

Autismo, cromosoma 15 y la hipótesis de disfunción GABAérgica. Revisión.

Ernesto Solís-Añez¹, Wilmer Delgado-Luengo¹ y María Luisa Hernández².

¹Unidad de Genética Médica y ²Cátedra de Histología y Embriología, Escuela de Medicina. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Correo electrónico: wilmerdelgado16@gmail.com.

Palabras clave: Autismo, 15q11-q13, GABA.

Resumen. El autismo es un trastorno generalizado del desarrollo caracterizado por deterioro en las áreas de interacción social, comunicación, y comportamiento estereotipado y repetitivo. Estudios de familias y gemelos han demostrado una predisposición genética al autismo. A pesar de los avances recientes en la identificación de genes candidatos de susceptibilidad, la base neurológica subyacente es aún desconocida. Existe evidencia genética, bioquímica y anatomopatológica que apoyan la hipótesis de que en el autismo debe existir una disfunción en la vía GABAérgica, parcialmente responsable de la etiología de este trastorno. En este sentido, una de las regiones del genoma más estudiadas es el intervalo 15q11-q13, donde se encuentran los genes que codifican para las subunidades $\beta 3$, $\alpha 5$ y $\gamma 3$ del receptor GABA_A. Esta revisión se propone mostrar la evidencia existente en la actualidad que involucra a esta región con la susceptibilidad al autismo y su posible relación con la hipótesis de disfunción GABAérgica.

Autism, chromosome 15 and the GABAergic dysfunction hypothesis.

Invest Clín 2007; 48(4): 529 - 541

Key words: Autism, 15q11-q13, GABA.

Abstract. Autism is a complex neurodevelopmental disorder characterized by impairment of social interaction, language, communication, and stereotyped, repetitive behavior. Genetic predisposition to autism has been demonstrated from families and twin studies. Despite recent advances in identifying some susceptibility candidate genes, its underlying neurological mechanism is uncertain. There are genetic, biochemical and neuropathological find-

ings that support the hypothesis that autism could be caused by GABAergic dysfunction and it is partially responsible for the etiology of this disorder. One of the most studied genome regions is the 15q11-q13, where the genes that encode for $\beta 3$, $\alpha 5$ and $\gamma 3$ subunits of the GABA_A receptor are located. This review demonstrates evidence that involves this region in autism susceptibility and its likely relation with the hypothesis of GABAergic dysfunction.

Recibido: 04-10-2006. Aceptado: 08-03-2007.

INTRODUCCIÓN

El autismo es un trastorno profundo o generalizado del desarrollo que afecta aproximadamente a uno de cada dos mil niños, con una relación por sexo masculino/ femenino de 4:1, siendo definido completamente con base en el deterioro de tres áreas: 1) deterioro en la interacción social, 2) deterioro en la comunicación y 3) comportamiento estereotipado y repetitivo. Por definición, el inicio del trastorno ocurre antes de los 3 años de edad, y en la mayoría de los casos de forma gradual (1). Los estudios epidemiológicos indican un incremento en el número de casos de autismo en los últimos 15 años, reportándose tasas de prevalencia que ascienden a 16,8 por cada 10.000 niños (2). El diagnóstico se establece clínicamente basado en los criterios estándares compilados por el Manual de Enfermedades Psiquiátricas de la Asociación Americana de Psiquiatría (DSM-IV-R) (3). Para fines de investigación, se utilizan fundamentalmente dos escalas adaptadas a estos criterios como lo son: la Entrevista Diagnóstica de Autismo Revisada (ADI-R) (4) y/o el Sistema Diagnóstico de Observación del Autismo (ADOS) (5).

Las causas de autismo pueden ser divididas en idiopáticas o desconocidas, que representan la mayoría de los casos (90-95%); y secundarias, dentro de las cuales están algunos agentes ambientales, anomalías cromosómicas y enfermedades monogénicas (6).

Estudios familiares y en gemelos han hecho evidente la predisposición genética

al autismo, siendo éste más frecuente en familias con probandos autistas, llegando la tasa de recurrencia entre hermanos a un 5%, lo que es varias veces superior a la prevalencia general en la población (1). Se ha descrito una concordancia para gemelos monocigóticos (MZ) del 60% comparada con ninguna (0%) para gemelos dicigóticos (DZ) cuando se tomaban en cuenta criterios estrictos para el autismo (7). La heredabilidad estimada del trastorno autista, calculada a partir de los datos de riesgos de recurrencia y de los datos de concordancia en gemelos monocigóticos (MZ) y dicigóticos (DZ), se ubica en más del 90% (8). Los estudios de ligamiento genético (descripción de dos loci: el loci marcador y el loci desconocido de la enfermedad, localizados lo bastante próximos en el mismo cromosoma para que su frecuencia de recombinación sea inferior a 50% y se segreguen juntos; y cuya probabilidad viene dada por el LOD score, que no es más que la puntuación del logaritmo de las probabilidades. Un LOD score de 3,0 se acepta como prueba de ligamiento, sin embargo en enfermedades complejas un LOD mayor a 0,5 es considerado como sugestivo, dado que equivale a una $P < 0,05$), las anomalías citogenéticas en individuos autistas y los estudios de genes candidatos apoyan la observación de que el autismo es un trastorno de múltiples genes, con varios genes en diferentes cromosomas interactuando con efecto moderado. A pesar de los grandes esfuerzos de investigación, la identificación de genes asociados definitivamente al autismo

idiopático ha sido poco menos que satisfactoria. Sin embargo, se ha sugerido que el mejor modelo es el de 2-10 loci genéticos, con tres loci interactivos (1).

Tal vez uno de los problemas más importantes al que se han enfrentado los investigadores es la gran heterogeneidad fenotípica del autismo, que pudiera no ser más que el reflejo de su heterogeneidad genética. El autismo forma parte de las llamadas enfermedades genéticas complejas, donde la correspondencia entre el genotipo y fenotipo es menos evidente. En estos trastornos, los genes de susceptibilidad parecen tener un efecto más pequeño y el patrón de transmisión de una generación a otra no sigue los patrones familiares de las enfermedades monogénicas.

Basados en las asociaciones entre las funciones biológicas de los genes y el fenotipo autista, se han estudiado diferentes genes y se han propuesto como genes candidatos de susceptibilidad. Una región del genoma de particular interés ha sido el intervalo 15q11-q13 (comprendido entre las bandas 1 y 3 de la región 1 del brazo largo (q) del cromosoma 15), por lo que esta revisión se propone mostrar la evidencia existente en la actualidad que involucra a esta región cromosómica con la susceptibilidad al autismo y su posible relación con la hipótesis de disfunción GABAérgica.

