

TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA: SECUENCIACIÓN Y CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA

Yéssica Paola López-Echeverri¹

Resumen: máximo 250 palabras

El autismo es un trastorno del neurodesarrollo caracterizado por compromiso en la interacción social y la comunicación, asociado a intereses restringidos y conductas estereotipadas. Las evidencias genéticas de los trastornos del neurodesarrollo están ampliamente sustentadas en la literatura médica. Los protocolos más recientes en el apartado biomédico del estudio genético de estos trastornos sitúan los microarrays cromosómicos y la secuenciación de exoma como análisis de primera línea. Como resultado de la presente revisión, se identificaron los principales métodos de secuenciación usados en la investigación y diagnóstico del trastorno del espectro autista, al igual que las expresiones genéticas diferenciales.

Palabras Clave. Cariotipo, Genética, Secuenciación del Exoma Completo, Trastorno del Espectro Autista, Trastornos del Neurodesarrollo

Abstract. Autism is a neurodevelopmental disorder characterized by commitment to social interaction and communication, associated with restricted interests and stereotyped behaviors. The genetic evidence of neurodevelopmental disorders is widely supported in the medical literature. The most recent protocols in the biomedical section of the genetic study of these disorders place the chromosomal microarrays and the exome sequencing as first-line analysis. As a result of the present review, the main sequencing methods used in the investigation and diagnosis of autistic spectrum disorder were identified, as were differential genetic expressions.

Keywords: Autism Spectrum Disorder, Karyotype, Genetics, Neurodevelopmental Disorders, Whole Exome Sequencing.

¹Ingeniera Biomédica. Estudiante maestría bioinformática y biología computacional. E-mail: yessipaloe@gmail.com

INTRODUCCION

El trastorno del espectro autista (TEA) es un desorden del neurodesarrollo identificado por tres características clínicas: deficiencias marcadas en la comunicación verbal y no verbal; deficiencias en las interacciones sociales; y conductas e intereses repetitivos restringidos (1). Dentro del TEA se incluyen trastornos como el autismo, síndrome de Asperger, trastornos generalizados del desarrollo, y trastorno desintegrativo infantil (2).

Desde el componente corporal, si bien no se han determinado marcadores etiológicos y biológicos específicos, si se identifica la asociación desde componentes genéticos (3) y la disfunción a nivel cerebral.

La prevalencia para desarrollar autismo específicamente, se encuentra mayor en hombres que en mujeres siguiendo una proporción 4:1 (4).

Se estima que entre un 30-40% de los casos de TEA coexiste con bajo rendimiento cognitivo (5), compromiso variable del lenguaje, ecolalias y prosodias peculiares (6). Los pacientes con TEA suelen mostrar dificultades motoras y poca coordinación en sus movimientos.

Es frecuente el hallazgo de disfunciones sensoriales (hiper o hiposensibilidad) a la percepción de los estímulos auditivos, táctiles, visuales o gustativos.

Pueden padecer trastornos del sueño (latencia prolongada o sueño fragmentado) (7), así como alimentarios, en algunas ocasiones un patrón muy restringido puede llegar incluso a la anorexia (5, 8).

La mayoría de las diferencias en el ADN entre las personas es debido principalmente a polimorfismos que involucran de uno a por lo menos 1.000 pb; este último caso se debe a inserciones, deleciones, inversiones o duplicaciones conocidas como variaciones en el número de copias o CNV (por sus siglas en inglés) (9).

El exoma del genoma humano se compone de unos 180,000 exones que constituyen aproximadamente el 1.5% del genoma total. Las mutaciones que ocurren en secuencias exómicas tienen una probabilidad mucho mayor de expresarse en comparación con cualquier otro componente genético. Se estima que el exoma contiene el 85% de las mutaciones que son capaces de generar una enfermedad o trastorno (10), por tal razón uno de los procedimientos que se más acobrado importancia

al momento de buscar las variaciones genéticas en TEA, es la secuenciación de exoma.

Debido a que el TEA manifiesta diferencias fisiopatológicas que son significativas entre las personas que lo desarrollan, es importante comprender cómo las propiedades funcionales de los genes implicados y las mutaciones asociadas afectan las características fenotípicas de la enfermedad.

Se han propuesto numerosos biomarcadores para ASD, incluidos marcadores bioquímicos, morfológicos, inmunológicos, hormonales, neurofisiológicos, neuroanatómicos y neuropsicológicos (11)

ESTADO DEL ARTE.

