



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**PSICOLOGÍA**

UN MODELO EXPERIMENTAL DE AUTISMO EN RATAS:  
ANÁLISIS DE LA CONDUCTA DE INTERACCIÓN SOCIAL Y LA  
ACTIVIDAD ELECTROENCEFALOGRÁFICA

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

**P R E S E N T A N**

GIOVANNA LILIAN LICEA HAQUET

OLAF SIMÓN GARCÍA

JURADO DE EXAMEN

TUTOR: DR. ALEJANDRO VALDÉS CRUZ

COMITÉ: DR. EDUARDO ALEJANDRO ESCOTTO CORDOVA

LIC. JESÚS BARROSO OCHOA

LIC. JUAN CARLOS DEL RAZO BECERRIL

DR. VÍCTOR M. MAGDALENO MADRIGAL



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ***Agradecimientos***

*Gracias a los familiares, maestros y amigos que han brindado su apoyo y paciencia, que con sus enseñanzas, consejos y experiencia influyeron en nuestra formación.*

*A esas personas importantes de la vida, con cariño y respeto esta tesis es dedicada a ustedes.*

<b>INDICE</b>	
<b>Resumen</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
Historia .....	3
Definición y criterios diagnósticos .....	5
Epidemiología .....	9
Posibles causas .....	10
Ácido valpróico (VPA) .....	12
Anatomía del cerebro autista .....	15
Estudio del autismo .....	24
Modelos animales .....	26
Justificación y planteamiento del problema .....	34
Hipótesis .....	34
Objetivos .....	34
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	<b>35</b>
Sujetos experimentales .....	37
Procedimiento quirúrgico .....	37
Registro electroencefalográfico (EEG) .....	38
Registro de interacción social por pares .....	38
Análisis estadístico .....	38
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>40</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>48</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>57</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>59</b>

## Resumen

El autismo es un trastorno del neurodesarrollo que se caracteriza por déficits en la interacción y comunicación social, conductas estereotipadas e intereses restringidos. Un modelo animal de autismo consiste en inyectar ácido valpróico (VPA) a ratas preñadas resultando crías con características morfológicas y conductuales similares al autismo (CRAVP). Se utilizó este modelo para determinar si las crías de las ratas administradas con ácido valpróico (CRAVP) presentan alteraciones del comportamiento social asociadas con la actividad del registro electroencefalográfico (EEG). Se utilizaron 16 ratas macho de la cepa Sprague Dawley. Fueron divididas aleatoriamente en dos grupos: control (n=8) y CRAVP (n=8). Se implantaron electrodos bilateralmente en el hipocampo y en la corteza prefrontal. Se realizó una prueba de interacción social, que consistió en colocar un par de ratas en una cámara de campo abierto, al mismo tiempo se registró la actividad EEG. Se videograbaron y analizaron las conductas sociales, el tiempo acumulado de interacción y la latencia. Los registros EEG se estudiaron off line analizando la potencia absoluta de las bandas 1 a 4 Hz, 5 a 12 Hz y 13 a 30 Hz. Se realizó análisis intergrupo e intragrupo para cada variable. Las ratas CRAVP presentaron un aumento en la emisión de conductas comparadas con el grupo control, mayor latencia a explorar y diferencias intragrupalas en la latencia a la inactividad. En el análisis del EEG se encontraron diferencias en el hipocampo izquierdo en todas las bandas entre los grupos. Los resultados sugieren la importancia de la edad en el desarrollo de los síntomas y apoyan la validez del modelo VPA por las similitudes conductuales y del EEG con alteraciones presentes en personas autistas.

## ***INTRODUCCIÓN***

## Historia

Las primeras referencias de comportamientos relacionados con el autismo proceden de las tabletas de arcilla elaboradas en Mesopotamia, en las que hacían descripciones médicas de bebés que rechazaban el contacto con su madre<sup>1</sup>.

Posiblemente hubo personas que padecieron el trastorno autista antes de que se reconociera y nombrara pero al no comprender las relaciones entre el cerebro y la conducta se sugerían causas sobrenaturales como encantamientos o posesiones demoníacas. Con el paso del tiempo se han producido cambios esenciales en las ideas sobre la naturaleza de los trastornos autistas<sup>2</sup>.

Hacia finales del siglo XIX, los trastornos que ahora se consideran dentro del espectro autista se clasificaban como psicosis infantiles donde el signo principal era la conducta extravagante y extraña<sup>2</sup>. En 1908 Eugene Bleuler utilizó por primera vez el término autismo para describir la introversión social, la poca reacción a los estímulos del entorno y el fracaso en las relaciones interpersonales observadas en las personas que sufren esquizofrenia. Por eso durante algún tiempo se creyó que el autismo guardaba estrecha relación con la esquizofrenia y se utilizaba indistintamente como un criterio diagnóstico para la esquizofrenia infantil<sup>3</sup>.

Leo Kanner en 1943, empleó este término para designar un síndrome infantil muy completo basado en la observación de once niños que padecían extrañas alteraciones, hasta entonces no incluidas en la nosología psiquiátrica vigente<sup>4</sup>. En su análisis clínico, Kanner establece un conjunto de tres criterios diagnósticos para el trastorno que son: incapacidad para establecer relaciones con las personas, retrasos y alteraciones en la adquisición y uso del lenguaje y una insistencia obsesiva por a mantener un ambiente sin cambios que se acompaña de la tendencia a realizar rituales<sup>5,6</sup>.

A partir de que Kanner publicó su artículo sobre el “autismo infantil precoz” muchos creían que el autismo era un trastorno emocional, no físico y que todos los problemas se debían al modo en que los padres habían educado a sus hijos<sup>2</sup>.

A la par de Kanner, Hans Asperger describió un trastorno similar, pero sus publicaciones tardaron en trascender en la ciencia. Las características centrales que describe son: limitación en las relaciones sociales, extrañas pautas comunicativas y marcado carácter obsesivo en pensamiento y acciones, su descripción incluye pautas y principios educativos para el trastorno<sup>5,6</sup>.

En 1956 Eisenberg y Kanner simplificaron la lista y únicamente destacaron dos aspectos fundamentales: la soledad extrema y el deseo intenso de preservar la identidad que inicia durante los dos primeros años de vida<sup>7</sup>.

