

**BIOMARCADORES DEL ESPECTRO AUTISTA**

**LAURA VIVIANA PÉREZ ACEVEDO**

**UNIVERSIDAD DE BOYACÁ  
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD  
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO  
TUNJA  
2021**

**BIOMARCADORES DEL ESPECTRO AUTISTA**

**LAURA VIVIANA PÉREZ ACEVEDO**

**Monografía de grado para optar al título de  
Bacterióloga y Laboratorista Clínica**

**Director**

**MARÍA INÉS TORRES CAYCEDO**

**Bacterióloga**

**Mg. Ciencias Biologicas**

**Co-director**

**LAURA XIMENA RAMÍREZ LÓPEZ**

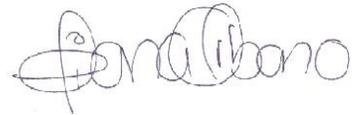
**Bacterióloga**

**Mg. Bioquimica Clinica**

**UNIVERSIDAD DE BOYACA  
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD  
BACTERIOLOGIA Y LABORATORIO CLÍNICO  
TUNJA  
2021**

**Nota de aceptación:**

El presente proyecto de grado (monografía) Titulado “Biomarcadores del trastorno Autista”, Se sustentó el 26/11/2020, Sustentación APROBADA con nota 4,2. La Nota definitiva del proyecto de grado es De 4.3 (cuatro punto tres).



---

Firma del Presidente del Jurado



---

Firma del Jurado



---

Firma del Jurado

Tunja, 26 de noviembre de 2020

“Únicamente el graduando es responsable de las ideas expuestas en el presente trabajo”(Universidad de Boyacá. Acuerdo 958 del 30 de marzo de 2017, Artículo décimo primero)

Quiero dedicar este trabajo en primer lugar a Dios por darme salud y perseverancia para cumplir esta meta; A mi mamá que sin duda ha sido el pilar en mi vida, en esta aventura que de la mano de ella inicié y que se ha convertido en papel fundamental para no desfallecer, por su esfuerzo y apoyo incondicional; A mi hermana que siempre ha estado a mi lado apoyándome y viviendo conmigo este sueño y a todas las personas que de una u otra forma han contribuido para que esta meta de ser profesional sea posible.

**Laura Viviana**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por darme la oportunidad de llegar hasta donde he llegado, por darme fortaleza, salud, perseverancia y sabiduría necesaria para luchar por mis ideales.

A mi mamá, quien con su ejemplo, dedicación, consejos, esfuerzo y apoyo incondicional me ha guiado hacia el camino del éxito.

A la Universidad de Boyacá, Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, por abrirme las puertas de la enseñanza y formarme como profesionales.

A las docentes Laura Ximena Ramírez López y María Inés Torres Caycedo, por su profesionalismo, para transmitir sus conocimientos y enseñanzas; al igual por su tiempo, paciencia y dedicación.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me han apoyado en mis triunfos y derrotas.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. BIOMARCADORES GENÉTICOS, METABÓLICOS, HORMONALES, DEL SISTEMA INMUNE, ESTRÉS OXIDATIVO Y OTROS RELACIONADOS EN LA LITERATURA PARA EL TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA	15
1.1 BIOMARCADORES GENÉTICOS	15
1.2 BIOMARCADORES METABÓLICOS	17
1.3 BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	19
1.4 BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL	22
2. MÉTODOS DE LABORATORIO EMPLEADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DEL TEA	25
2.1 MÉTODOS GENÉTICOS	25
2.2 MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES METABÓLICOS	27
2.3 MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y METABOLICOS	27
3. CONCLUSIONES	29
4. RECOMENDACIONES	30
BIBLIOGRAFÍA	31
ANEXOS	37

## LISTA DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
Cuadro 1. Principales biomarcadores de estrés oxidativo	22
Cuadro 2. Principales biomarcadores de los TEA de acuerdo a su naturaleza	24

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema de la estructura molecular de las neurexinas	17

## LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Anteproyecto	38
Anexo B. Matriz de recolección de la información	75

## GLOSARIO

**BIOMARCADOR:** marcador biológico que identifica alteraciones celulares, bioquímicas o moleculares, que puede ser detectado en tejidos células o fluidos humanos (1).

**EPIGENÉTICA:** se refiere a los cambios que se producen en la cromatina que, aunque no modifican la secuencia de los nucleótidos del ADN, sí que dirigen la expresión de los genes (2).

**NEUREXINAS:** son moléculas de adhesión neuronales que se localizan presinápticamente e interactúan con las neuroligandinas postsinápticas para formar un complejo transináptico, necesario para una neurotransmisión eficiente (3).

**TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA:** son desórdenes complejos y heterogéneos, causados por la interacción entre la vulnerabilidad genética y los factores medioambientales (4).

## RESUMEN

Pérez Acevedo, Laura Viviana

Biomarcadores del espectro autista / Laura Viviana Pérez Acevedo. - - Tunja : Universidad de Boyacá, Facultad de Ciencias de la Salud, 2021.

75 h. : il 1 + CD ROM.- - (Monografías de Gado UB, Facultad de Ciencias de la Salud ; n°. )

Monografía de Grado (Bacterióloga y Laboratorista Clínico).- - Universidad de Boyacá, 2021.

La investigación describe los principales biomarcadores genéticos, metabólicos, estrés oxidativo y de difusión mitocondrial que tienen relevancia para el diagnóstico de los trastornos del espectro autista (TEA), adicionalmente determina los métodos utilizados en el laboratorio para la determinación de dichos biomarcadores teniendo como referencia los estudios publicados en los últimos 10 años (2011-2020).

Se realizó una búsqueda en diferentes bases de datos teniendo en cuenta palabras clave validadas, se establecieron combinaciones con el uso de conectores booleanos y se compiló la información necesaria descrita en las publicaciones seleccionadas de acuerdo con los criterios establecidos y la calidad y relevancia de la información relacionada con los biomarcadores, su aplicación diagnóstica y la importancia respecto al TEA.

Se seleccionaron 67 fuentes que contaban con información útil para determinar los principales biomarcadores de los TEA al igual que los métodos empleados en el laboratorio para su determinación y cuantificación.

Se describen biomarcadores bioquímicos y moleculares, que pueden ser detectados en tejidos, células o fluidos humanos, estos se clasifican de acuerdo con su naturaleza en biomarcadores genéticos, metabólicos, de estrés oxidativo y mitocondriales, en el estudio del TEA, se interpretan de acuerdo con las condiciones de heterogeneidad de la enfermedad. Es necesario la investigación respecto a las herramientas de detección de dichos biomarcadores y el avance del diagnóstico molecular y de los métodos de exploración genética, toda vez que en la actualidad esta tecnología presenta limitaciones en relación con costos de implementación, lo que limita el uso del laboratorio en este tipo de enfermedades.

## INTRODUCCIÓN

“Garantizar una vida sana y promover el bienestar para todas las edades” es el principal propósito de la Organización Mundial de la salud, teniendo en cuenta que cuando se habla de vida sana se involucra a la salud mental y que es importante buscar herramientas que conlleven al mejoramiento de vida de personas en casos en donde se vea vulnerado su bienestar por enfermedades que no cuentan con biomarcadores para un diagnóstico oportuno y por ende un tratamiento eficaz para garantizar la salud física y mental, siendo el caso de los Trastornos del Espectro Autista (TEA) (5).

