreras Roura J. Características electroencefalográficas de niños con trastornos en el desarrollo del lenguaje con y sin histidinemia. Rev Cubana Neurol Neurocir. [Internet] 2013 [citado 2013 Jul 7];3(2):117–21. Disponible en: <http://www.revneuro.sld.cu/index.php/neu/article/view/165/297>
3. Beltrán D, López MC, Contreras J, Quintana D, Fuentes L, Hernández O, Alonso E, Escalona O, Morales E. Histidinemia en niños preescolares con trastornos de la comunicación oral. Revista de Investigación en Logopedia [Internet]. 2013 [citado 2013 Dic 3]; 3 (2). Disponible en: <http://revistalogopedia.uclm.es/ojs/index.php/revista/article/view/95/71>
4. Quintana Hernández D. Biomarcadores genéticos y metabólicos en los trastornos del espectro autista. Rev Cubana Genet Comunit. [Internet] 2015 [citado 2016 Oct 12]; 9(3):14-22. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v9n3/020315.pdf>
5. Quintana Hernández D, Lantigua Cruz A, Borges González S, Tas e Vila D, Calixto Robert Y, Riveron Forment G, et al. Variation of the REDOX Status in Patients with Primary Autism after Antioxidant Therapy. J Neurol Transl Neurosci [Internet] 2017 [citado 2017 Dic 5]; 5(2): 1085. ISSN: 2333-7087. Disponible en: <https://www.jscimedcentral.com/Neuroscience/neuroscience-5-1085.pdf>
6. Quintana Hernández D, Esperón  lvarez AA, Calixto Robert Y, Tase Vila D, López Reyes I, Merencio Santos L. Autismo secundario a variante poco frecuente de mosaicismo del gen FMR1. Presentación de un caso. Rev Cubana Genet Comunit. [Internet] 2017 [citado 2019 Mar 7];11(2):54-56. Disponible en: <http://revgenetica.sld.cu/index.php/gen/article/download/38/58>
7. Quintana Hernández D, Lantigua Cruz PA. Influencia del desarrollo tecnológico en el diagnóstico y manejo del autismo infantil. Medimay [revista en Internet]. 2020 [citado 24 Dic 2020];, 27(4):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.medimay.sld.cu/index.php/rcmh/article/view/1841>

8. Quintana Hernández D, Lantigua Cruz A, Tamargo Barbeito T, Tasé Vila D, Calixto Robert Y, Dorta Garcías D. Variaciones dismórficas en el autismo primario. Rev Cubana Neurol Neurocir [revista en Internet]. 2021[citado Abr 2021];11(1):1-20. Disponible en: <http://www.revneuro.sld.cu/index.php/neu/article/download/443/620>
9. Quintana Hernández D, Lantigua Cruz PA, Tamargo Barbeito TO, Calixto Robert Y, Hernández Hernández N. Factores de riesgos heredofamiliares, prenatales y perinatales en niños cubanos con autismo primario. Rev haban cienc méd [Internet]. 2022 [citado 2 Oct 2022]; 21(4):[aprox. 0 p.]. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4687>

PRESENTACIÓN EN EVENTOS CIENTÍFICOS

- I Jornada Científica Provincial de Genética Médica. Mayabeque, 2011. Enfoque clínico – genético para el diagnóstico de pacientes con trastornos en el desarrollo del lenguaje.
- XVI Jornada Provincial de Pediatría “Raúl Riverón *in Memoriam*”. La Habana, 2012. Características electroencefalográficas de niños con trastornos en el desarrollo del lenguaje con y sin histidinemia.
- II Jornada Nacional de Genética Humana y Médica. La Habana, 2013. Características electroencefalográficas de niños con trastornos en el desarrollo del lenguaje con y sin histidinemia.
- II Congreso Internacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2014. Análisis de aspectos psicológicos del asesoramiento genético en familiares de pacientes autistas. San José de las Lajas.
- III Jornada Nacional de Genética Médica y Humana. La Habana, 2015. Propuesta de algoritmo de evaluación genética en los trastornos del espectro autista.
- III Jornada Nacional de Genética Médica y Humana. La Habana, 2015. Asesoramiento Genético a familiares de niños con diagnóstico de autismo.
- Jornada Científica Provincial, Sección de Pediatría. Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez”. La Habana, 2015. Asesoramiento Genético a familiares de niños con diagnóstico de autismo.
- IV Jornada Nacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2016. El examen dismorfológico en niños con autismo primario.
- IV Jornada Científica Provincial de Genética Médica. Mayabeque, 2017. Autismo secundario por variante poco frecuente de mosaicismo del gen FMR1. Presentación de un caso.
- IV Jornada Científica Provincial de Genética Médica. Mayabeque, 2017. Asesoramiento Genético a familiares de niños con diagnóstico de autismo