El primer concepto del trastorno se basa en la observación que hizo Kanner en 1943 (12), donde describió a 11 niños con autismo, en su mayoría niños con una combinación de disfunción social y de lenguaje variable severa y la presencia de conductas restrictivas repetitivas.

En la actualidad, se ha establecido internacionalmente como una buena práctica y primer estudio, el microarray cromosómico (CMA) (2, 13, 14), ya que esta técnica

permite identificar defectos cromosómicos, deleciones, o duplicaciones pequeñas (nivel de resolución 100 kb) no evidenciables mediante otros procedimientos diagnósticos; pero cuando estos estudios no muestran evidencias patológicas existe una alternativa como los procedimientos de secuenciación masiva o next generation sequencing (NGS), que probablemente podrán resolver o aclarar el origen genético en casos donde los estudios previamente señalados han arrojado resultados normales (15), y Aunque se muestra como una técnica enormemente prometedora, con frecuencia diagnósticas superiores a otros métodos, no está exenta de desventajas: falsos positivos, identificación de nuevas variantes difíciles de interpretar, ausencia de protocolos (16)

La NGS representa la base de varios estudios de gran utilidad diagnóstica, como son: secuenciación del genoma completo (WGS), secuenciación del exoma completo (WES).

La secuenciación exómica (WES), el exoma clínico (EC) y el estudio mediante paneles de genes específicos son los más utilizados en la actualidad, debido a su

menor costo y mayor rentabilidad diagnóstica (6),

La WGS evalúa la totalidad del material genético, (el ADN codificante como el no codificante), tanto nuclear como mitocondrial, la WES evalúa el total del genoma codificante (1.5% del genoma total), el estudio mediante exoma clínico (EC) cubre un total aproximado de 5000 genes (casi un 50% del total de genes reconocidos), mientras que los paneles para enfermedades específicas solo ofrecen cobertura al número de genes predeterminados previamente.

A nivel regional los estudios que se han realizado para intentar caracterizar las personas con TEA se han centrado básicamente en evaluaciones cognitivas, motoras y conductuales, sin embargo, Valencia, Páez (3) genotipificaron 42 núcleos familiares con autismo, en Antioquia, para tres genes específicos, SLC6A4, ITGB3 y HTR2A. Para este estudio, los investigadores decidieron utilizar el polimorfismo de nucleótido simple (SNP) y evaluar su relación con el autismo.

En otra región del país, Gomez, Rodríguez (10), analizaron el exoma de 190 pacientes del sur occidente de Colombia

identificando mutaciones nuevas y variantes poblacionales raras que podrían estar asociadas a TEA. Los genes con mayor cantidad de variantes fueron RELN con 1.628 sustituciones (945/1.628; C→T); CNTNAP2 con 1.529 (841/1.529; C→T), y SHANK3 con 843 (578/843; C→T).

Desde una perspectiva internacional los primeros trabajos que propusieron una posible base genética surgen en 1977, cuando se evaluó la prevalencia en gemelos mono y dicigóticos (17)

Folstein y Rutter (18) demostraron una susceptibilidad genética al trastorno, proporcionando evidencia en cuanto a sus orígenes. Mientras que Tick, Colvert (19), en un meta-análisis de 2016, sobre 13 estudios acerca de ese tema, demuestran que en los gemelos monocigóticos la concordancia es de casi del 98% vs. 44-60% en los dicigóticos.

Por su parte, Cabanlit, Wills (20) en su estudio examinaron a 172 niños (63 niños con autismo, 63 controles neurotípicos, 25 controles de hermanos y 21 niños con trastornos del desarrollo pero no autismo), encontrando un marcado incremento en la activación de células neurogliales y de la expresión proinflamatoria de

citoquinas en el cerebro de sujetos con autismo. Coincidiendo con Vargas, Nascimbene (21), quienes afirman que las citoquinas además de su papel en la respuesta inmune pro inflamatoria, también son capaces de afectar el desarrollo y mantenimiento del sistema nervioso central.

En particular, el estudio del exoma desarrollado por Iossifov, Ronemus (22), mostró una superposición significativa entre genes que albergan los cambios *de novo* en la variación de nucleótido simple (SNV) y la una proteína llamada "Retardo Mental X Frágil 1", que por sus siglas en inglés se conoce como FMRP. El FMRP es una proteína de unión al ARN, esencial para una amplia gama de funciones cognitivas que incluyen la plasticidad sináptica y el aprendizaje (23, 24), y se ha demostrado que están relacionado con diversas clases de TEA (25)

Por otro lado, Laumonnier, Bonnet-Brilhault (26), hallaron un enlace entre una región en el cromosoma X y TEA en una familia (analizando varias generaciones) que incluía a personas con déficit cognitivo y TEA; en este caso se identificó una mutación funcional en el gen de neuroligina 4 (NLGN4X).

