

ESTUDIOS ASOCIATIVOS SOBRE EL AUTISMO

J.P. MÜH, J. HERAULT, E. PETIT, C. BARTHELEMY

INSERM U 316 - CHRU Bretonneau 37044 TOURS Cedex (France)

El autismo infantil se caracteriza por una incapacidad para comunicarse tanto de forma verbal como no verbal, así como por una deficiencia en las relaciones emocionales.

Estudios de familia y datos epidemiológicos sugieren que los factores genéticos están implicados en el autismo infantil. Estos factores etiológicos podrían ser especialmente considerados en relación con la sintomatología del comportamiento descrito originalmente por Kanner. Por otra parte, los síndromes autistas asociados con trastornos neurológicos y ciertas enfermedades genéticas refuerzan esta hipótesis. De esta forma podemos separar la fisiopatología de los síndromes autistas en causas genéticas y no genéticas.

El modelo estudiado puede ser causado por el mal funcionamiento de distintas estructuras cerebrales, principalmente aquellas que controlan el comportamiento y aquellas relacionadas con la regulación de la percepción y la asociación. Tanto las causas genéticas como medioambientales pueden dañar las mismas zonas funcionales del cerebro.

Las formas genéticas del autismo pueden ser causadas por mutaciones en los genes que controlan el desarrollo cerebral.

Estudios epidemiológicos en parientes y hermanos desde 1991 han informado de que el riesgo global de reaparición está entre un 3,3% y un 14,5% (lo que significa una media del 8%). El estudio de una familia de Jorde y cols. (1991) determinó que el conjunto familiar y la probabilidad de una base genética era 22 veces mayor en los autistas que en un grupo control.

La participación de los factores genéticos en la etiología del autismo se basa en dos hechos:

- la detección de los factores genéticos en el síndrome idiopático de Kanner,
- la asociación de ciertos trastornos genéticos con el autismo.

Existen dos enfoques para identificar las influencias genéticas en el autismo. El primero, clínico, comienza con el estudio del comportamiento del niño utilizando los criterios del DSM IV (APA 1994), y continua con el estudio de las funciones cerebrales utilizando métodos electrofisiológicos y técnicas de imagen para, posiblemente, descubrir eventuales genes a investigar. El otro, un enfoque más teórico, utiliza el análisis de unión de marcadores para describir genes desconocidos. El origen genético del autismo fue sugerido por primera vez por Kanner en 1994. La proporción del autismo en la población está entre 4 y 5 personas de cada 10.000 nacimientos. Hay una proporción/razón de 21 por cada 10.000 si consideramos anomalías relacionadas con el autismo como tal. La proporción entre chicos y chicas es de 3 a 1. Entre hermanos la frecuencia del autismo es 50 veces superior a la de la población en general. Lo que es más, el 15% de hermanos, hermanas y otros parientes de pacientes autistas presentan problemas de lenguaje (August, 1981).

Los informes sobre estudios de gemelos son significativos. Antes de 1977 se publicaron casos de gemelos monocigóticos (NZ) y dicigóticos (DZ). La incidencia de estos casos era de un 83% en los gemelos NZ y un 43% en los gemelos DZ. Los informes de Folstein y Rutter en 1997 y de Ritvo en 1985 han demostrado una incidencia de entre un 82% y un 95,6% en los NZ y entre un 10% y un 23,5% entre los DZ. Los datos de Bolton (1990) han confirmado esta proporción entre los NZ y los DZ.

Si tenemos en cuenta los casos de anomalías relacionadas, podemos citar la facomatosis (esclerosis tuberosa y neurofibromatosis) y síndromes cromosómicos, principalmente el síndrome del cromosoma X frágil (August, 1984).

Existen opiniones diferentes sobre la relación entre el síndrome del cromosoma X frágil y el autismo. Algunos autores opinan que en los chicos autistas, no existe el síndrome del cromosoma X frágil. Otros sostienen que tanto en chicos como en chicas existe una relación entre el síndrome del cromosoma X frágil y el autismo.

Si tenemos en cuenta la proporción de cromosoma X frágil en los hombres autistas, descubrimos que la incidencia media es de aproximadamente un 8% en vez del 0,02% existente en la población masculina en general. El último análisis de Fischen sobre 21 estudios recientes (1992) reveló una proporción del 6,4% de del cromosoma X frágil en 1.006 hombres autistas. Los métodos más recientes de diagnóstico molecular nos permiten obtener una información epidemiológica más exacta (Rousseau, 1991).

Se esperaba que investigaciones sobre el cromosoma X de DNA con sonda descubrieran otras lesiones diferentes aparte del cromosoma X frágil, pero los datos obtenidos con las sondas en la zona Xq

26-28 y en el brazo corto resultaron poco concluyentes (Crowe, 1988). Utilizamos diferentes marcadores bialélicos del cromosoma X y descubrimos una importante correlación con el lugar DXS 287 en Xq 22-23 (Kornreich, 1992).