A partir de 1970 se distingue al autismo de la esquizofrenia infantil, estableciendo como criterio de diagnóstico diferencial la edad de aparición del trastorno, sugiriendo que el autismo es una anomalía en el proceso de desarrollo durante la infancia temprana, mientras que la esquizofrenia infantil aparece en la segunda infancia y la adolescencia e implica una pérdida del contacto con la realidad<sup>7</sup>.

En 1984 Rutter define el autismo como un síndrome conductual y destaca tres grupos de síntomas: incapacidad profunda y general para establecer relaciones sociales, alteraciones del lenguaje y de las pautas prelingüísticas y fenómenos ritualistas o compulsivos<sup>7</sup>.

Con la aparición del Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (en inglés *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, DSM), en su tercera edición (DSM III<sup>8</sup>) se emplea el término trastorno profundo del desarrollo que implica que el autismo es una alteración del desarrollo y se separa definitivamente como entidad diagnóstica de las psicosis. Posteriormente en el DSM-III-R<sup>9</sup> se incorpora el nombre trastorno Generalizado del Desarrollo, porque se consideró que el término profundo no definía adecuadamente el trastorno.

En los dos manuales de trastornos mentales internacionalmente aceptados [DSM-IV<sup>10</sup> y CIE-10<sup>11</sup> (Clasificación internacional de enfermedades)], el autismo está incluido dentro de la categoría de trastornos generalizados del desarrollo (TGD) y se le denomina trastorno autista. La categoría TGD ha substituido en estos dos sistemas de clasificación al término psicosis infantil, en el caso del DSM, fue



eliminado en el DSM-III<sup>8</sup>, porque era poco operativo e inducía a la confusión y al error<sup>12</sup>.

En el DSM-IV, los TGD se caracterizan por déficits severos y generalizados en varias áreas del desarrollo: habilidades de interacción social, habilidades de comunicación o por la presencia de conductas, intereses y actividades estereotipadas<sup>10</sup>.

### **Definición y criterios diagnósticos**

Etimológicamente la palabra autismo, proviene del griego *autos*, cuyo significado es “encerrado en uno mismo”. Es un trastorno del neurodesarrollo que aparece durante los primeros tres años de vida e interfiere en las áreas de interacción social y de habilidades de comunicación, acompañado de movimientos corporales repetitivos, respuestas inusuales a la gente, apego a los objetos y resistencia a cambios de rutina<sup>13</sup>.

En el DSM-IV-R, las características esenciales del trastorno autista son la presencia de un desarrollo marcadamente anormal y disparejo en la interacción social y la comunicación y un repertorio muy restringido de actividades e intereses<sup>14</sup>.

En el DSM-IV-R se establecieron los siguientes criterios de diagnósticos<sup>14</sup>:

A. Un total de 6 (o más) ítems de (1), (2) y (3), con por lo menos dos de (1), y uno de (2) y de (3):

(1) Alteración cualitativa de la interacción social, manifestada al menos por dos de las siguientes características:

(a) Importante alteración del uso de múltiples comportamientos no verbales, como son contacto ocular, expresión facial, posturas corporales y gestos reguladores de la interacción social.

(b) Incapacidad para desarrollar relaciones con compañeros adecuadas al nivel de desarrollo.

(c) Ausencia de la tendencia espontánea para compartir con otras persona disfrutes, intereses y objetivos (p. ej., no mostrar, traer o señalar objetos de interés).

(d) Falta de reciprocidad social o emocional.

(2) Alteración cualitativa de la comunicación manifestada al menos por dos de las siguientes características:

(a) Retraso o ausencia total del desarrollo del lenguaje oral (no acompañado de intentos para compensarlo mediante modos alternativos de comunicación, tales como gestos o mímica).

(b) En sujetos con un habla adecuada, alteración importante de la capacidad para iniciar o mantener una conversación con otros.

(c) Utilización estereotipada y repetitiva del lenguaje o lenguaje idiosincrásico.

(d) Ausencia de juego realista espontáneo, variado, o de juego imitativo social propio del nivel de desarrollo.

(3) Patrones de comportamiento, intereses y actividades restringidos, repetitivos y estereotipados, manifestados por lo menos mediante una de las siguientes características:

(a) Preocupación absorbente por uno o más patrones estereotipados y restrictivos de interés que resulta anormal, sea en su intensidad, sea en su objetivo.

(b) Adhesión aparentemente inflexible a rutinas o rituales específicos, no funcionales.

(c) Manierismos motores estereotipados y repetitivos (p. ej., sacudir o girar las manos o dedos, o movimientos complejos de todo el cuerpo).

(d) Preocupación persistente por partes de objetos.

El DSM-IV-R y la CIE-10 proponen criterios y códigos diagnósticos prácticamente iguales<sup>11,14</sup>. En la CIE-10, este trastorno viene con el nombre de autismo infantil<sup>11</sup>.

Al menos 8 de los 16 elementos que se especifican, deben presentarse.

a. Dificultades cualitativas en la interacción social recíproca, según se manifiesta en al menos tres de los siguientes cinco:

1. Falla en la utilización del contacto visual, expresión facial, postura corporal y gestos para regular la interacción social.

2. Falla en el desarrollo de las relaciones con los otros.

3. Difícilmente buscan y utilizan otras personas para consuelo y afecto cuando hay situaciones de dificultad y/o ofrecen apoyo y afecto a otros cuando están en situaciones difíciles o tristes.

4. Carencia de gozo en términos de placer vicario sobre la felicidad de otras personas y/o de buscar compartir su propio gozo espontáneamente al involucrarse con otros.

5. Carencia de reciprocidad socio-emocional.

b. Dificultades cualitativas en la comunicación según se manifiestan en al menos uno de los siguientes.