Battaglia, Doccini (2) evaluaron 349 pacientes italianos, con edades entre los 5 meses y los 19 años. En este estudio se aplicó un protocolo riguroso e interdisciplinar que incluyó desde la historia clínica prenatal y de nacimiento, imágenes diagnósticas, evaluación metabólica, evaluación cognitiva completa, hasta exámenes físico y neurológico completo. Los resultados obtenidos apoyan firmemente el uso de CMA en lugar del cariotipo estándar como la citogenética de primer nivel durante el diagnóstico en la evaluación clínica de niños con TEA.

En el año 2013, la investigación de Jiang y Yueng (27) empleó WGS y CMA para examinar 32 familias con TEA y detectar variantes genéticas hereditarias *de novo*; identificando mutaciones *de novo* deletéreas en el 19% de las familias y alteraciones ligadas a X o autosómicas heredadas en 31 % (algunas tenían combinaciones de mutaciones). La concordancia de SNV entre WGS y las CMA fue alta y varió de 99.1% a 99.9% por muestra (28).

Aunque esté descrito que la prevalencia para desarrollar autismo es mayor en hombres que en mujeres, Butler, Rafi (29) decidieron analizar el exoma

completo en un grupo de 30 personas de Estados Unidos, todas del género femenino entre 5 y 16 años; encontrando que la WGS es eficaz al momento de encontrar cambios o mutaciones en los genes, pero también concluyeron que debe tenerse en cuenta el análisis realizado a otros miembros de la familia afectados y no afectados para determinar si las variantes genéticas fueron *de novo* o heredadas.

Ch'ng, Kwok (30) investigaron, en un meta-análisis, si el desequilibrio de género era un factor que afectaba los diseños de los estudios. De hecho, algunos estudios mostraron evidencia de desequilibrio de género, de manera que los sujetos tienden a ser hombres con TEA; encontraron que no hubo diferencias notables en la edad, la raza y el intervalo post mortem (este sólo para estudios cerebrales) entre los casos y los controles de cada estudio analizado.

En el estudio publicado por El-Baz, Zaghloul (31), en el cual participaron 30 niños con TEA (23 hombres, 7 mujeres), se analizaron los cambios cromosómicos que los participantes tenían mediante el análisis por CMA. En el estudio, no se detectaron anomalías cromosómicas. Sin embargo,

estudiaron también la historia clínica familiar y sugirieron que puede haber una relación diferencial según la complicación obstétrica, como también lo afirma Bolton, MacDonald (32); además de una relación que fue propuesta por Dalton, Deacon (33) en la que genera la hipótesis de que, los anticuerpos maternos, inmunoglobulina G (IgG), que se encuentran en la sangre de las madres atraviesan la placenta y entran en el cerebro del feto, reaccionando contra las proteínas del cerebro y causando el autismo, sin embargo en el estudio primeramente mencionado sólo se presentaron el 6.7% de casos en los que la madre recibía la inyección anti-D.

Debido a que el autismo es un tema de interés mundial y que su desarrollo es multifactorial, se abordan mejor mediante esfuerzos de investigación en colaboración que reúnen grandes muestras para generar resultados significativos, debido a esto, se creó el Autism Genetic Research Exchange (AGRE), un repositorio de ADN y registro sin fines de lucro que alberga una base de datos de información genotípica y fenotípica que está disponible para los investigadores de autismo en todo el mundo. Esta base de datos, alberga una colección de

aproximadamente 1700 datos de familias. (34).

Correspondiente a la respuesta inflamatoria, se ha sugerido que la elevación de IL-1 β e IL-4 puede reflejar un desafío inmunitario prenatal, y una asociación con el riesgo de desarrollar TEA (35). Además de la expresión elevada de IL-1 β , según lo identificado por Suzuki, Matsuzaki (36), IL-6, IL-12, TNF- α e IL-23 también están elevados en ASD en comparación con los controles sanos, lo que sugiere una respuesta inmune desregulada (37). El TNF- α es un regulador central de la inflamación y está elevado en el líquido cefalorraquídeo de los niños con TEA (38).

CONCLUSIONES

La consulta genética clínica, la identificación de dismorfias y/o malformaciones, junto con la evaluación neurológica, permitirán una orientación diagnóstica y definir eventuales estudios genéticos específicos.