Por otra parte, una reciente y exhaustiva investigación ha proporcionado una clasificación de los genes del retraso mental ligados al cromosoma X (MRX) (Neri, 1994). Desde 1988 hasta 1996 se describieron aproximadamente 40 genes. La principal ubicación de los genes MRX es la región pericentromérica del brazo corto del cromosoma X (X p 11.21 a X p 22.12). Recientemente, se han descubierto en nuestro laboratorio, nuevas localizaciones en familias, identificadas ahora como MRX 14 y 15 y 16 (Gendrot, 1994 ; Raynaud, 1996). Estudiamos un grupo de 145 niños autistas entre dos y doce años, diagnosticados como tales según la versión revisada del DSM III. Utilizando unos métodos más precisos para valorar la asociación del proceso de desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC) con los trastornos del comportamiento, medimos dopaminas en orina y sangre, metoaxiaminas, serotonina y ácido hidroxivanflico, ya que dichas anomalías neuroquímicas podrían estar relacionadas con el síndrome del comportamiento (Barthélémy, 1988).

Se observaron anomalías en los niveles de dopamina, ácido hidroxivanflico y serotonina en orina en aproximadamente la mitad de los autistas. La principal diferencia entre los grupos control y los niños autistas es que dichos niveles son más altos en los niños autistas. Durante el crecimiento, desde el segundo hasta el octavo año, la producción de estos componentes sigue siendo mayor en los niños autistas que en los grupos control (Garreau, 1988; Héroult, 1933a). Estas observaciones nos llevaron a realizar estudios de asociación con marcadores implicados en el metabolismo de los neurotransmisores: Hidroxilasa Beta Dopamina (HBD, ubicación del cromosoma 9q34), el gen de la Hidroxilasa Tirosina (HT, 11p15.5), y el gen de la Hidroxilasa Triptofánica (Htp, 11p15). Los resultados obtenidos no fueron significativos. De forma similar, la utilización de marcadores de genes receptores resultó poco concluyente.

Sin embargo, el estudio asociativo con marcadores del gen HRAS 1 en la región 11p15.5 (cerca de la ubicación del gen TH) fue relevante para la distribución alélica del 2 y B3 del gen HRAS (Héroult, 1993B).

Para explicar la patología del comportamiento, varios autores han sugerido alteraciones en las conexiones del tronco cerebral, cerebelo y el sistema límbico. Se sabe que el cerebelo controla la motilidad y la regulación de la percepción. (Akshoomoff, 1992).

Estudios histológicos y de neuroimagen del cerebelo han demostrado anomalías del cerebro en los niños autistas tales como hipopla-

sia del vermis cerebeloso (Bauman, 1991), lo que apoya la posibilidad de mutaciones y/o funciones anómalas de los genes implicados en el desarrollo del SNC (Zhou, 1995)

Estudios de neuroimagen con resonancia magnética y tomografía computerizada han mostrado una reducción del tamaño del parénquima cerebral, en especial en el vermis cerebeloso (Courchesne, 1988, Zilbovicius, 1992), lo que probablemente concuerda con los estudios de autopsia que han demostrado un tamaño anormal y/o una pérdida de la densidad celular en estas áreas.

Entre los genes implicados en el desarrollo cerebral, un primer grupo regula las funciones metabólicas y la diferenciación, el segundo está formado por genes tales como los homeóticos, los cuales son específicamente responsables de la neurogénesis y el crecimiento del cerebro. Sabemos que los genes homeóticos dirigen la segmentación del SNC y la diferenciación de las células neuronales, que actúan como proteínas ligadas al ADN controlando y haciendo funcionar la regulación de la expresión.

Los homólogos humanos del gen 'engrailed' de la *Drosophila* y de genes homeóticos de ratones *En1* y *En2* han sido descritos y localizados por Joyner (1991). En los humanos, la principal ubicación de los genes 'engrailed' tipo *EN1* y *EN2* es la parte de las protuberancias cerebral y cerebelosa. El gen humano *EN1* fue 'encontrado' en el cromosoma 2.2p13-p21. En nuestro estudio la sonda utilizada fue una MP6 (incluidos genes homeóticos).

El gen humano *EN2* se localizó en el cromosoma 7.7q32-qter. Las sondas utilizadas fueron MP4 (desde el gen homeótico hacia el principio de la cadena) y MP5 (gen homeótico incluido).