SUSCEPTIBILIDAD AL AUTISMO Y LA REGIÓN CROMOSÓMICA 15q11-q13

En la región cromosómica 15q11-q13 se encuentra un grupo de genes, que codifican para las subunidades $\beta 3$, $\alpha 5$ y $\gamma 3$, del receptor GABA_A (receptor A del ácido gamma-aminobutírico y los genes *GABRB3*, *GABRA5* y *GABRG3*, respectivamente) y en la cual se han descrito un gran número de marcadores genéticos, siendo algunos de los polimorfismos tipo microsatélites más importantes: D15S97, 155CA-2, D15S511,

GABRB3, D15S217 y *GABRA5* entre otros (Fig. 1). Aproximadamente un 3-4% de los individuos con autismo tienen una duplicación cromosómica en la región proximal 15q, siendo ésta, la anomalía cromosómica más frecuentemente observada en estos pacientes (8), lo que ha llevado a proponer genes candidatos de susceptibilidad en esta región, la cual ha sido también coincidentalmente implicada en los síndromes de Prader-Willi/Angelman, que pueden incluir dentro de su fenotipo la conducta autista (9). Esta superposición entre el fenotipo autista y el síndrome de Angelman también ha sido observada en el ratón *knockout* homocigoto para el gen *gabbr3* (homólogo del humano en el ratón), el cual ha sido propuesto como modelo para este síndrome, precisamente basado en la similitudes fenotípicas como: defectos cognitivos, hiperactividad, incoordinación motora, epilepsia, alteraciones en el ciclo sueño-vigilia y dismorfias craneofaciales (10). Sin embargo, muy pocas mutaciones han sido descritas en los genes que codifican las subunidades del receptor GABA_A (11, 12). Particularmente, en el gen *GABRB3* que codifica para la subunidad $\beta 3$ del receptor del GABA_A, sólo se ha descrito una mutación puntual en el exón 6 (R192H) relacionada y ligada funcionalmente con el insomnio (11).

Existe evidencia sustancial de que en la región cromosómica 15q11-q13, específicamente en el grupo de genes del receptor GABA_A, se localiza uno o varios factores genéticos involucrados en el autismo idiopático. Estudios de ligamiento, han identificado a la región cromosómica 15q (13-15), aunque los resultados son contradictorios con los de otros grupos que no han encontrado ligamiento significativo en esta región (16-18). Sin embargo, dos estudios demostraron que subagrupando familias de autistas basándose en variables del ADI-R, se incrementaba significativamente la evidencia de ligamiento en la región, y más específicamente

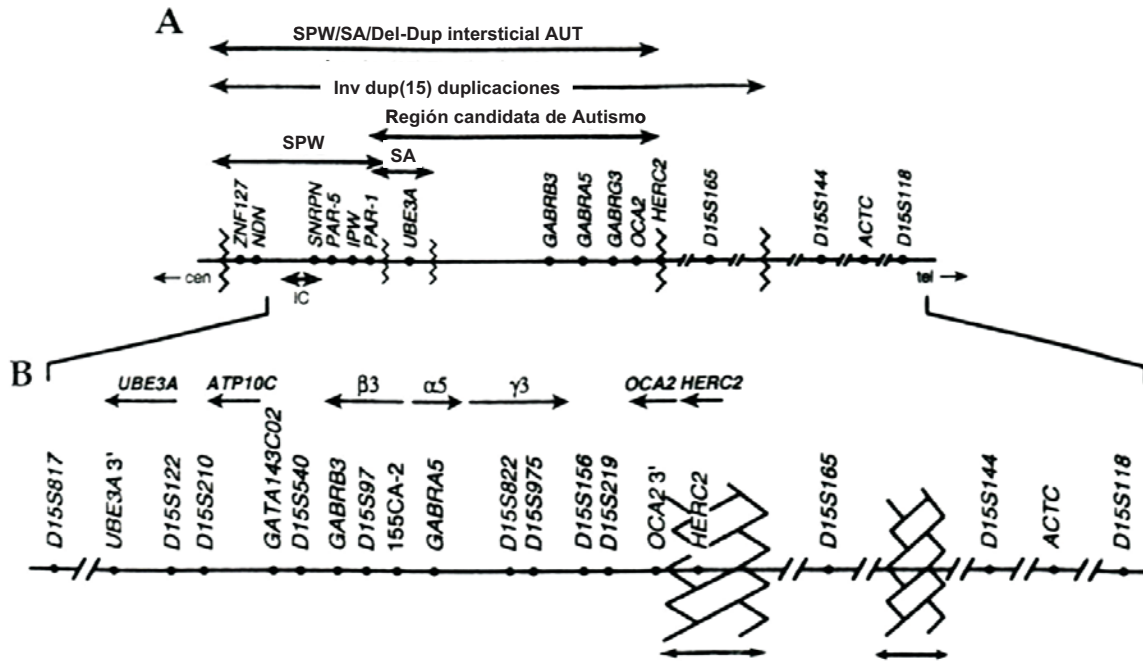


Fig. 1. Región candidata de Autismo 15q11-q13. (A) Mapa de baja resolución de la región 15q11-q13. Flechas horizontales indican los intervalos afectados por deleciones intersticiales en Síndrome de Prader-Willi (SPW), Angelman (SA) y duplicaciones intersticiales en Autismo. IC, centro de impronta. (B) Mapa de mayor resolución de la región candidata de Autismo. Loci de genes y marcadores microsatélites sobre el mapa lineal. Las flechas horizontales indican la orientación transcripcional. Modificada de Nurmi y col. (23).

camente con el gen *GABRB3* (19, 20). Varias investigaciones han demostrado asociación alélica de microsatélites (21-24) y marcadores tipo SNP (polimorfismos de un solo nucleótido) (25) en la región del cromosoma 15 donde se localizan los genes que codifican subunidades del receptor $GABA_A$.

