



Sociedad de Pediatría de Andalucía Occidental y Extremadura

SESIONES CLINICAS MENSUALES TELEMÁTICAS INTERHOSPITALARIAS Y DE ATENCIÓN PRIMARIA ORGANIZADAS POR LA SPAOYEX. CURSO 2021-2022

1ªSESION 28-9-218.15h

TEMA: TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA EN LA INFANCIA: INVESTIGACIÓN Y AVANCES EN NUESTRO MEDIO

Ponente: Prof. Dr. Juan Luis Pérez-Navero

Servicio de Pediatría, Críticos y Urgencias. Hospital Universitario Reina Sofía. Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Facultad Medicina y Enfermería. Universidad de Córdoba

ucip.hrs.sspa@juntadeandalucia.es



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD Y FAMILIAS
Hospital Universitario Reina Sofía



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



Facultad de Medicina y Enfermería
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA EN LA INFANCIA: INVESTIGACIÓN Y AVANCES EN NUESTRO MEDIO

Servicio de Pediatría, Críticos y Urgencias. Hospital Universitario Materno Infantil Reina Sofía. Córdoba

“BIOMONITORIZACIÓN DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO, INFLAMACIÓN, MICROBIOTA INTESTINAL, EXPOSICIÓN A METALES PESADOS Y EPIGENÉTICA EN EL TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA EN LA INFANCIA”.



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



Facultad de Medicina y Enfermería
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

“ENSAYO CLÍNICO DOBLE CIEGO ALEATORIZADO PARA VALORAR LA SEGURIDAD Y EFICACIA DEL ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO ”

TRABAJO MULTIDISCIPLINAR



- **Unidad de investigación Pediátrica HURS**
 - Antonio Rafael Gómez Fernández (clínico y doctorando)
 - Juan Luis Pérez Navero (clínico, investigador)
 - Mercedes Gil Campos (clínica, investigadora)
 - M^a José de la Torre Aguilar (clínica y estadística)
 - Katherin Flores Rojas (investigadora y tecnóloga de los alimentos)
 - Pilar Martín Borreguero (psicóloga clínica experta en TEA)
- **Faculty of Medicine, Department of Nutrition, University of Oslo, Oslo,**
 - Oscar Rangel Huerta (investigador)
- **Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II. Facultad de Farmacia, Granada**
 - Ángel Gil Hernández (investigador Universidad de Granada)
- **Grupo de Epigenética en el Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC),**
 - María Victoria García Ortiz (Bióloga. Investigadora)

INTRODUCCIÓN

Autismo. American Psychiatric Association DSM-5 cambio nomenclatura a Trastorno del Espectro Autista (TEA)

- Alteración grave del neurodesarrollo caracterizado por un déficit de la comunicación e interacción social y por la presencia de intereses estereotipados o restringidos.
- Presente en la primera infancia.
- Algunas deficiencias pueden manifestarse con posterioridad.
- **Características:**
 - Alteraciones en la comunicación e interacción social.
 - Patrones repetitivos y restringidos de conductas, actividades e intereses.



APA. DSM-5, 2013:
www.dsm5.org/Pages/Default.aspx.



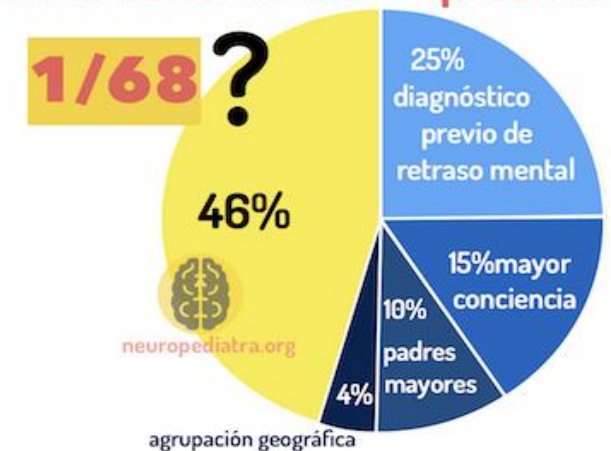
INTRODUCCIÓN

Trastorno del Espectro Autista (TEA)



- Etiología desconocida.
- Primeras publicaciones prevalencia 4-5/10.000
- Prevalencia en aumento (1/160; hasta 1/88 niños)
- Centers for Disease Control and Prevention EEUU (CDC) **1/68 niños**
- En **España** se calcula que **unas 350.000 personas** tienen TEA
- En el resto de **Europa** el problema es similar. Se estima que **1 de cada 100 recién nacidos** europeos presentará autismo.
- Predominio de varones 4/1.
- Clásicamente: TEA primario y secundario
- Trastorno de base genética:
 - Más de 100 genes “candidatos”.
 - Riesgo de recurrencia en 2º hermano 5% (muy superior a prevalencia).
 - Concordancia en gemelos homocigóticos 90%.

¿Es el autismo una «epidemia»?



TEORIAS
ETIOPATOGENICAS

Trastorno del Espectro Autista (TEA)



● Diferentes teorías etiopatogénicas

- Alteraciones parámetros bioquímicos o inflamatorios
- Estrés oxidativo
- Alteraciones ocasionadas por la exposición a metales pesados
- Alteración de la microbiota intestinal
- Aumento de la permeabilidad de la barrera intestinal
- Alteraciones de la sinapsis y/o cambios en la plasticidad neuronal

Trastorno del Espectro Autista (TEA):

Alteraciones en el perfil Inflamatorio

- La situación proinflamatoria podría influir en la fisiopatología de los TEA.
- Aumento de citoquinas proinflamatorias en tejido cerebral post-mortem , LCR y plasma
- Los niveles de TNF- α , interleuquinas 6 y 8 (IL-6, IL-8), GM-CSF e IFN- γ son superiores en el cerebro de pacientes con autismo respecto a los controles
- Niveles elevados en TEA de diferentes quimioquinas (MIP-1B, RANTES, MCP-1) en sangre periférica y relación con el empeoramiento en la comunicación, estereotipias e hiperactividad.
- Las moléculas de adhesión celular (CAM) es una superfamilia relacionada con el crecimiento axonal. En los pacientes con TEA se ha observado una disminución en los niveles de sPECAM-1 (soluble platelet-endothelial cell adhesion molecule-1) y sVCAM-1 (soluble vascular cell adhesion molecule-1)

-Enstrom AM, Van de Water JA, Ashwood P. Autoimmunity in autism. Curr Opin Investig Drugs 2009; 10:463-473

-Molloy CA, Morrow AL, Meinzen-Derr J, Schleifer K, Dienger K, Manning-Courtney P, et al. Elevated cytokine levels in children with autism spectrum disorder. J Neuroimmunol. 2006; 172(1- 2):198-205.

Trastorno del Espectro Autista (TEA):

Alteraciones de la microbiota intestinal

- El eje microbiota-intestino-cerebro está emergiendo como un factor destacado en la generación de conductas autistas
- Los modelos animales sugieren que modificaciones en la microbiota pueden producir clínica similar al autismo, con mecanismos propuestos que incluyen la producción de toxinas, aberraciones en procesos y productos de fermentación, anomalías inmunológicas y metabólicas
- Las células gliales (en particular la microglía y los astrocitos) influyen en la formación y función de las sinapsis. La microglía son células inmunes en el SNC, y los estudios han demostrado que el metabolismo de los microorganismos intestinales puede regular la maduración y función de la microglía, afectando así la función del SNC

- Gabriele, S., Sacco, R., Cerullo, S., Neri, C., Urbani, A., Tripi, G., et al. Urinary p-cresol is elevated in young French children with autism spectrum disorder: A replication study. *Biomarkers* . 2014 ;19(6):463-70

Trastorno del Espectro Autista (TEA):

Toxicidad metales pesados

- Una de las teorías etiopatogénicas más estudiadas en el TEA es la posibilidad de una intoxicación con metales pesados, especialmente por mercurio. Procedente fundamentalmente de la ingesta de alimentos contaminados y de la industria
- El mercurio es un metal que no cumple ninguna función biológica en el organismo. El mercurio no oxidado es muy liposoluble, puede atravesar la barrera hematoencefálica y producir toxicidad neuronal.
- El exceso de mercurio en el organismo también puede deberse a un déficit en su eliminación.
- La utilización del timerosal, compuesto organomercúrico empleado como conservante en las vacunas ha creado una enorme controversia sobre la posibilidad de que exista relación entre la vacunación y el TEA.
- Bernard y col 2001, plantearon por primera vez la hipótesis de que el TEA se relaciona con la toxicidad por mercurio, basada en la similitud de los síntomas de la intoxicación crónica del mercurio y los del TEA.

Blaucok-Busch E, Amin OR, Dessoki HH, Rabah T. Efficacy of DMSA Therapy in a Sample of Arab Children with Autistic Spectrum Disorder. *Maedica (Buchar)*. 2012; 7(3):214-221.

Trastorno del Espectro Autista (TEA)

Autismo y Epigenética

- Los fenómenos epigenéticos son procesos biológicos normales, necesarios para la vida de la célula, especialmente vinculados con el desarrollo embrionario.
- Comprometen los distintos procesos epigenéticos (alteraciones que cambian el funcionamiento o expresión de un gen, sin haber modificado la estructura del ADN). Han demostrado tener importancia en la génesis de los trastornos del neurodesarrollo.
- Las alteraciones del mecanismo epigenético pueden ser reversibles, lo que podría explicar la variación del fenotipo autista a lo largo del tiempo.
- Es importante valorar la asociación de mecanismos epigenéticos alterados y TEA. Para plantear en su caso posibles abordajes terapéuticos relacionados con estas alteraciones.

