

Heterogeneidad clínica del síndrome autista: Un estudio en sesenta familias.

*Humberto Moreno **, *Lisbeth Borjas **, *Arelis Arrieta ***, *Lisbeth Sáez ***, *Annawajalah Prasad ***, *Jesús Estévez ****, *Ernesto Bonilla ****

* Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. ** Instituto de Biomedicina (Inbiomed), Hospital Universitario, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. *** Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Palabras claves: autismo, aminoácidos, ácidos orgánicos, acidosis láctica, dismorfología, apellidos, consanguinidad, vitaminas, piridoxina, X-frágil, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

Resumen: Sesenta familias, detectadas a través de un sólo probando, han ayudado a definir mejor el autismo infantil como un grupo nosológico heterogéneo. Cuarenta y cuatro probandos presentaron una característica displasia facio-auricular. Veinticuatro de ellos tenían acidemia láctico-pirúvica signos químicos de acidosis metabólica, es decir, incremento del hiato aniónico por encima de 18 mEq/lit, o bicarbonato sérico por debajo de 21 mEq/L, pero en sólo nueve de ellos, el bicarbonato sérico estaba por debajo de 18 mEq/lit. En 17 pacientes los aminoácidos estaban significativamente disminuidos ($p < 0.05$) por debajo del valor de referencia en controles apareados; la taurina, los ácidos glutámico y aspártico estaban significativamente elevados ($p < 0.05$; prueba "t" de Student). El análisis de segregación para herencia recesiva, en treinta y cuatro de estas familias, las cuales ligaban a través de por lo menos un apellido ancestral, sugiere herencia recesiva ($p = 0.20$) en este grupo. Tres de ocho probandos que recibieron megadosis de piridoxina, subjetivamente ganaron habilidades de lenguaje, afectividad y respuesta a terapia conductual. Cinco pacientes tenían síndromes clínicamente definidos: dos varones con el síndrome de Martin- Bell, una niña afectada con el síndrome de Rett, una con fenilcetonuria y una con aciduria dicarboxilica.

Recibido: 17-09-91. Aceptado: 06-05-92.

INTRODUCCION

Desde que Kanner (44) describiera un síndrome clínico caracterizado por alteraciones del comportamiento infantil e inicialmente considerado una forma de esquizofrenia del niño, el diagnóstico del síndrome autista se ha hecho cada vez más frecuente en la práctica médica diaria.

El síndrome ha sido extensamente revisado desde el punto de vista clínico. Se sabe que el autismo tiene un comienzo temprano, aunque la mayoría de los niños parecen normales al nacimiento. Más tarde, los padres notan el aislamiento social. Son evidentes los defectos del lenguaje caracterizados por ausencia de esta adquisición, uso inapropiado de palabras, en forma no comunicativa o con simbolismo inapropiado, y en muchas ocasiones simple ecolalia. Al respecto de la actividad motora, son evidentes los movimientos estereotipados, tales como mecer el cuerpo, mover las manos, girar la cabeza y el cuerpo. Son frecuentes las rutinas de autoestimulación, y entre ellas, exceso de rutinas de acercamiento (mirar, escrudiñar, oler, lamer). La hiperactividad es la regla, y el niño autista, cae dentro del diagnóstico diferencial del síndrome del niño hiperquinético. Los juguetes son utilizados en forma inapropiada, se cambian de sitio sin objeto alguno y al parecer los exabruptos temperamentales, son utilizados como objetos arrojados. Entre estos cambios afectivos, se notan de manera más o menos variable, el

rechazo al contacto corporal, las rabiets ante los cambios de rutinas, y el llanto aparentemente irracional (14, 22).

La incidencia poblacional del síndrome ha sido considerada en 3 x 10.000 habitantes. Los estudios de familias realizados hasta la fecha, han demostrado una fuerte influencia familiar; la frecuencia de autismo en los hermanos de niños autistas es 80 veces mayor que en la población general; los estudios de gemelos señalan una concordancia en gemelos monozigotos de un 90%, pero la misma es solo de un 10% para los gemelos dizigotos (28, 71, 72). Se reportan más varones afectados que hembras en proporción de 4 a 1 (86).

Aproximadamente un 16% de niños autistas, presentan un cromosoma X-frágil (8, 11, 23, 33, 34, 43, 67, 98). Este se observa en un síndrome genético aparentemente heterogéneo (87), con herencia ligado al cromosoma X, denominado síndrome de Martin-Bell. Los pacientes afectados presentan retraso mental y macro-orquidismo; la búsqueda de marcadores genéticos de ADN está en progreso (17, 89). Debido a esta incidencia, algunos han clasificado el autismo infantil de acuerdo a la presencia o ausencia del cromosoma X-frágil.

El comportamiento autista ha sido observado en pacientes con una variedad de trastornos (10, 13, 18, 21, 30, 32, 35, 36, 41, 50, 51, 54, 62, 67, 88, 93, 95, 96), incluyendo el síndrome de Down (65), por lo cual el diagnóstico diferencial es complicado (6, 12, 37, 57, 69, 84, 85).

El tratamiento puede enfocarse desde varios aspectos, a saber: a)

desde el punto de vista exclusivamente psiquiátrico realizando formas de terapia de modificación de conducta y b) desde el punto de vista médico, tratando el problema básico, si se diagnosticara (79). El tratamiento con vitamina B6 y magnesio ha sido preconizado, con mejoría clínica demostrable en algunos pacientes, si bien las bases fisiopatológicas de esta mejoría clínica, son desconocidas (47, 52, 53, 70). Probablemente actúe favoreciendo la actividad de cierta(s) enzima(s) importante(s) en mecanismos básicos de neurotransmisión, que requieren piridoxal fosfato como co-enzima.

La mayoría de los investigadores, están actualmente de acuerdo, en que el autismo es un síndrome heterogéneo de etiología orgánica (78, 82, 92).

En base a lo anterior, este trabajo tiene por objeto: 1) Establecer si existe realmente heterogeneidad clínica y etiológica en el síndrome autista dentro de la muestra estudiada. 2) Demostrar a través de métodos de estudios genealógicos, la existencia de casos familiares, si estuviesen presentes. 3) Probar la factibilidad del tratamiento con megadosis de vitamina B6. 4) En base a los resultados, sugerir una metodología para el estudio sistemático de pacientes con comportamiento autista.

MATERIAL Y METODOS

La población estudiada por nosotros forma una muestra de 60 familias, en la cual casi todos presentan un único caso familiar.

Estos fueron detectados por psiquiatras, pediatras y neuropediatras de la localidad y remitidos para estudios a la Consulta de Enfermedades Metabólicas de la Unidad de Genética Médica, donde fueron clínicamente evaluados y se recogió una genealogía. Los pacientes remitidos cumplían los criterios diagnosticados del DSM-III (2), a saber: "comienzo del comportamiento autista antes de los 30 meses de edad, severa afectación en el trato social el cual incluye falta de respuesta interactiva o respuesta interactiva inadecuada, respuestas afectivas y sensoriales anormales, déficit severo o ausencia total de lenguaje y ausencia de ilusiones o alucinaciones".

Además de los datos del examen físico y psiquiátrico recogidos, se pidieron fotografías de los pacientes de frente y perfil. En 10 pacientes autistas y en 11 controles se midió el ángulo A (Fig 1). La evaluación del comportamiento se realizó utilizando la escala de observación de Ritvo y Freeman (RF) (29). Esta escala investiga cinco niveles. Cada tipo de comportamiento se cuantifica de 0 a 3 (nunca, rara vez, a veces, casi siempre) y en cada nivel se realiza un promedio de la suma total.