Cook y col. (21) analizaron el gen *GABRB3* en 138 familias simples con autismo (un solo afectado), y utilizando 9 marcadores de la región cromosómica 15q11-q13 (incluyendo D15S97, 155CA-2); y la prueba de desequilibrio de transmisión multialélico (MTDT, prueba de asociación que evalúa la transmisión de alelos desde los padres heterocigotos hasta los hijos afectados), demostraron desequilibrio de ligamiento (asociación no aleatoria de loci ligados en poblaciones) entre el trastorno autista y el polimorfismo intrónico 155CA-2

($P = 0,0014$), pero no con los marcadores flanqueantes más cercanos. Buxbaum y col. (24), estudiaron 5 marcadores de la región cromosómica 15q11-q13 en un grupo de 80 familias con autismo, confirmando la asociación entre el marcador 155CA-2 y el trastorno autista, utilizando la prueba de desequilibrio de transmisión (TDT): siendo tanto el MTDT ($P < 0,002$), como el TDT ($P < 0,004$) significativos.

Sin embargo, otros grupos de investigadores no han encontrado evidencia de esta asociación (26,27). Maestrini y col. (26), estudiaron 7 marcadores de la región cromosómica 15q11-q13 (incluyendo *GABRB3*, D15S97, 155CA-2) en 94 familias con autismo y no encontraron evidencia significativa de asociación o ligamiento. De igual forma, Salmon y col. (27), estudiaron 8 marcadores microsatélites (incluyendo *GABRB3* y 155CA-2), en 139 familias múlti-

ples (varios afectados) con autismo, y tampoco encontraron evidencia de ligamiento o desequilibrio de ligamiento para estos marcadores; sin embargo, concluyeron que a pesar de sus resultados, esta región debía ser aún considerada de gran interés, dado el gran número de reportes que muestran una asociación entre el autismo y anomalías citogenéticas en la misma.

Todavía no están del todo claras las razones que originan muchos de estos resultados contradictorios, que pudieran deberse a uno o a la combinación de varios factores, incluyendo tamaños muestrales muy pequeños, combinación de múltiples genes interactuando con efectos pequeños, heterogeneidad genética, empleo de muy pocos marcadores genéticos para abarcar adecuadamente el genoma y a la propia heterogeneidad fenotípica del trastorno autista, todo lo cual hace que sea más difícil establecer la correcta relación genotipo-fenotipo en este tipo de trastornos complejos, por lo que recientemente ha surgido el interés de identificar endofenotipos en autismo. Endofenotipos se refiere a fenotipos que reflejen procesos o mecanismos subyacentes y que pueden aproximarse a una herencia mendeliana, pudiendo ser más fáciles de detectar por los métodos de ligamiento convencionales, obteniendo así resultados replicables por diferentes grupos de investigación.

Aunque algunos estudios (16, 17) no habían encontrado evidencia de ligamiento en la región cromosómica 15q11-q13; Barrett y col. (14), encontraron un máximo LOD score multipunto de la heterogeneidad, (utilizado para medir la heterogeneidad de locus en enfermedades complejas) de 0,51 en el marcador D15S975. Por otra parte, Philippe y col. (13) también obtuvieron resultados sugestivos de ligamiento en sus familias con el marcador D15S118 localizado a 20 cM (centiMorgans) del gen *GABRB3*, con un máximo LOD store multi-

punto de 1,10 (el LOD score multipunto, a diferencia del LOD score convencional de dos puntos, en lugar de calcular la fracción de recombinación entre un solo marcador y el locus de una enfermedad, intenta mapear el locus de una enfermedad con varios marcadores simultáneamente). Adicionalmente, un estudio de ligamiento llevado a cabo por Bass y col. (28) en un grupo independiente de 63 familias múltiples con autismo, encontraron evidencia de ligamiento utilizando 14 marcadores en la región cromosómica 15q11-q13, siendo el más alto LOD score bajo un modelo recesivo, para el marcador D15S217, con un LOD de 1,37, este marcador también generó un LOD score máximo bajo el modelo dominante, y un NPL significativo de 1,78, $P = 0,03$ (NPL, ligamiento no paramétrico multipunto, representa una variedad de métodos desarrollados para demostrar la presencia de ligamiento sin la necesidad de especificar los parámetros que definan el modelo de transmisión, frecuencias alélicas y valores de penetración).

Martin y col. (22), estudiaron 4 marcadores en región cromosómica 15q11-q13 (155CA-2, *GABRB3*, D15S97 y *GABRA5*), en 123 familias de origen caucásico principalmente y utilizaron el análisis de desequilibrio de ligamiento, sin encontrar evidencia de ligamiento con el marcador 155CA-2, pero sí con el *GABRB3* ($P < 0,03$), y al excluir las 9 familias con genealogías expandidas (con afectados adicionales: primos, tíos, etc), se obtuvo un valor de $P < 0,0045$ para este mismo marcador, apoyando así los hallazgos previos que indican que existen genes en esta región involucrados en el trastorno autista. Menold y col. (24), estudiaron en 226 familias con autismo, 16 polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en los genes *GABRB3*, *GABRA5* y *GABRG3* localizados en la región cromosómica 15q11-q13; el análisis se realizó utilizando la prueba de desequilibrio de genealogía (PDT, Prueba

de desequilibrio de ligamiento y asociación para genealogías generales, que permite el aprovechamiento de datos genotípicos generados por otros miembros de la genealogía diferentes al núcleo familiar básico), obteniéndose evidencia significativa de asociación entre dos SNPs (exon5_539T/C, $p = 0,02$ e intron5_687T/C, $p = 0,03$) localizados en el gen *GABRG3* y el autismo, lo que sugiere que el gen *GABRG3* (uno de los tres genes localizados en el intervalo 15q11-q13 que codifica subunidades del receptor $GABA_A$) o genes muy cercanos contribuyen al riesgo genético del trastorno autista. En un estudio reciente de 470 familias caucásicas con autismo, se encontró también asociación significativa con tres haplotipos en *GABRG3*, aunque no se pudo demostrar la interacción significativa entre los genes *GABRB3*, *GABRG3* y *GABRA5* (29).

Shao y col. (25), estudiaron 8 marcadores localizados en 15q11-q13 (GATA143C02, *GABRB3*, D15S97, *GABRA5*, D15S822, D15S975, D15S156 y D15S217) en 221 pacientes con autismo y utilizaron un nuevo método estadístico: el análisis de subgrupos ordenados (OSA), encontrando en un subgrupo de familias con altos puntajes en el renglón de Insistencia en la igualdad (IS) del ADI-R, (que evalúa la resistencia a los cambios mínimos del ambiente o la rutina, así como las compulsiones o rituales), un LOD score significativo a nivel del marcador *GABRB3* de 4,71 bajo el modelo dominante y 3,83 bajo el modelo recesivo. Estos resultados también apoyan, por un lado, la evidencia de ligamiento entre el autismo y el gen *GABRB3* del receptor $GABA_A$, y por otro, que la estrategia de subagrupar a los autistas según endofenotipos puede mejorar considerablemente los resultados de los estudios de ligamiento.