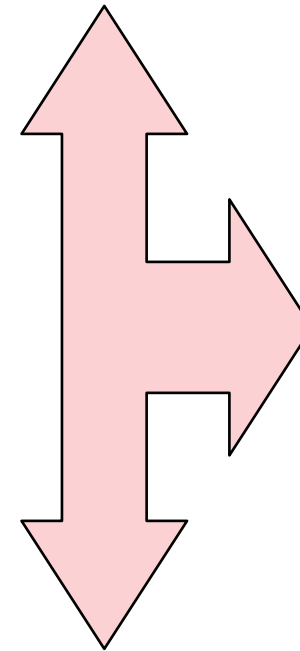
Trastorno del Espectro Autista (TEA):

- **Diagnóstico del autismo:** Manual diagnóstico y estadístico de trastornos mentales (DSM-V) APA.
- **Gravedad y áreas afectas:**
 - **Inventario del desarrollo de Battelle:** Áreas del desarrollo (Personal/Social, Adaptativa, Motora, Comunicación y Cognitiva) y Desarrollo psicomotor
 - **ADOS -G** (Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic) que evalúan las áreas de la comunicación, la interacción social y el juego o el uso imaginativo de materiales a lo largo de la evolución del niño y en el momento actual, respectivamente.
 - **PDD Behavior Inventory™** (Cohen IL, 2003): Valora tanto los síntomas centrales de los trastornos de espectro autista así como los problemas de comportamiento, trastornos en el lenguaje, el aprendizaje y la memoria.
 - **El test SDQ** (Strengs and difficulties questionnaire) se aplica para la detección de alteraciones conductuales asociadas al TEA y del grado de repercusión que éstas ocasionan en las relaciones del niño con sus iguales y en su familia.

INTRODUCCIÓN TRATAMIENTO

Trastorno del Espectro Autista (TEA) tratamiento dirigido a:

- Mecanismos inflamatorios
 - Alteración sinapsis neuronales
- Alteraciones autoinmunes
- Quelantes de metales pesados
- Alteraciones gastrointestinales
 - Origen embrionario
 - Permeabilidad intestinal
 - Microbiota intestinal
- Alteraciones metabólicas



Trastorno del Espectro Autista (TEA):

DESARROLLO DE TERAPIAS ALTERNATIVAS. FAVORECIDO POR LA AUSENCIA DE TERAPIAS CURATIVAS

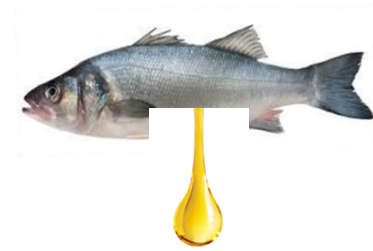
Escasa o nula evidencia científica

- Secretina IV
- Dieta exenta de gluten
- Dieta exenta de caseína
- Dieta exenta de pescados de gran tamaño
- Quelantes de metales pesados
- Complejos vitamínicos
- Dietas exentas de productos elaborados
- Ácidos grasos omega-3
- Abandono del calendario vacunal



- **Importante la participación de profesionales sanitarios que orienten a las familias de estos pacientes sobre estos tratamientos sin evidencia científica**

Trastorno del Espectro Autista (TEA)



Terapia con ácido docosahexaenoico (DHA)

- El DHA está involucrado en la señalización y proliferación celular y tiene un papel estructural importante en el cerebro, además de su capacidad antiinflamatoria.
- Los niveles de AG en plasma y eritrocitos se han correlacionado parcialmente con la concentración de los mismos en el cerebro (Kuratko CN, 2009).
- Se ha postulado que la concentración de los mismos se diferencian entre pacientes con TEA y niños sanos, correlacionando los niveles de ácido eicosapentaenoico (EPA), DHA y Acido araquidónico (AA) con los síntomas de TEA (Parletta N. 2016)
- Resultados de los estudios poco concluyentes con suplementación de dieta con DHA:
 - James 2011; Horvath et al 2017: No mostraron beneficios clínicos
 - Cheng et al, 2017 : Mejoría en hiperactividad , letargia y estereotipia

Trastorno del Espectro Autista (TEA)

- Realizar un estudio etiopatogénico del TEA mediante la valoración de: inflamación, microbiota intestinal, metales pesados, epigenética
- Una intervención precoz con suplementos nutricionales con el DHA, podrían disminuir el estado proinflamatorio, favoreciendo la formación de sinapsis neuronales así como su actividad.
- Esta intervención podría influir positivamente para prevenir el deterioro clínico asociado al TEA y sería de especial interés en la primera infancia , ya que en esta fase del neurodesarrollo existe la máxima plasticidad neuronal

Trastorno del Espectro Autista (TEA)

Objetivos de la línea de investigación

1. Evaluar los parámetros de inflamación, moléculas de adhesión celular y el perfil de ácidos grasos en el grupo de niños con TEA comparándolo con el grupo control.
2. Estudiar la composición de la microbiota intestinal de niños con TEA y la relación con los síntomas de la enfermedad y otros gastrointestinales
3. Estudiar los cambios epigenéticos en TEA y posibles biomarcadores epigenéticos: Molécula de Adhesión de Células Neuronales (NCAM1) y Factor de Crecimiento Neural (NGF), que facilitarían el diagnóstico del trastorno.
4. Realizar una biomonitorización de Hg en muestras de cabello y orina de niños con TEA y estudiar la relación con los síntomas de la enfermedad y comparación con el grupo de niños sanos.
5. Valorar si existe una clara diferenciación en la metilación del ADN entre los subgrupos de TEA, con o sin regresión en el neurodesarrollo.

Trastorno del Espectro Autista (TEA)

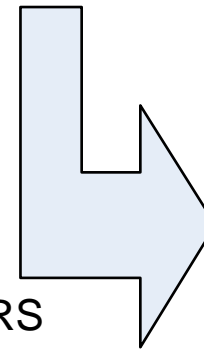
Objetivos de la línea de investigación

- 6. Establecer la efectividad de la suplementación con DHA en pacientes con TEA valorando posibles cambios en el perfil de ácidos grasos, parámetros de inflamación y moléculas de adhesión celular y estrés oxidativo.
- 7. Investigar la eficacia de la intervención con DHA en la reducción de los síntomas asociados al TEA incluidos las áreas de comunicación e interacción social y alteraciones conductuales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Trastorno del Espectro Autista (TEA)

- Estudio prospectivo observacional
- Ensayo clínico doble ciego controlado por placebo
- 56 Pacientes ≤ 6 años
 - Diagnosticados por el **ADOS-2, DSM-5** por psicólogo experimentado
 - Confirmado en una segunda visita por pediatra experimentado en TEA
 - Valoración antropométrica
 - Descartada otra patología asociada
 - Valoración psicopatológica
- 60 Sujetos grupo control
 - Similar edad y sexo
 - Gran dificultad de recolectar sujetos sanos
 - Colaboración del Servicio de Anestesia del HURS
 - Mayoría de los controles estaban en lista de espera quirúrgica con patología no inflamatoria



CARS

SDQ

PDDBI

BATTELLE

Trastorno del Espectro Autista (TEA)

- **Los pacientes TEA se subdividieron con una escala para la detección de Regresión del Neurodesarrollo**
 - Escala diseñada por nuestro grupo de investigación
 - Basada en la descripción de Entrevista para el Diagnóstico del Autismo–Revisada (ADIR-2)
 - ADIR-2, única escala que clasifica pacientes TEA con regresión del neurodesarrollo (AMR) y sin regresión del neurodesarrollo (ANMR)
 - Se valoran 6 ítems, siendo el más representativo la pérdida de habilidades del lenguaje
 - No existe Gold Estándar para valorar la regresión

METODOLOGIA

Estudio Trastorno del Espectro Autista (TEA)

ESTUDIO CASO-CONTROL

Niños de 2-6 años con TEA
* Test diagnostico TEA
* Estudios analíticos (1)

Niños de 2-6 años sanos
Estudios analíticos (1)



RANDOMIZACION

DHA

PLACEBO

6 MESES

Test diagnósticos
Estudio analítico (2)

TEST DIAGNÓSTICOS: CARS-2.SDQ. PDDBI. BATTELLE

Estudio analítico	1	2
Citoquinas, moléculas de adhesión	X	X
Hg en Cabello y orina	X	
Microbiota en heces	X	
AG en eritrocitos y plasma	X	X

ENSAYO CLINICO

CONTROL CHILDREN n:60

Anthropometric, clinical and intake evaluation
General biochemical test, fatty acid profile in plasma and erythrocytes, cytokines

Excluded children n:1
celiac disease diagnosis

ASD CHILDREN n:57

ASSESSMENT TEST

Anthropometric, clinical and intake evaluation
General biochemical test, fatty acid profile in plasma and erythrocytes, cytokines

Excluded children n:3
not meeting diagnostic criteria por ASD

DOUBLE BLIND CLINICAL TRIAL
RANDOMIZATION n:54

Lost to follow up n:0
Discontinued intervention n:6
2 parents 'decision not to remain in the study
1 change of address
2 parents' refusal to obtain the blood sample

6 MONTHS

DHA
Eupoly
©
n:24

PLACEBO
n:25

Estudio Trastorno del Espectro Autista (TEA)

PATRONES DE METILACIÓN DEL ADN EN EL AUTISMO

Analizamos los niveles globales de metilación del ADN, reflejados en LINE-1, y especialmente el patrón de metilación del ADN local en dos genes candidatos: Molécula de Adhesión de Células Neurales (NCAM1) y Factor de Crecimiento Neuronal (NGF) que, según nuestros estudios previos, podrían ser asociado a un mayor riesgo de TEA.