Con la sonda MP4 que mostró un polimorfismo con PvuII, se encontraron importantes diferencias en las frecuencias alélicas entre los 2 grupos. Con la sonda MP5, que mostraba un polimorfismo con SstI, no aparecieron diferencias (Petit y cols., 1995). Estos resultados no son definitivos y continuaremos este estudio para demostrar con más precisión el significado de estos cambios alélicos en los autistas.

CONCLUSION

Debemos destacar tres puntos:

Primero

Se observa frecuentemente que existe una relación entre el retraso mental (RM) y el autismo (aproximadamente el 80%). Varios equipos han informado sobre el retraso mental ligado al cromosoma X.

Las estadísticas han demostrado que existe un predominio del RM en los hombres: Lo mismo podría suceder con el autismo. Este hecho podría resolver la controversia sobre la relación entre los síndromes autistas y del cromosoma X frágil.

El predominio masculino del retraso mental en los niños autistas podría explicarse por la aparición de condiciones letales en el feto de la mujer o por la transmisión rasgos no definidos ligados al cromosoma X a través de generaciones.

¿Es el autismo causa del síndrome del cromosoma X frágil, un trastorno del cromosoma X frágil no ligado al cromosoma X o una enfermedad autosómica?

Se puede encontrar la respuesta utilizando genética molecular y estudios de familia.

Segundo

Nuestro estudio de marcadores positivos del RAS sugiere que:

O bien el HRAS está por si mismo implicado en la regulación del crecimiento y/o la diferenciación de las células neuronales durante el desarrollo de los niños autistas. Esta hipótesis se apoya en la relación entre el Ras y el Factor del crecimiento neuronal. (Li y cols., 1992);

O bien el HRAS es un marcador ligado a otra codificación de genes, por ejemplo proteínas implicadas en el metabolismo de las monoaminas. La reciente localización del gen Receptor Dopamina D4 (RDD4), ligado estrechamente al HRAS con un puntaje Lod máximo de 19,9 (Gelernter y cols. 1992), refuerza esta hipótesis. Van Tol y cols. (1992) sugieren que las variaciones polimórficas del gen RDD4 en los humanos es la base de la susceptibilidad individual y podrían estar implicadas en la aparición de los trastornos cognitivos durante el desarrollo cerebral. Este aspecto debería ser investigado más detalladamente en la población autista.

Tercero

Recientemente se han obtenido datos en un estudio asociativo con marcadores de genes homeóticos 'engrailed' que han demostrado que el alelo 2 de las sondas MP4 está asociado de forma importante con la población autista.

El resultado del estudio de esta asociación puede estar correlacionado con las datos de neuroimagen cerebral.

La combinación de estos resultados refuerza la hipótesis de que el autismo infantil puede ser, al menos en parte, una enfermedad multigenética.

En el futuro, los estudios de enlaces genéticos permitirán establecer una definición más amplia del fenotipo autista, que incluirá deficiencias cognitivas y sociales en el autismo.

BIBLIOGRAFIA

- AKSHOOMOFF N.A., COURCHESNE E. (1992). A new role for the cerebellum in cognitive operations. *Behav. Neurosc.*, 106: 731-738.
- APA (1994). American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4^º Edición, Washington DC.
- AUGUST G.J., STEWART M.A., TSAI L. (1981). The incidence of cognitive disabilities in the siblings of autistic children. *Br. J. Psy.* 138: 416-422.
- AUGUST G.J., LOCKHEART L.H. (1984). Familial autism and the fragile X chromosome. *J. Aut. and Dev. Dis.*, 14: 197-204.
- BARTHELEMY C., BRUNEAU N., COTTET-EYMARD J.M., DOMENECH-JOUVE J., GARREAU B., LELORD G., MUH J.P., PEYRIN L. (1988). Urinary free and conjugated catecholamines and metabolites in autistic children. *J. Aut. and Dev. Dis.*, 18: 538-591.
- BAUMAN, M.L. (1991). Microscopic neuroanatomic abnormalities in autism. *Pediatrics*, 87: 791-796.
- BOLTON P., RUTTER M. (1990). Genetic influences in autism. *Int. Rev. Psy.*, 2: 67-80.
- COURCHESNE E., YEUNG-COURCHESNE R., PRESS, G.A., HESSELINK D.R., JERNIGNAN T.C. (1988). Hypoplasia of cerebellar vermal lobules VI and VII in autism. *New Eng. J. Med.*, 318: 1349-1354.
- CROWE R.R., TSAI L.Y., MURRAY J.C., PATIL S.R., QUINN J. (1988). A study of autism using chromosome DNA probes. *Biol. Psy.*, 24: 473-479.
- FISCH G.S. (1992). Is autism associated with the fragile X syndrome? *Am. J. Med. Gen.*, 43: 47-55.
- FOLSTEIN S., RUTTER M. (1977). Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs. *J. Child Psychol. Psy.*, 18: 197-321.
- GARREAU B., JOUVE J., BRUNEAU N., MUH J.P., LELORD G. (1988). Urinary homovanilic acid levels of autistic children. *Dev. Med. Child Neuro.*, 30: 93-98.
- GELERTNER J., KENNEDY J.L., VAN TOL H.H.M., CIVELLI O., KIDD K.K. (1992). The D4 dopamine receptor (DRD4) maps to distal 11p close to HRAS. *Genomics* 13: 208-210.
- GENDROT C., RONCE N., TOUTAIN A., MOIZARD M.P., MUH J.P., RAYNAUD J.P., DOURLENS J., BRIAULT S., MORAINÉ