La gran variedad de métodos estadísticos y estrategias de diseño metodológico utilizadas, dan cuenta de la gran compleji-

dad que representa el estudio del autismo, el cual siendo heterogéneo tanto desde el punto de vista clínico como genético, puede explicar lo contradictorio de muchos resultados obtenidos en el estudio de genes candidatos, y que aún a pesar de lo difícil de la replicación de los estudios, gran parte de los mismos han ido resaltando poco a poco la importancia de la región cromosómica 15q en la susceptibilidad al autismo.

Se ha reportado que las duplicaciones de la región cromosómica 15q11-q13 en pacientes autistas son exclusivamente de origen materno, lo que sugiere que las duplicaciones de origen materno incrementan el riesgo de los trastornos del desarrollo (30, 31). En el subgrupo (IS) estudiado por Shao y col. (25), se encontró un incremento en los alelos maternos comunes que se compartían. Los alelos maternos compartidos versus los paternos compartidos fueron respectivamente, 58,5% y 50% en el grupo entero. Mientras que dentro del mismo subgrupo (IS), fueron 93,5% de alelos maternos versus 66,7% de paternos, con el respectivo máximo LOD score de 2,97 versus -0,06. La evidencia de un incremento de alelos maternos compartidos no solo sugiere la presencia de impronta génica en la región sino que también sirve de clave en los mecanismos biológicos subyacentes.

Nurmi y col. (20), estudiaron 15 marcadores microsatélites (incluyendo *GABRB3*, D15S97 y 155CA-2) en 94 familias múltiples con autismo, encontrando en un subgrupo de pacientes con alto puntaje en la habilidades *savant* (brillantes, geniales, por encima del promedio) del instrumento ADI-R, un LOD score Heterogéneo multipunto de 2,6 en el marcador D15S511 en el gen *GABRB3*, bajo el modelo recesivo. Estos datos son también consistentes con la contribución propuesta para el locus 15q en la susceptibilidad al autismo. Sin embargo, otro estudio no pudo replicar estos resultados en una muestra independiente (32).

Hasta el 2003 los estudios genéticos de la región cromosómica 15q11-q13 habían involucrado sólo un pequeño número de marcadores microsatélites o marcadores SNP. McCauley y col. (33) realizaron un mapeo utilizando análisis de desequilibrio de ligamiento con 59 SNPs a lo largo del intervalo de 1Mb en 15q11.2-q13, y demostraron asociación significativa con 5 de los 19 marcadores con una $P < 0,05$, en tres localizaciones distintas a lo largo del gen *GABRB3*. El SNP 1 ($P = 0,02$) y SNP 3 ($P = 0,01$) están localizados hacia el extremo 3' del gen; El SNP 5 ($P = 0,04$), el SNP 6 ($P = 0,03$) y el SNP 11 ($P = 0,04$) están localizados en el intrón 3. Un marcador en el intrón 5 del gen *GABRA5* (SNP 23) también mostró evidencia de asociación ($P = 0,03$). La transmisión de dos bloques multi-locus, incluyendo SNPs que mostraron asociación individual, bloque SNP 1-2-3 ($P = 0,02$) localizado hacia el extremo 3' de *GABRB3* y bloque SNP 22-23-24 ($P = 0,01$) localizado en *GABRA5*, mostró resultados significativos (Fig. 2). Estos resultados están positivamente correlacionados con la posición de ligamiento observada previamente, por lo que ese estudio apoya la existencia de uno o más alelos de riesgo al autismo en el grupo de genes de subunidades del receptor $GABA_A$ en 15q12.

Estos hallazgos sugieren que el rol de los genes de las subunidades del receptor del GABA en la susceptibilidad al autismo, localizados en la región cromosómica

15q11-q13, debe continuar analizándose más detalladamente, dada la evidencia sustancial tanto desde el punto de vista citogenético como de los estudios de asociación y ligamiento genético que apoyan su relación con la etiología del autismo.

AUTISMO Y DISFUNCIÓN GABAérgica

El receptor $GABA_A$ constituye el principal canal iónico inhibitorio neuronal en el cerebro de los mamíferos; pertenece al grupo de canales iónicos con compuertas unidas a ligandos, que incluye también a los receptores nicotínicos de acetilcolina, glicina y los receptores de serotonina tipo 3. En mamíferos, se han aislado hasta ahora 18 subunidades polipeptídicas: $\alpha 1-6$, $\beta 1-3$, δ , ϵ , π , $\gamma 1-3$, θ y ρ , que pueden conformar los receptores del GABA. La mayoría de los receptores $GABA_A$ se ensamblan de forma pentamérica: 2 subunidades α , 2 subunidades β , y una subunidad γ o δ . La gran mayoría de los receptores $GABA_A$ están representados por pocos subtipos. Cerca del 80% de todos los receptores $GABA_A$ contienen el clásico sitio de unión de las benzodiazepinas, caracterizados principalmente por combinaciones $\alpha 1\beta 2\gamma 2$, $\alpha 2\beta 3\gamma 2$, $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ y $\alpha 5\beta xy 2$ (34). Después de la liberación de las vesículas del GABA (ácido gamma-amino-butírico), el receptor postsináptico $GABA_A$ es activado, resultando en una entrada de ión Cloro a la célula y la consiguiente hiperpolarización de la membrana,

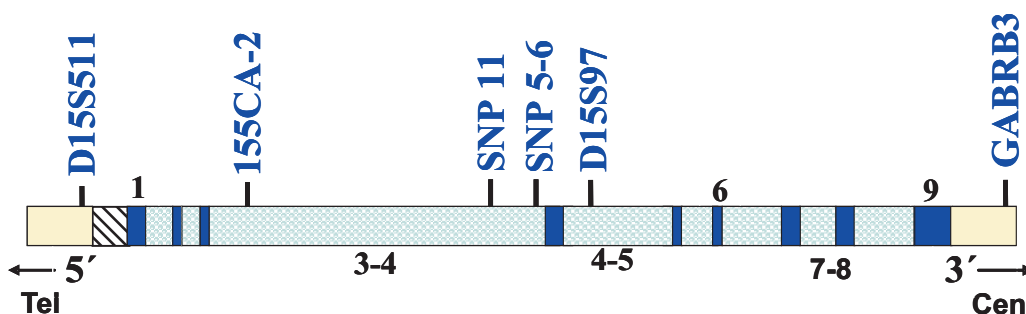


Fig. 2. Estructura del gen *GABRB3*. Polimorfismos: D15S97 (intrón 4), *GABRB3* (60 Kb, 3'), 155CA-2 (intrón 3), D15S511 (Intergénico). TEL: Telómero, CEN: Centrómero.

esto disminuye la excitabilidad eléctrica de la neurona postsináptica. El receptor del GABA_A es el blanco de importantes drogas utilizadas en la práctica clínica como benzodiazepinas y barbitúricos (11).