La evaluación clínica, los estudios metabólicos y la práctica de estudios complementarios, como las técnicas de NGS genómica, entre otras, permiten acercarnos a un diagnóstico específico en al

menos 3-4 de cada 10 pacientes (6), aunque el uso cada vez más extensivo de estas nuevas prácticas seguramente permitirá un aumento progresivo de este número.

La secuenciación completa del exoma permite identificar nuevos cambios y mutaciones raras que causarían TEA en una exploración genómica (39).

Aunque hay diversos genes asociados a los TEA y se conocen distintos factores que podrían incrementar el riesgo a estos trastornos neuropsiquiátricos, cada paciente podría tener variantes de susceptibilidad específicas (40), de manera que la contribución genética al fenotipo podría variar de alguna manera entre uno y otro paciente.

En concordancia con Masi, Glozier (41), la identificación de marcadores objetivos de un estado patológico relacionado con un subgrupo en los TEA puede ayudar a reducir la heterogeneidad de los participantes en los ensayos clínicos, y esto puede llevar a la identificación de tratamientos más específicos para los síntomas relacionados con el autismo.

BIBLIOGRAFIA

1. Johnson CP, Myers SM. Identification and evaluation of children with autism spectrum disorders. *Pediatrics*. 2007;120(5):1183-215.
2. Battaglia A, Doccini V, Bernardini L, Novelli A, Loddo S, Capalbo A, et al. Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features. *European journal of paediatric neurology*. 2013;17(6):589-99.
3. Valencia AV, Páez AL, Sampedro ME, Ávila C, Cardona JC, Mesa C, et al. Evidencia de asociación entre el gen SLC6A4 y efectos epistáticos con variantes en HTR2A en la etiología del autismo en la población antioqueña. *Biomédica*. 2012;32(4).
4. Baio J. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years-autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. 2014.
5. Arberas C, Ruggieri V. Autismo. Aspectos genéticos y biológicos. *Medicina (Buenos Aires)*. 2019;79.
6. Kalsner L, Twachtman-Bassett J, Tokarski K, Stanley C, Dumont-Mathieu T, Cotney J, et al. Genetic testing including targeted gene panel in a diverse clinical population of children with autism spectrum disorder: Findings and implications. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2018;6(2):171-85.
7. Hu VW, Sarachana T, Kim KS, Nguyen A, Kulkarni S, Steinberg ME, et al. Gene expression profiling differentiates autism case-controls and phenotypic variants of autism spectrum disorders: Evidence for circadian rhythm dysfunction in severe autism. *Autism research*. 2009;2(2):78-97.
8. Ruggieri VL, Arberas CL. Regresión autista: aspectos clínicos y etiológicos. *Rev Neurol*. 2018;66(S01):S17-23.
9. Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, et al. Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome research*. 2006;16(8):949-61.
10. Gomez CA, Rodríguez A, Sánchez A, Montoya JC, Satizabal JM, Vallejo FG. Variación exómica de polimorfismos de nucleótido único en genes asociados a trastornos del espectro autista (tea) en el sur occidente de Colombia. *Revista de la asociación colombiana de ciencias biológicas*. 2017;1(29):98-102.
11. Ruggeri B, Sarkans U, Schumann G, Persico AM. Biomarkers in autism spectrum disorder: the old and the new. *Psychopharmacology*. 2014;231(6):1201-16.
12. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous child*. 1943;2(3):217-50.
13. Trakadis Y, Shevell M. Microarray as a first genetic test in global developmental delay: a cost-effectiveness analysis. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 2011;53(11):994-9.
14. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *The American Journal of Human Genetics*. 2010;86(5):749-64.
15. Ostrer H. Changing the game with whole exome sequencing. *Clinical genetics*. 2011;80(2):101-3.
16. Fernández-Jaén A, Cigudosa JC, Martín Fernández-Mayoralas D, Suela J, Fernández-Perrone AL, Calleja-Pérez B, et al. Genética aplicada a la práctica clínica en trastornos del neurodesarrollo. *Revista de Neurología*. 2014.