Los TEA son deficiencias del neurodesarrollo, representadas por un déficit en la interacción social y la comunicación y asociadas a intereses restringidos y conductas estereotipadas (5), su diagnóstico se ha basado principalmente en la observación de rasgos comportamentales y por las características dadas por la Asociación Americana de Psiquiatría de los Trastornos mentales, DSM-5 (6); si se tiene en cuenta la forma en la que se realiza el diagnóstico este se da de forma tardía pues la edad promedio en la que son visibles las características de los niños que presentan este tipo de trastornos son en promedio los doce a catorce meses (7), convirtiéndose esto en la mayor problemática para un correcto tratamiento, de ahí la necesidad de buscar nuevas tecnologías y herramientas como biomarcadores que permitan un diagnóstico oportuno y eficaz para los TEA y mejoren la calidad de vida de los pacientes que lo padecen y de sus familias.

Un biomarcador es una molécula biológica que se puede encontrar en la sangre, fluidos corporales o secreciones y diferentes tejidos del cuerpo, esto permite que pueda ser medida con facilidad en procesos fisiológicos y patológicos (8), pues tiene la capacidad de proveer información acerca del estado de salud de un individuo o población, respecto a enfermedades desde diferentes tópicos: como la prevención, tratamiento, diagnóstico y e seguimiento de la progresión de las enfermedades (9).

Para el caso de los TEA se encuentran en la literatura varios biomarcadores que tienen relevancia en el diagnóstico y que pueden ser de carácter genético, metabólico, de estrés oxidativo y de disfunción mitocondrial (2). Sin duda unos de los más estudiados son los genéticos por tener los TEA un componente hereditario, lo que ha permitido encontrar relación con varios genes y la determinación de duplicaciones y deleciones (10). De igual manera para tener un diagnóstico oportuno y eficaz se han estudiado otro tipo de biomarcadores que se ven alterados por el daño neurológico como es el caso de la fenilcetonuria, biomarcador metabólico importante por las consecuencias que conlleva al no ser identificado de forma oportuna (11)(12).

De otra parte, los métodos de cuantificación de biomarcadores empleados en el laboratorio son diversos, se aplican para cada tipo de biomarcador según su naturaleza, que incluyen microarreglos cromosómicos, cariotipo de alta resolución, métodos químicos y bioquímicos, métodos colorimétricos, ELISA, que permiten medir la capacidad de las enzimas antioxidantes como de los antioxidantes no enzimáticos (13).

Se necesitan investigaciones futuras que permitan determinar otros biomarcadores que permitan tener un diagnóstico oportuno para los TEA y que a su vez sean técnicas de laboratorio asequibles que brinden una oportunidad de tratamiento y mejora en la calidad de vida de las personas que padecen estos tipos de trastornos, así como la de sus familias.

Para la construcción de la presente monografía se realizó la revisión planteada en el anteproyecto, con la utilización de las combinaciones de palabras claves propuestas se obtuvo un total de publicaciones de N=803, una vez se aplicaron los criterios de tiempo, idioma, texto completo, acceso libre se obtuvo un n= 278, posteriormente seleccionando por contenido completo y aporte a cada uno de los capítulos se utilizaron 67 referentes.

# 1. BIOMARCADORES GENÉTICOS, METABÓLICOS, HORMONALES, DEL SISTEMA INMUNE, ESTRÉS OXIDATIVO Y OTROS RELACIONADOS EN LA LITERATURA PARA EL TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA

El autismo se ha definido como un trastorno del neurodesarrollo caracterizado principalmente por su compromiso en la interacción social y la comunicación, con conductas restringidas (5), a la vez los Trastornos de Espectro Autista (TEA) son complejos y heterogéneos causados por la interacción entre la vulnerabilidad genética y los factores medioambientales (2); El manual Diagnóstico y estadístico para los trastornos mentales en su edición número 5 (DSM-5) involucró afecciones que antes se consideraban independientes como el autismo, el síndrome de Asperger, el trastorno desintegrativo infantil y una forma no especificada de trastorno generalizado del desarrollo por lo cual todos los anteriormente mencionados se consideran como TEA (14). Entre las dificultades que se tiene para la determinación de los TEA está la ausencia de biomarcadores que permitan definir el diagnóstico y el pronóstico de forma clara (2), por lo que en estudios realizados en el ámbito mundial se han documentado biomarcadores que permiten la identificación de los TEA que se describirán a continuación de acuerdo a su naturaleza.

## 1.1 BIOMARCADORES GENÉTICOS

Apoyados en la literatura se tiene en cuenta que el componente hereditario posee una gran susceptibilidad en los TEA, la mayoría de trastornos son identificados de forma genética, en el caso del autismo con estos marcadores genéticos se hace una estimación del riesgo y se presenta una tasa del 92% de concordancia en los gemelos monocigóticos frente a los gemelos dicigóticos (15). Se ha podido establecer una gran variedad de genes con predisposición de mutaciones y polimorfismos asociados con los TEA de uso para el diagnóstico oportuno del mismo (16), teniendo en cuenta la susceptibilidad que tiene el autismo frente a las alteraciones genéticas que suelen ser de tipo heterogéneas se debe tener en cuenta que otros factores como los medioambientales tales como la exposición a metales pesados, el mercurio, pesticidas, compuestos químicos, estar sometido a radiaciones y el consumo de antidepresivos durante el periodo embrionario, contribuyen a aumentar el riesgo de presentar TEA (17)(18). En diferentes estudios se encuentran un sin número de genes asociados a los TEA, los más estudiados y aquellos que presentan mayor relevancia son:

**1.1.1 Gen FMR1.** El síndrome de X frágil se considera la directa y principal causa monogenética de los TEA, siendo la principal base genética de los TEA la mutación

completa del gen FMR1 (19). Este gen FMR1 está ubicado en el brazo largo del cromosoma X en la posición Xq27.3 (20). En el 99% de los casos el defecto molecular consiste en la expansión del trinucleótido CGG en la región 5' no traducida del gen (21). FMR1 influye en la traducción del ARNm al ser un polisoma asociado con el sistema nervioso y el ovario, ambos tejidos controlan traslacionalmente los ARNm almacenados asociado con ribonucleoproteína que contiene FMR1 (22).

La relevancia de este gen radica en sus funciones que involucran la regulación de la traducción de considerables proteínas que tienen que ver con la plasticidad sináptica como las neuroliginas, neurexinas, proteína SHANK, PTEN, CYFIP, PSD95 (21), siendo la principal causa del TEA afectando aproximadamente a 1 de cada 5.000 varones y 1 de 6.000 mujeres (19), la deficiencia en el gen FMR1 en el síndrome X frágil provoca un aumento en la excitabilidad neuronal (20).

**1.1.2 Duplicación 7q11.23 y 15q11-13.** El síndrome de duplicación 7q11.23 Williams-Beuren (OMIM 609 757) es una patología causada por la duplicación de una región del cromosoma 7 que comprende 26 genes (23). El Síndrome de Prader-Willi (SPW) es consecuencia de una delección del cromosoma 15, región q11-q13, ya sea por mutación del gen paterno o por la disomía uniparental de origen materno (17), se estima que este síndrome se encuentra entre 1-4% de los casos del autismo (17). La región 15q11-13 con el locus AUTS4 contiene a los genes UBE3A, ATP10A, GABRB3, GABRA5, GABRG3; que está ampliamente relacionada con las afectaciones en su patrón de metilación (impronta genómica) que conllevan a una disfunción lingüística (17).