Se utilizaron muestras de sangre de pacientes pediátricos con TEA (n = 53) y sus correspondientes controles (n = 45).

Estudio Trastorno del Espectro Autista (TEA)

Criterios de inclusión.

- **Niños y niñas con edades comprendidas entre 2 y 6 años de edad diagnosticados de Trastorno del Espectro Autista según los criterios DSM-V y la Escala de Observación para el Diagnóstico de Autismo (ADOS).**
- Consentimiento informado firmado por los progenitores o representante legal.

Criterios de exclusión.

- Niños menores de 2 años.
- Niños/as diagnosticados de TEA mayores de 6 años.
- Coexistencia de otro diagnóstico asociado al autismo.
- Pacientes que estén recibiendo algún tipo de suplemento o medicación concomitante que no permita periodo de lavado.
- Pacientes diagnosticados de otras patologías o con medicación que puedan afectar a las variables del estudio (estrés oxidativo, inflamación, moléculas de adhesión celular, perfil lipídico o microbiota).

Criterios de retirada.

- -Niños que no mantengan una adherencia o cumplimiento adecuado al tratamiento según valoración por el investigador.
- -Niños en los que no se pueda completar el estudio por dificultades en la obtención de las muestras. Aparición de patología neurológica asociada que no permita tener un diagnóstico único de TEA.

Estudio Trastorno del Espectro Autista (TEA)

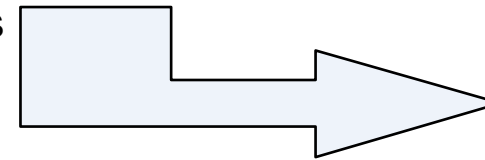
Análisis Estadístico

- Todos los análisis de datos se han llevado a cabo con el paquete estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 21.0.
- El análisis estadístico consistió en un estudio descriptivo de las variables continuas mediante la media \pm desviación estándar o mediana y rango intercuartílico.
- Las diferencias entre los valores medios de cada grupo se realizó mediante la prueba t de Student, o U de Mann-Whitney dependiendo de la idoneidad.
- Las comparaciones de variables continuas entre sujetos de los mismos grupos (basal vs. tiempo de intervención final sujetos de diferentes grupos) y la interacción tiempo x tratamiento se llevó a cabo mediante modelos lineales de varianza.
- La asociación entre variables diferentes multidependientes se hizo mediante test de regresión múltiple.



Children With Autism Spectrum Disorder With Regression Exhibit a Different Profile in Plasma Cytokines and Adhesion Molecules Compared to Children Without Such Regression

- 54 pacientes TEA (DSM-5 y ADOS) menores de 6 años y 54 niños sanos con desarrollo típico
- Pacientes TEA divididos en función de la regresión del neurodesarrollo (AMR) o sin regresión (ANMR)
- Análisis de las principales moléculas inflamatorias analizadas
- **Resultados**
 - Niveles más altos del **Factor de Crecimiento Neuronal (NGF)** en el grupo TEA que en el grupo control ($p < 0.05$).
 - Niveles más bajos de **moléculas de adhesión celular neurales (NCAM)**
 - niveles más elevados de NGF en TEA ANMR que en el Grupo Control ($p < 0.05$)



Catepsina

IL1 β

IL6

IL8

MPO

RANTES

MCP

BDNF

NCAM

PAI

SICAM

SVCAM

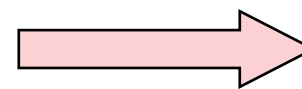
NGF

TABLE 2 | Plasma cytokine levels in patients with childhood autism (ASD) compared to the levels in the healthy control group.

Biochemical biomarkers	n	ASD	n	Control	p
C-CRP (mg/L)	54	1.9 ± 4.7	54	2.09 ± 5.09	0.77
Cathepsin D (ug/L)	54	119.5 (81.07–165.4)	54	107.2 (79.1–165.5)	0.874
IL1β (pg/ml) ^a	9	1.08 (0.6–3.07)	4	2.16 (1.2–4.24)	0.825
IL6 (pg/ml)	44	1.38 (0.34–2.98)	54	0.7 (0.24–1.46)	0.148
IL8 (pg/ml)	52	1.84 (0.84–3.82)	54	1.34 (0.67–2.77)	0.171
TNFα (pg/ml)	54	3.16 (2.2–4.56)	54	2.66 (1.83–3.69)	0.07
MPO (ug/L)	53	80.03 (54.96–148.5)	54	88.2 (61.4–141.5)	0.551
MCP-1(pg/ml)	54	122.46 (100.8–156.32)	54	117.13 (98.2–141.51)	0.228
RANTES (ug/L)	54	70.97 (41.47–135.8)	54	59.75 (28.95–94.92)	0.175
PAI (ug/L)	54	70.07 (45.52–92.65)	54	62.91 (40.62–111.53)	0.766
NCAM (ug/L)	54	392.20 ± 73.567	54	410.13 ± 72.68	0.196
ICAM (ug/L)	54	173.1 (148.85–189.9)	54	159.9 (143.2–188.6)	0.166
VCAM (ug/L)	54	1083.7 (903.8–1216.8)	54	1047.6 (840.2–1162.48)	0.283
HGF (pg/ml)	54	162.7 (136.1–222.3)	54	163.17 (131.07–194.36)	0.514
BDNF (ug/L)	54	5.04 (2.95–7.62)	54	5.36 (3.48–10.19)	0.825
NGF (pg/ml)	21	4.78 (2.93–13.18)	16	2.06 (1.25–7.36)	0.05

BDNF, brain-derived neurotrophic factor; C-CRP, C-reactive protein; HGF, hepatocyte growth factor; ICAM, intercellular adhesion molecule; IL, interleukin; MCP-1, monocyte chemotactic protein; MPO, myeloperoxidase; NCAM, neuronal cell adhesion molecule; NGF, nerve growth factor; PAI, plasminogen activator factor; RANTES, regulated on activation normal t cell expressed and secreted; TNFα, tumor necrosis factor α; VCAM, vascular cell adhesion molecule.

Data are given as the mean ± SD or median values interquartile range. P-values were obtained from the Mann-Whitney U-test or Student's T-test, as appropriate using Bonferroni correction. P < 0.05 was considered to be statistically significant. P-values in bold are statistically significant.



Las diferencias significativas entre el grupo TEA y control en el **Factor de Crecimiento Neuronal (NGF)** pueden indicar un sistema fisiopatológico específico en el TEA

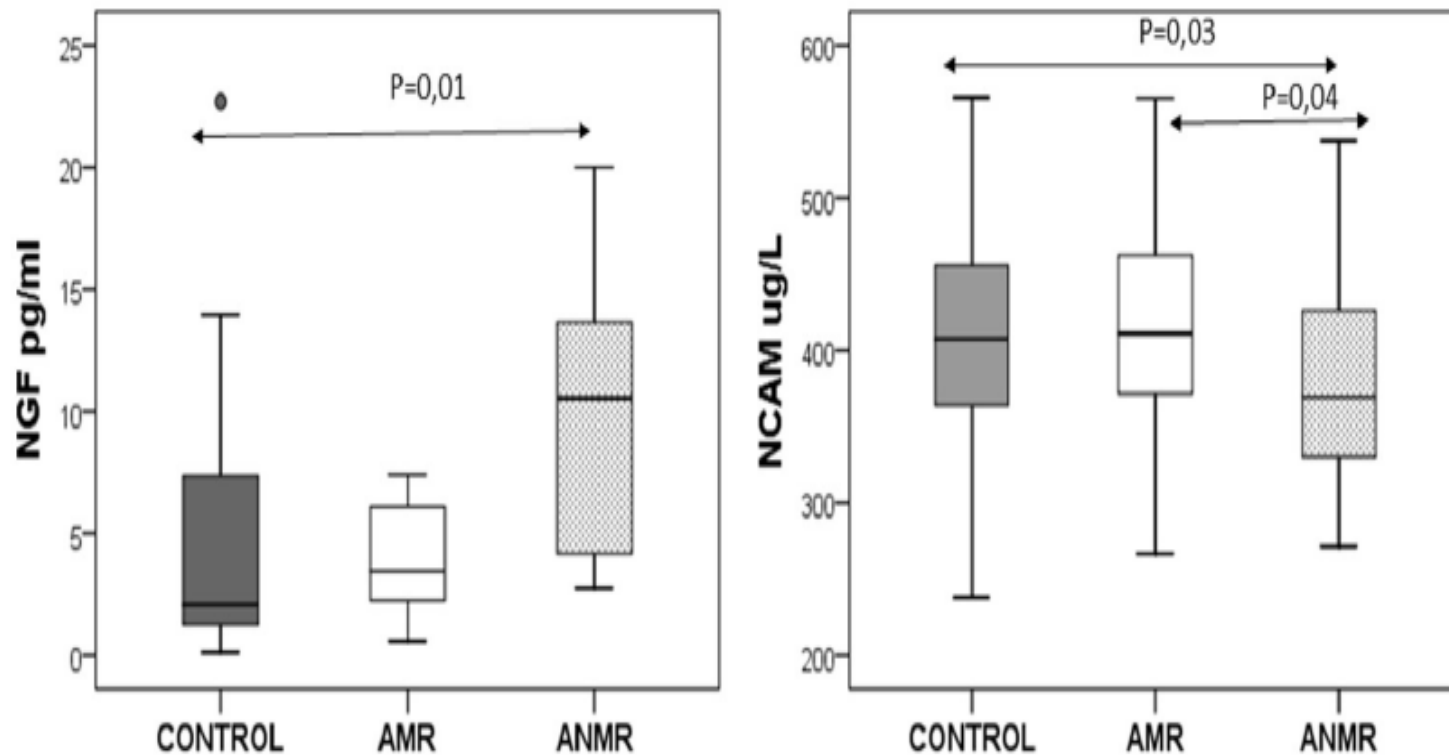


FIGURE 1 | The neuronal cell adhesion molecule (NCAM) and nerve growth factor (NGF) plasma levels in children with autism subdivided as follows: AMR (mental regression group), ANMR (non-mental regression group) and a healthy control group.