1. Carencia del uso social de habilidades de lenguaje.

2. Impedimentos en los juegos de roles y de imitación.

3. Pobre sincronidad y carencia de reciprocidad en los intercambios conversacionales.

4. Flexibilidad pobre del lenguaje y una carencia relativa de creatividad, fantasía y procesamiento del pensamiento.

5. Carencia de respuesta emocional a las aproximaciones verbales y no-verbales de otras personas.

6. Dificultades en el uso de variaciones en la cadencia o énfasis para reflejar modulación comunicativa.

7. Carencia de gestos que acompañan y que enfatizan o apoyan el significado de la comunicación oral.

c. Patrones de conducta restringidos, repetitivos y estereotipados y actividades que se manifiestan por al menos dos de los siguientes seis:

1. Preocupación rodeada de patrones de interés estereotipados y restringidos.

2. Apegos específicos a objetos inusuales.

3. Adherencia aparentemente compulsiva a rutinas o rituales poco funcionales.

4. Manierismos motores estereotipados y repetitivos.

5. Preocupaciones con partes de objetos o elementos no funcionales de materiales de juego.

6. Alteraciones ante los cambios en pequeños detalles no funcionales del medio ambiente.

d. Anormalidades del desarrollo que deben estar presentes en los primeros tres años de edad para que se puedan diagnosticar.

Los criterios de diagnóstico tanto del DSM-IV como del CIE-10 hacen énfasis en las áreas de conducta anormal que son consideradas comunes para todos los casos de autismo y las que están asociadas con el trastorno por su frecuencia de ocurrencia. Las características principales están presentes en la mayoría de los casos la mayor parte del tiempo<sup>13</sup>.

El autismo es un desorden de espectro, lo que quiere decir que las características del autismo y la severidad de los síntomas ocurren en una gran variedad de combinaciones desde leves hasta severas. Dos individuos con el mismo diagnóstico de trastorno autista pueden mostrar conductas muy distintas y tener habilidades muy diferentes<sup>13</sup>.

## **Epidemiología**

Los estudios epidemiológicos han concluido que el autismo ha aumentado, la prevalencia media es de 4; 8.7/10,000 y se presenta de tres a cuatro veces más en hombres, pero cuando las mujeres lo presentan el cuadro es más grave. Las pruebas para detectar el autismo en la actualidad son más confiables lo que podría explicar este aumento, sin embargo al ser un trastorno de espectro provoca dificultades en el diagnóstico y variabilidad en los datos epidemiológicos<sup>7</sup>.

En México no se cuenta con estudios serios que den cuenta de la prevalencia de este trastorno pero existe el proyecto de un censo en la población de Guanajuato bajo la dirección de Erick Fombonne. Es la primera vez que se realizará un estudio de este tipo en México y las estadísticas que arroje serán una referencia importante para el sector salud<sup>15</sup>.

## Posibles causas

Los trastornos del espectro autista (TEA) son condiciones que implican interacciones complejas entre múltiples factores genéticos y ambientales<sup>16</sup>.

Los TEA son altamente heredables, el rango de prevalencia en gemelos monocigóticos varía del 60 al 95% mientras en gemelos dicigóticos los rangos son de 0 a 24% y en hermanos no gemelos varía de 1 a 6% apoyando la hipótesis de un fuerte componente genético<sup>17</sup>.

La búsqueda de los genes específicos involucrados en el origen del autismo sigue en proceso. Si se asume el rango de heredabilidad, encontrar las mutaciones y los genes susceptibles no sería difícil. Sin embargo se estima que hay de 2 a 16 genes que pueden contribuir a la etiología del autismo, esto lo hace un trastorno claramente poligenético<sup>17-19</sup> (tabla 1).

Gen	Cromosoma	Observación
<b>GABRB3</b>	15q11-13	Codifica la subunidad $\beta 3$ de receptor GABA-A.
<b>SLC6A4</b>	17p11	Transportador de serotonina.
<b>GRIK2</b>	6q21	Codifica el receptor de glutamato.
<b>SLC25A12</b>	2q31.1	Codifica el transportador aspartato/glutamato en las mitocondrias.
<b>RELN</b>	7q22	Codifica la proteína reelina, participa en el desarrollo del sistema nervioso central.
<b>NRXN1</b>	2p16.3	Codifica la neuroxina-1, es una molécula de adhesión neuronal.
<b>NRXN2</b>	11q	Codifica la neuroxina-2, es una molécula de adhesión molecular.
<b>NRXN3</b>	14q	Codifica la neuroxina-3, es una molécula de adhesión molecular.
<b>NLGN2</b>	17q	Codifica la neuroligina-2, es una molécula de adhesión molecular.
<b>NLGN3</b>	Xq13.1	Codifica la neuroligina-3, es una molécula de adhesión neuronal.
<b>NLGN4</b>	Xp22.3	Codifica la neuroligina-4, es una molécula de adhesión neuronal.
<b>MET</b>	7q31	Favorece el crecimiento y la diferenciación de la neocorteza y el cerebelo.
<b>CNTNAP2</b>	7q35	Controla la función de las contactinas en el sistema nervioso periférico, está relacionado con el lenguaje.
<b>PTEN</b>	10q23.31	Codifica al fosfatidilinositol trifosfato, es un regulador de la proliferación y diferenciación celular.
<b>EN2</b>	7q36.3	Es un factor de transcripción. Regula el desarrollo del cerebelo.
<b>SHANK3</b>	22q13	Ocasiona la inducción dendrítica y es una proteína de andamiaje de neuroligina.

Tabla 1- Genes candidatos en la fisiopatología del autismo<sup>19</sup>

Las mutaciones genéticas conducen a alteraciones moleculares que interrumpen la síntesis de proteínas conduciendo a las deficiencias cognitivas y neuronales del trastorno. Sin embargo los factores ambientales deben ser considerados como la causa primaria porque pueden tener un efecto global en la regulación genética. Los factores ambientales probablemente son los responsables del incremento en la prevalencia del autismo. Por esta razón las teorías actuales proponen que la etiología del TEA se encuentra en la interacción entre la susceptibilidad genética y los factores ambientales<sup>20</sup>.

Entre las influencias ambientales que han sido relacionadas con la aparición del trastorno están la exposición prenatal a metales pesados, infecciones virales y fármacos teratógenos<sup>20</sup>.

El mercurio es un metal pesado asociado a mayor riesgo de padecer autismo por su capacidad para generar daño cerebral. El autismo ha sido relacionado con una disminución en la habilidad para excretar mercurio y con una baja concentración de glutathione que es un antioxidante capaz de remover los radicales libres y los metales pesados, actúa como agente quelante uniéndose al metal y excretándolo vía bilis, las bajas concentraciones de este antioxidante implican vulnerabilidad a agentes tóxicos<sup>20</sup>. Bernard et al.<sup>21</sup>, reportó síntomas de autismo en casos de envenenamiento infantil por mercurio sugiriendo una relación directa entre la exposición infantil al mercurio y el autismo.