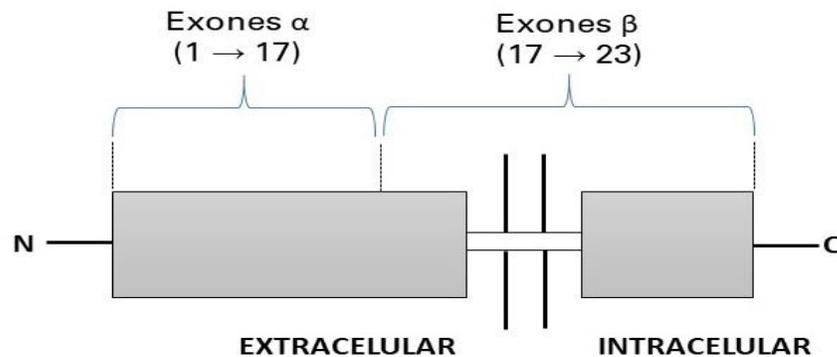
La duplicación de estos genes hace que las personas que la presentan tengan síntomas como hipotonía, discapacidad intelectual, obesidad, avidez por la comida, trastorno obsesivo compulsivo, baja sociabilidad y por lo general son personas que hablan demasiado y tienen altos niveles de oxitocina (17)(24).

**1.1.3 Delección gen NRXN1 (Neurexin-1).** La delección en el gen NRXN1 afecta el funcionamiento de la sinapsis (15), la neurexina (Nrxns) es una proteína transmembrana involucrada en el establecimiento, maduración y función de la sinapsis (25); el NRXN1 se encuentra localizado en el cromosoma 2p16.3, es el gen con mayor evidencia de susceptibilidad compartida para el autismo y la esquizofrenia (26).

Se ha identificado en varios estudios que las delecciones intragénicas NRXN1 que afectan a exones  $\alpha$  encargadas para codificar el extremo aminoterminal extracelular,

responsables de la unión a otras moléculas dan lugar a un fenotipo inespecífico, con retraso mental leve-moderado, compatibles con rasgos autistas (4). La estructura de estas isoformas es análoga, la cual cuenta con un extremo C-terminal citoplasmático y un dominio transmembrana, variando el tamaño del extremo N-terminal extracelular responsable de la unión a otras moléculas (gráfica 1) (4).

Figura 1. Esquema de la estructura molecular de las neurexinas



Fuente: adaptado de: Galán Sánchez F, Esteban Cantó V, Blaya Fernández P, Jadraque Rodríguez R, Manchón Trives I, Alcaraz Más L. Deleciones intragénicas NRXN1: aportación de tres nuevos casos y revisión del fenotipo. Rev Neurol. 2015;60(05):215-220.

En el autismo también tiene un papel relevante la epigenética entendiéndose esta como la ciencia encargada de estudiar las alteraciones en la expresión de genes que surgen durante el desarrollo y la proliferación celular, teniendo en cuenta que por medio de procesos realizan modificaciones específicas relacionadas con la remodelación de la cromatina, mediada por modificaciones químicas de las histonas y del ADN (2). En estudios se ha encontrado evidencia de que estos procesos epigenéticos pueden ser modificados por factores físicos, químicos, nutricionales, incluso psicosociales, por tal razón el medio en el que vivimos y los hábitos de vida pueden ser capaces de modificar nuestra expresión génica a través de los mecanismos epigenéticos (27).

## 1.2 BIOMARCADORES METABÓLICOS

En la actualidad se realizan diferentes investigaciones con el fin de identificar biomarcadores de tipo metabólico que ayuden al diagnóstico del TEA (2), se ha determinado que las alteraciones que comprenden la disfunción mitocondrial así como las anomalías que se presentan en metabolismo del folato cerebral afectan a

un gran número de niños con TEA, otras alteraciones como el metabolismo de los aminoácidos (aminoacidopatías) que involucran la fenilcetonuria y la acción de la serotonina y la dopamina como neurotransmisores son las líneas metabólicas que se encuentran más ampliamente asociadas con el autismo y a su vez con epilepsia (28). Con base a los estudios se han podido establecer causas fisiológicas asociadas a los TEA, identificando cuatro mecanismos implicados en la génesis de este desorden: inmunológicos / inflamatorios, estrés oxidativo, tóxicos medioambientales, alteraciones mitocondriales (29).

Los mecanismos anteriormente mencionados tienen una amplia relación entre sí, que se evidencia en la disfunción mitocondrial, los factores de riesgo medioambientales, los desbalances metabólicos y la susceptibilidad genética que conllevan al estrés oxidativo, el que a su vez desencadena mecanismos inflamatorios de daño a las membranas celulares, fenómenos de autoinmunidad, daños en la metilación, muerte celular y déficit neurológico (30)(2).

**1.2.1 Fenilcetonuria.** La fenilcetonuria es la forma clínica más grave de la hiperfenilalaninemia causada por un error inherente del metabolismo de la fenilalanina el cual es heredado de forma autosómica recesiva y se origina por una deficiencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa (31), que impide e impide la transformación de fenilalanina en tirosina y provoca un aumento en su concentración (10). El cuadro clínico varía de acuerdo a la severidad de la deficiencia enzimática en donde se encuentran tres estadios principales: hiperfenilalaninemia benigna, moderada y la fenilcetonuria clásica (31).

La importancia de la fenilcetonuria radica en que cuando esta no es tratada a tiempo o antes del primer mes de vida causa graves deficiencias motoras e intelectuales por la encefalopatía que produce en los niños que la producen, conllevando con si episodios de epilepsia y trastornos como autismo (31).

**1.2.2 Déficit de folato cerebral.** La vitamina hidrosoluble B comprende al ácido fólico y a los folatos su estructura química es una molécula de ácido paraaminobenzoico unida a pteridina y a residuos de glutamato, unidos por enlaces y-peptídicos (32). El folato es considerado como un nutriente esencial para la dieta del ser humano y durante el periodo de gestación, una deficiencia de dicho compuesto va a conllevar a una disminución en su concentración sérica provocando daños neuronales para el feto (33).

El principal daño neuronal por la deficiencia de folato es el defecto del cierre del tubo neuronal, alteración neurológica más frecuente en muchos países que

presenta una incidencia entre 2 y 6 por cada 1000 nacidos vivos (34). Los niveles elevados de 19omocisteína, derivados de déficit de folatos están asociados generalmente con trastornos neuropsiquiátricos como los desórdenes del espectro autista (35). Valores mayores a 20 ng/ml indican una elevada concentración de folato en suero o plasma y menor a 3ng/ml se habla de una carencia de folato (36).

**1.2.3 Acción de la serotonina y la dopamina como neurotransmisores y la relación con el TEA.** Sustancias como la serotonina y la dopamina están fuertemente relacionadas con los TEA que desencadenan una serie alteraciones (37), estos dos neurotransmisores son los más investigados en el autismo, desde 1961 por Shaim y Freedman quienes evidenciaron una alteración en sus niveles periféricos. Estos biomarcadores toman relevancia en el diagnóstico de los TEA si se tiene en cuenta que la serotonina es un regulador del humor, el sueño, la temperatura, el apetito y la secreción de hormonas y se encuentra periféricamente en la sangre, el intestino y las plaquetas (38).