La presencia del cromosoma X-frágil, se determinó por estudio citogenético en medio RPMI 1640, enriquecido con metionina (1, 87, 99) y se estimó por el método citoquímico de Fairbanks y Lampe para glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), el cual detecta la actividad de esta enzima de acuerdo a la capacidad del eritrocito para excluir el formazán (25, 80).

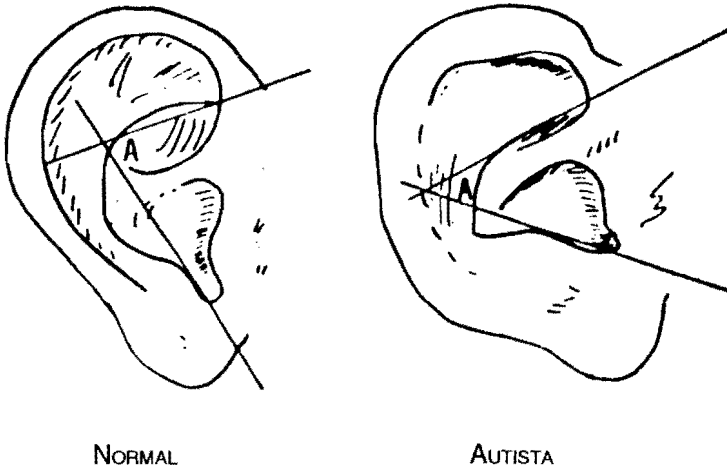


Fig. 1 Características displásicas en niños autistas. Displasias de orejas

La rutina de laboratorio de enfermedades metabólicas para estos pacientes, se realizó en nuestros laboratorios, donde se lleva desde 1974, el Programa Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas de la región (60). Estas pruebas son las siguientes (61):

1) Despistaje de aminoacidurias y acidurias orgánicas, despistaje de glucosurias y mucopolisacaridurias en muestras matutinas; se utilizaron, las pruebas del cloruro férrico, 2,4,- dinitrofenil hidrazina, nitrosonaftol, Pauly, Sakaguchi, Benedict, Berry. Además se realizó una cromatografía sobre papel de aminoácidos urinarios, revelados con ninhidrina (83, 91). Se pidió una gasometría y pH en muestras sanguíneas arteriales o capilares y se midieron los electrolitos, sodio, cloro y potasio en muestras venosas.

Los ácidos orgánicos pirúvico y láctico se midieron por pruebas

espectrofotométricas disponibles comercialmente (Sigma Chemical Co.). Los ácidos glutámico y aspártico, la taurina y los aminoácidos plasmáticos se midieron por cromatografía líquida de alta presión en los laboratorios del Instituto de Biomedicina (INBIOMED) del Hospital Universitario de Maracaibo, siguiendo la metodología ya descrita (9). Los mismos metabolitos fueron medidos en niños normales apareados por edad y sexo, los cuales constituyeron el grupo control.

Ocho de los veinticuatro pacientes con acidosis metabólica, los cuales a su vez presentaban displasia de orejas, se trataron con megadosis de vitamina B6 (Suprabion o Benadom 900 mg diarios) suplementados con un complejo polivitamínico y mineral y sulfato de magnesio. Algunos de estos pacientes tenían estudios de

aminoácidos plasmáticos, pero no se estudió la correlación entre ambos hallazgos. No se utilizaron otros criterios selectivos para estos pacientes.

En la evaluación genealógica se determinó la presencia de uniones consanguíneas e isonímicas y se recogieron los apellidos de los abuelos maternos y paternos. Se midió el coeficiente de consanguinidad y se estimó el coeficiente de consanguinidad por isonimia comparando estos resultados con datos anteriores de nuestra población (58). Se estudió la segregación (24, 39) en el grupo completo de familias y en un subgrupo de familias ("familias ligadas") las cuales se relacionaban a través de por lo menos un apellido ancestral (59).

RESULTADOS

Hallazgos clínicos: No se observaron niños afectados por enfermedades intercurrentes o desnutrición. El comportamiento anormal incluía rutinas de acercamiento, rutinas repetitivas y resistencia a cambiar las mismas, constante actividad (hiperquinesia) y estallidos temperamentales o aislamiento. La escala de observación de Ritvo y Freeman (29) fue utilizada para evaluar 24 de estos pacientes y se demostraron niveles compatibles con los observados en otros niños autistas (promedio 0.80; datos no mostrados). La evaluación clínica demostró ausencia de dismorfia. Sin embargo, en aproximadamente la mitad de los pacientes evaluados, era evidente

una ligera hipoplasia malar y ojos hundidos (este dato no fue exactamente cuantificado, ni señalado en todas las historias). (Tabla I).

Estos pacientes tenían además una displasia de las orejas caracterizada por una disminución del ángulo que forman las ramas superior e inferior del antihelix, que resultó estadísticamente significativa en los diez pacientes y controles en los cuales se midió el ángulo A formado por las líneas que siguen el borde de la rama inferior del antihelix a nivel de la folla navicular y la que bordea el antitrago partiendo del vértice inferior de la concha, siendo más agudo ($p < 0.05$, prueba "t" de Student) en las orejas de niños autistas ($A = 44.2 \pm 4.66$ grados; $n = 10$) que en controles normales apareados por edad y sexo ($A = 58.36 \pm 4.95$; $n = 11$); (Fig. 1). No se establecieron correlaciones entre la presencia de este hallazgo y los hallazgos metabólicos descritos, ni si estos hallazgos estaban también presentes en alguno de los progenitores del paciente.

Estudios citogenéticos: Solo en 3 de un subgrupo de pacientes estudiados, se encontró el cromosoma X-frágil, o sospecha citoquímica de su presencia ($3/12 = 25\%$).

Laboratorio clínico: La rutina de laboratorio (hematología, orina, heces, ácido úrico o amonio en sangre) resultó normal. Los resultados de las pruebas de despistaje metabólico, con una excepción, fueron negativas; esta paciente presentó pruebas de cloruro férrico y 2,4-dinitrofenilhidrazina

TABLA I
ESTUDIOS CLINICOS EN NIÑOS AUTISTAS

Total de historias	60
Evaluados con Escala RF	24
Con displasia auricular, observados	44
Con displasia auricular, medidos	10
Familias ligadas por apellidos	34
Progenitores consanguíneos y/o isonímicos	23
Casos múltiples	2
Con estudio citogenético	12
X-frágil por citogenética	2
X-frágil por citoquímica	1
Con acidosis metabólica HCO_3^- 21 mEq/L	24
+ láctico 2,7 mM	19
Con HCO_3^- 18 mEq/L	9
+ acidosis láctica	5
Sólo acidosis láctica	10
Con estudio de aminoácidos plasmáticos	17
Bajo tratamiento con piridoxina	8
Con respuesta a piridoxina	3
Con síndrome de Martín Bell	2
Con fenilcetonuria	1
Con aciduria dicarboxilica	1
Con síndrome de Rett	1

positivas, lo cual llevó al diagnóstico de fenilcetonuria, al demostrarse excreción urinaria aumentada de fenilalanina e hiperfenilalaninemia. En otra niña con defectos de adquisición de lenguaje se detectó una aciduria dicarboxilica, la cual ha mejorado bajo terapia con L-carnitina (Moreno Fuenmayor y col. inédito); una paciente remitida como síndrome autista, se diagnosticó como síndrome de Rett en vista de presentar varios de los criterios diagnósticos conocidos además de los característicos movimientos de las manos (38, 40, 63, 64, 90). No hemos detectado pacientes con síndrome de Asperger (10, 21, 88).