Las infecciones virales prenatales pueden ser causa de autismo, ya que pueden producir anomalías en la corticogénesis, atrofia cerebral, anomalías del tamaño de los ventrículos y alteración de las células gliales y neuronales, además pueden interferir en la síntesis de neurotransmisores, sinaptogénesis y en la arborización dendrítica. La rubéola ha sido la infección viral más asociada con el autismo, sin embargo estudios recientes no han encontrado una relación directa<sup>19,22</sup>.

Las investigaciones epidemiológicas acerca de la correlación entre la exposición a teratógenos en el embarazo y la aparición de síntomas después del nacimiento

indican que el periodo que representa mayor riesgo a padecer autismo es el primer trimestre, también han identificado fármacos teratógenos relacionados con la génesis del trastorno<sup>17</sup>.

Los estudios revelan que la exposición al ácido valpróico durante el primer trimestre de gestación causa una alta incidencia de autismo en la descendencia<sup>23</sup>, el tiempo para su efecto teratógeno no puede estimarse directamente porque el fármaco es tomado a lo largo del embarazo pero puede estimarse el tiempo para producir daños en el sistema nervioso en desarrollo a través de características morfológicas de los niños expuestos<sup>24</sup>.

El hecho de que cada teratógeno actué durante el periodo embrionario (primeras 8 semanas) no descarta la posibilidad de que el autismo pueda generarse en otras etapas del desarrollo o que influencias tardías puedan sumarse a los efectos del daño prenatal. Sin embargo la incidencia de factores ambientales de riesgo identificados en periodos críticos del desarrollo son evidencia de que el autismo se genera en etapas tempranas<sup>24</sup>.

### **Ácido valpróico (VPA)**

El valproato (ácido 2-n-propilpentanoico o ácido n-dipropilacético) es un ácido graso de cadena corta ramificada, vendido desde 1974 en muchos países como estabilizador de humor y anticonvulsivo para diversos tipos de epilepsia, su eficacia se ha reflejado en modelos preclínicos *in-vivo* e *in-vitro*<sup>25</sup>.

Muchas hipótesis han surgido para explicar la actividad anticonvulsiva del VPA y su eficacia en diversas formas de epilepsia. La evidencia experimental indica que el valproato actúa en más de un blanco, por ejemplo, potencia las funciones GABAérgicas en algunas regiones específicas del cerebro que se cree están implicadas en la generación de las crisis y su propagación. Sus mecanismos de acción incluyen mejoramiento de la síntesis de GABA, inhibición de su metabolismo e interrupción de su recaptura en las terminales nerviosas. El valproato también antagoniza el subtipo de receptores de glutamato N-metil-D aspartato (NMDA) reduciendo la neurotransmisión excitatoria glutamatérgica,



acción que podría explicar sus efectos anticonvulsivos. Con esto se puede concluir que el valproato altera el balance entre inhibición y excitación por medio de múltiples mecanismos, lo que probablemente contribuye a su amplio espectro de efectos clínicos<sup>25-27</sup>.

El bloqueo de las corrientes de sodio voltaje dependientes es otro efecto propuesto para la acción anticonvulsiva del valproato, sin embargo no se conoce a detalle esta vía de acción. El fármaco podría interferir con la entrada de calcio dentro de la célula y activar la conductancia de potasio, conduciendo a una reducción en la excitabilidad neuronal, aunque sólo se ha encontrado a concentraciones más altas que las terapéuticas<sup>25,27</sup>.

Los principales efectos negativos que puede provocar el valproato son la toxicidad hepática idiosincrásica y la teratogenicidad<sup>25</sup>. Diversos estudios epidemiológicos han determinado que la exposición fetal a este fármaco incrementa el riesgo a padecer malformaciones congénitas, disminución de las habilidades cognitivas e incrementa las posibilidades de padecer autismo, por este motivo la academia americana de neurología recomienda evitar el valproato durante el embarazo<sup>28</sup>. Sin embargo el mayor problema en la gestación para la madre y el hijo es la pérdida del control de las crisis, para reducir este riesgo la terapia con VPA en mujeres que planean concebir requiere atención al tiempo de exposición, dosis, interacción con otros fármacos y susceptibilidad fetal<sup>27,29</sup>.

La encuesta europea de anomalías congénitas (EUROCAT) reportó que el uso de monoterapia con valproato tuvo un incremento significativo para seis malformaciones específicas: espina bífida, defecto septal atrial, paladar hendido, hipospadia, polidactilismo y craneosinostosis<sup>28</sup>.

Estudios epidemiológicos revelan que la exposición al ácido valpróico durante el primer trimestre de gestación causa mayor incidencia de autismo<sup>23</sup>. Christianson et al.<sup>30</sup>, propuso por primera vez la posible asociación entre la exposición intrauterina a este fármaco y los trastornos del espectro autista (TEA), observó a cuatro niños

expuestos prenatalmente al valproato, todos presentaban retraso en el desarrollo y uno de ellos también presentaba TEA<sup>31</sup>.

Un estudio en niños de seis años expuestos fetalmente a fármacos antiepilépticos (FAE) encontró que aquellos expuestos al valproato tenían un CI promedio de 7 a 10 puntos menor comparado con niños expuestos a otros FAE y tenían deficiencias en el dominio cognitivo incluyendo lenguaje verbal y no verbal, memoria y funciones ejecutivas<sup>28</sup>.

Aunque es difícil estimar el porcentaje de riesgo de TEA en hijos de mujeres tratadas con VPA, Rasalam et al.<sup>32</sup>, estimó que el promedio de TEA incluyendo trastorno generalizado del desarrollo y síndrome de Asperger podría ser 20 veces mayor que el promedio en la población en general<sup>31</sup>.

Existen diferentes teorías de la acción teratógena del VPA, una de las más antiguas se enfoca en la reducción de ácido fólico provocada por el tratamiento y que puede inducir cambios en la síntesis de proteínas e interrumpir la expresión génica en el embrión<sup>31</sup>. En este contexto la administración de ácido fólico es importante porque puede servir como un factor de protección en el embarazo, especialmente en mujeres que usan FAEs<sup>27</sup>.