A su vez la alteración de la serotonina y sus metabolitos está relacionada con los desórdenes del sistema nervioso central pueden ser detectados de forma periférica en los diferentes fluidos por los niveles bajos de ácido gamma-aminobutírico (GABA) en plaquetas (39)(2); los pacientes con TEA pueden tener más probabilidades de tener cambios que involucran sub-unidades del receptor GABA como las microduplicaciones recurrentes en el cromosoma 15q11-q13 (39). Otros patrones que se ven alterados en comparación con los desórdenes de interacción social y déficit comunicativos propios de los TEA son niveles bajos de oxitocina y de vitamina D (2).

La vitamina D cumple con varias funciones como la regulación de la síntesis de serotonina, disminuir los anticuerpos maternos que atacan el cerebro fetal, regular la síntesis de oxitocina, interviene en la reparación del ADN, tiene acción antiinflamatoria, actividad autoinmune, regula el incremento de células T, es un protector mitocondrial que estimula la actividad antioxidante (2)(15).

### **1.3 BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO**

Se denomina estrés oxidativo al desequilibrio que ocurre entre las sustancias pro-oxidantes y las antioxidantes generando una reactividad del oxígeno convirtiéndose en un elemento toxico por la formación de radicales libres que a su vez provocan daño celular (40).

El estrés oxidativo juega un papel importante en la fisiopatología del autismo (41), sus alteraciones pueden ser medidas por el estudio del estado antioxidante, enzimas antioxidantes, peroxidación lipídica y oxidación del ADN / Proteínas (2). En el caso de los pacientes con TEA la medición de glutatión tanto reducido como oxidado y la relación entre los dos es un buen medidor para valorar el estado antioxidante de la persona ya que este es el antioxidante primario en la protección del estrés oxidativo, el daño mitocondrial y la neuroinflamación (42). En la mayoría de pacientes con TEA la relación glutatión reducido/ glutatión oxidado está disminuida revelando un pobre estado oxidativo (2)(42).

**1.3.1 Acción del glutatión.** El glutatión es el principal antioxidante encargado de mantener el microambiente intracelular reductor esencial para la función y la viabilidad celular normal. Glutatión reducido (GSH) / Glutatión Oxidado (GSSG) es un indicador seguro para determinar la capacidad antioxidante que conlleva a un daño oxidativo y por ende consecuencias funcionales (43).

En el autismo la capacidad de metilación, el nivel de sulfatos y el nivel de glutatión disminuyen de manera significativa, se ve alterada la actividad del glutatión peroxidasa como parte del sistema de estrés antioxidante. El glutatión participa en la neuroprotección contra el estrés oxidativo y la neuroinflamación en el TEA al mejorar el sistema de estrés antioxidante (44), en estudios se ha evidenciado que los niveles de glutatión en los glóbulos rojos de los niños con diagnóstico de autismo determinado por espectrometría de masas comparado con los resultados de los niños control, la proporción de glóbulos rojos reducida a glutatión oxidado es significativamente más baja en TEA (45).

La disminución de la capacidad redox/ antioxidante de GSH/ GSSG y el aumento del estrés oxidativo en el cerebro de los pacientes con autismo llega a provocar consecuencias funcionales en cuanto a una respuesta inflamatoria crónica, aumento de la producción de superóxido mitocondrial y daño oxidativo de proteínas y ADN (43).

**1.3.2 Metionina y cisteína.** En el autismo se presenta una disminución de la metionina, aminoácido esencial que participa en la síntesis de proteínas y a la vez es un potente antioxidante (metionina- D) y precursor de la cisteína. En diferentes investigaciones se demostrado que existe una conexión entre las anomalías metabólicas principalmente en el ciclo de la metionina y la vía de transulfuración de los metabolitos afectada en los pacientes con TEA (48).

Los niveles de cisteína se ven alterados al haber una disminución de metionina ya que es su precursor directo pues al ser considerado como un aminoácido no esencial puede ser sintetizado en el organismo; se convierte en esencial en casos de desórdenes metabólicos como en TEA. La cisteína está involucrada en un conjunto de transformaciones biológicas incluida la catálisis nucleofílica y redox (49).

**1.3.3 Peroxidación Lipídica.** Los lípidos como componentes principales de las membranas celulares tienen un papel indispensable en el mantenimiento de la integridad estructural de las células, la oxidación excesiva de lípidos va a alterar las propiedades físicas de las membranas llegando a provocar una modificación covalente de proteínas y ácidos nucleótidos (47). La peroxidación lipídica es importante en la degeneración cerebral y del sistema nervioso central, además al estar aumentada la peroxidación causa modificación en los ácidos nucleicos y a su vez aumento en el estrés oxidativo (47).

**1.3.4 Transferrina y ceruplasmina.** Las proteínas antioxidantes como las transferrina (proteína de unión al hierro) y ceruplasmina (proteína de unión al cobre) se encuentran en niveles reducidos en niños con TEA, basándose en la comparación de los resultados obtenidos de niños que no lo presentan; los niveles de estas proteínas están relacionadas con la pérdida de habilidades lingüísticas adquiridas, al mismo tiempo que pueden provocar un metabolismo anormal de hierro y cobre (50).

**1.3.5 3 – clorotirosina plasmática (3-CT).** La 3- CT es un marcador estable de inflamación, es generado a partir del ácido hipocloroso, potente oxidante derivado de la mieloperoxidasa en las células inmunitarias activadas durante una respuesta inflamatoria, los niveles de 3-CT en TEA se van a encontrar aumentados lo que correlaciona la inflamación crónica que presentan estos niños (43).

**1.3.6 Isoprostano plasmático (F2t).** Una de los marcadores considerados como Gold estándar por su sensibilidad en los trastornos Redox que permite evaluar el estado de estrés oxidativo en los pacientes con TEA es el isoprostano plasmático F2t (F2-IsoPs) (2), este indicador aumenta en pacientes con TEA y presenta valores mayores cuando está acompañado de trastornos gastrointestinales (15). Este biomarcador puede ser determinado en sangre o en orina, a la vez se ha encontrado que es un buen indicativo para evidenciar la función cognitiva deteriorada, el desarrollo y el comportamiento alterado para los niños con TEA (46).

Cuadro 1. Principales biomarcadores de estrés oxidativo

Parámetro	Tipo de alteración	Característica
Glutación reducido (GSH)	Disminuido	Acción del Glutación
Glutación peroxidasa	Disminuido	
Metionina	Disminuido	
Cisteína	Disminuido	
Glutación oxidado (GSSG)	Aumentado	
Enzima glutación peroxidasa	Disminuida	Utilizada como marcador
Peroxidación lipídica	Aumentado	degradación oxidativa a nivel de las membranas celulares.
Transferrina y ceruplasmina	Disminuida	Proteínas séricas relacionadas con la regresión del lenguaje.
La 3 – clorotirosina plasmática (3CT)	Aumentada	Alteradas en pacientes TEA asociados a daños mitocondriales y mide la actividad inmune crónica
Isoprostano plasmático (F2t)	Aumentado	Indicador para evidenciar la función cognitiva deteriorada, el desarrollo y el comportamiento alterado para los niños con TEA.