Veinticuatro de los pacientes tuvieron bicarbonato sérico menor de 21 mEq/lit; en diez y nueve de ellos el piruvato y el lactato estaban por encima de 0.17 mM y 2.7 mM, respectivamente, nueve tenían bicarbonato sérico por debajo de 18 mEq/lit, pero sólo cinco combinaban acidosis láctico-pirúvica y acidosis metabólica (Tabla I). Los valores plasmático de lactato fueron $1,92 \pm 0,77$ mM y de piruvato $0,125 \pm 0,045$ mM en pacientes autistas y de $0,83 \pm 0,17$ y $0,06 \pm 0,01$ respectivamente en controles apareados por edad y sexo (n= 24). Diez progenitores (8 madres) tuvieron valores respectivos de $0,95 \pm 0,28$ mM y $0,079 \pm 0,01$ (datos no mostrados). El ácido

glutámico alcanzó valores de $191,25 \pm 103,46$ μM en autistas y $102,9 \pm 4,44$ μM en controles normales; el ácido aspártico tuvo valores respectivos de $19,56 \pm 3,82$ μM y $8,53 \pm 0,55$; $n=17$. Las diferencias fueron altamente significativas para cada uno de los pares arriba indicados ($p < 0,01$; prueba "t" de Student). (Fig. 2).

encontraron elevados; los valores observados y la significación estadística de las diferencias entre autistas y controles, se indican en la Tabla II. Para el análisis de esta muestra, no se separaron los pacientes con hallazgos normales.

Megavitaminoterapia: En los ocho pacientes con acidosis metabólica que se trataron con

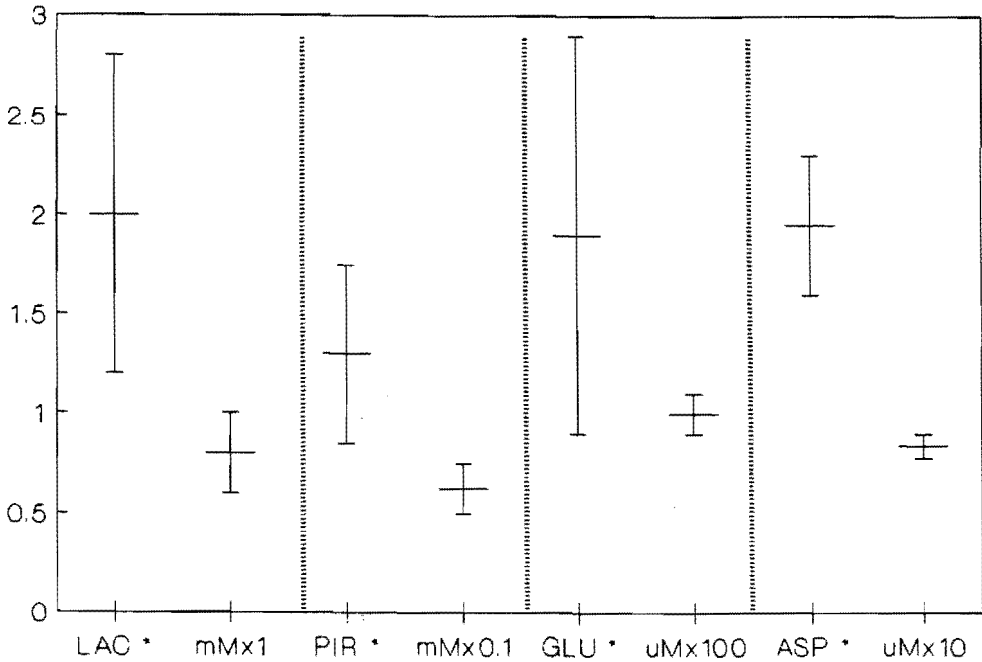


Fig. 2 Ácidos orgánicos en autistas y controles

Aminoácidos plasmáticos: Los aminoácidos alanina, arginina, asparagina, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, serina, treonina, tirosina y valina, estaban disminuidos en las muestras plasmáticas de los autistas ($n=17$); mientras que la taurina y los ácidos orgánicos glutámico y aspártico se

megadosis (900 mg) de piridoxina (Suprabión^(R)), complejo B vía oral una dosis diaria (Benutrex- B12^(R)) y tabletas de magnesio (500 mg), en la búsqueda de mejoría clínica evidenciada por la ganancia de lenguaje, rango de atención, memoria y afectividad, uno se reportó empeorado, otro no respondió al tratamiento y tres no se

TABLA II
AMINOACIDOS PLASMATICOS (μM) EN CONTROLES Y AUTISTAS

Aminoacido	Controles (n = 17) x \pm (es)	Autistas (n= 17) x \pm (es)	p
Alanina	417,2 (18,8)	321,0 (35,0)	< 0,05
Aminobutirico	20,7 (1,7)	18,3 (3,4)	> 0,10
Arginina	67,6 (4,2)	49,8 (4,9)	< 0,01
Asparagina	59,2 (4,2)	37,8 (5,2)	< 0,01
Aspártico	8,5 (0,5)	19,6 (3,8)	< 0,01
Citrulina	34,0 (3,5)	26,6 (1,4)	> 0,10
Glutamina	585,0 (24,9)	356,8 (41,5)	< 0,01
Glutámico	102,9 (4,3)	202,5 (23,0)	< 0,01
Glicina	325,2 (21,8)	225,2 (16,5)	< 0,01
Histidina	68,9 (3,4)	52,7 (4,7)	< 0,01
Isoleucina	70,5 (3,9)	55,0 (4,4)	< 0,01
Leucina	138,6 (7,4)	102,6 (7,2)	< 0,01
Lisina	166,1 (14,2)	109,0 (16,9)	< 0,05
Metionina	26,6 (1,9)	19,6 (1,7)	< 0,01
Ornitina	41,7 (4,7)	30,7 (10,4)	> 0,10
Fenilalanina	63,4 (3,0)	54,3 (5,1)	> 0,10
Serina	174,4 (10,5)	132,4 (12,7)	< 0,05
Taurina	42,3 (1,4)	80,2 (23,7)	< 0,01
Treonina	150,9 (10,7)	88,0 (10,8)	< 0,01
Triptofano	59,3 (3,2)	47,6 (5,5)	< 0,10
Tirosina	81,7 (6,5)	62,9 (6,1)	< 0,05
Valina	242,6 (9,7)	199,5 (17,5)	< 0,05

reportaron de nuevo a la consulta. En uno de estos, la madre reportó poliuria por lo cual se suspendió el tratamiento.

Análisis de genealogías:

Uniones consanguíneas, adoptados, casos múltiples y razón sexual: Veintitres (14%) de las genealogías (n = 60), exhibían uniones consanguíneas o isonímicas entre los progenitores de los probandos. Tres pacientes eran adoptados y había tres genealogías con 2 afectados y una con 3 afectados. Se observó un mayor número de varones afectados que de

hembras, pero la razón sexual entre los hermanos de los afectados (Barrai I., comunicación personal) no difiere de 1:1.

Familias ligadas: Treinta y cuatro de las genealogías, podían ligarse entre sí a través de por lo menos un apellido ancestral ("familias ligadas") Fig. 3.

Coefficiente de consanguinidad: El coeficiente de consanguinidad promedio (97) en las "familias ligadas" fue $F = 4,7 \times 10^{-3}$ sin considerar la isonimia y de $F = 2 \times 10^{-2}$ cuando se consideró la misma (esperado: $F = 3,1$ a 8×10^{-4}) (58).