Otro causante de los efectos teratógenos puede ser el incremento del estrés oxidativo generado por los metabolitos del VPA, un aumento de radicales libres puede causar daño irreversible principalmente en el cerebro porque en embriones los mecanismos antioxidantes son inmaduros y se desarrollan lentamente a lo largo de la gestación, sin embargo no existe prueba directa de que el VPA provoque estrés oxidativo fetal<sup>31</sup>.

Se sabe que el VPA inhibe las histonas de acetilasa (HDAC), responsables de modular los cambios en la cromatina y los factores de transcripción. Los inhibidores de HDAC son capaces de interrumpir el ciclo celular causando interrupción en el crecimiento, diferenciación neuronal y apoptosis. Estos efectos en la proliferación celular pueden explicar la acción teratógena del VPA<sup>31,33</sup>.

En animales expuestos al VPA prenatalmente se reportaron alteraciones morfológicas similares a las encontradas en personas con autismo (alteraciones cerebrales y reducido número de motoneuronas) sugiriendo su uso como modelo experimental de autismo<sup>23</sup>.

### **Anatomía del cerebro autista**

Se han descrito diversas anormalidades estructurales en cerebros de autistas, aunque hay resultados consistentes la mayoría son ambiguos y contradictorios. Esto puede deberse a muestras reducidas, a la heterogeneidad de la enfermedad, a la falta de control de variables como el género, retraso mental, epilepsia, medicación, y a problemas en los diseños metodológicos<sup>34,35</sup>.

Una red neuronal alterada, que implica probablemente la corteza temporo-parietal, el sistema límbico, el cerebelo, la corteza prefrontal y el cuerpo caloso, parece estar implicada en la fisiopatología del autismo. Los cambios cerebrales podrían ser el resultado de anormalidades en el desarrollo cerebral y anatómicamente podrían subyacer a alteraciones cognitivas y sociales de los individuos con autismo<sup>36</sup>.

El autismo está asociado con agrandamiento generalizado de los hemisferios cerebrales, el cerebelo y núcleo caudado; con reducciones del cuerpo caloso y posiblemente en el cerebro medio (tabla 2), estas anormalidades podrían conducir a una pérdida de integración y regulación asociada a deficiencias en procesos complejos que requieren reclutar muchas regiones del cerebro como el lenguaje y la conducta social<sup>35</sup>.

### **Macrocefalia**

La macrocefalia es un fenotipo encontrado en 14-34% de los pacientes autistas, la comprensión de esta relación es todavía muy limitada. Neonatos que desarrollan macrocefalia y posteriormente autismo muestran circunferencias de cabeza normales al nacer, el crecimiento de la cabeza se acelera durante el primer año de vida hasta los cuatro años de edad, y luego se reduce la velocidad<sup>37</sup>.

La macrocefalia podría ser resultado de una mayor proliferación de neuritas o reducción de poda que produce un exceso de neuropilo. Mecanismos neurobiológicos que posiblemente subyacen al crecimiento neuronal excesivo en el autismo incluyen factores de crecimiento, hormonas y neurotransmisores, pero la evidencia experimental directa es deficiente<sup>37,38</sup>.

La macrocefalia en el autismo puede ser mediada por genes que codifican proteínas implicadas en interacciones neuroinmunes, evidencia de eso es el aumento de citocinas proinflamatorias y la activación microglial presente en autistas<sup>37</sup>.

El estudio del patrón de crecimiento cerebral del autismo se ha propuesto como una herramienta que podría permitir identificar marcadores conductuales y biológicos de principal riesgo para el autismo y proporcionar una intervención para aminorar las alteraciones conductuales durante la niñez temprana<sup>39,40</sup>.

### **Materia blanca**

En las personas autistas el volumen de materia blanca cerebral es mayor mientras que las regiones corticales no difieren pero muestran una tendencia a ser relativamente más pequeñas, lo que sugiere que puede haber una alteración entre las estructuras corticales y conexiones axonales. Es posible que esta alteración está relacionada con cambios en la estructura minicolumnar, en donde las columnas corticales más compactadas podrían producir reducción volumétrica, mientras que el número axonal podría seguir siendo proporcional a la célula<sup>41</sup>. Es probable que las diferencias de volumen específicas de ciertas regiones sea debido a que existan diferentes umbrales de vulnerabilidad en las estructuras cerebrales<sup>41</sup>.

En niños autistas de dos a tres años comparados con niños con desarrollo normal muchas regiones del cerebro presentan signos de hiperplasia con un gradiente antero posterior en la materia gris y blanca, con mayor volumen en el lóbulo frontal y sin diferencias significativas en el lóbulo occipital. El volumen de materia blanca en los lóbulos frontal, temporal y parietal como el volumen de materia gris del

fronto-temporal cambia a rangos significativamente más lentos en pacientes con autismo de dos a once años, no encontrando diferencias en niños mayores<sup>42</sup>.

### **Microcolumnas**

Se ha encontrado que el índice de materia gris es mayor en las personas con autismo comparado con personas con un desarrollo normal, este incremento podría reflejar defectos en la regulación de la neurogénesis, alteraciones en la apoptosis, involucrar disfunción glial o una fase tardía compensatoria de génesis neural y glial consecuente de un evento adverso prenatal o postnatal temprano<sup>43</sup>.

Dentro de la corteza, se han reportado que las personas con autismo presentan alteraciones de las minicolumnas. Buxhoeveden et al.<sup>44</sup>, encontraron diferencias en las minicolumnas de la corteza frontal dependientes de la región, las mayores alteraciones estuvieron en corteza dorsal y orbital. La falta de desarrollo de mini columnas en la corteza frontal podría señalar un déficit en la aparición de neuronas especializadas necesarias para las funciones de orden superior.

### **Corteza**

Estudios de comportamiento, metabólicos, neurofisiológicos y neuroanatómicos indican que el lóbulo frontal es otra región que presenta alteraciones en las personas con autismo. Examinando volúmenes de materia blanca cerebral en niños con autismo, se ha reportado un agrandamiento superficial, de mayor magnitud en el lóbulo frontal en etapas tempranas de autismo. Debido a los patrones de cambios volumétricos a través de la edad los efectos podrían no ser evidentes en autistas adultos, aunque la conectividad neuronal o respuesta podría seguir siendo anormal en muchos pacientes<sup>42,45</sup>.