17. Folstein S, Rutter M. Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs. *Journal of Child psychology and Psychiatry*. 1977;18(4):297-321.
18. Folstein S, Rutter M. Genetic influences and infantile autism. *Nature*. 1977;265(5596):726.
19. Tick B, Colvert E, McEwen F, Stewart C, Woodhouse E, Gillan N, et al. Autism Spectrum Disorders and other mental health problems: Exploring etiological overlaps and phenotypic causal associations. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 2016;55(2):106-13. e4.
20. Cabanlit M, Wills S, Goines P, Ashwood P, Van De Water J. Brain-specific autoantibodies in the plasma of subjects with autistic spectrum disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1107(1):92-103.
21. Vargas DL, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman AW, Pardo CA. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 2005;57(1):67-81.
22. Iossifov I, Ronemus M, Levy D, Wang Z, Hakker I, Rosenbaum J, et al. De novo gene disruptions in children on the autistic spectrum. *Neuron*. 2012;74(2):285-99.
23. Huber KM, Gallagher SM, Warren ST, Bear MF. Altered synaptic plasticity in a mouse model of fragile X mental retardation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(11):7746-50.
24. Hogan-Brown AL, Losh M, Martin GE, Mueffelmann DJ. An investigation of narrative ability in boys with autism and fragile X syndrome. *American journal on intellectual and developmental disabilities*. 2013;118(2):77-94.
25. Gupta S, Ellis SE, Ashar FN, Moes A, Bader JS, Zhan J, et al. Transcriptome analysis reveals dysregulation of innate immune response genes and neuronal activity-dependent genes in autism. *Nature communications*. 2014;5:5748.
26. Laumonnier F, Bonnet-Brilhault F, Gomot M, Blanc R, David A, Moizard M-P, et al. X-linked mental retardation and autism are associated with a mutation in the NLGN4 gene, a member of the neuroligin family. *The American Journal of Human Genetics*. 2004;74(3):552-7.
27. Jiang Y-h, Yuen RK, Jin X, Wang M, Chen N, Wu X, et al. Detection of clinically relevant genetic variants in autism spectrum disorder by whole-genome sequencing. *The American Journal of Human Genetics*. 2013;93(2):249-63.
28. Kirkness EF, Grindberg RV, Yee-Greenbaum J, Marshall CR, Scherer SW, Lasken RS, et al. Sequencing of isolated sperm cells for direct haplotyping of a human genome. *Genome research*. 2013;23(5):826-32.
29. Butler M, Rafi S, Hossain W, Stephan D, Manzardo A. Whole exome sequencing in females with autism implicates novel and candidate genes. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(1):1312-35.
30. Ch'ng C, Kwok W, Rogic S, Pavlidis P. Meta-analysis of gene expression in autism spectrum disorder. *Autism Research*. 2015;8(5):593-608.
31. El-Baz F, Zaghloul MS, El Sobky E, Elhossiny RM, Salah H, Abdelaziz NE. Chromosomal abnormalities and autism. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2016;17(1):57-62.
32. Bolton P, MacDonald H, Pickles A, Rios P, Goode S, Crowson M, et al. A case-control family history study of autism. *Journal of child Psychology and Psychiatry*. 1994;35(5):877-900.

33. Dalton P, Deacon R, Blamire A, Pike M, McKinlay I, Stein J, et al. Maternal neuronal antibodies associated with autism and a language disorder. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 2003;53(4):533-7.
34. Lajonchere CM, Consortium A. Changing the landscape of autism research: the autism genetic resource exchange. *Neuron*. 2010;68(2):187-91.
35. Krakowiak P, Goines PE, Tancredi DJ, Ashwood P, Hansen RL, Hertz-Picciotto I, et al. Neonatal cytokine profiles associated with autism spectrum disorder. *Biological psychiatry*. 2017;81(5):442-51.
36. Suzuki K, Matsuzaki H, Iwata K, Kamen Y, Shimmura C, Kawai S, et al. Plasma cytokine profiles in subjects with high-functioning autism spectrum disorders. *PloS one*. 2011;6(5):e20470.
37. Ricci S, Businaro R, Ippoliti F, Vasco VL, Massoni F, Onofri E, et al. Altered cytokine and BDNF levels in autism spectrum disorder. *Neurotoxicity research*. 2013;24(4):491-501.
38. Chez MG, Dowling T, Patel PB, Khanna P, Kominsky M. Elevation of tumor necrosis factor-alpha in cerebrospinal fluid of autistic children. *Pediatric neurology*. 2007;36(6):361-5.
39. Fatemi S. The role of Reelin in pathology of autism. *Nature Publishing Group*; 2002.
40. Díaz-Anzaldúa A, Díaz-Martínez A. Contribución genética, ambiental y epigenética en la susceptibilidad a los trastornos del espectro autista. *Rev Neurol*. 2013;57(556):68.
41. Masi A, Glozier N, Dale R, Guastella AJ. The immune system, cytokines, and biomarkers in autism spectrum disorder. *Neuroscience bulletin*. 2017;33(2):194-204.