Las diferencias observadas entre los grupos ANMR y AMR podrían indicar la presencia de subtipos diferentes de pacientes TEA

Conclusions:

-These results suggest differences that could be related to different pathophysiological mechanisms in ASD.

-There is not a specific profile for the expression of relevant plasma cytokines, adhesion molecules or growth factors in children with ASD compared with that in typically-developing children.

-However, in the ANMR and AMR Subgroups, some of the adhesion molecules and neuronal growth factors show differences that may be related to Synaptogenesis



Children With Autism Spectrum Disorder and Neurodevelopmental Regression Present a Severe Pattern After a Follow-Up at 24 Months

This study examined the presence of neurodevelopmental regression and its effects on the clinical manifestations and the severity of autism spectrum disorder (ASD) in a group of children with autism compared with those without neurodevelopmental regression at the time of initial classification and subsequently.

Inventario del Desarrollo de Battelle:

Áreas del desarrollo Personal/Social, Adaptativa, Motora, Comunicación y Cognitiva y Desarrollo psicomotor

TABLE 3 | Comparisons of the Battelle Inventory results in the autism spectrum disorder subgroups with and without neurodevelopmental regression at baseline and at a follow-up of 24 months.

Battelle inventory		N	Basal time	p^a	24 months	p^b
B. Total personal/social	AMR	13	34.31 ± 9.97	0.003	37.08 ± 18.58	0.03
	ANMR	26	48.88 ± 14.84		51.58 ± 20.53	
B. Total adaptive	AMR	13	42.38 ± 11.59	0.004	40.69 ± 16.19	0.09
	ANMR	26	56.73 ± 14.52		51.38 ± 19.20	
B. Gross motor	AMR	12	64.58 ± 13.11	0.4	51.67 ± 17.24*	0.07
	ANMR	24	69.50 ± 17.77		66.46 ± 25.46	
B. Fine motor	AMR	12	58.83 ± 21.15	0.06	54 ± 19.31	0.06
	ANMR	24	71.08 ± 16.61		68.29 ± 22.2	
B. Total motor	AMR	13	62.23 ± 11.49	0.05	55.38 ± 18.39	0.04
	ANMR	26	71.31 ± 14.60		69.58 ± 21.17	
B. Receptive	AMR	12	32.92 ± 23.86	0.01	43.33 ± 25.51*	0.12
	ANMR	24	53.75 ± 21.35		57.29 ± 24.81	
B. Expressive	AMR	12	37.25 ± 14.75	0.05	42.08 ± 25.53	0.01
	ANMR	24	51.50 ± 21.9		55.33 ± 26.67	
B. Total communication	AMR	13	34.08 ± 16.79	0.01	43.77 ± 26.96*	0.17
	ANMR	26	50.50 ± 18.9		55.81 ± 24.68	
B. Total cognitive	AMR	13	62.08 ± 23.29	0.03	64.31 ± 26.47	0.31
	ANMR	26	78.12 ± 20.28		73.85 ± 27.96	
Battelle total	AMR	13	47.62 ± 11.28	0.006	48 ± 20.07	0.04
	ANMR	26	60.85 ± 14.35		62.92 ± 21.8	

Mental Regression (AMR). Without Mental Regression (ANMR). The data are expressed as means ± DS. Mixed-Designs ANOVA with Sidak correction used to compare differences among the groups. $P < 0.05$ value in bold, was considered for significant results. p^a : p between AMR and ANMR at baseline; p^b : p between AMR and ANMR at 24 months of follow-up; * $p < 0.05$ between baseline and 24 months of follow-up (intragroup).

Children With Autism Spectrum Disorder and Neurodevelopmental Regression Present a Severe Pattern After a Follow-Up at 24 Months

- **PDD Behavior Inventory™**
Valora los síntomas centrales del TEA y los problemas de comportamiento, trastornos en el lenguaje, el aprendizaje y la memoria.

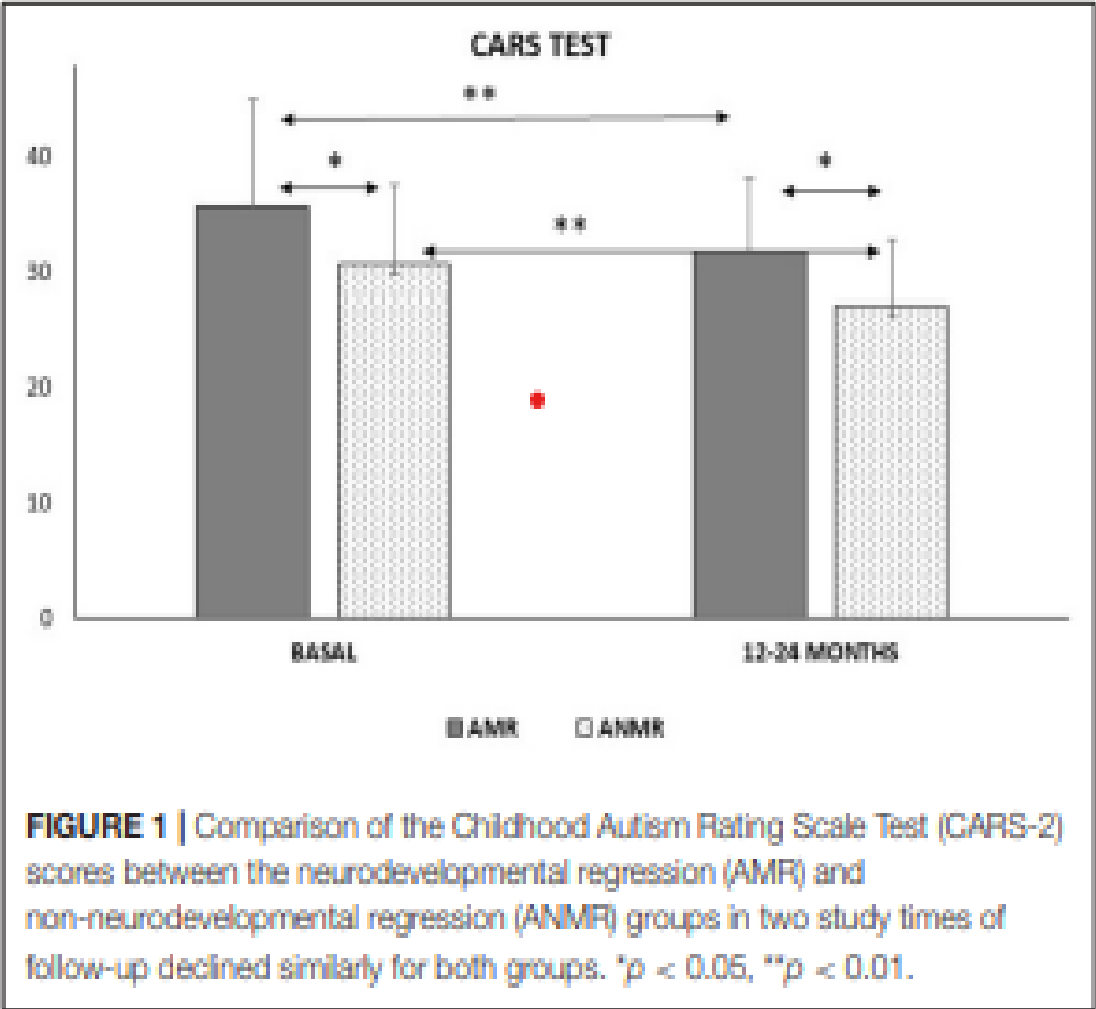
TABLE 4 | Analysis of the Pervasive Developmental Disorders Behavior Inventory test in the ASD subgroups with and without neurodevelopmental regression at baseline and at a follow-up at 24 months.

PDDBI	Group	N	Basal time	p^a	24 months	p^b
Sensory	AMR	16	52.63 ± 12.69	0.182	52.31 ± 10.49	0.05
	ANMR	27	49.22 ± 9.38		46.37 ± 9.36*	
Ritual score	AMR	16	52.88 ± 11.74	0.711	54.69 ± 9.66	0.038
	ANMR	27	52.56 ± 9.46		48.63 ± 8.52*	
Social pragmatic problems	AMR	16	49.13 ± 9.81	0.499	47.31 ± 7.19	0.257
	ANMR	26	46.73 ± 8.51		48.27 ± 6.75	
Semantic pragmatic problems	AMR	17	47.65 ± 9.95	0.315	48.94 ± 11.47	0.152
	ANMR	27	49.44 ± 9.32		49.33 ± 8.56	
Social approach behaviors	AMR	17	46.18 ± 9.47	0.018	50.12 ± 8.88*	0.048
	ANMR	27	54.04 ± 10.47		56.37 ± 10.48*	
Expressive language	AMR	17	46 ± 9.17	0.006	46.06 ± 11.14	0.002
	ANMR	27	55.3 ± 10.98		57.7 ± 11.23	
Score autism	AMR	17	53.53 ± 10.69	0.022	52.47 ± 9.73	0.003
	ANMR	27	46.22 ± 9.45		43.59 ± 8.67*	

Analysis of the Pervasive Developmental Disorders Behavior Inventory test regarding the neurodevelopmental regression and non-neurodevelopmental regression groups at baseline and after follow-up at 24 months.