Haznedar et al.<sup>46</sup>, realizaron estudios con personas autistas de alto funcionamiento y encontraron disminución del metabolismo de glucosa en todo el córtex cingulado en pacientes con trastornos del espectro autista y volumen reducido de la circunvolución cingulada anterior derecha, específicamente el área 24 de Brodmann, involucrada en las respuestas motoras a señales emocionales, en el

procesamiento de información, la categorización semántica, la supresión de palabras incongruentes y las funciones cognitivas superiores.

### **Cuerpo calloso**

La literatura disponible en el autismo sugiere que el cuerpo calloso puede estar reducido y disminuir conectividad interhemisférica contribuyendo en la fisiopatología de los trastornos cognitivos y las características clínicas del autismo<sup>36</sup>.

### **Cerebelo**

Investigaciones en el cerebelo de autistas han sugerido una disminución en el número de células de Purkinje probablemente de origen prenatal<sup>34,47</sup>. La reducción celular podría conducir a una desinhibición de neuronas de núcleos cerebelares profundos que altere estructuras y funciones durante el desarrollo temprano del cerebro vía proyecciones cerebelo-tálamo-corticales<sup>42,45</sup> (tabla 3).

### **Sistema límbico**

El sistema límbico está implicado en la memoria, el aprendizaje, la emoción y la motivación, su integridad funcional puede ser crítica para el desarrollo temprano de la percepción social y la cognición, y su alteración podría explicar algunas de las características clínicas del TEA<sup>46,48</sup>.

Las anormalidades más consistentes se han encontrado en el sistema límbico, el cerebelo y la oliva inferior. Comparados con individuos controles, los sujetos autistas muestran: a) Menor tamaño neuronal; b) Aumento del empaquetamiento de la densidad celular en el hipocampo, la amígdala, los cuerpos mamilares, el giro del cíngulo anterior y el núcleo del septo; y c) Afectación del desarrollo del árbol dendrítico del complejo hipocámpal. El menor tamaño en células del sistema límbico sugiere poca madurez que resulta en anormalidades en las conexiones aferentes y eferentes del cerebro autista que podrían implicar una detención del desarrollo normal. La conectividad aberrante se puede reflejar cuantitativamente

en la densidad y distribución de neurotransmisores específicos y en los receptores afectados en regiones cerebrales<sup>24,34,49,50</sup> ( tabla 3).

La amígdala, puede tener mayor volumen mientras que los resultados en hipocampo siguen siendo contradictorios. El hipocampo y la amígdala están implicados en el aprendizaje social, las funciones cognitivas y el procesamiento emocional en los seres humanos y pueden desempeñar un papel en el comportamiento y los déficits de inteligencia social en pacientes con autismo<sup>36</sup>.

### **Amígdala**

La amígdala ha sido implicada en la mediación de la conducta social, procesamiento facial, reconocimiento de emociones, memoria emocional y predicción de recompensa; esto ha llevado a sugerir que la amígdala podría ser la responsable de las deficiencias sociales en el autismo<sup>38</sup>.

Los resultados de estudios en la amígdala son inconsistentes, algunos han reportado disminución, incremento e igualdad en su volumen. Otros estudios morfométricos han demostrado disminución de la materia gris en los niveles anteriores de la amígdala pero incremento de materia gris en niveles posteriores<sup>38</sup>.

Estudios comparativos del volumen de la amígdala de personas autistas y sujetos control han encontrado diferencias relacionadas con la edad<sup>35</sup>.

Se ha encontrado que la amígdala de los niños con autismo alcanza el tamaño adulto antes de la adolescencia, mientras que los niños con desarrollo típico sufren un progresivo crecimiento de la amígdala durante la adolescencia. Este hallazgo ayuda a explicar la variabilidad en los anteriores estudios de resonancia magnética estructural. Los estudios que se centran en niños pequeños han encontrado que la amígdala es mayor en autistas<sup>51</sup>, sin embargo, los estudios en adultos encuentran que la amígdala de autistas no es diferente<sup>46</sup>, o incluso es más pequeña que en los controles<sup>38</sup>. Esto indica que aspectos fundamentales de su organización neuroanatómica o funcionales podrían ser diferentes en los niños con autismo en comparación con personas con desarrollo normal.

Estas alteraciones dependientes del desarrollo podrían apuntar a tiempos específicos para las posibles intervenciones<sup>35</sup>.

## **Hipocampo**

El sitio morfológico del hipocampo es reconocido como una posición clave dentro del sistema límbico, tiene aferencias de las diferentes modalidades sensoriales y conexiones recíprocas entre el hipocampo y la corteza de asociación principalmente por la corteza entorrinal. Por esta razón el hipocampo es un área donde se integran y combinan estímulos de diferentes campos sensoriales y se compara con datos almacenados en la memoria de largo plazo. Es una estructura importante para procesos de consolidación de la memoria, transfiriendo los contenidos de la memoria de corto plazo a la memoria de largo plazo y mediando la memoria declarativa. El hipocampo es parte de un circuito de *feedback* dentro del sistema colinérgico, que discrimina estímulos irrelevantes que podrían conducir a reacciones desadaptativas, también se ha reconocido como una estructura clave en la emoción, motivación, regulación visceral, endocrina, en los procesos de condicionamiento y aprendizaje<sup>52,53</sup>.

Las diferentes funciones del hipocampo están localizadas específicamente en subregiones. La región dorsal tiene una función principalmente en la memoria y el aprendizaje espacial y la región ventral podría tener una función principalmente relacionada con comportamientos de ansiedad<sup>54</sup>.

El hipocampo y estructuras relacionadas con el sistema límbico han sido relevantes para la patofisiología del autismo por tener un rol en el aprendizaje, funcionamiento social y emociones, funciones que están comúnmente alteradas en el autismo. Las alteraciones de la estructura hipocampal en el autismo podría conducir a déficits en el proceso de la memoria relacional e integración de información apropiada<sup>55</sup>.

Estudios de imagen cerebral funcional han indicado la importancia del hipocampo en el procesamiento facial. En particular el hipocampo posterior derecho difiere



entre autistas y controles, se ha notado una activación durante el procesamiento de emociones faciales en adultos sin TEA<sup>55</sup>.

Los estudios con resonancia magnética estructural (MRI) del hipocampo también han mostrado inconsistencias. Algunos reportan disminución, incremento e incluso igualdad en el volumen<sup>38</sup>.