Fuente: Recopilación de artículos autora

#### 1.4 BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

La disfunción mitocondrial está dada por alteración en la producción de energía y se considera que el trastorno mitocondrial es un suceso temprano en la neurodegeneración (2). Factores como la disreactividad inmunitaria, alteraciones en la señalización del calcio ( $Ca^{2+}$ ), el incremento del óxido nítrico y el peroxinitrito, la malnutrición, la deficiencia de hierro y vitamina B6, elevación del ácido nítrico, estrés oxidativo, la exposición a tóxicos ambientales tales como metales pesados, policlorobifenilos (PCBs), pesticidas, contaminantes orgánicos persistentes (POPs) y radiación de radiofrecuencias son algunos relacionados con la disfunción mitocondrial (29). Se estima que entre el 5% y el 80% de los niños con TEA muestran evidencias de este tipo de disfunción (51).

Entre los principales aspectos clínicos de la disfunción mitocondrial en el TEA están dados por una regresión inusual del neurodesarrollo especialmente si es consecuencia de un proceso inflamatorio, síntomas gastrointestinales, convulsiones, retrasos motores, fatiga y letargo. De igual manera anomalías genéticas han sido asociadas con las disfunción mitocondrial en las cuales están incluidas anomalías cromosómicas, mutación del ADN mitocondrial, entre otras (51).

La prevalencia de los marcadores mitocondriales bioquímicos directos como lactato, piruvato, carnitina fue alta en los niños con TEA, así como en la relación lactato/ piruvato y en los marcadores indirectos (carnitina, amoniaco, CK) comparados en base a los controles; se considera que la disfunción mitocondrial no está mediada por un componente genético sino que se atribuye a la deficiencia de folato cerebral clasificándose en una disfunción mitocondrial secundaria (29).

En estudios realizados se ha encontrado una relación directa del biomarcador lactato como indicador de daño mitocondrial en pacientes con TEA teniendo en cuenta que los valores de estos han sido comparados con niños que no lo presentan, teniendo un aumento significativo de los valores en TEA (52). Por otra parte la prevalencia de anomalías mitocondriales se estima que es alta en comparación a personas con un desarrollo normal y que a su vez estas tienen implicación en consecuencias subyacentes como en el caso de la epilepsia (28).

Otro de los biomarcadores de disfunción mitocondrial es la creatinina, esta es sintetizada en el hígado y el riñón, se transporta a través de la sangre a los tejidos de alta demanda de energía como el cerebro y musculo esquelético, sin creatinina no se puede producir fosfocreatina conllevando a que las células se agoten más rápido y se agote la energía. En los niños con TEA tanto los niveles de creatinina se encuentran disminuidos implicando que presenten un retraso del desarrollo, retraso mental, trastornos del lenguaje tanto receptivo como expresivo y convulsiones (28).

A continuación, se presenta una tabla que resume los principales biomarcadores alterados en el TEA de acuerdo a su naturaleza (genéticos, metabólicos, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y metilación) todos ellos están relacionados e inciden en los niños que presentan TEA lo cual permite que se haga una asociación entre cada uno y se conviertan en herramientas para el diagnóstico precoz del autismo

Cuadro 2. Principales biomarcadores de los TEA de acuerdo a su naturaleza

Genéticos	Metabólicos	Estrés oxidativo	Disfunción mitocondrial	Metilación
<p>Cromosómicos</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Duplicación 7q11.23</li> <li>• Duplicación 15q11-13</li> <li>• Duplicación y delección 16p11.2</li> <li>• 2q22.1</li> <li>• 3p26.3</li> <li>• 4p12</li> <li>• 5p14.1</li> <li>• 14q23</li> </ul> <p>Moleculares</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Delección gen NRXN1</li> <li>• Delección gen CNTN4</li> <li>• Gen SHANK3</li> <li>• Gen SHANK2</li> <li>• Gen SCN2A</li> <li>• Gen CHD8</li> <li>• Gen CDH9</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GABA en plaquetas (↓)</li> <li>• Anticuerpo Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (↑)</li> <li>• Oxitocina (↓)</li> <li>• Serotonina (↓)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relación Glutación reducido / oxidado (↓)</li> <li>• Metionina (↓)</li> <li>• Cisteína (↓)</li> <li>• Estudios de ácidos orgánicos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alfa-droxibutirato (↓)</li> <li>• Piroglutamato (↓)</li> <li>• Sulfato (↓)</li> <li>• Isoprostano F2t plasmático (↑)</li> <li>• Transferrina (↓)</li> <li>• Ceruloplasmina (↓)</li> </ul> </li> <li>• 3CT plasmática (↑ si disfunción mitocondrial)</li> <li>• 3NT plasmática (↑)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lactato (↑)</li> <li>• Piruvato (↑)</li> <li>• Relación lactato / piruvato (↑)</li> <li>• Carnitina (libre y total) (↓)</li> <li>• Alanina (↑)</li> <li>• Ubiquinona (↓)</li> <li>• Amonio (↑)</li> <li>• AST (↑)</li> <li>• ALT (↑)</li> <li>• CK sérica (↑)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relación SAM / SAH (↓)</li> <li>• Homocisteína (↑)</li> <li>• Cisteína (↓)</li> </ul>

Fuente: adaptado de, Quintana Hernández DI. Biomarcadores genéticos y metabólicos en los trastornos del espectro autista. Genetic and metabolic biomarkers in autism spectrum disorders. Rev Cuba Genet Comunit. 2015;9(3):14–22.

## 2. MÉTODOS DE LABORATORIO EMPLEADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DEL TEA

Para la determinación de los diferentes biomarcadores que permiten el estudio de TEA se encuentran varias técnicas y pruebas que se pueden clasificar de acuerdo a la naturaleza de los principales factores que se estudian en esta población como son genéticos, metabólicos, de estrés oxidativo y disfunción mitocondrial.

### 2.1 MÉTODOS GENÉTICOS

Los estudios genéticos comprenden el conjunto de procedimientos y diagnósticos encaminados a acumular información sobre cualquier defecto congénito ya sea en fase prenatal o post natal (53); los estudios más utilizados según la literatura y que han tomado relevancia en las últimas décadas son los bandeos cromosómicos, FISH (hibridación in situ fluorescente) y el microarreglos cromosómico (CMA) (2).

**2.1.1 Bando cromosómico.** El bando cromosómico consiste en someter a los cromosomas a desnaturalizaciones o a digestión enzimática seguida de una tinción con colorantes específicos para ADN para permitir la visualización de una serie de bandas claras y oscuras, permitiendo realizar un adecuado análisis de cada uno de los cromosomas y así detectar cambios estructurales en los cromosomas o cambios numéricos (56); se clasifica en dos, los bandeos morfológicos y los bandeos dinámicos, los primeros se obtienen basándose en técnica inherentes a la heterogeneidad de la cromatina, mientras que los dinámicos implican la incorporación de una base análoga (bromodesoxiuridina) (56).

En el bando Q se utiliza la mostaza de quinacrina para teñir los cromosomas, este detecta regiones fluorescentes con alto predominio de Adenina -Timina y regiones opacas con predominio de Guanina- citosina (57). El bando G es denominado así por el colorante empleado, Giemsa, este se da por una respuesta diferencial de los cromosomas al ser pretratados con Tripsina antes de ser coloreados, las bandas van a corresponder a genes de replicación tardía y aquellas regiones ricas en adenina- timina van a presentar una banda oscura en contraste los genes de replicación temprana y ricos en Guanina- Citocina tienen bandas claras (58).