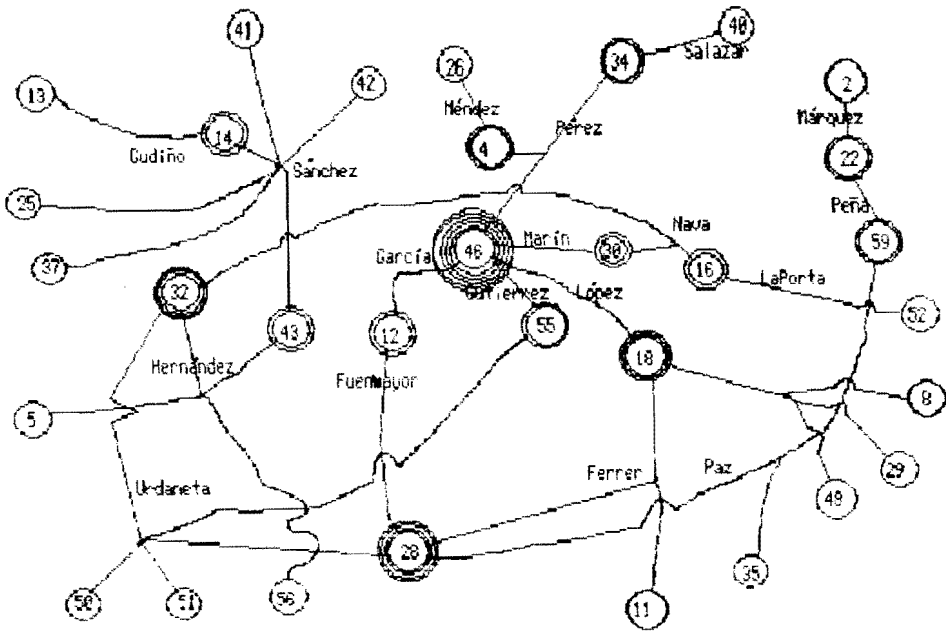


Fig. 3: Familias ligadas por apellidos ancestrales.

Cada número corresponde al de una familia en la base de datos. Se indican los apellidos de los abuelos a través de los cuales es posible ligar las familias. Así, las familias 5, 28, 32, 50, 51 y 55 tienen por lo menos un abuelo de apellido Urdaneta. Las familias 5, 32, 43 y 56 comparten en común por lo menos un abuelo de apellido Hernández, mientras que las familias 14, 25, 37, 41, 42 y 43 tienen por lo menos un abuelo de apellido Sánchez. Veinte familias "periféricas" ligan a través de un solo apellido. Las familias que ligan más de una vez ($n = 14$) se indican en negrilla, se subraya la primera vez que aparece. Nótese que existen familias que ligan a través de más de dos apellidos tal como ocurre con las No. 18, 28 y 46 ("familias centrales"). El número de círculos indica cuantos tenían apellidos comunes a otras tantas familias con niños autistas.

Análisis de segregación:

Debido a que la mayoría de los casos eran aislados y existía afectación de ambos sexos, se decidió aplicar el análisis de segregación para herencia recesiva (24,39). En el conjunto total de estas familias la probabilidad para herencia recesiva fue $p = 0.10$; en el conjunto de "familias ligadas" (59) esta fue $p = 0.20$.

DISCUSION

Es un axioma fundamental de la genética médica, que si la causa de un trastorno determinado es desconocida, debe presumirse que el mismo es etiológicamente heterogéneo, hasta demostrar lo contrario. Entretanto se prueba este hecho, uno habla informalmente de SINDROME. Tan pronto como al

síndrome se le reconoce más de una causa, se habla más adecuadamente de FENOTIPO (64). Un ejemplo es el síndrome de Sanfilippo, al cual ahora se le han definido por lo menos cuatro mutaciones genéticas distintas.

El autismo infantil, es reconocido como un SINDROME, pero desde nuestro punto de vista, puede realmente ser considerado como un SIGNO CLINICO (el comportamiento autista). Todo individuo con este tipo de comportamiento, indistintamente de la base etiológica del mismo, debe ser considerado como de FENOTIPO AUTISTA, aún cuando las causas del mismo sean desconocidas.

Gracias a la difusión implementada por los medios de comunicación, el reconocimiento del fenotipo autista es ahora mucho más frecuente. Pero ello mismo lleva a la creencia de que todo autista presenta una entidad clínica única y que todo individuo con conductas autistas presenta el síndrome autista; esto trae como consecuencia: a) agrupar distintas entidades clínicas; b) unificar erradamente criterios de tratamiento y c) un asesoramiento genético mal fundamentado.

Los resultados de los estudios aquí presentados demuestran una heterogeneidad clínica, bioquímica y genética en las 60 familias analizadas.

La hipoplasia medio facial y la displasia de orejas aquí señalada no ha sido previamente indicada. La displasia de las orejas la hemos observado en pacientes no autistas con acidosis metabólica y en

personas normales, pero sugerimos que la misma sea considerada en el diagnóstico clínico del fenotipo autista. Desde el punto de vista psiquiátrico, los trastornos afectivos y los de relación social, cuantificados según la escala RF de evaluación (29), fueron en ese orden los más severamente deteriorados. En general los niños estaban severamente afectados como lo indica un valor de escala RF promedio de 0.8. Solo 4 de los niños (n= 24), tenían valores RF menores de 0.5.

Encontramos pacientes con acidosis metabólica (n= 24), relacionada (n= 5) o no (n= 19) a la acidosis láctica. La acidosis láctica en estos pacientes debe ser muy bien documentada, para evitar una correlación espúrea con la acidosis láctica transitoria observada por condiciones de la toma de muestra en pacientes muy agitados y con estasis venosa prolongada por el torniquete previa a la toma de la muestra. Los pacientes con acidosis láctica sin otras alteraciones metabólicas (n= 10), probablemente presentaron un cuadro transitorio debido a condiciones de toma de muestra. Pero aquellos con acidosis metabólica ($\text{HCO}_3 < 18 \text{ mEq/l}$) sin acidosis láctica (n= 9), bien podrían haber estado afectados por otro tipo de acidemia orgánica.

Algunos pacientes (n= 7) presentaron aumento de glutamato asociado o no a incrementos de aspartato y taurina (Moreno Fuenmayor y col. 1992, inédito).

La asociación entre autismo y X-frágil (n= 3) fue observada en esta serie, así como también con el

síndrome de Rett ($n = 1$), la fenilcetonuria ($n = 1$) y la aciduria dicarboxilica ($n = 1$); esta última, constituye un ejemplo de autismo y acidemia orgánica distinta de la acidosis láctica.

El uso de la técnica citoquímica para estimar la presencia del cromosoma X-frágil se racionalizó como sigue: la pérdida del segmento terminal del cromosoma X, a partir de Xq 27.3, consecuencia de la presencia del cromosoma X-frágil en el eritroblasto, daría como resultado una generación de eritrocitos deficientes en G6PD, los cuales se pueden demostrar individualmente en frotis sanguíneos tratados con formazán (80). Esta claro, que el método solo puede estimar, con un margen de error desconocido, la presencia del cromosoma X-frágil, por cuanto falta realizar una investigación que correlacione los hallazgos citogenéticos y citoquímicos, en pacientes con X-frágil y por consiguiente los datos basados en esta técnica deberán tomarse con cautela.