En general, los resultados del volumen de hipocampo varían dependiendo de la edad de la muestra empleada. Aylward et al.<sup>56</sup>, reportaron una disminución en el volumen del hipocampo en adolescentes y adultos con autismo después de controlar el volumen cerebral total. Saitoh et al.<sup>57</sup>, midieron el área de la sección transversal de la circunvolución dentada y CA4 en tres secciones contiguas de 5 mm y encontraron que era más pequeño de lo normal en los niños y adultos con autismo, con la diferencia más significativa en los sujetos de 2-4 años de edad. Nicolson et al.<sup>55</sup>, también encontraron que las regiones del hipocampo posterior (giro dentado, CA1, CA3 y CA4) que forman parte de un circuito neuronal esencial para la formación de memoria de largo plazo y consolidación son más pequeñas en personas con autismo, concluyeron que esta reducción puede ser debida a anomalías específicas de cada región o su combinación y podría alterar el funcionamiento normal de este circuito y resultar en déficits significativos en la memoria.

Sparks et al.<sup>51</sup>, publicaron un estudio del volumen del hipocampo que se centró en niños pequeños. Ellos encontraron que el hipocampo derecho e izquierdo de niños varones de tres y cuatro años de edad con TEA fue 9% más grande que el de controles. Schumann et al.<sup>38</sup>, replicaron este estudio pero ampliando la edad de muestra hasta la adolescencia y encontraron también agrandamiento en el hipocampo, concluyeron que el aumento en la formación hipocampal en el autismo puede ser una consecuencia de la sintomatología que podría resultar del desarrollo patológico.

El aumento de tamaño del hipocampo podría indicar una expansión dependiente del uso de conexiones del hipocampo. Es posible que la variación individual en la

formación hipocampal de personas autistas represente subpoblaciones de individuos con autismo<sup>24</sup>.

Medida	Hallazgos	Referencias
<b>Volúmen total del cerebro</b>	Incrementado	58, 59, 60,61,62,63,64,51,41
<b>Materia blanca</b>	Incrementado	41,62
<b>Volúmen de sistema límbico</b>	Disminuído	41,56
<b>Amígdala</b>	Disminuído	41,56,65
	Incrementado	66
	Variable	51,67
<b>Hipocampo</b>	Disminuído	41,56,57
	Sin cambios	68,69
<b>Otras estructuras</b>	Disminuídas	67
<b>Corteza cerebelar</b>	Disminución focal	70
<b>(Lóbulos VI y VII)</b>	Incremento focal	71
	Sin disminución	72

**Tabla 2** – Cambios volumétricos en el autismo<sup>17</sup>.

Medida	Hallazgo	Referencia
<b>Volumen total del cerebro</b>	Incrementado	73, 47,63
<b>Cerebelo</b>		
<b>Células de Purkinje</b>	Disminución del número	63,74,75
<b>Núcleos profundos</b>	Disminución en el tamaño celular	73
	Sin cambios	63
<b>Oliva inferior</b>	Pérdida celular focal	73
<b>Sistema límbico</b>		
<b>Amígdala</b>	Disminución en el tamaño celular	75
	Sin cambios	63
<b>Formación hipocampal</b>	Disminución en el tamaño celular	75
	Dendritas reducidas	75
	Incremento en la densidad celular	63
<b>Núcleo mamilar</b>	Disminución del tamaño celular	75
<b>Tronco cerebral</b>		
<b>Núcleo facial, oliva superior</b>	Pérdida celular	76
<b>Oliva inferior</b>	Incremento en la densidad celular	75
<b>Corteza</b>		
<b>Minicolumnas</b>	Agrandada Más pequeñas y numerosas	63 77

**Tabla 3** – Cambios neuropatológicos asociados con el trastorno autista de Murcia et al.<sup>17</sup>.

## Estudio del autismo

Para el estudio del autismo se han utilizado diversos métodos, como neuroimagen comparativa entre personas con desarrollo normal y personas con autismo, estudios de histología *postmortem* y modelos animales que simulan las características anatómicas y patológicas de dicho trastorno.

El uso de técnicas de neuroimagen delimita las alteraciones específicas y ayuda a entender el desarrollo del trastorno autista. Hay dos tipos de técnicas de neuroimagen las estructurales, que permiten la búsqueda de diferencias anatómicas y volumétricas en regiones cerebrales específicas; y las funcionales, que pueden discriminar áreas que se relacionan directamente con las alteraciones cognitivas y clínicas del trastorno<sup>7</sup>.

Otra forma de estudiar el autismo es a través de pruebas neurofisiológicas como el electroencefalograma (EEG), que consiste en el registro de la actividad de los potenciales eléctricos generados por el cerebro y obtenidos por medio de electrodos situados sobre la superficie del cuero cabelludo. Tiene buena resolución temporal, lo que permite estudiar la actividad cerebral asociada a ciertas conductas en el tiempo en el que se están presentando<sup>78</sup>.

Los estudios que utilizan métodos electroencefalográficos son pocos y sus resultados no se pueden generalizar debido al uso de metodologías distintas, tanto en los criterios de diagnóstico, como por no tener en cuenta la edad de las muestras, ni el uso de diferentes protocolos, además la mayoría han obtenido sus datos de niños autistas de alto funcionamiento porque cooperan con mayor facilidad en los registros mientras que los niños autistas de bajo funcionamiento se investigan menos por su falta de disposición al momento de realizar los registros, como consecuencia se utilizan dispositivos de contención o fármacos que disminuyen la confiabilidad de los datos obtenidos<sup>79-81</sup>.

La ambigüedad de los resultados del EEG publicados en el autismo puede provenir de varias fuentes. La primera son las diferencias en las condiciones experimentales durante el registro EEG<sup>80</sup>.

La segunda fuente probable de contradicciones es el amplio rango de edad de los sujetos investigados porque las alteraciones pueden ser específicas de cada etapa<sup>80</sup>.

Una tercera fuente pueden ser las diversas causas del autismo y su diferente prevalencia a través de los estudios. Fenotipos de comportamiento común de autismo pueden estar asociados con diferentes anomalías en el EEG<sup>82</sup>.

Hasta la fecha no hay un acuerdo sobre las características del EEG del autismo aunque los estudios clínicos EEG generalmente coinciden en la alta prevalencia de anomalías epileptiformes en pacientes con autismo<sup>80</sup>.