La neurotransmisión GABAérgica es extensa a nivel del sistema nervioso central y los defectos pueden estar localizados en ciertas áreas cerebrales con cambios compensatorios en otras áreas. Una posibilidad, entre muchas, es que los niveles plasmáticos elevados de GABA en Autistas, de confirmarse, reflejen un incremento compensatorio en la liberación presináptica de GABA en respuesta a una hiposensibilidad a un subgrupo de receptores GABA. Esto pudiera producir entonces un incremento en la activación postsináptica de otros subtipos normales de receptores GABA, resultando en alteraciones complejas de la función GABAérgica a lo largo del cerebro de los pacientes con autismo (35).

Existe evidencia bioquímica y anatomopatológica que apoya la hipótesis de la disfunción del GABA en el autismo. Varios estudios independientes (35-38) han descrito niveles elevados de GABA en plasma de niños autistas comparados con controles, utilizando cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/MS) y cromatografía líquida de alta presión (HPLC), apoyando de esta forma la hipótesis de disfunción GABAérgica.

Aunque no se lograron obtener resultados similares en 8 pacientes con trastornos generalizados del desarrollo con inversiones/duplicaciones de la región cromosómica 15q11-q13 (39), se ha considerado la posibilidad de que estos pacientes con rearrreglos cromosómicos en la región 15q pudieran tener alteraciones genéticas que alteren la estructura del receptor GABA_A y no reflejarlo en los niveles séricos de GABA (35). Samaco y col. (40), demostraron que existe una expresión cerebral disminuida del gen *GABRB3* en pacientes autistas com-

parados con controles, además sugirieron que, aunque los individuos autistas con duplicaciones de la región cromosómica 15q11-q13 deberían expresar altos niveles de la proteína GABRB3, la pérdida de apareo homólogo biparental pudiera resultar en cambio, en una expresión menor de los genes ubicados en esa región.

En concordancia con los numerosos hallazgos que apoyan el rol del sistema neurotransmisor GABA en la susceptibilidad al autismo, Blatt y col. (34) demostraron que existía una reducción significativa en la densidad de sitios de unión a benzodiazepinas y de los receptores GABA_A en el hipocampo de cerebros de autistas post-mortem a través de cuantificación por autoradiografía utilizando ligandos específicos marcados como ³[H]flunitrazepam y el ³[H]muscimol. Chugani y col. (41), utilizando tomografía por emisión de positrones (PET) también evidenciaron disminución de receptores GABA_A en niños con autismo.

Dada la evidencia que relaciona diferentes alteraciones en la vía GABAérgica, varios autores (35, 37, 42) están de acuerdo en que la hipótesis de disfunción del GABA constituye una alternativa razonable para organizar muchos de los conocimientos claves, tanto embriológicos, clínicos, genéticos, anatomopatológicos y bioquímicos que se tienen sobre el trastorno autista.

COMPLEJIDAD GENÉTICA DEL AUTISMO

Una característica definida de los fenotipos complejos, y particularmente de aquellos con heterogeneidad clínica importante como el autismo, es que ningún locus contiene los alelos que son necesarios o suficientes para la susceptibilidad a la enfermedad (43). Uno de los principales problemas, es identificar si la variación genética es debida a un pequeño número de loci donde los alelos de susceptibilidad son comunes, o

debido a un número mucho mayor de loci donde los alelos de susceptibilidad son muy raros (44). Si la variación alélica en un locus de una enfermedad compleja es extensa, con múltiples alelos de susceptibilidad de origen independiente, la demostración de asociación entre genotipos marcadores y el fenotipo de la enfermedad puede verse afectada en forma negativa (45).

El autismo es un trastorno con una etiología compleja, para el que se ha propuesto una herencia oligogénica de alelos, de un número desconocido de genes, que se ha estimado en hasta 20 genes que podrían contribuir en el riesgo total, con heterogeneidad de locus, resultando que diferentes familias tengan una combinación diferente de alelos de susceptibilidad (17, 46).

Si se toma la vía GABAérgica como centro fisiopatológico en la etiología del autismo, se observará como, siendo el GABA

el principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central, su influencia sobre otras vías neuronales como la glutamatérgica y serotoninérgica, es lo suficientemente decisiva para que una alteración en determinados receptores GABA_A (los que estén constituidos por algunas de las subunidades $\beta 3$, $\alpha 5$ y/o $\gamma 3$, por ejemplo), pueda ocasionar una menor sensibilidad a la respuesta al GABA de un subgrupo de éstos y una mayor, en otros subgrupos como respuesta compensatoria, lo que a su vez traería como consecuencia la alteración de la regulación de otras vías neuronales específicas. Como se infiere que la herencia del autismo es probablemente oligogénica, la alteración conjunta intrínseca en las otras vías puede también estar implicada. En este sentido, se han involucrado también como genes de susceptibilidad al autismo (Fig. 3), al gen del transportador de Seroto-