Para enfatizar la presencia de la heterogeneidad genética en el síndrome autista, se incluyeron todos los casos clínicos en el análisis de segregación, aún a sabiendas de que los casos de adoptados, el síndrome de Martín Bell y el síndrome de Rett, no deberían ser incluidos en el análisis de herencia recesiva. Pero el ligamento por isonimia ancestral de las familias involucradas sirve asimismo, para demostrar la heterogeneidad genética en este grupo de probandos. Naturalmente, que la asociación de familias que comparten un apellido

ancestral, no necesariamente indica parentesco entre las mismas, ni tampoco que fenotipos similares compartan un mismo genotipo por este hecho; pero esta estrategia permitiría agrupar con un margen menor de error, los casos familiares de etiología común (59). Al restringir el análisis genealógico para herencia recesiva al grupo de las 34 familias ligadas, la probabilidad de herencia fue ($p = 0.20$) más cercana a la esperada para herencia recesiva. La búsqueda de marcadores genéticos de ADN para el autismo se facilitaría seleccionando autistas con similar fenotipo en el grupo de familias ligadas por apellidos de baja frecuencia poblacional. Otros autores han reportado datos que sugieren un origen genético para el autismo (27, 28, 72) o evidencia para herencia recesiva en familias de autistas (71).

La mayoría de las familias, exhibían un solo probando, generalmente varón. Solo se observaron 10 hembras, pero la razón sexual entre los hermanos de los propósitos no difiere de 1:1, por lo cual se concluye que la razón sexual desviada en esta entidad clínica (86) es consecuencia de un sesgo de selección (Barrai, l., comunicación personal). Esto puede estar relacionado también a la heterogeneidad clínica subyacente sospechada en este síndrome. Es posible que en algunas familias exista un subdiagnóstico en la hermandad por variabilidad en la expresión clínica, especialmente en hembras, o por la falta de oportunidad de exposición a un agente ambiental desencadenante.

Los estudios sobre gemelos idénticos autistas (28) donde la concordancia alcanza el 90% solo en la adolescencia, favorecen esta última presunción.

Ya que más de la mitad de las familias aquí presentadas, pertenecían al grupo de las "ligadas" y de éstas veintitrés exhibían uniones consanguíneas o isonímicas, podemos suponer que ellas podrían representar los casos familiares, donde seguramente también existe heterogeneidad, en vista de lo disímil de los hallazgos bioquímicos y de la respuesta a la vitaminoterapia.

Estos hallazgos confirman indirectamente, que las muestras heterogéneas pueden subagruparse de acuerdo a ciertos datos genealógicos, tal como la consanguinidad y la isonimia ancestral. La proporción de probandos con los hallazgos físicos y bioquímicos definidos arriba, es similar a la proporción de familias ligadas por isonimia. Si nuestro análisis es correcto, de las 52 familias que quedan al descartar los casos clínicamente definidos y los adoptados, es posible que los casos familiares, constituyan aproximadamente un 60% del total.

Los casos con respuesta terapéutica a la vitaminoterapia son particularmente interesantes, en vista de las descripciones previas sobre enfermedades metabólicas co-factor dependientes (77) y representan formas clínicas dignas de estudio aparte. Las mutaciones que distinguen formas metabólicas con o sin respuesta a terapia con megadosis de vitamina B6, son probablemente no alélicas, tal como

ocurre en otros defectos metabólicos co-factor dependientes (3, 20, 81).

Este tratamiento debe instaurarse en pacientes previamente evaluados desde el punto de vista metabólico y en una forma controlada, evitando en lo posible las impresiones subjetivas de mejoría clínica, tal como las que hemos señalado en este estudio preliminar. Desafortunadamente sin embargo, el conocimiento de este tipo de terapia por parte de pediatras, neuropediatras y familiares de los pacientes afectados, repercute en el hecho que la mayoría de los pacientes autistas, cuando llegan para ser evaluados, ya han recibido dosis elevadas de vitamina B6. En estos casos, el tratamiento debe suspenderse antes de iniciar las evaluaciones de carácter metabólico.

Las alteraciones de aminoácidos plasmáticos aquí presentadas, no han sido previamente reportadas. La interpretación de estos hallazgos es difícil en este momento y es objeto de discusión aparte (Plasma amino acids in autistic children, Moreno Fuenmayor et al., 1992, inédito), pero los aminoácidos plasmáticos deben medirse en todo paciente con fenotipo autista.

Se han reportado incrementos en serotonina plaquetaria en autistas (4, 16, 19, 31, 45, 46, 49, 66, 75) y otros hallazgos metabólicos (5, 7, 26, 42, 48, 49, 55, 56, 73, 74, 94) entre ellos acidosis láctica (15), los cuales deben tomarse en cuenta para la evaluación sistematizada de niños con fenotipo autista. Nosotros no hemos realizado estudios de serotonina en autismo. La acidosis

láctica congénita también ha sido reportada en pacientes no autistas (76).

La etiología del autismo ha de ser variada, ya que los sistemas orgánicos por medio de los cuales el cerebro permite que el individuo interprete las sensaciones percibidas por los órganos de los sentidos (en base a la experiencia acumulada, y las interrelaciones entre memoria, propiocepción y estereognosia) lo cual permite el aprendizaje y la vida normal de relación, se instuyen sumamente complicados (27). Las causas que conducen a la aparición del fenotipo autista probablemente dependan de alteraciones a distintos niveles de estos sistemas. El estudio de individuos con el fenotipo autista, debe llevar a discernir paulatinamente la fisiopatología de estos sistemas orgánicos en el cerebro.

Las investigaciones futuras sobre autismo, deberán centrarse en el estudio de casos agrupados adecuadamente, de acuerdo a características clínicas, bioquímicas y genealógicas, como paso previo a la definición genotípica (64). Es importante la utilización de una clasificación de base, que nos sirva como punto de partida para definiciones futuras del síndrome autista y por ello, se asoma una clasificación clínica del síndrome autista, basada en los hallazgos aquí presentados.

1.- Pacientes con fenotipo autista afectados de trastornos clínicamente definidos, p.ej. X-frágil.

2.- Otros pacientes con fenotipo autista que cumplen criterios psiquiátricos (DSM-III) con o sin

displasia auricular o acidosis metabólica.

3.- Pacientes con fenotipo autista, con o sin displasia auricular, con o sin acidosis metabólica, pero con respuesta terapéutica a megadosis de vitamina B₆, complejo B y magnesio.

La evaluación sistematizada del niño autista, debe tomar un enfoque multidisciplinario, a partir del médico de primera línea que detecta el caso. Las evaluaciones psiquiátrica, neurológica y genética, son complementarias entre sí, y ninguna debe prescindir de las otras.

La exploración de laboratorio incluirá la rutina, el despistaje metabólico, la evaluación del equilibrio ácido-básico, un cariotipo (para distinguir aquellos casos con defectos cromosómicos y X-frágil) y la medida de ácidos orgánicos, incluyendo glutamato, aspartato y taurina, junto con los aminoácidos plasmáticos. En los casos de autismo familiar deben medirse los niveles de serotonina, y en todos los casos debe intentarse el tratamiento con megadosis de vitamina B₆, monitorizando al mismo tiempo los parámetros clínicos y bioquímicos.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia, la Unidad de Genética Médica de la Facultad de Medicina de LUZ y el Instituto de Biomedicina (INBIOMED).

ABSTRACT

Clinical heterogeneity of the autistic syndrome: A study on sixty families. Moreno H. (Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad Zulia, Maracaibo, Venezuela), Borjas L., Arrieta A., Sáez L., Prasad A., Estévez J. y Bonilla E. *Invest Clín* 33(1) 13 - 31, 1992.