**2.1.2 Hibridación in situ fluorescente FISH.** La hibridación in situ fluorescente es una técnica que permite detectar secuencias de ADN en cromosomas metafásicos o núcleos interfásicos en muestras citogenéticas y fijadas (57). En esta técnica se utiliza una sonda de ADN la cual hibrida los cromosomas completos o las secuencias únicas simples, después de la fijación el ADN diana es tratado con calor para desnaturalizar el ADN bicatenario para que resulte ADN monocatenario marcado con fluorescencia el cual tiene una secuencia complementaria. La visualización se hace con la ayuda de un microscopio de fluorescencia que permite ver la sonda hibridada. Esta técnica es una herramienta esencial para el diagnóstico de patologías en la fase prenatal o post-natal (59).

**2.1.3 Microarreglos Cromosómicos.** Los microarreglos o Micorrays cromosómicos es una técnica que actualmente se utiliza en Colombia para diferentes estudios genómicos, a su vez esta se ha convertido en el método de laboratorio preferido para identificar anomalías cromosómicas. Su principio se basa en usar el ADN complementario (cDNA) a estudiar para hibridarlo sobre un cristal que contiene unas sondas de DNA las cuales representan los exones de la mayoría de los genes que están presentes en el genoma humano (54), de otro modo, los RNA mensajeros (mRNAs) se retrotranscriben para producir las secuencias de cDNA a hibridar por competencia y rastreados por fluorocromos CY3, estos son un componente de una molécula que hace que esta sea fluorescente emitiendo un color verde y para el fluorocromo CY5 que va a emitir una fluorescencia roja (55).

Para el empleo de microarreglos se hace necesario la utilización de micromatrices, éstas pueden ser construidas al menos de dos formas, con el uso de partes grandes de ADN clonado, como cromosomas artificiales bacterianos (BACS), o con pequeñas secuencias sintéticas de ADN, denominadas oligonucleótidos que pueden diseñarse para detectar el número de copias o para detectar polimorfismo de un solo nucleótido (SNPS) (56). Otro de los métodos empleados es la Hibridación in situ fluorescente (FISH), es utilizado para la detección de alteraciones cromosómicas específicas utilizando sondas de ADN marcadas con fluorocromos, es una técnica más asequible por ser más económica si se compara con los microarreglos (53).

## **2.2 MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES METABÓLICOS**

Para la detección de biomarcadores metabólicos se utilizan pruebas o análisis fotométricos o de espectrometría de masas en tándem, la ventaja principal de esta técnica es el análisis simultáneo, plenamente automatizado de diferentes analitos, como el caso de aminoácidos incluyendo la fenilalanina y especies de acilcarnitina (60). Uno de los principales objetivos es identificar cambios sutiles en los perfiles metabólicos entre sistemas biológicos en diferentes estados fisiológicos o patológicos. Los espectrómetros de masas se pueden describir como "instrumentos que pesan moléculas" (61).

La espectrometría de masas se basa principalmente en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa, una vez se obtienen dichos iones estos son separados de acuerdo a su masa y a su carga para finalmente ser detectados (62), la principal ventaja de esta técnica es la capacidad que tiene de realizar un análisis simultáneo el cual es plenamente automatizado y de diferentes analitos, como los aminoácidos; este presenta una buena sensibilidad comparada con otras técnicas (60).

Otros de los métodos utilizados son las técnicas acopladas, un ejemplo de ello es la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas (LC-MS), esta es una técnica analítica que combina el poder de separación del HPLC con la gran selectividad, sensibilidad y precisión en la determinación de la masa molecular de la técnica de espectrometría de masas, proporcionando información cualitativa y cuantitativa. Los componentes de la muestra que han sido separados en el HPLC pasan al espectrómetro de masas a través de una interfaz (ionización a presión atmosférica (API) o ionización química a presión atmosférica (APCI)) donde son ionizados y posteriormente detectados por la señal eléctrica emitida de cada componente (63). La aplicación de técnicas analíticas modernas acopladas ha mejorado de forma significativa la caracterización y medición de muchos analitos (64), principalmente en las aminoacidopatías.

## **2.3 MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y METABOLICOS**

Para la detección de biomarcadores de estrés oxidativo se utilizan enzimas con actividad antioxidante que son detectadas con técnicas como ELISA y métodos colorimétricos (65).

La prueba ELISA se basa principalmente en una inhibición o activación de la reacción enzimática por el complejo antígeno-anticuerpo para la detección de un analito en particular a estudiar; en la actualidad existen varios tipos de ensayos inmunoenzimáticos teniendo en cuenta que estos pueden ser inmunoensayos homogéneos o heterogéneos, los primeros a su vez se dividen en competitivos (conjugado antígeno-enzima) o no competitivos (epítomos del antígeno) (66).

El inmunoensayo enzimático heterogéneo más conocido es la ELISA, esta se basa en la separación entre el inmunocomplejo formado sobre la fase sólida y las biomoléculas no fijadas, realizada por aspiración o lavado, a su vez las ELISAS se pueden clasificar en ensayos competitivos y no competitivos y de tipo sándwich (66).

Otro de los métodos empleados para la determinación de analitos es la espectrometría de masas, es una técnica de análisis cualitativo y es utilizada principalmente para la determinación de estructuras orgánicas, de igual modo está se puede combinar con otras técnicas de espectrofotometría. Este método se basa en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa, una vez obtenidos dichos iones se separan de acuerdo con su masa y su carga para finalmente ser detectados con un dispositivo adecuado (67).

La espectrometría de masas permite la separación, identificación y cuantificación de moléculas, basada en su relación masa/carga ( $m/z$ ), en diferentes matrices (líquidas, sólidas), después de su ionización (61). El espectrómetro de masas está constituido por cinco módulos principales que son: sistema de introducción de muestra, fuente de ionización, analizador de masas, detector y procesador de datos (61).

### 3. CONCLUSIONES

Los TEA son complejos y heterogéneos causados por la interacción entre la vulnerabilidad genética y factores medioambientales, es necesario contar con herramientas que permitan hacer un diagnóstico oportuno basado en biomarcadores; existen muchos de ellos que permiten identificar alteraciones celulares, bioquímicas o moleculares y que pueden ser detectados en tejidos, células o fluidos humanos. Según su naturaleza se clasifican en biomarcadores genéticos, metabólicos, de estrés oxidativo y mitocondriales.

La tecnología y avances en innovación han permitido implementar nuevas técnicas de laboratorio que permiten tener una mayor sensibilidad y especificidad para la determinación de biomarcadores; dentro de los métodos genéticos empleados en la actualidad se resaltan los microarreglos cromosómicos, una técnica eficaz pero que quizás por su alto valor económico y la disponibilidad de laboratorios limita su uso acudiendo a técnicas más asequibles como el bandeado cromosómico o las técnicas acopladas, que contribuyen a mejorar el diagnóstico oportuno de trastornos como el TEA y así mejorar la calidad de vida de los pacientes.

En el TEA se observa que para establecer diagnóstico la mayoría de los criterios están basados en la observación de los síntomas realizada por los médicos y cuidadores sin ser interpretados en su totalidad junto con un panel de biomarcadores, a la vez que pueden no proporcionar la información del procesos neurobiológico específicos para cada paciente, por lo que se presenta la necesidad de buscar pruebas con mayor objetividad de manera que se logre monitorear el desarrollo neurológico y la progresión de la enfermedad.

#### **4. RECOMENDACIONES**

Se recomienda continuar el estudio de enfermedades mentales que sean de diagnóstico clínico de manera que desde el laboratorio clínico se aporte al diagnóstico precoz de este tipo de trastornos.