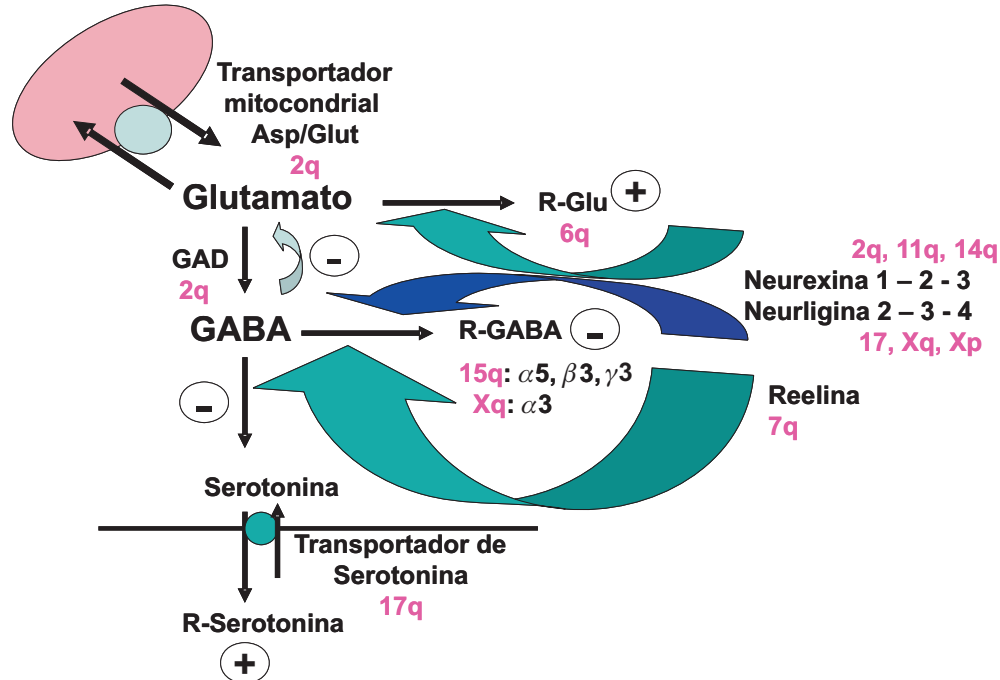


Fig. 3. Esquema de las relaciones entre algunos genes candidatos de susceptibilidad al Autismo, teniendo como centro al GABA (ácido γ -aminobutírico) y a sus receptores. R:Receptor, Glu: glutamato, Asp: aspartato. GAD: Glutamato descarboxilasa. Números claros representan la ubicación cromosómica de cada gen. Los Signos señalan el efecto neuronal inhibitorio (-) o excitatorio (+). Las flechas grandes indican la influencia sobre crecimiento y diferenciación de grupos neuronales.

nina (17q) (47), al del receptor de glutamato (6q) (48), al de la enzima glutamato decarboxilasa (2q) (49), al gen del transportador aspartato/glutamato (2q) (50), y genes que codifican proteínas claves en la diferenciación, desarrollo y crecimiento temprano neuronal así como en los procesos de sinaptogénesis, como el gen de la reelina (7q) (51), de las neurexinas 1-2 y 3 (2q,11q y 14q, respectivamente) y de las neuroliginas 2, 3 y 4 (17q,Xq y Xp, respectivamente) (52, 53), entre otros.

Todo lo anterior, hace que sea necesario el profundizar en la investigación de los genes que codifican las subunidades del receptor GABA_A ubicados en la región cromosómica 15q11-q13, bajo la premisa de que cualquier alteración en los mismos será sólo una parte, muy importante tal vez, en todo el entramado que debe constituir la fisiopatología del autismo, dado que, por su gran heterogeneidad genética y fenotípica, el mismo es un trastorno sumamente complejo que amerita un enfoque multidisciplinario que permita relacionar y asociar buena parte de la evidencia científica existente.

REFERENCIAS

1. **Bespalova I, Buxbaum JD.** Disease susceptibility genes for autism. *Ann Med* 2003; 35:274-281.
2. **Lord C, Cook E, Leventhal B, Amaral D.** Autism Spectrum Disorders. *Neuron* 2000; 28(2):355-363.
3. **American Psychiatric Association.** Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th Edition. APA, Washington DC: Masson; 1995, p.67-80.
4. **Lord C, Rutter M, Le Couteur A.** Autism diagnostic interview-revised: A revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord* 1994; 24:659-685.
5. **Lord C, Risi S, Lambrecht L, Cook EH Jr, Leventhal BL, DiLavore PC, Pickles A, Rutter M.** The Autism diagnostic observation schedule generic: A standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J Autism Dev Disord* 2000; 30:205-223.
6. **Miles J, McCathren R.** Autism Overview. Geneclinics home page. [Update August 27, 2003, cited April 20, 2004]. Available from URL: <http://www.geneclinics.org/>
7. **Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, Rutter M.** Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol Med* 1995; 25:63-78.
8. **Lamb J, Moore J, Bailey A, Monaco A.** Autism: recent molecular genetic advances. *Hum Mol Genet* 2000; 9(6):861-868.
9. **Lauritsen M, Mors O, Mortensen PB, Ewald H.** Infantile autism and associated autosomal chromosome abnormalities: a register-based study and a literature survey. *J Child Psychol Psychiatry* 1999; 40(3):335-345.
10. **DeLorey T, Handforth A, Anagnostaras S, Homanics G, Minassian B, Asatourian A, Fanselow MS, Delgado-Escueta A, Ellison GD, Olsen RW.** Mice lacking the $\beta 3$ Subunit of the GABA-A receptor have the epilepsy phenotype and many behavioral characteristics of Angelman Syndrome. *J Neurosci* 1998; 18(20):8505-8514.
11. **Buhr A, Bianchi M, Baur R, Courtet P, Pignay V, Boulenger J, Gallati S, Hinke DJ, Sigel ME.** Functional characterization of the new human GABAA receptor mutation $\beta 3$ (R192H). *Hum Genet* 2002; 111: 154-160.
12. **Glatt K, Glatt H, Lalande M.** Structure and organization of GABRB3 and GABRA5. *Genomics* 1997; 41:63-69.
13. **Philippe A, Martínez M, Guilloud-Bataille M, Gillberg C, Rastam M, Sponheim E, Coleman M, Zapella M, Aschauer H, Van Maldergem L, Penet C, Feingold J, Brice A, Leboyer M, and The Paris Research Sibpair Study.** Genome wide-scan for autism. *Hum Mol Genet* 1999; 8:805-812.
14. **Barrett S, Beck JC, Bernier R, Bisson E, Braun TA, Casavant TL, Childress D, Folstein SE, Garcia M, Gardiner MB, Gilman S, Haines JL, Hopkins K, Landa R, Meyer NH, Mullane JA, Nishimura DY,**