Sixty families ascertained through a single proband, has helped to better define infantile autism as a heterogeneous group of disorders. Forty four patients showed a characteristic facio-auricular dysplasia. Twenty four of these, showed increased pyruvate and lactate and laboratory findings of metabolic acidosis i.e., anion gap above 18 mEq/L or serum bicarbonate below 21 mEq/L but only nine of these probands demonstrated reduction of plasma bicarbonate below 18 mEq/L. Plasma amino acids in 17 probands and matched controls showed increased taurine with the rest of amino acids significantly ($p < 0.05$) below the control level. Glutamate and aspartate were also significantly elevated ($p < 0.05$; Student t-test). Segregation analysis in thirty four of these families which linked through at least one ancestral family name, suggested autosomal recessive inheritance ($p = 0.20$). Three out of eight probands who received megadosis of pyridoxine (Vitamin B6), subjectively gained in language abilities, affectivity and response to conductual modification therapy. Five autistic patients proved to have clinically defined syndromes:

two with the Martin-Bell syndrome, and three girls affected respectively with the Rett syndrome, phenylketonuria and dicarboxylic aciduria.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 -ABRUZZO M.A., MAYER M., JACOBS P.: The effect of methionine and 5-azacytidine on fragile-X expresión. *Am J Hum Genet* 37:193-198, 1985.
- 2 -AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. (DSM-III). 3rd. Ed, Washington, D.C., 1980.
- 3 -AMPOLA M.G., MAHONEY M.J., NAKAMURA E., TANAKA K.: Prenatal therapy of a patient with vitamin-B12 responsive methylmalonic aciduria. *New Engl J Med* 239:313-317, 1975.
- 4 -ANDERSON G.M., FREEDMAN D.X., COHEN D.J., VOLKMAR F.R., HODER E.L., McPHEDRAN P., MINDARAA R.B., HANSEN C.R., YOUNG J.G.: Whole blood serotonin in autistic and normal subjects. *J Child Psychol Psychiatry* 28(6):885-900, 1987.
- 5 -ANDERSON G.M., ROSS D.L., KLYKYLO W., FEIBEL F.C., COHEN D.J.: Cerebrospinal fluid indolacetic acid in autistic subjects. *J Autism Dev Disord* 18(2):259-62, 1988.
- 6 -BAIRD T.D., AUGUST G.J.: Familiar heterogeneity in infantile autism. *J Autism Dev Disord* 15(3):315-321, 1985.
- 7 -BARTHELEMY C., BRUNEAU N., COTTET-EYMARD J.M., DOMENECH- JOUVE J., GARREAU B., LELORD G., MUH J.P., PEYRIN L.: Urinary free and conjugated catecholamines and metabolites in autistic children. *J Autism Dev Disord* 18(4):583-91, 1988.
- 3 -BLOMQUIST H.K., BOHMAN M., EDVINSON S.O., GILBERG C., GUSTAVSON K.H., HOMGREN G., WAHLSTROM J.: Frequency of the

- fragile X syndrome in infantile autism. *Clinical Genetics* 27:113-117, 1985.
- 9 -BONILLA E., PRASSAD A.L.N., ESTEVES J., HERNANDEZ H., ARRIETA A.: Free amino acids in the striatum of mice infected with Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus. *Experiment Neurol* 93:434-439, 1986.
 - 10 -BOWMAN E.P.: Asperger's syndrome and autism: The case for a connection. *Br J Psychiatry* 152:377-382, 1988.
 - 11 -BROWN W.T., JENKINS E.C., COHEN I.L., FISCH G.S., WOLFSCHHEIN E.G., GROSS A., WATERHOUSE L., FEIN D., MASON-BROTHERS A., RITVO E., RUTTHENBERG B.A., BENTLEY W., CASTELLS S.: Fragile X and autism: A multicentric survey. *Am J Med Genet* 23:341-342, 1986.
 - 12 -BURD L., KERBESHIAN J.: Diagnosis of autism and other developmental disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 12(3-4):275-282, 1988.
 - 13 -BURD L., KERBESHIAN J., FISHER W., MARTSOLF J.T.: A case of autism and mosaic of trisomy 8 (letter). *J Autism Dev Disord* 15(3):351-2, 1985.
 - 14 -COLEMAN M.: A report of the autistic syndromes en Rutter M. y Schopler E. *Autism: A Reappraisal of Concepts and Treatment.* (eds) Plenum Press. New York. 1978.
 - 15 -COLEMAN M., BLASS J.P.: Autism and lactic acidosis. *J Autism Develop Dis* 15(1):1-8, 1985.
 - 16 -COOK E.H., LEVENTHAL B.L., FREEDMAN D.X.: Free serotonin in plasma: autistic children and their first-degree relatives. *Biol Psychiatry* 24(4):488-91, 1988.
 - 17 -CROWE R.R., TSAI L.Y., MURRAY J.C., PATIL S.R., QUINN J.: A study of autism using X chromosome DNA probes. *Biol Psychiatry* 24(4):473-479, 1988.
 - 18 -DE LA BARRA F., SKOKNIC V., ALLIEDE A., RAIMANN E., CORTES F., LACASSIE Y.: Gemelas con autismo y retardo mental asociado a translocación cromosómica balanceada (7:20). *Rev Chil Pediatr* 57(6):549-54, 1986.
 - 19 -DE VILLARD R., FLACHAIRE E., THOULON J.M., DALERY J., MAILLET J., CHAUVIN C., QUINCY C., RENAUD B.: Etude de la concentration en serotonine plaquettaire chez des enfants autistes et parmi les membres de leurs familles. *Encephale* 12(4):139-42, 1986.
 - 20 -DELVIN E., SCRIVER C.R., GAGNAN-BRUNETTE M., HACHEL B.: Mechanism for thiamine responsiveness in pyruvic acidemia due to pyruvate carboxylase deficiency: A proposal. (Abstract). *Proc Cand Fed Biol Sci* 14:168, 1971.
 - 21 -DELONG G.R., DWYER J.T.: Correlation of family history with specific autistic subgroups: Asperger's syndrome and bipolar affective disease. *J Autism Dev Disord* 18(4):593-600, 1988.
 - 22 -DEMEYER W., DEMEYER M.: Infantile autism. *Neurologic Clinics* 2(1):139-152, 1984.
 - 23 -EDWARDS D.R., KEPPEL L.D., RANELLS J.D., GOLLIN S.M.: Autism in association with fragile X syndrome in females: implications for diagnosis and treatment in children. *Neurotoxicology* 9(3):359-365, 1988.
 - 24 -EMERY A.E.H.: Segregation analysis. En: *Methodology in Medical Genetics: An Introduction to Statistical Methods.* pp 35-50, Churchill Livingstone, 1976.
 - 25 -FAIRBANKS V., LAMPE L.T.: A tetrazolium linked cytochemical method for estimation of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in individual erythrocytes: Applications in the study of heterozygotes for glucose 6 phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood* 31(5):589-603, 1968.