Mental Regression (AMR). Without Mental Regression (ANMR). The data are expressed as means ± DS. Mixed-Designs ANOVA with Sidak correction used to compare differences among groups. $P < 0.05$ value in bold, was considered for significant results. p^a : p between AMR and ANMR at baseline; p^b : p between AMR and ANMR at 24 months follow-up; * $p < 0.05$ between baseline and 24 months follow-up (intragroup).

Children With Autism Spectrum Disorder and Neurodevelopmental Regression Present a Severe Pattern After a Follow-Up at 24 Months



Childhood Autism Rating Scale – 2 (CARS-2)

Esta escala aborda la valoración de las siguientes áreas funcionales:

- Relacionado con las personas
- Uso corporal
- Respuesta visual
- Respuesta de escucha
- Uso y respuesta al gusto, olfato y tacto
- Comunicación verbal
- Comunicación no verbal
- Nivel y consistencia de la respuesta intelectual

Conclusions:

ASD patients exhibited a set of different neurological phenotypes. The AMR and ANMR subgroups presented different clinical manifestations and prognoses in terms of the severity of autistic symptoms and neurodevelopment.

Article

Autism Spectrum Disorder (ASD) with and without Mental Regression is Associated with Changes in the Fecal Microbiota

3º Trabajo Publicado ASD

Nutrients 2019, IF 2018: 4,171. Nutrition and Dietetics: 16/86 Q1

- Nuevas tecnologías de secuenciación de microbiomas
- Posibilidad de descubrir interacción entre microbiota /cerebro/ huésped
- Nuevas evidencias en modelos animales
- Especial interés patologías neuropsiquiátricas
- **Sujetos de estudio**
 - 48 pacientes TEA menores de 6 años (30 ANMR; 18 AMR)
 - 57 controles de desarrollo típico
- Las muestras fecales se analizaron con un enfoque metagenómico utilizando una plataforma de secuenciación de próxima generación

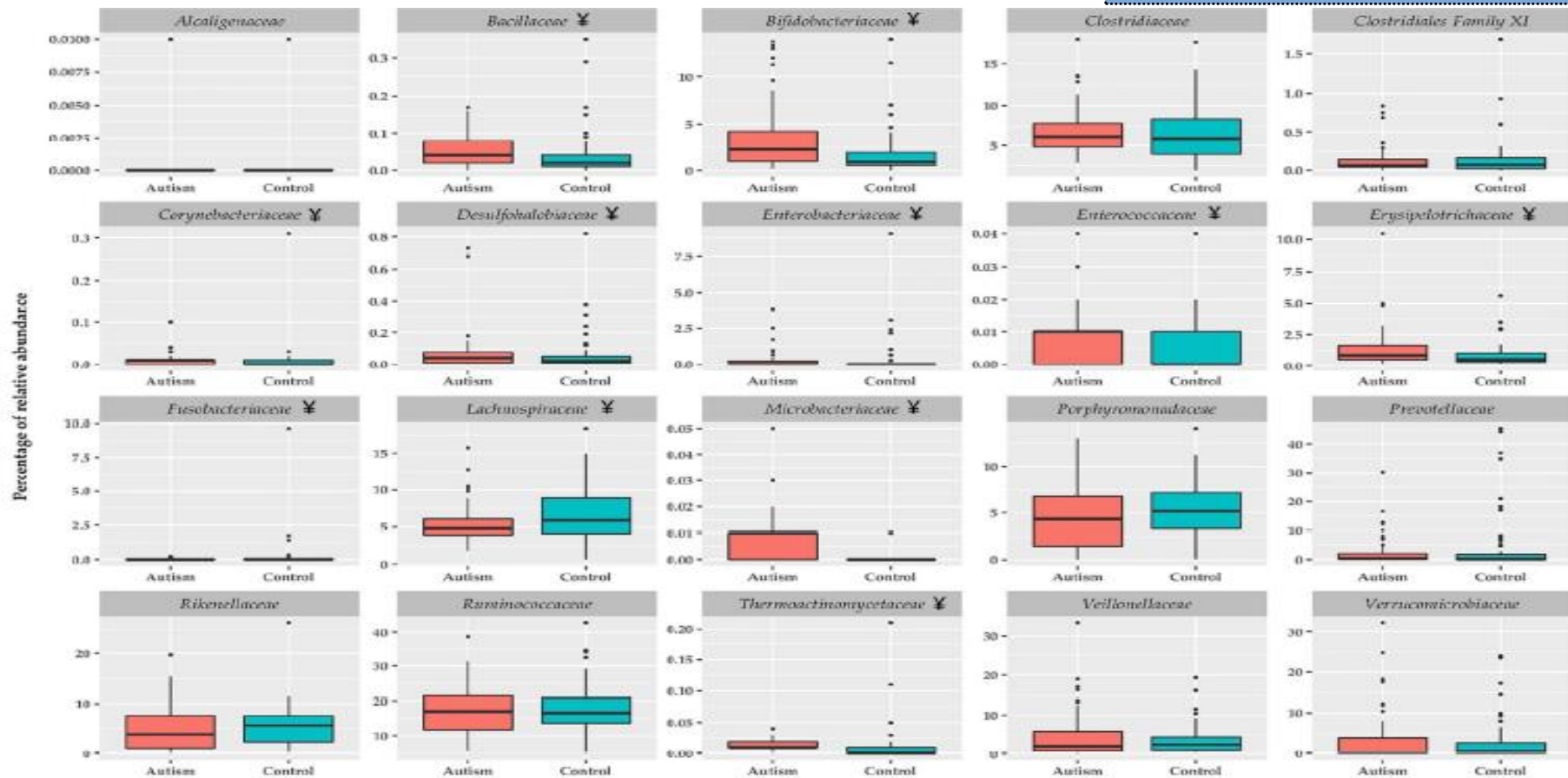


Figure 1. Relative abundance of family bacterial taxon in feces of children with ASD and health children. Boxplots were generated using the R software utilizing the ggplot2 package, and represent the most important bacterial families $\neq P < 0.05$ vs control group.

Análisis por componentes principales

Niveles elevados de Actinobacteria, Proteobacteria, Bacilli, Erysipelotrichi y Gammaproteobacteria en los niños con TEA en comparación con el Grupo Control

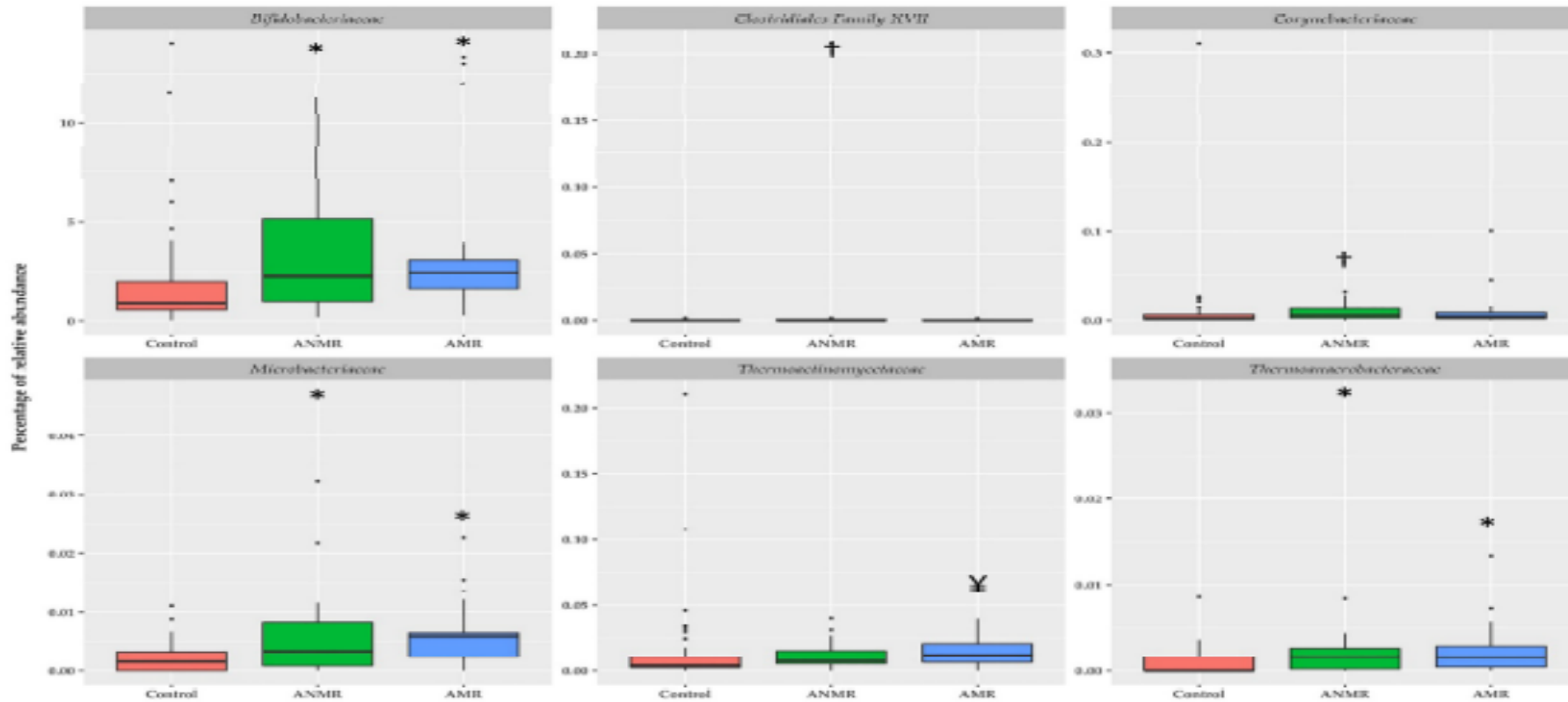


Figure 2. Relative abundances of selected bacteria according to family taxon in feces of children with ASD classified by mental regression and healthy children. Boxplots were generated using the R software utilizing the ggplot2 package and represent bacterial families * $P < 0.05$ vs. control group, † $P < 0.05$ vs. control and AMR groups, and ‡ $P < 0.05$ vs. control and ANMR groups using H Kruskal-Wallis test corrected by Bonferroni post-hoc test.