- Palmer P, Piven J, Purdy J, Santangelo SL, Searby C, Sheffield V, Singleton J, Slager S (CLSA, Collaborative Linkage Study of Autism). An autosomal genomic screen for autism. Collaborative linkage study of autism. *Am J Med Genet* 1999; 88:609-615.
15. Shao Y, Wolpert CM, Raiford KL, Menold MM, Donnelly SL, Ravan SA, Bass MP, McClain C, von Wendt L, Vance JM, Abramson RH, Wright HH, Ashley-Koch A, Gilbert JR, DeLong RG, Cuccaro ML, Pericak-Vance MA. Genomic screen and follow-up analysis for autistic disorder. *Am J Med Genet* 2002; 114: 99-105.
 16. International Molecular Genetic Study of Autism Consortium: A full genome screen for autism with evidence for linkage to a region on chromosome 7q. *Hum Molec Genet* 1998; 7:571-578.
 17. Rish N, Spiker D, Lotspeich L, Nouri N, Hinds D, Hallmayer J, Kalaydjieva L, McCague P, Dimiceli S, Pitts T, Nguyen L, Yang J, Harper C, Thorpe D, Vermeer S, Young H, Hebert J, Lin A, Ferguson J, Chiotti C, Wiese-Slater, Rogers T, Salmon B, Nicholas P, Brent PP, Pingree C, McMahon W, Wong D, Cavalli-Sforza LL, Kraemer H, Myers R. A Genomic Screen of Autism: Evidence for a Multi-locus Etiology. *Am J Genet* 1999; 65:493-507.
 18. Liu J, Nyholt DR, Magnussen P, Parano E, Pavone P, Geschwind D, Lord C, Iversen P, Hoh J, Lord C, Iversen P, Hoh J, Ott J, Gilliam TC. Autism Genetic Resource Exchange Consortium; Ott, J.; Gilliam, T. C. A genomewide screen for autism susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 69:327-340, 2001. Note: Erratum: *Am J Hum Genet* 2001; 69: 672 only.
 19. Shao Y, Cuccaro ML, Hauser ER, Raiford KL, Menold MM, Wolpert CM, Ravan SA, Elston L, Decena K, Donnelly SL, Abramson RK, Wright HH, DeLong GR, Gilbert JR, Pericak-Vance MA. Fine mapping of autistic disorder to chromosome 15q11-q13 by use of phenotypic subtypes. *Am J Hum Genet* 2003; 72:539-548.
 20. Nurmi E, Down M, Tadevosyan-Leyfer MA, Haines J, Folstein S, Sutcliffe J. Exploratory subsetting of autism families based on savant skills improves evidence of genetic linkage to 15q11-q13. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2003; 42 (7):856-863.
 21. Cook EH Jr, Courchesne RY, Cox NJ, Lord C, Gonen D, Guter SJ, Lincoln A, Nix K, Haas R, Leventhal BL, Courchesne E. Linkage-disequilibrium mapping of autistic disorder, with 15q11-13 markers. *Am J Hum Genet* 1998; 62:1077-1083.
 22. Martin ER, Menold MM, Wolpert CM, Bass MP, Donnelly SL, Ravan SA, Zimmerman A, Gilbert JR, Vance JM, Maddox LO, Wright HH, Abramson RK, DeLong GR, Cuccaro ML, Pericak-Vance MA. Analysis of linkage disequilibrium in gamma-aminobutyric acid receptor subunit genes in autistic disorder. *Am J Med Genet* 2000; 96:43-48.
 23. Nurmi EL, Bradford Y, Chen Y, Hall J, Arnone B, Gardiner MB, Hutcheson HB, Gilbert JR, Pericak-Vance MA, Copeland-Yates SA, Michaelis RC, Wassink TH, Santangelo SL, Sheffield VC, Piven J, Folstein SE, Haines JL, Sutcliffe JS. Linkage disequilibrium at the Angelman syndrome gene UBE3A in autism families. *Genomics* 2001; 77:105-113.
 24. Buxbaum JD, Silverman JM, Smith CJ, Greenberg DA, Kilifarski M, Reichert J, Cook EH Jr, Fang Y, Song CY, Vitale R. Association between a GABRB3 polymorphism and autism. *Mol Psychiatry* 2002; 7:311-316.
 25. Menold MM, Shao Y, Wolpert CM, Donnelly SL, Raiford KL, Martin ER, Ravan SA, Abramson RK, Wright HH, DeLong GR, Cuccaro ML, Pericak-Vance MA, Gilbert JR. Association analysis of chromosome 15 gaba receptor subunit genes in autistic disorder. *J Neurogenet* 2001; 15:245-259
 26. Maestrini E, Lai C, Marlow A, Matthews N, Wallace S, Bailey A, Cook EH, Weeks DE, Monaco AP. Serotonin transporter (5-HTT) and gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta3 (GABRB3) gene polymorphisms are not associated with autism in the IMGSA families. The International Molecular Genetic Study of Autism