- 26 -FILINGER E.J., GARCIA-COTTO M.A., VILLA S., GERBALDO H., JEREZ D.: Possible relationship between pervasive developmental disorders and platelet monoamine oxidase activity. *Braz J Med Biol Res* 20(2):161-4, 1987.
- 27 - FOLSTEIN S.E.: Genetic aspects of infantile autism. *Ann Rev Med* 36:415-419, 1985.
- 28 -FOLSTEIN S., RUTTER M.: Infantile autism: A genetic study of 21 twin pairs. *J Child Psychol Psychiat* 18:279-321, 1977.
- 29 -FREEMAN B.J.: A scale for rating symptoms of patients with the syndrome of autism in real life settings. *J Am Acad Child Psychiat* 1984.
- 30 -GEBRE-MARIAMA.: Infantile autism following hypoxic- ischaemic encephalopathy in an Ethiopian child. *Ethiop Med J* 24(4):179-182, 1986.
- 31 -GELLER E., YUWILER A., FREEMAN B.J., RITVO E.: Platelet size, number, and serotonin content in blood of autistic, childhood, schizophrenic and normal children. *J Autism Dev Disord* 18(1):119-126, 1988.
- 32 -GILLBERG C.: Onset at age 14 of a typical autistic syndrome. A case report of a girl with herpes simplex encephalitis. *J Autism Dev Disord* 16(3):369-375, 1986.
- 33 -GOLDFINE P.E., McPHERSON P.M., HEATH G.A., HARDESTY V.A., BEUREGARD L.J., GORDON B.: Association of fragile X syndrome with autism. *Am J Psychiatry* 142(1):109-110, 1985.
- 34 -GILLBERG C., OHLSON V.A., WAHLSTROM J., STEFFENBURG S., BLIX K.: Monozygotic female twins with autism and the fragile-X syndrome (AFRAX). *J Child Psychol Psychiatry* 29(4):477-451, 1988.
- 35 -GILLBERG C., WAHLSTROM J.: Chromosome abnormalities in infantile autism and other childhood psychoses: A population study of 66 cases. *Dev Med Chil Neurol* 27(3):293-304, 1985.
- 36 -GILLBERG C., WINNERGARD I., WAHLSTROM J.: The sex chromosomes one key to autism? An XYY case of infantile autism. *Appl Ment Retard* 5(3):353-360, 1984.
- 37 -GOODMAN R.: Infantile autism: A syndrome of multiple primary deficits?. *J Autism Dev Disord* 19(3):409-424, 1989.
- 38 -HAGBERG B., AICARDI J., DIAS K., RAMOS O.: A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett syndrome: Report of 35 cases. *Ann Neurol* 14:4471-4479, 1983.
- 39 -HOBGEN L.: The genetic analysis of familiar traits. I. Single gen substitutions. *J Genet* 25:97-112, 1931.
- 40 -HOLM V.A.: Rett's syndrome: A progressive developmental disability in girls. *J Dev Behav Pediat* 6:32-36, 1985.
- 41 -IVARSSON S.A., BJERRE I., VEGFORDS P., AHFORS K.: Autism as one of several disabilities in two children with congenital cytomegalovirus infection. *Neuropediatrics* 21(2):102, 1990.
- 42 -JAEKEN J., VAN DER BERGHE G.: An infantile autistic syndrome characterized by the presence of succinylpurines in body fluids. *Lancet* II: 1058-1061, 1984.
- 43 -JORGENSEN O.S., NIELSEN K.B., ISAGERT., MOURIDSEN S.E.: Fragile X-chromosome among child psychiatric patients with disturbances of language and social relationships. A pilot study. *Acta Psychiatr Scand* 70(5):510-514, 1984.
- 44 -KANNER L.: Autistic disturbances of affective contact. *Nerv Child* 2:217-250, 1943.
- 45 -KUPERMAN S., BEEGHLY J., BURNS T., TSAI L.: Association of serotonin concentration to behavior and IQ in autistic children. *J Autism Dev Disord* 17(1):133-40, 1987.
- 46 -KUPERMAN S., BEEGHLY J.H., BURNST.L., TSAI L.Y.: Serotonin relationships of autistic probands and

- their first degree relatives. *J Am Acad Child Psychiatry* 24(2):186-190, 1985.
- 47 -LAPERCHIA P.: Behavioral disorders, learning disabilities and megavitamin therapy. *Adolescence* 22(87):729-738, 1987.
- 48 -LAUNAY J.M., BURSZTEJN C., FERRARI P., DREUX C., BRACONNIER A., ZARIFIAN E., LANCRENON S., FERMANIAN J.: Catecholamines metabolism in infantile autism: A controlled study of 22 autistic children. *J Autism Dev Disord* 17(3):333-347, 1987.
- 49 -LAUNAY J.M., FERRARI P., HAIMART M., BURSZTEJN C., TABUTEAU F., BRACONNIER A., PASQUES-BONDOUX D., LUONG C., DREUX C.: Serotonin metabolism and other biochemical parameters in infantile autism. A controlled study of 22 autistic children. *Neuropsychobiology* 20(1):1-11, 1988.
- 50 -LAWLOR B.A., MAURER R.G.: Tuberculous sclerosis and the autistic syndrome. *Br J Psychiatry* 150:296-397, 1987.
- 51 -MARINER R., JACKSON A.W., LEVITAS A., HAGERMAN R.J., BRADEN M., McBOGG P.M., SMITH A.C., BERRY R.: Autism, mental retardation, and chromosomal abnormalities. *J Autism Dev Disord* 16(4):425-440, 1986.
- 52 -MARTINEU J., BARTHELEMY C., CHELIAKINE C., LELORD G.: Brief report: An open middle-term study of combined vitamin B6- magnesium in a subgroup of autistic children selected on their sensitivity to this treatment. *J Autism Dev Disord* 18(3), 435-437, 1988.
- 53 -MARTINEU J., BARTHELEMY C., GARREAU B., LELORD G.: Vitamin B6, magnesium and combined B6-Mg: Therapeutic effects in childhood autism. *Biol Psychiatry* 20(5):467-478, 1985.
- 54 -MILES S.W., CAPELLE P.: Asperger's syndrome and aminoaciduria: A case example. *Br J Psychiatry* 150:397-400, 1987.
- 55 -MINDARAA R.B., ANDERSON G.M., VOLKMAR F.R., HARCHERICK D., AKKERHUIS G.W., COHEN D.J.: Whole blood serotonin and tryptophan in autism: Temporal stability and the effect of medication. *J Autism Dev Disord* 19(1):129-136, 1989.
- 56 -MINDARAA R.B., ANDERSON G.M., VOLKMAR F.R., AKKERHUIS G.W., COHEN D.J.: Urinary 5-hydroxyindolacetic acid and whole blood serotonin and tryptophan in autistic and normal subjects. *Biol Psychiatry* 22(8):933-940, 1987.
- 57 -MINSHEW N.J., PAYTON J.B.: New perspectives in autism. Part II: The differential diagnosis and neurobiology of autism. *Curr Probl Pediatr* 18(11):613-694, 1988.
- 58 -MORENO H.: Herencia y patología: Consanguinidad en familias y patología clínica en una muestra de genealogías. *Invest Clín* 25(3):177-188, 1984.
- 59 -MORENO H.: Ligamiento por isoniemia en síndromes de etiología heterogénea. (Abstract) *Avances en Genética. Memorias del IV Congreso Venezolano de Genética*. Aida Falcón de Vargas (ed.). Editorial Sucre C.A. Caracas. 1991.
- 60 -MORENO H., GONZALEZ B.: Programa diagnóstico de enfermedades metabólicas. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*. 47:(3,4):61-70, 1984.
- 61 -MORENO H., SUAREZ-MUÑOZ M., GONZALEZ B.: Despijaje metabólico de alto riesgo. Resultados de los dos primeros años de estudio en Maracaibo. *Invest Clín* 18:186-196, 1977.
- 62 -MORROW J.D., WHITMAN B., ACCADIO P.J.: Autistic disorder in Soto's syndrome: A case report. *European J Pediatr* 149:567, 1990.