Análisis por componentes principales

El grupo TEA-AMR presento niveles más altos de Proteobacterias

- Evidencias en las diferencias en la microbiota intestinal TEA / Grupo Control
- Evidencias en la microbiota entre los subgrupos de TEA con regresión en el neurodesarrollo (AMR) y sin regresión (ANMR)
- Significado incierto de la microbiota intestinal en la fisiopatología del TEA
- Estos resultados apoyan la heterogenicidad del TEA

Conclusiones:

Se necesitan más análisis utilizando estos resultados preliminares y mezclando tecnologías metagenómicas y otras tecnologías "ómicas" en cohortes más grandes de niños con TEA para confirmar estos cambios encontrados en la microbiota intestinal.

RESEARCH

Open Access

4º Trabajo Publicado ASD

Neurotoxicity by mercury is not associated with autism spectrum disorders in Spanish children



Table 1 Demographic data and fish intake frequency from children with autism spectrum disorders (ASD) compared with a group of healthy children (control group)

	ASD N: 54	Control N: 54	p
Sex (male)	45 (83%)	30 (56%)	0,002
Body mass index (kg/m ²)	15,9 ± 1,7	18,1 ± 1,7	0,509
Fish intake (per week) %			
0	7 (13%)	10 (18%)	0,109
1	31 (57%)	38 (71%)	
2	13 (24%)	6 (11%)	
3	3 (6%)	0	

Table 2 Concentrations for mercury (Hg) in urine and hair samples from children with autism spectrum disorders (ASD) and a healthy children control

Heavy metal	Groups	% LOD	AM ± SD	GM	Median (IQR)	Maximum
Hg Urine (ug/L)	Control (n = 54)	25(46%)	0,33 ± 0,42	0,04	0,17 (0,002-0,58)	1,39
	ASD	26 (51%)	0,54 ± 0,78	0,03	0,002 (0,002-0,98)	3,86
	ANMR(n = 33)	12 (39%)	0,68 ± 0,85	0,08	0,55 (0,002-1,18)	3,86
	AMR(n = 19)	13 (68%)	0,35 ± 0,62	0,01	0,002 (0,002-0,55)	1,90
Hg Hair (ug/g)	Control (n = 54)	2 (4%)	13 ± 12,68	5,40	10,08 (3,13-18,2)	51,99
	ASD	2 (4%)	8,26 ± 10,57	3,21	4,46 (1,66-9,35)	48,94
	ANMR (n = 33)	2 (6%)	9,26 ± 12,34	2,66	4,46 (1,66-9,78)	48,94
	AMR (n = 19)	0	6,57 ± 6,81	4,13	3,79 (1,63-9,33)	27,03

LODs in urine ug /L and hair (ug/g) were 0.002 and 0.0002 for Hg

LOD Limits of detection, AM mean, SD standard deviation, GM geometric mean, IRQ interquartile range, ASD Autism spectrum disorders

RESEARCH

Open Access

Neurotoxicity by mercury is not associated with autism spectrum disorders in Spanish children



Table 3 Multiple log-linear Tobit regression analysis of Hg levels in hair and urine

Biological sample	Predictor variable	Pseudo R ²	β	p-value	CI 95%
Hair	Groups (ASD)	0,03	-5.02	0,19	-12.67; 2.63
	Gender (girls)		3.96	0,12	-1.11; 9,1
	Age (per month increase)		-0,03	0,62	-0,16; 0,09
Urine	Groups (ASD)	0,05	-0.17	0,62	-4,97; 1,87
	Gender (girls)		0,24	0,31	-2,56; 1,04
	Age (per month increase)		-0,01	0,11	-0,002; 0,07

ASD Autism spectrum disorders, CI confidence interval

Conclusions:

The present study shows no evidence in our geographical area to support an association between mercury neurotoxicity and the etiopathogenesis of ASD



Metabolic profiling in children with autism spectrum disorder with and without mental regression: preliminary results

Table 1 Demographic, anthropometric data and psychological tests results in children with ASD compared with healthy children

	HC (mean \pm SD)	ANR (mean \pm SD)	AR (mean \pm SD)	p
Sex (male)	4/30	2/15	3/15	NS
Age (months)	48.67 \pm 15.03	44.8 \pm 9.37	45.0 \pm 12.65	NS
Weight (kg)	16.74 \pm 3.6	16.23 \pm 3.4	16.91 \pm 3.6	NS
Height (cm)	101.74 \pm 8.25	103.9 \pm 8.7	104.1 \pm 12.39	NS
BMI (kg/m ²)	16.0 \pm 1.6	14.9 \pm 1.5	16.4 \pm 1.7	0.033
Battelle test	–	60.96 \pm 13.29	47.05 \pm 10.33	0.002
CARS test	–	30.6 \pm 6.11	35.9 \pm 8.12	0.009
PDDBI test	–	46.13 \pm 10.47	53.93 \pm 10.39	0.023

p values were obtained from an ANOVA test or Student's *t* test. $p < 0.05$ was considered statistically significant

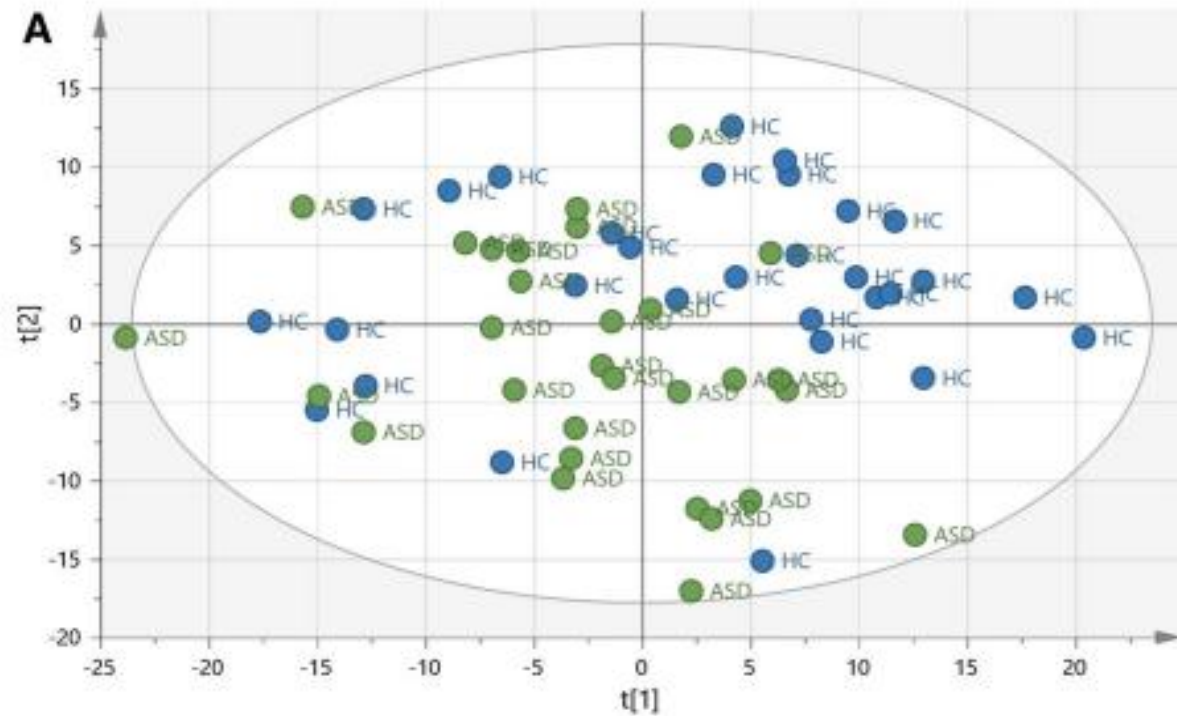
ANR autistic without regression, AR autistic with regression, BMI body mass index, CARS Childhood Autism Rating Scale Test, HC healthy children, PDDBI Pervasive Developmental Disorders (Behavior