Si bien el TEA carece de biomarcadores definidos, se recomienda continuar con la revisión e investigación aplicada de todos los relacionados en esta revisión documental para identificar aquellos específicos que puedan aportar en el diagnóstico por laboratorio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Mayeux R. Biomarkers: Potential uses and limitations. *Rev NeuroRx*. 2004;1(2):182–188.
2. Martínez Morga M, Quesada M.P, Salvador Martínez C. B. Artículo Especial Bases neurobiológicas del autismo y modelos celulares para su estudio experimental. *Bases Biol del TEA*. 2019;79:27–32.
3. Galán Sánchez F, Esteban Cantó V, Blaya Fernández P, Jadraque Rodríguez R, Manchón Trives I, Alcaraz Más L. Deleciones intragénicas NRXN1: aportación de tres nuevos casos y revisión del fenotipo. *Rev Neurol*. 2015;60(05):215-220.
4. Quintana Hernández DI. Biomarcadores genéticos y metabólicos en los trastornos del espectro autista. *Genetic and metabolic biomarkers in autism spectrum disorders*. *Rev Cuba Genet Comunit*. 2015;9(3):14–22.
5. Arberas C, Ruggieri V. Autismo: aspectos genéticos biológicos aspectos clínicos. *Medicina*. 2019; 79:16–21.
6. Espín Jaime CM, Cerezo Navarro M, Espín Jaime F. Lo que es trastorno del espectro autista y lo que no lo es. *Rev Pediatr Contin*. 2013;11(6):333–341.
7. Muñoz Zapata AP, Chaves Castaño L. La empatía: ¿un concepto unívoco? *Katharsis Rev Ciencias Soc*. 2013;(16):123-143.
8. Corella D, Ordovás JM. Biomarcadores: antecedentes, clasificación y guía para su aplicación en epidemiología nutricional. *Rev Esp Nutr Comunitaria*. 2015; 21:176–187.
9. Valachis A, Nilsson C. Cardiac risk in the treatment of breast cancer: assessment and management. *Breast Cancer Targets Ther*. 2015; 7: 21–35.
10. Marlon D, Gloria B. Conceptos actuales sobre la etiología del autismo. *Rev Acta Ped Méx*. 2011;32(4):213–222.
11. Espinosa E, Mera P, Toledo D, Mera P. Trastorno del espectro autista: caracterización clínica en pacientes de dos centros de referencia en Bogotá, Colombia. *Rev Med*. 2019;26(1):34–44.

12. Marín FA, Esteban YA, Mata Iturralde S. Prevalence of autism spectrum disorders: Data review. *Siglo Cero*. 2016;47(4):7–26.
13. Mañón R, Garrido W, Nuñez G, Sellés A. Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. *Rev Jour Pharm Pharmacogn Res*. 2016;4(2):62–83.
14. Sanchack KE, Craig T. Autism Spectrum Disorder: Primary Care Principles. *Rev. Am Fam Physician*. 2016;15;94(12):972-979.
15. Goldani A, Downs SR, Widjaja F, Lawton B, Hendren RL. Biomarkers in autism. *Rev Front Psychiatry*. 2014;5(8):1–13.
16. Won H, Mah W, Kim E. Autism spectrum disorder causes, mechanisms, and treatments: Focus on neuronal synapses. *Rev Front Mol Neurosci*. 2013;6(7):1–26.
17. Oviedo N, Apolinar L, Chesnaye E, Guerra Araiza C. Aspectos genéticos y neuroendocrinos en el trastorno del espectro autista. *Rev Med Hosp Infant Mex*. 2015;72(1):5–14.
18. Rossignol DA, Genuis SJ, Frye RE. Environmental toxicants and autism spectrum disorders: A systematic review. *Rev Transl Psychiatry*. 2014;4(2):360-323.
19. Hernández DQ, Esperon Álvarez A, Calixto Robert Y, Denia Tase V, López Reyes I, Santos L. Autismo secundario a variante poco frecuente de mosaicismo del gen FMR1. *Rev Cuban Genét Comun*. 2017;11(2):54–56.
20. Muñoz Yunta JA, Palau Baduell M, Salvadó B. Autismo, epilepsia y genética. *Rev Neurol*. 2008;46(1):71–77.
21. Sosa M, Alessandrini N, Galli E, Piro MC. Perspectivas neurobiológicas para explicar el autismo: una revisión sistemática de literatura. *Rev Psicol*. 2017;2(9):66-96.
22. Greenblatt EJ, Spradling AC. Fragile X Mental Retardation 1 Gene Enhances The Translation Of Large Autism-Related Proteins. *Rev Science*. 2018;361(6403):709–712.
23. Ruiz Botero F, Saldarriaga Gil W, Izasa C. Síndrome de duplicación 7q11.23. Primer caso descrito en América Latina. *Rev Arch Argent Pediatr*. 2016;114(1):e1–e4.
24. Cataletto M, Angulo M, Hertz G, Whitman B. Prader-Willi syndrome: A primer for

- clinicians. *Int J Pediatr Endocrinol.* 2011;11(1):1–13.
25. Lanuza Robles E. Papel de la beta- neurexinas en la formación y maduración del circuito sináptico y su disfunción en enfermedades mentales. [Tesis Doctoral]. [Internet]. Sevilla: Instituto de Biomedicina de Sevilla; 2017 [citado 26 Feb 2020]. Disponible en: [https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/75853/E%20Robles%20Lanuza\\_Tesis%20dep%F3sito.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/75853/E%20Robles%20Lanuza_Tesis%20dep%F3sito.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
26. Estay J, Ale D, Morales S, Alarcón C. Trastorno de espectro autista y psicosis. *Rev Psiquiatr Salud Ment.* 2018;30:122–130.
27. Pulido Fontes L, Quesada Jimenez P, Mendioroz Iriarte M. Epigenética y epilepsia. *neurologia. Rev Soc Esp de Pedia.* 2015;30(2):111–118.
28. Frye RE. Metabolic And Mitochondrial Disorders Associated With Epilepsy In Children With Autism Spectrum Disorder. *Epilepsy Behav.* 2015;47:147–157.
29. Rossignol DA, Frye RE. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. *Rev Mol Psychiatry.* 2012;17(3):290–314.
30. Ansary A, Ayadhi L. Lipid Mediators In Plasma Of Autism Spectrum Disorders. *Lipids Health Dis.* 2012;11(1):1–9.
31. Vela Amieva M, Ibarra González I, Herrera Pérez L, Caamal Parra G, Belmont Martínez L, García Flores EP. epidemiología de la fenilcetonuria obtenida mediante tamiz neonatal. *Rev Act. Pediatr Méx.* 2018;39(6):25-30.
32. Brito A, Hertrampf E, Olivares M, Gaitán D, Sánchez H, Allen LH, Uauy Ricardo. Folate, vitamin B12 and human health. *Rev Med Chil.* 2012;140(11):1464–1475.
33. Gonzalez Gonzalez M, Garcia Caballo M. Ácido fólico y defectos del tubo neural en atención primaria. *Rev Medifam.* 2003;13(4):305-410.
34. Calderón M, Mesa Suárez M, Marrero Escobedo D. Defecto Del Tubo Neural. *Rev Cuba Obstet.* 2017;43(1):1–7.
35. Hernández F, Martínez G, Rodríguez Y, Hernández D, Pérez A, Almeida S. Ácido Fólico Y Embarazo, ¿Benefico O Riesgo? *Rev Méd Electr.* 2019;41(1):142–55.
36. Organización Mundial de la Salud. Concentraciones de folato en suero y

eritrocitos para evaluar el estado de nutrición en folato en las poblaciones. [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2012 [citado 24 Jun 2020]. Disponible en: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77740/WHO\\_NMH\\_NHD\\_EPG\\_12.1\\_spa.pdf;jsessionid=1FB5EDE97DECD8EDE4248C3C210087C1?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77740/WHO_NMH_NHD_EPG_12.1_spa.pdf;jsessionid=1FB5EDE97DECD8EDE4248C3C210087C1?sequence=1)