- 63 -OLSSON B.: Autistic traits in the Rett syndrome. *Brain Dev* 9(5):491-498, 1987.
- 64 -OPTIZ J.M.: Editorial Comment: Rett syndrome: Some comments on terminology and diagnosis. *Am J Med Genet* 24:27-37, 1986.
- 65 -OTTOLINA-BRACAMONTE N. y col.: Síndrome de Down por extra cromosoma 21 en anillo. (Abstract) *Avances en Genética. Memorias del IV Congreso Venezolano de Genética. Aida Falcón de Vargas (ed.). Editorial Sucre C.A. Caracas. 1991.*
- 66 -PIVEN J., TSAI G., NEHEME E., COYLE J., CHASE G., FOLSTEIN S.: Platelet serotonin, a posible marker for familiar autism (Abstract). *Amer J Hum Genet* 45(4):A58 (0222) 1.123, 1989.
- 67 -PUESCHEL S.M., HERMAN R., GRODEN G.: Brief report: screening children with autism for fragile-X syndrome and phenylketonuria. *J Autism Dev Disord* 15(3):335-338, 1985.
- 68 -REICHELT K.L., SAELID G., LINDBACK T., BOLER J.B.: Childhood autism: A complex disorder. *Biol Psychiat* 21(13):1279-1290, 1986.
- 69 -RICHMAN N.: Autism: Making an early diagnosis. *Practitioner* 232(1449):601-605, 1988.
- 70 -RIMBLAND B.: Controversies in the treatment of autistic children: Vitamin and drug therapy. *J Chil Neurol* 3 Suppl S68-72, 1988.
- 71 -RITVO E.R.: Evidence for autosomal recessive inheritance in 46 families with multiple incidence of autism. *Am J Psychiat* 142(2):187-192, 1985.
- 72 -RITVO E.R., FREEMAN B.J., MASON-BROTHERS A., MO A., RITVO A.M.: Concordance for the syndrome of autism in 40 pairs of afflicted twins. *Am J Psychiatry* 142(1):74-77, 1985.
- 73 -RITVO E.R., RABIN K., YUWILLERA., FREEMAN B.J., GELLER E.: Biochemical and hematological studies of children with the syndrome of autism, childhood schizophrenia and related developmental disabilities: A critical review. En: *Autism: A Reappraisal of Concepts and Treatment.* Rutter M. y Schopler E. eds. Plenum Press, New York, 1978.
- 74 -RITVO E.R., YUWILER A., GELLER E., KALES A., RASHKINS S., SCHICOR A., PLOTKIN S., AXELROD R., HOWARD C.: Effects of L-DOPA in autism. *J Aut Chil Schiz* 1:190-205, 1971.
- 75 -RITVO E.R., YUWILER A., GELLER E., ORNITZ E.M., SAEGER K., PLOTKIN S.: Increase blood serotonin and platelets in early infantile autism. *Arch Gen Psychiat* 23:556-572, 1970.
- 76 -ROBINSON B.H., MCKAY N., GOOD-YEAR P., LANCASTER G.: Defective intramitochondrial NADH oxidation in skin fibroblast from an infant with fatal neonatal lacticacidemia. *Am J Hum Genet* 37:938-946, 1985.
- 77 -ROSENBER L.: Vitamin-dependant genetic disease. En: *Medical Genetics*, McKusick VM y Clairborne R. Eds. p 73-78. HP Publishing Co., Inc., New York, 1973.
- 78 -ROSENBERG-DABIESSE J., COLEMAN M.: Preliminary evidence for multiple etiology in autism. *J Autism Dev Disord* 16(3):385-392, 1986.
- 79 -RUTTER M.: The treatment of autistic children. *J Child Psychol Psychiatry* 26(2):193-214, 1985.
- 80 -SANCHEZ O., ALVAREZ-ARRATIA M.C., SANCHEZ O.A., GUDIÑO M., REBOLLEDO A.: Mosaicismo somático para glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en varones con diagnóstico de autismo y/o retardo mental. *Avances en Genética. pp 455, Memorias del III Congreso Venezolano de Genética. Aida Falcón de Vargas (ed.). Editorial Sucre C.A., Caracas, 1987.*
- 81 -SCRIVER C.R., MACKENZIE S., CLOW C.L., DELVIN E.: Thiamine-

- responsive maple-syrup-urine-disease. *Lancet* I:310-312, 1971.
- 82 -SANUA V.D.: The organic etiology of infantile autism: A critical review of the literature. In *J Neurosci* 30(3):195-225, 1986.
- 83 -SHIH V.: Screening tests for inherited metabolic diseases. New York. CRC Press, 1974.
- 84 -SIEGEL B., ANDERS T.F., CIARANELLO R.D., BIENENSTOCK B., KAEMER H.C.: Empirically derived subclassification of the autistic syndrome. *J Autism Dev Disord* 16(3):275-293, 1986.
- 85 -SIEGEL B., PLINER C., ESCHLER J., ELLIOTT G.R.: How children with autism are diagnosed: Difficulties in identification of children with multiple developmental delays. *J Dev Behav Pediatr* 9(4):199-204, 1988.
- 86 -SPENCE M.A., SIMMONS J.G., BROWN N.A., WIKLER L.: Sex ratios in families of autistic children. *Am J Ment Def* 77:405-407, 1973.
- 87 -SUTHERLAND G.R., HETCH F., (eds.): *Fragile Sites on Human Chromosomes*, Oxford University Press, New York, Oxford, 1985.
- 88 -SZATMARI P., BREMNER R., NAGY J.: Asperger's syndrome: A review of clinical features. *Can J Psychiatry* 34(6):554-560, 1989.
- 89 -TSAI L.Y., CROWE R.R., PATIL S.R., MURRAY J., QUINN J.: Search for DNA markers in two autistic males with the fragile X syndrome. *J Autism Dev Disord* 18(4):681-685, 1988.
- 90 -THOMAS S., HJELM M., OBERHOLZER V., BRETT E.M., WILSON J.: Rett's syndrome and ornithine carbomoyltransferase deficiency. *Lancet* II:1330-1331, 1987.
- 91 -THOMAS G.H., HOWELL R.H.: Selected screening tests for genetic metabolic diseases. p 81-96. Year Book Medical Publishers Inc., Chicago, 1973.
- 92 -VOLKMAR F.R., COHEN D.J.: Current concepts: Infantile autism and the pervasive developmental disorders. *J Dev Behav Pediatr* 7(5):324-329, 1986.
- 93 -WAHLSTROM J., STEFFENBURG S., HELLGREN L., GILLBERG C.: Chromosome findings in twins with early-onset autistic disorder. *Am J Med Genet* 32(1):19-21, 1989.
- 94 -WECKER L., MILLER S.B., COCHRAN S.R., DUGGER D.L., JOHNSON W.D.: Trace element concentration in hair from autistic children. *J Ment Def Res* 29:15-22, 1985.
- 95 -WEIR K., SALISBURY D.M.: Acute onset of autistic features following brain damage in a ten-year-old. *J Autism Dev Disord* 10(2):185-191, 1980.
- 96 -WILSON G.N., AL SAADI A.A.: Obesity and abnormal behaviour associated with interstitial deletion of chromosome 18 (q12.2q21.1). *J Med Genet* 26(1):62-63, 1989.
- 97 -WRIGHT S.: Coefficients of inbreeding and relationship. *Amer Nat* 56:330-338, 1922.
- 98 -WRIGHT H.H., YOUNG S.R., EDWARDS J.G., ABRANSON R.K., DUNCAN J.: Fragile X syndrome in a population of autistic children. *J Am Acad Child Psychiatry* 25(5):641-644, 1986.
- 99 -YUNIS J.J., CHANDLER M.E.: High-resolution chromosome analysis in clinical medicine. *Progress in Clinical Pathology*. p 267-288. M Stefanini y A Hossini (eds.). Vol II. Grune y Stratton, New York: 1977.