- Consortium. *Am J Med Genet* 1999; 88:492-496.
27. **Salmon B, Hallmayer J, Rogers T, Kalaydjieva L, Petersen PB, Nicholas P, Pingree C, McMahon W, Spiker D, Lotspeich L, Kraemer H, McCague P, Dimiceli S, Nouri N, Pitts T, Yang J, Hinds D, Myers RM, Risch N.** Absence of linkage and linkage disequilibrium to chromosome 15q11-q13 markers in 139 multiplex families with autism. *Am J Med Genet* 1999; 88:551-556.
 28. **Bass MP, Menold MM, Wolpert CM, Donnelly SL, Ravan SA, Hauster ER.** Genetic studies in autistic disorder and chromosome 15. *Neurogenetics* 2000; 2:219-226.
 29. **Ashley-Koch AE, Mei H, Jaworski J, Ma DQ, Ritchie MD, Menold MM, Delong GR, Abramson RK, Wright HH, Hussman JP, Cuccaro ML, Gilbert JR, Martin ER, Pericak-Vance MA.** An analysis paradigm for investigating multi-locus effects in complex disease: examination of three GABA receptor subunit genes on 15q11-q13 as risk factors for autistic disorder *Ann Hum Genet* 2006; 70:281-292.
 30. **Cook EH Jr, Lindaren V, Leventhal BL, Courchesne R, Lincoln A, Shulman C, Lord C, Courchesne E.** Autism or atypical autism in maternally but not paternally derived proximal 15q duplication. *Am J Hum Genet* 1997; 60:928-934.
 31. **Browne CE, Dennis NR, Maher E, Long FL, Nicholson JC, Sillibourne J, Barber JC.** Inherited interstitial duplications of proximal 15q: genotype-phenotype correlations. *Am J Hum Genet* 1997; 61:1342-1352.
 32. **Ma DQ, Jaworski J, Menold MM, Donnelly S, Abramson RK, Wright HH, Delong GR, Gilbert JR, Pericak-Vance MA, Cuccaro ML.** Ordered-subset analysis of savant skills in autism for 15q11-q13. *Am J Med Genet B* 2005; 135(1):38-41.
 33. **McCauley JL, Olson LM, Delahanty R, Amin T, Nurmi E, Organ EL, Jacobs M, Folstein SE, Haines JL, Sutcliffe J.** A linkage Disequilibrium Map of the 1-Mb 15q12 GABA-A receptor subunit cluster and association to Autism. *Am J Med Genet* 2004; 131:51-59.
 34. **Blatt GJ, Fitzgerald CM, Guptill JT, Booker AB, Kemper TL, Bauman ML.** Density and distribution of hippocampal neurotransmitter receptors in autism: An autoradiographic study. *J Autism Dev Disord* 2001; 31(6):537-543.
 35. **Dhossche D, Applegate H, Abraham A, Maertens P, Bland L, Bencsath A, Martínez J.** Elevated plasma gamma-amino-butyric acid (GABA) levels in autistic youngsters: stimulus for a GABA hypothesis of autism. *Med Sci Monit* 2002; 8(8):1-6.
 36. **Moreno-Fuenmayor H, Borjas L, Arrieta A, Valera V, Socorro-Candanoza L.** Plasma excitatory amino acids in autism. *Invest Clin* 1996; 37(2):113-128.
 37. **Cohen B.** Elevated levels of plasma and urine gamma-amino-butyric acid: a case study of an autistic child (letter). *Autism* 1999; 3:437-440.
 38. **Aldred S, Moore KM, Fitzgerald M, Waring RH.** Plasma amino acid levels in children with autism and their families. *J Autism Dev Disord* 2003; 33(1):93-97.
 39. **Borgatti R, Piccinelli P, Passoni D, Raggi E, Ferrarese C.** Pervasive developmental disorders and GABAergic system in patients with inverted duplications chromosome 15. *J Child Neurol* 2001; 16:911-914.
 40. **Samaco RC, Hogart A, LaSalle JM.** Epigenetic overlap in autism-spectrum neurodevelopmental disorders: MECP2 deficiency causes reduced expression of UBE3A and GABRB3. *Hum Mol Genet* 2005; 14(4):483-492.
 41. **Chugani DC, Muzik O, Juhasz C, Janisse JJ, Ager J, Chugani HT.** Postnatal maturation of human GABA-A receptors measured with positron emission tomography. *Ann Neurol* 2001; 49(5):618-626.
 42. **Hussman JP.** Suppressed GABAergic inhibition as a common factor in suspected etiologies of autism. *J Autism Dev Disord* 2001; 31(2):247-248.
 43. **Bonora E, Lamb JA, Barnby G, Sykes N, Moberly T, Beyer KS, Klauck SM, Poustka F, Bacchelli E, Blasi F, Maestrini E, Battaglia A, Haracopos D, Pedersen L, Isager T, Eriksen G, Viskum B, Sorensen EU, Brondum-Nielsen K, Cotterill R, Engeland H, Jonge M, Kemner C,**

- Steggehuis K, Scherpenisse M, Rutter M, Bolton PF, Parr JR, Poustka A, Bailey AJ, Monaco AP; International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (IMGSAC). Mutation screening and association analysis of six candidate genes for autism on chromosome 7q. *Eur J Hum Genet* 2004; 13(2):198-207.
44. Pritchard JK. Are rare variants responsible for susceptibility to complex diseases?. *Am J Hum Genet* 2001; 69:124-137.
45. Reich DE, Schaffner SF, Daly MJ, McVean G, Mullikin JC, Higgins JM, Richter DJ, Lander ES, Altshuler D. Human genome sequence variation and the influence of gene history, mutation and recombination. *Nat Genet* 2002; 32:135-142.
46. Pickles A, Bolton P, Medonald H, Bailey A, Le Couteur A, Sim C. Latent-class analysis of recurrence risks for complex phenotypes with selection and measurement error: a twin and family history of autism. *Am J Hum Genet* 1995; 57:717-726.
47. Yonan A, Alarcón M, Cheng R, Magnusson P, Spence S, Palmer A, Grunn A, Hank Juo S, Terwillger J, Liu J, Cantor R, Geschwind D, Guillian C. A genome-wide screen of 345 families for autism-susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 2003; 73:886-897.
48. Jamain S, Betancur C, Quach H, Philippe A, Fellous M, Giros B, Gillberg C, Leboyer M, Bourgeron T. Linkage and association of the glutamate receptor 6 gene with autism. *Mol Psychiatry* 2002; 7:302-310.
49. Fatemi SH, Halt AR, Stary JM, Kanodia R, Schulz SC, Realmuto GR. Glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa proteins are reduced in autistic parietal and cerebellar cortices. *Biol Psychiatry* 2002; 52(8):805-810.
50. Segurado R, Conroy J, Meally E, Fitzgerald M, Gill M, Gallagher L. Confirmation of association between autism and the mitochondrial aspartate/glutamate carrier SLC25A12 gene on chromosome 2q31. *Am J Psychiatry* 2005; 162(11):2182-2184.
51. Persico AM, D'Agruma L, Maiorano N, Totaro A, Militerni R, Bravaccio C, Wassink TH, Schneider C, Melmed R, Trillo S, Montecchi F, Palermo M, Pascucci T, Puglisi Allegra S, Reichelt KL, Conciatori M, Marino R, Quattrocchi CC, Baldi A, Zelante L, Gasparini P, Keller F. Reelin gene alleles and haplotypes as a factor predisposing to autistic disorder. *Mol Psychiatry* 2001; 6:150-159.
52. Jamain S, Quach H, Betancur C, Rastam M, Colineaux C, Gillberg IC, Soderstrom H, Giros B, Leboyer M, Gillberg C, Bourgeron T. Paris Autism Research International Sibpair Study: Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nature Genet* 2003; 34:27-29.
53. Cline H. Synaptogenesis: a balancing act between excitation and inhibition. *Curr Biol* 2005; 15(6):R203-R205.