37. Woods AG, Sokolowska I, Taurines R, Gerlach M, Dudley E, Thome J, Darie C. Potential biomarkers in psychiatry: focus on the cholesterol system. *J Cell Mol Med.* 2012;16(6):1184–1195.
38. Contreras M. Trastorno del Desarrollo Múltiple y Complejo. *Rev Pedi Med.* 2012;16(6):1-12.
39. Baribeau DA, Anagnostou E. Social communication is an emerging target for pharmacotherapy in autism spectrum disorder - a review of the literature on potential agents. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2014;23(1):20–30.
40. Viada E, Gómez Robles L, Campaña I. Estrés oxidativo. *Rev Infomed.* 2017;21(1):171–86.
41. Naranjo DC, Benítez I, Lardoeyt R, Gretel L, Forment R, Giselle V. Alterations in the cellular redox state in Cuban patients with autistic spectrum disorders. *Rev Cuban.* 2013;7(1):12–7.
42. Frye RE, Delatorre R, Taylor H, Slattery J, Melnyk S, Chowdhury N, James S. Redox metabolism abnormalities in autistic children associated with mitochondrial disease. *Transl Psychiatry.* 2013;3(4):1–12.
43. Rose S, Melnyk S, Pavliv O, Bai S, Nick TG, Frye RE, James SJ. Evidence of oxidative damage and inflammation associated with low glutathione redox status in the autism brain. *Transl Psychiatry.* 2012;2(7):e134-e138.
44. Ghanizadeh A, Akhondzadeh S, Hormozi M, Makarem A, Abotorabi M, Zarchi A. Glutathione-Related factors and oxidative stress in autism. *Curr Med Chem.* 2012;19(23).
45. Faber S, Fahrenholz T, Wolle MM, Kern JC, Pamuku M, Miller L, Jamrom J. chronic exposure to xenobiotic pollution leads to significantly higher total glutathione and lower reduced to oxidized glutathione ratio in red blood cells of children with autism. *Free Radic Biol Med.* 2019;134:666-667.

46. Mowafy AM. Emerging clues and altered metabolic findings in autism: breakthroughs and prospects from omics studies. *Autism Open Access*. 2016;06(01):3-8.
47. Gaschler M, Stockwell B. Lipid peroxidation in cell death. *Physiol Behav*. 2018;176(1):1570–1573.
48. Vargas T, Howsmon D, Stepan M, James L, Hahn J. mathematical modeling of the methionine cycle and transsulfuration pathway in individuals with autism spectrum disorder. *J Theor Biol*. 2017(Mar);416:28-37.
49. Backus KM. Applications of reactive cysteine profiling. *J Curr Top Microbiol Immunol*. 2019;420:375-381.
50. Chauhan A, Chauhan V, Brown WT, Cohen I. Oxidative stress in autism: increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin--the antioxidant proteins. *Life Sci*. 2004;75(21):2539-2549.
51. Rose S, Niyazov DM, Rossignol DA, Goldenthal M, Kahler SG, Frye RE. Clinical and molecular characteristics of mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder. *J Mol Diagnosis Ther*. 2018;22(5):571–593.
52. Oh M, Kim SA, Yoo HJ. Higher lactate level and lactate-to-pyruvate ratio in autism spectrum disorder. *J Exp Neurobiol*. 2020;29(4):314–322.
53. Ossa Reyes H. Manual de referencia rápida en genética clínica. [Internet]. Bogotá: Laboratorio de Genética y Biología Molecular; 2016. [citado 26 Feb 2020]. Disponible en: <https://genetica.com.co/2018/09/28/manual-de-referencia-rapida-en-genetica-clinica/>
54. Wong CY, Meaburn EL, Ronald A, Price TS, Jeffries AR, Schalkwyk, Plomin R, Mill J. Methyloomic Analysis of monozygotic twins discordant for autism spectrum disorder and related behavioural traits. *J Mol Psychiatry*. 2014;19(4):495–503.
55. Siabatto Fernandez HD. Análisis de los cambios en la expresión génica inducidos por el tratamiento con pseudoterosina en la línea celular de cáncer de mama MDA-MB231. [Trabajo de Grado Maestría]. [Internet]. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia; 2015 [citado 23 Jun 2020]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/54692?show=full>
56. Gowan MC, Ottawa O, Simons A, Schmid W. An international system for human cytogenomic nomenclature. Basilea: Karger. 2016.

57. Ansari HA, Ellison NW, Bassett SA, Hussain SW, Bryan GT, Williams WM. Fluorescence chromosome banding and fish mapping in perennial ryegrass, *Lolium perenne*. *BMC Genomics*. 2016;17(1):1–9.
58. Huang H, Chen J. Chromosome bandings. *J Methods Mol Biol*. 2017;1541.:59–66.
59. Ruzzo EK, Pérez Cano L, Jung J, Wang L, Hartl C, Singh C, Leventhal O, Leppa V, Gandal M, Paskoy K. Inherited and de novo genetic risk for autism impacts shared networks. *J Cell*. 2020;178(4):850–66.
60. Bodamer OA. Detección sistemática de la fenilcetonuria. *Ann Nestlé*. 2010;68(2):55–59.
61. Fern C, Vela Amieva M. Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. *Rev Act Ped Méx*. 2009;30(5):258–263.
62. Romero Gonzalez R, Fernandez Moreno JL, Bolaños P, Garrido A, Martinez Vidal JL. Empleo de la espectrometría de masas como herramienta para la determinación de tóxicos en alimentos:hacia la seguridad alimentaria. *Rev Esp Salud Pública*. 2007;81:461-474.
63. Cheng H, Shen L, Liu J, Zigang YW. Coupling nanoliter high-performance liquid chromatography to inductively coupled plasma mass spectrometry for arsenic speciation. *Rev Sep Sci*. 2018;1524–1531.
64. Ran H, Chun Guang L, Xiao Shu Z, Yuan Qing L, Marouche M, Bensoussan A. High-Performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry technology in the analysis of chinese medicine formulas: a bibliometric analysis (1997-2015). *J Sep Sci*. 2017;40(1):81-89.
65. Zhou Q, Zhu L, Zhang D, Li N, Li Q, Dai P, et al. Oxidative stress-related biomarkers in postmenopausal osteoporosis: a systematic review and meta-analyses. *J Dis Markers*. 2019;79:27-32.
66. Ochoa Azze R. Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunoepidemiológicos. La Habana: Finlay Ediciones; 2012.
67. Sidoli S, Trefely S, Garcia BA, Carrer A, Sydney L, Garcia N, Trizzino M, Gardini A, Wellen E. Acetyl-CoA metabolism supports multistep pancreatic tumorigenesis. *Cancer Discov*. 2019 Mar;9(3):416-435