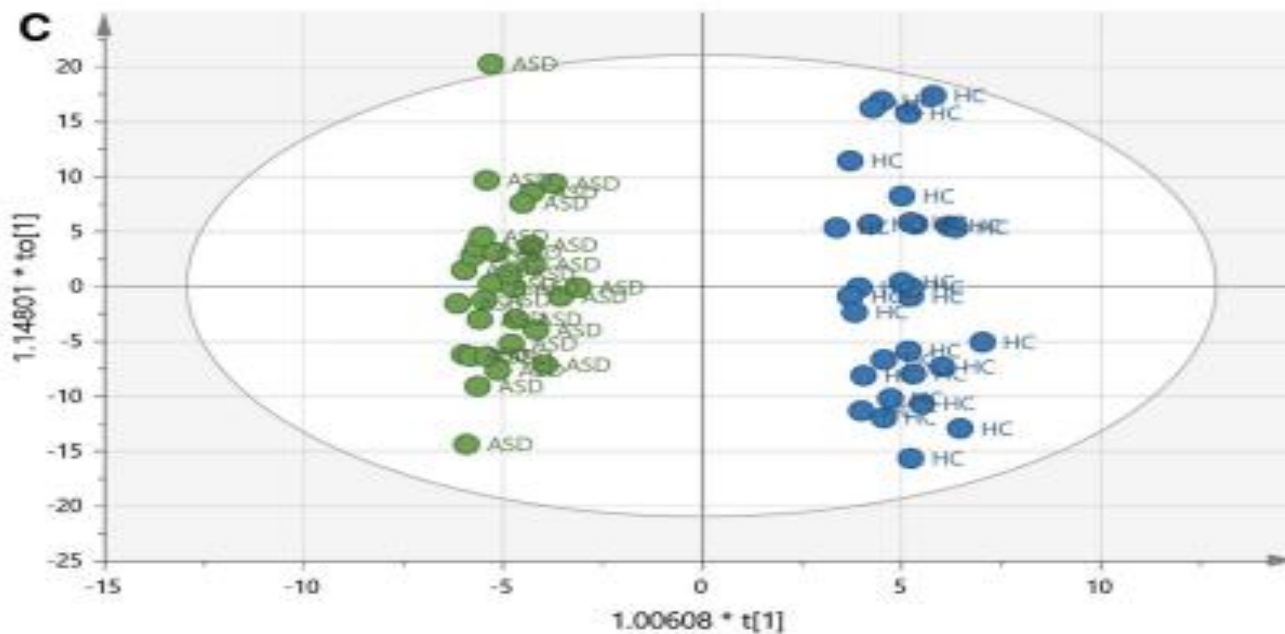
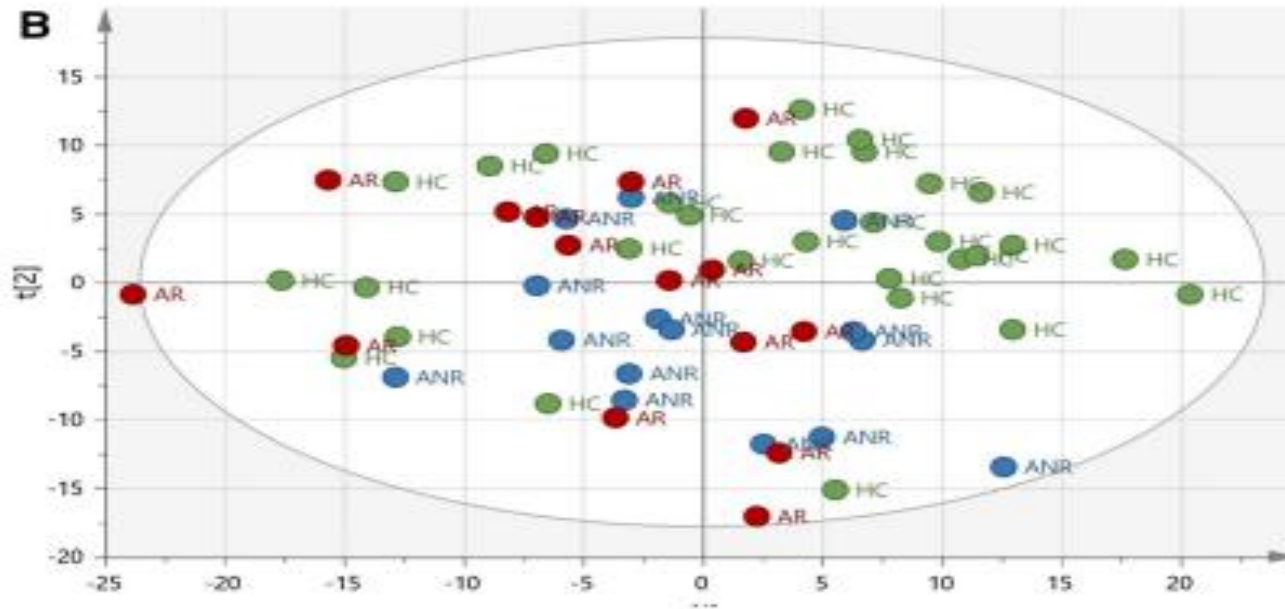
Metabolic profiling in children with autism spectrum disorder with and without mental regression: preliminary results from a cross-sectional case–control study

- Aplicación de nuevas tecnologías como el estudio metabólico basado en plataforma única de cromatografía líquida de espectrometría de masas
- Análisis univariante y multivariante
- Modelos de análisis ortogonales de mínimos cuadrados-discriminantes parciales y de estructuras únicas y compartidas,
- Técnicas informáticas complejas :Metabo analyst 4.0 y Simca-p 15.
- **Se compararon los perfiles metabólicos de 30 niños sanos , 15 TEA con retraso en el neurodesarrollo (AMR) y 15 sin retraso (ANMR)**

Fig. 2 **a** PCA scores plot including samples from HC and ASD. *HC* healthy children, *ASD* autistic children. **b** PCA scores plot including samples from HC and autistic children (labelled as ANR and AR). *HC* healthy children, *AR* autistic mental-regression children, *ANR* autistic non-mental regression children. **c** OPLS-DA model score plot showing separation by condition, including ASD children and HCs. *HC* healthy children, *ASD* autistic children



Metabolic profiling in children with autism spectrum disorder with and without mental regression: preliminary results from a cross-sectional case-control study



El uso de complejas fórmulas estadísticas multivariantes por componentes principales y rotación ortogonal permitió establecer patrones diferentes de metabolismos en los niños con TEA y en los subgrupos de TEA con o sin retraso en el neurodesarrollo (AMR/ANMR)

Metabolic profiling in children with autism spectrum disorder with and without mental regression: preliminary results from a cross-sectional case–control study

Table 2 Summary of the predictive abilities of the OPLS-DA models constructed

Comparison	Predictive component	Orthogonal components	R ² X (cum)	R ² Y (cum)	Q ² (cum)	CV-ANOVA
HC vs. ASD	1	2	0.2	0.939	0.625	1.33E ⁻⁰⁹
HC vs. ANR	1	2	0.206	0.950	0.539	2.696E ⁻⁰⁵
HC vs. AR	1	3	0.261	0.977	0.401	0.0130924
ANR vs. AR	NS	NS	NS	NS	NS	NS

ANR ASD without mental regression, *AR* ASD with mental regression, *ASD* autism spectrum disorder, *NS* non-significant

- Se observaron cambios relacionados con los aminoácidos, nicotin adenin dinucleótido (NAD⁺) y el metabolismo de los lípidos así como alteraciones en las rutas de la arginina y del glutamato
- Se abre una interesante línea de investigación en metabolómica a partir de estudio de muestras sanguíneas

Conclusions

In this study, we report, for the first time, the plasmatic metabolomic profiles of children with ASD, including two different phenotypes based on mental regression status. The use of a liquid chromatography-mass spectrometry platform approach for metabolomics in ASD children using plasma appears to be very efficient and adds further support to previous findings in urine.

Furthermore, the present study documents several changes related to amino acid, NAD⁺ and lipid metabolism that, in some cases, such as arginine and glutamate pathway alterations, seem to be associated with the AR phenotype. Further targeted analyses are needed in a larger cohort to validate the results presented herein.

ANALYSIS OF GLOBAL AND LOCAL DNA METHYLATION PATTERNS IN BLOOD SAMPLES OF PATIENTS WITH AUTISM SPECTRUM DISORDER. *Frontiers in Pediatrics*, section Genetics of Common and Rare Diseases. 2021. IF 3.418 . Q1. Pediatrics 24/ 129. 6º Trabajo Publicado ASD

NCAM1(Neural cell adhesion molecule). **NGF**(Nerve growth factor)

Pyrosequencing results of NCAM1 showing percent change in methylation in ASD group, ANMR and AMR subgroups compared to healthy control group, with statistically significant changes

NCAM1

	Control vs ASD		Control vs ASD ANMR		Control vs ASD AMR	
	Percent Change in Methylation	p-value	Percent Change in Methylation	p-value	Percent Change in Methylation	p-value
All CpG	-0,96	P<0.001	-0,96	P<0.01	-0,97	P<0.05
CpG site 1	-1,41	P<0.001	-1,31	P<0.001	-1,57	P<0.001
CpG site 2	-0,43	0,16	-0,46	0,19	-0,37	0,34

Pyrosequencing results of NGF showing percent change in methylation in ASD group, ANMR and AMR subgroups compared to healthy control group, with statistically significant changes

NGF

	Control vs ASD		Control vs ANMR		Control vs AMR	
	Percent Change in Methylation	p-value	Percent Change in Methylation	p-value	Percent Change in Methylation	p-value
All CpG	-0,05	0,20	0,04	0,81	-0,28	*
CpG site 1	-0,13	0,21	-0,07	0,61	-0,24	0,09
CpG site 2	0,04	0,83	0,11	0,35	-0,09	0,57
CpG site 3	-0,49	P<0.001	-0,51	P<0.001	-0,67	P<0.001

Conclusions: We have provided new clues about the epigenetic changes that occur in ASD, and suggest two potential epigenetic biomarkers that would facilitate the diagnosis of the disorder. We similarly present with evidence of a clear differentiation in DNA methylation between the ASD subgroups, with or without mental regression.

TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA EN LA INFANCIA: INVESTIGACIÓN Y

AVANCES EN NUESTRO MEDIO. CONCLUSIONES

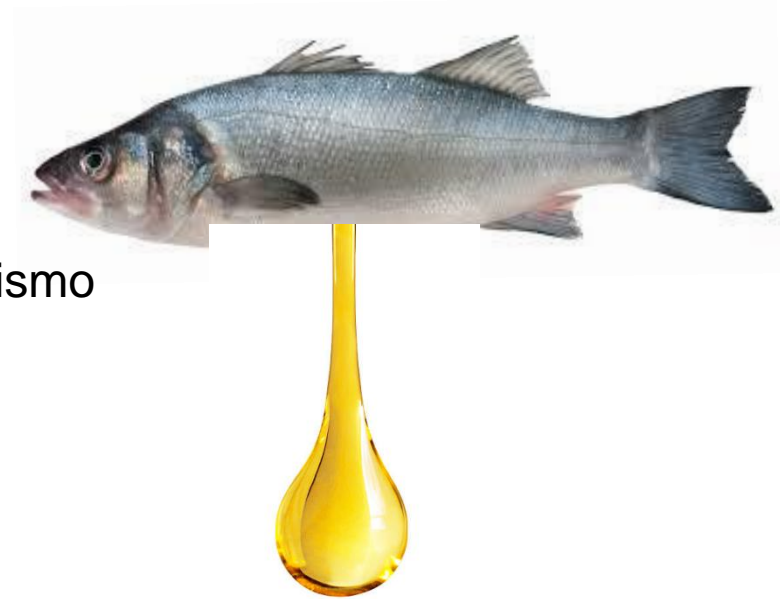
- 1)-Estos trabajos reflejan la amplia heterogeneidad clínica en el TEA. Hablamos de un espectro, con un continuo de dos dimensiones (Regresión y No Regresión en el Neurodesarrollo) . Es importante establecer un baremo de gravedad de los síntomas y de la afectación para cada uno de los Subgrupos de TEA.
- 2)-Las diferencias significativas entre el Grupo TEA y Grupo Control en el NGF pueden indicar una Las diferencias halladas entre los grupos TEA con regresión (AMR) y sin regresión (ANMR) podrían indicar la presencia de subtipos diferentes de pacientes TEA
- 3)-Existen diferencias en la Microbiota intestinal TEA / Control y en los Subgrupos de TEA (AMR/ANMR). Estos resultados apoyan la heterogenicidad del TEA
- 4)-Se han objetivado perfiles metabolómicos plasmáticos diferentes de niños con TEA con respecto al Grupo Control y entre los Subgrupos TEA (AMR y ANMR)
- 5)-Se observan cambios relacionados con distintos metabolitos: aminoácidos, nicotinamida adenina dinucleótido (NAD+) y alteraciones en las rutas de la arginina y del glutamato



TEA Y Acido docosahexaenoico (DHA)

- **Posibles efectos del DHA:**

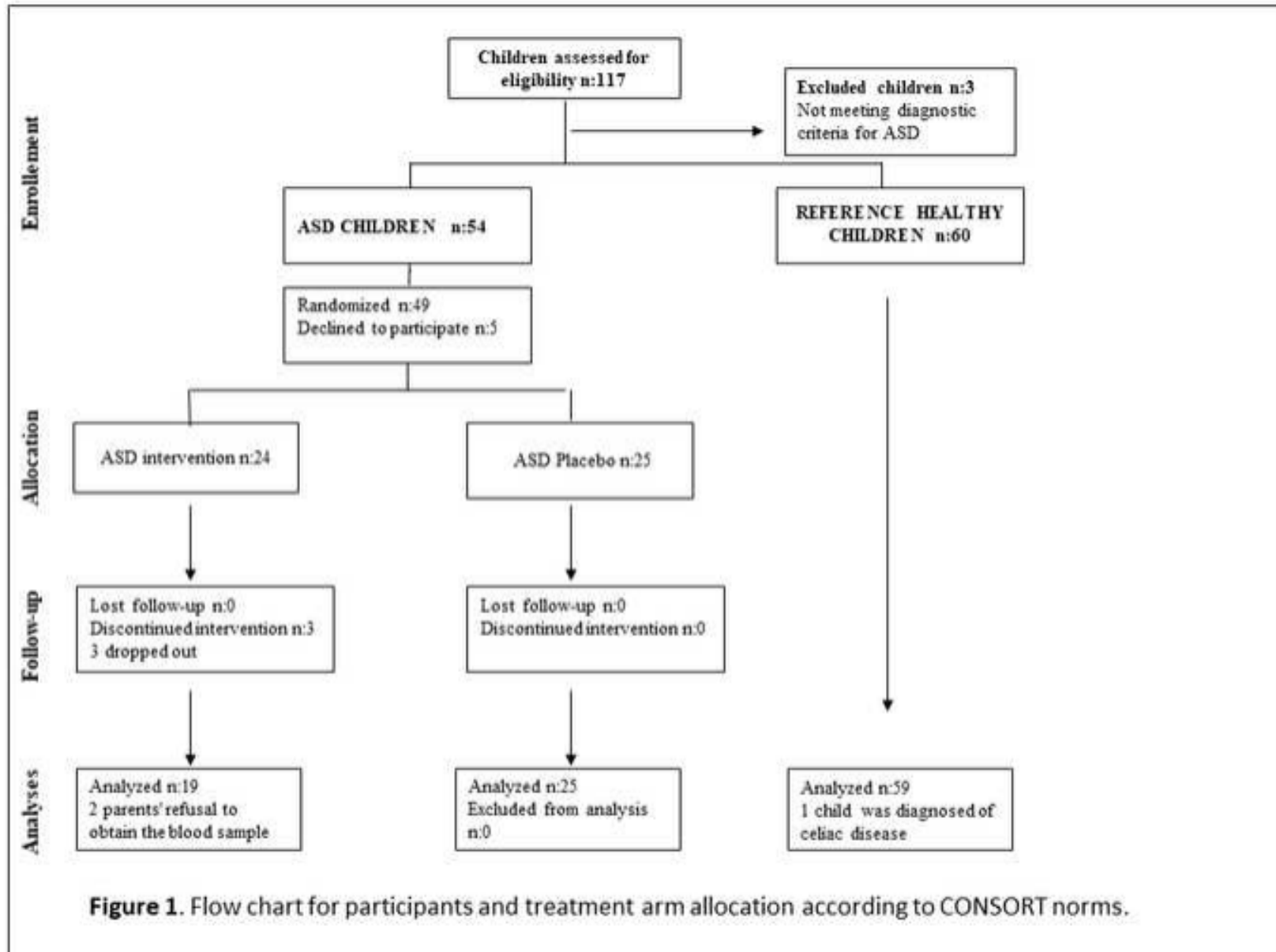
- Importante propiedad estructural en el SNC
- Propiedades antiinflamatorias
- Regulación autoinmune
- Estabilizador de la membrana sináptica
- Favorece el Neurodesarrollo
- Déficit por ingesta, absorción o metabolismo



- **Antecedentes de indicacion DHA en TEA**

- Escasos estudios publicados
- Tres metanálisis
- Resultado contradictorios
- Posible mejoría de la irritabilidad en TEA

Cheng YS et al. Supplementation of omega 3 fatty acids may improve hyperactivity, lethargy, and stereotypy in children with autism spectrum disorders: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2017; 13:2531-2543



OBJETIVOS

Valorar:

- Eficacia
- Seguridad
- Metabolismo del FA omega-3



MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio intervención unicéntrico, independiente, aleatorizado, grupos paralelos, doble ciego, placebo control y casos y controles

54 pacientes TEA de 2 a 6 años

60 controles sanos

Sin diferencias significativas en la dieta

Mismo sistema de abastecimiento de aguas.

Sin diferencias socioeconómicas

En 24: 850 mg de ácido docosahexaenoico (DHA) y 350 mg ácido eicosapentaenoico (EPA)/día durante 6 meses

En 25: Solución de aceite de girasol alto oleico

Valoración clínica basal y postratamiento test : CARS, SDQ y PDDBI

Estudio de niveles de FA basales y postratamiento

Conclusion:

Spanish children with ASD exhibit an appropriate omega-3 FA status. The intervention for six months with a DHA supplement results into an increase of plasma and erythrocyte DHA but neither in a clinical improvement of patients nor in a better anti-inflammatory state.

Dada la ausencia actual de terapias curativas en el TEA hay que seguir desarrollando estas líneas de investigación que nos abrirán caminos para encontrar en el futuro dianas terapéuticas. Para ello se requiere seguir investigando, trabajar juntos y progresar para conseguir el éxito...

¡Gracias!

Juan Luis Pérez Navero
Hospital Universitario Reina Sofía. Instituto Maimónides de
Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Facultad Medicina y
Enfermería. Universidad de Córdoba
ucip.hrs.sspa@juntadeandalucia.es