- I Congreso Interdisciplinar de Genética Humana. España, 2017. Asesoramiento Genético a familiares de niños con diagnóstico de autismo.
- Jornada 55 Aniversario Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”. La Habana, 2017. Asesoramiento Genético a familiares de niños con diagnóstico autismo.
- III Congreso Internacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2017. Profesor del Curso Precongreso “Genes y Trastornos Mentales”.
- III Congreso Internacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2017. Factores de riesgo genéticos y no genéticos en pacientes con autismo primario. Mayabeque, 2014 – 2016.
- III Congreso Internacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2017. Autismo secundario por variante poco frecuente de mosaicismo del gen FMR1. Presentación de un caso.
- III Congreso Internacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2017. Variación del estado Redox en pacientes con autismo primario posterior a terapia antioxidante.
- III Congreso Internacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2017. Asesoramiento Genético a familiares de niños con diagnóstico de autismo.
- XIII Jornada Provincial de Salud Mental. Mayabeque, 2018. Mesa Redonda: “Actualización del Trastorno del Espectro Autista en la provincia Mayabeque”.
- XIII Jornada Provincial de Salud Mental. Mayabeque, 2018. Factores de riesgo genéticos y no genéticos en pacientes con autismo primario. Mayabeque, 2014 – 2016.
- 7 Conferencia Internacional PSICOHABANA 2018. La Habana, 2018. Conferencia: Bases genéticas y manejo del autismo.
- XLIII Concurso Premio Anual de Salud. La Habana, 2018. Categoría artículo científico: “Variation of the REDOX status in patients with primary autism after antioxidant therapy”. Mención a Nivel Nacional.
- V Jornada Nacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2018. Desviaciones morfológicas en niños con autismo primario.
- V Evento Provincial de Generalización. La Habana, 2018. Factores de riesgo del autismo primario.
- Convención de Ciencias Médicas. Mayabeque, 2019. Impacto del desarrollo tecnológico en el diagnóstico de autismo infantil, manejo e implicaciones bioéticas.
- VI Jornada Científica Nacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2019. Respuesta a terapia antioxidante en hombres infértiles con índice de fragmentación del ADN espermático elevado.
- I Forum Científico Virtual CienciasMayabeque@2020. Mayabeque, 2020. Variaciones dismórficas en el autismo primario.
- XVI Jornada de Actualización en Genética Humana. Genética y Neurología. España, 2020.
- VII Jornada Científica Nacional de Genética Comunitaria. La Habana, 2021. Variaciones dismórficas y su relación con el autismo primario.

OTRAS ACTIVIDADES CIENTÍFICAS DESARROLLADAS

- Presidente del Comité Organizador de la I Jornada Científica Provincial de Genética Médica; Mayabeque, 2011.
- Presidente del Comité Organizador de la II Jornada Científica Provincial de Genética Médica; Mayabeque, 2012.
- Miembro del Comité Científico de la II Jornada Nacional de Genética Humana y Médica, 2013.
- Presidente del Comité Científico de la III Jornada Científica Provincial de Genética Médica; Mayabeque, 2014.
- Miembro del Comité Científico de la III Jornada Nacional de Genética Comunitaria, 2015.
- Miembro del Comité Científico de la IV Jornada Nacional de Genética Comunitaria, 2016.
- Presidente del Comité Organizador de la IV Jornada Científica Provincial de Genética Médica; Mayabeque, 2017.
- Miembro del Comité Científico de la V Jornada Nacional de Genética Comunitaria, 2018.
- Miembro del Comité Científico de la VI Jornada Nacional de Genética Comunitaria, 2019.
- Arbitro de la Revista de Ciencias Médicas MEDIMAY.
- Arbitro y Editor de la Revista Cubana de Genética Comunitaria.

TUTORÍA DE TESIS DE TERMINACIÓN DE ESPECIALIDAD

- Factores genéticos y no genéticos en pacientes con autismo primario. Tesis para optar por el título de Especialista de Primer Grado en Genética Clínica. 2016. Dra. Dayami Dorta Garcías.
- Variación del estado redox en pacientes con autismo primario posterior a terapia antioxidante. Tesis para optar por el título de Especialista de Primer Grado en Genética Clínica. 2016. Dra. Suarmi Borges González.

PREMIOS RECIBIDOS

- Mención a Nivel Nacional en el XLIII Concurso Premio Anual de Salud. La Habana, 2018. Categoría artículo científico: "Variation of the REDOX status in patients with primary autism after antioxidant therapy.
- Premio CITMA, Mayabeque 2018. Categoría aporte al conocimiento científico: Variación del estado Redox en pacientes con autismo primario posterior a terapia antioxidante.