- C. (1992). X-linked mental retardation exhibiting linkage to DXS255 and PGKP1: a new MRX family (MRX14) with localization in the pericentromeric region. *Clin. Genet.*, 43: 145-153.
- HERAULT J., MARTINEAU J., PERROT A., JOUVE J., TOURNADE H., BARTHELEMY C., LELORD G., MUH J.P. (1993a). Investigation of whole blood and urine monoamines in autism. *Eur. Child Adol. Psy.*, 2: 211-220.
- HERAULT J., PERROT A., BARTHELEMY C., BUCHLER M., CHERPI C., LEBOYER M., SAUVAGE D., LELORD G., MALLETT J., MUH J.P. (1993). Possible association of c-harvey-ras-1 (HRAS-1) marker with autism. *Psy. Res.*, 46: 261-267.
- JORDE L.B., HASSTEDT S.J., RITVO E.R., MASON-BROTHERS A., FREEMAN B.J., PINGREE C., McMAHON W.M., PETERSEN B., JENSON W.R. MO A. (1991). Complex segregation analysis of autism. *Am. J. Hum. Genet.*, 49: 932-938.
- JOYNER A.L., HERRUP B.A., AUERBACH A., DAVIS C.A., ROSSANT J. (1991). Subtle cerebellar phenotype in mice homozygous for a targeted deletion of the En-2 homeobox. *Science*, 251: 1239-1243.
- LI B.Q., KAPLAN D., KUNG H.F., KAMATA T. (1992). Nerve growth factor stimulation of the Ras guanine nucleotide exchange factor and GAP activities. *Life Sc.*, 256: 1456-1459.
- NERI G., CHIURAZZI P., ARENA J.F., LUBS H.A. (1994). XLMR genes: update 1994. *Am. J. Med. Genet.*, 51: 542-549.
- PETIT E., HERAULT J., MARTINOT J., PERROT A., BARTHELEMY C., AHMEURY L., SAUVAGE D., LELORD G., MUH J.P. (1995). Associations study with two markers of a human homeogene in infantile autism. *J. Med. Genet.*, 32: 269-274.
- PIVEN J., SIMON J., CHASE G.A., WZOREK M., LANDA R., GAYLE J., FOLSTEIN S. (1993). The etiology of autism: pre-, peri- and neonatal factors. *J. Am. Acad. Child Adol. Psy.*, 32: 1256-1263.
- RAYNAUD M., GENDROT C., DESSAY B., MONCLA A., AYRAULT A.D., MOIZARD M.P., TOUTAIN A., BRIAULT S., VILLARD L., SONCE N., MORAIN C. (1996). X-linked mental retardation with neonatal hypotonia in a French family (MRX15): gene assignment to Xp 11.22Xp21.1. *Am. J. Med Genet.*, 64: 97-106.
- RITVO E.R., FREEMAN B.J. MASON-BROTHERS A., MO A., RITVO A.M. (1985). Concordance of the syndrome of autism in 40 pairs of afflicted twins. *Am. J. Psy.*, 142: 74-77.
- ROUSSEAU F., HEITZ D., BIANCALANA V., BLUMENFELD S., KRETZ C., BOUE J., TOMMERUP N., VAN DER HAGEN L., DELOZIER-BLANCHET C., CROQUETTE M.F., GIL-

- GENKRANTZ S., JALBERT P., VOELCKER M.A., OBERLE I., MANDEL J.L. (1991). Direct diagnosis by DNA analysis of the fragile X syndrome of mental retardation. *New Eng. J. Med.*, 325: 1673-1681.
- VAN TOL H.M., WU C.M., GUAN H.C., OHARA K., BUNZOW J.R., CIVELLI O., KENNEDY J., SEEMAN P., NIZNIK H.B., JOVANOVIC V. (1992). Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature*, 374: 640-646.
- ZILBOVICIUS M., GARREAU B., TZOURIO N., MAZOYER B., BRUCK B., MARTINOT J.L., RAYNAUD C., SAMSON Y., SYROTA A., LELORD G. (1992). Regional cerebral blood flow in childhood autism : a SPECT study. *Am. J. Psy.*, 149: 924-930.