Los estudios de EEG en niños autistas despiertos han encontrado mayor frecuencia alpha, lentificación en el EEG, menor variabilidad de la amplitud, ausencia de asimetrías interhemisféricas y mayor ritmicidad en comparación con niños con desarrollo normal. La falta de diferencias hemisféricas en niños autistas apoya la hipótesis de alteraciones en el desarrollo en la especialización hemisférica<sup>80,81</sup>. Los niños autistas generalmente muestran reducción en el poder del EEG en las regiones frontal y temporal comparados con niños con un desarrollo normal y las diferencias son mayores en el hemisferio izquierdo<sup>83</sup>.

## **Modelos animales**

Los modelos animales y celulares de enfermedades neurológicas permiten determinar el rol de los genes y el ambiente en la patogénesis de una enfermedad y probar alternativas terapéuticas. Los modelos celulares se centran en interacciones más básicas mientras que los modelos animales evalúan alteraciones conductuales y cognitivas en un organismo complejo<sup>84</sup>. Los modelos animales no necesitan ser copias exactas de la enfermedad en humanos para ser valiosos, el poder de ellos está en replicar características particulares de la enfermedad ya sean genéticas, patológicas, conductuales, etiológicas, electrofisiológicas o neurobiológicas sin tener que replicar todos los aspectos de la fisiopatología<sup>85</sup> (tabla 4).

Un modelo animal que represente una condición psiquiátrica debe cumplir con tres criterios generales de validez: de constructo, de contenido y predictiva. La validez de constructo relaciona el fenotipo de los animales con la etiología de la enfermedad. El autismo se asocia con factores genéticos y ambientales, por lo tanto, los modelos animales deben ser contruidos mediante la imitación de estos factores<sup>84</sup>.

La validez de contenido implica que aspectos fenomenológicos como modificaciones neuroanatómicas, neuroquímicas, conductuales y cognitivas observados en el animal son similares a las alteraciones que presentan las personas con autismo. Por último, la validez predictiva supone que tratamientos para el trastorno en humanos también reducirán los síntomas en el modelo animal<sup>84</sup>.

Utilizar especies animales más similares a los humanos para el estudio del autismo sería lo más óptimo, pero el manejo de estos animales está asociado con dificultades relacionadas al lento desarrollo de su sistema nervioso central, la imposibilidad de crear animales transgénicos, las consideraciones éticas y los costos. Una alternativa viable para reducir estos inconvenientes es el uso de roedores en los modelos animales para la investigación<sup>84</sup>.

La etiología multifactorial y la diversidad fenotípica dentro de cada síntoma central del autismo dificultan el diseño de un modelo animal que capture todas las características moleculares, celulares u orgánicas del trastorno. Un enfoque útil ha sido centrarse en síntomas específicos para estudiar los mecanismos subyacentes<sup>86</sup>. En los modelos animales para autismo se pueden simular características como la neofobia, las interacciones sociales anormales, los comportamientos repetitivos y estereotipados, la ansiedad, la alteración de la percepción del dolor, la vinculación anormal materna y los déficits sensoriomotores<sup>85,86</sup>. Para un panorama general del autismo (figura 1).

Investigaciones con neuroimagen y genética del trastorno en humanos han servido para diseñar diferentes modelos animales que se abordan en cuatro enfoques principales: neurobiológico, endofenotípico, genético y patogénico<sup>86</sup>.

El enfoque neurobiológico postula que los mecanismos básicos se conservan entre las especies y se modifican a través de la evolución, definiendo los mecanismos moleculares y celulares que regulan el desarrollo de una región del cerebro o median funciones cognitivas, se pueden identificar dianas moleculares que contribuyan a una anomalía relacionada al autismo<sup>86</sup>.

El enfoque endofenotípico investiga mecanismos subyacentes a los síntomas diagnósticos. Endofenotipos relacionados con el autismo son el aislamiento social, cambios en los sistemas de neurotransmisores y alteraciones en células de Purkinje<sup>86</sup>.

El enfoque genético estudia mecanismos regulados por genes basándose en sus funciones en el desarrollo y la localización de regiones cromosómicas afectadas, realiza mutaciones para mimetizar alteraciones relacionadas con el trastorno<sup>86</sup>.

El enfoque patogénico examina los efectos de sustancias teratógenas e infecciones maternas en el desarrollo embrionario, utiliza diferentes fármacos que sugieren un vínculo con la génesis del autismo en humanos, los más empleados son la talidomida y el ácido valpróico<sup>85</sup>. Rodier et al.<sup>76</sup>, observó que 4 de 15 embriones humanos expuestos a talidomida durante los días de gestación 20 al 24

desarrollaron autismo, este hallazgo lo llevó a proponer que el trastorno podía estar asociado a daños realizados durante la etapa del cierre del tubo neural y proliferación de neuronas cráneo-cerebelares. Posteriormente imitó este efecto exponiendo a ratas preñadas en el día embrionario 12 al ácido valpróico surgiendo así el modelo VPA<sup>86</sup>.

El ácido valpróico ha sido usado en humanos como estabilizador del estado de ánimo y como anticonvulsivo. Los hijos de las mujeres que consumen VPA durante el embarazo entre los días 20 al 24 tienen alto riesgo de padecer trastornos del neurodesarrollo que incluyen el autismo o anomalías en el tubo neural como espina bífida<sup>87</sup>. El modelo animal VPA consiste en inyectar a ratas hembras preñadas esta sustancia en etapas críticas del cierre del tubo neural entre el día 9 y 12.5 gestacional<sup>88</sup>. En el día gestacional 9 produce crías con dificultades de aprendizaje en el laberinto radial y la exposición en el día 12.5 produce menor sensibilidad a estímulos dolorosos y mayor sensibilidad a estímulos no dolorosos, disminución de la inhibición del prepulso acústico, hiperactividad locomotora, comportamientos repetitivos y estereotipados combinado con menor actividad exploratoria. También se ha encontrado que con un paradigma de aprendizaje asociativo (condicionamiento al parpadeo) las crías expuestas al VPA muestran una adquisición más rápida, lo cual también ha sido observado en humanos con autismo. Estos son marcadores paralelos entre el modelo VPA y el trastorno autista en humanos<sup>85</sup>.

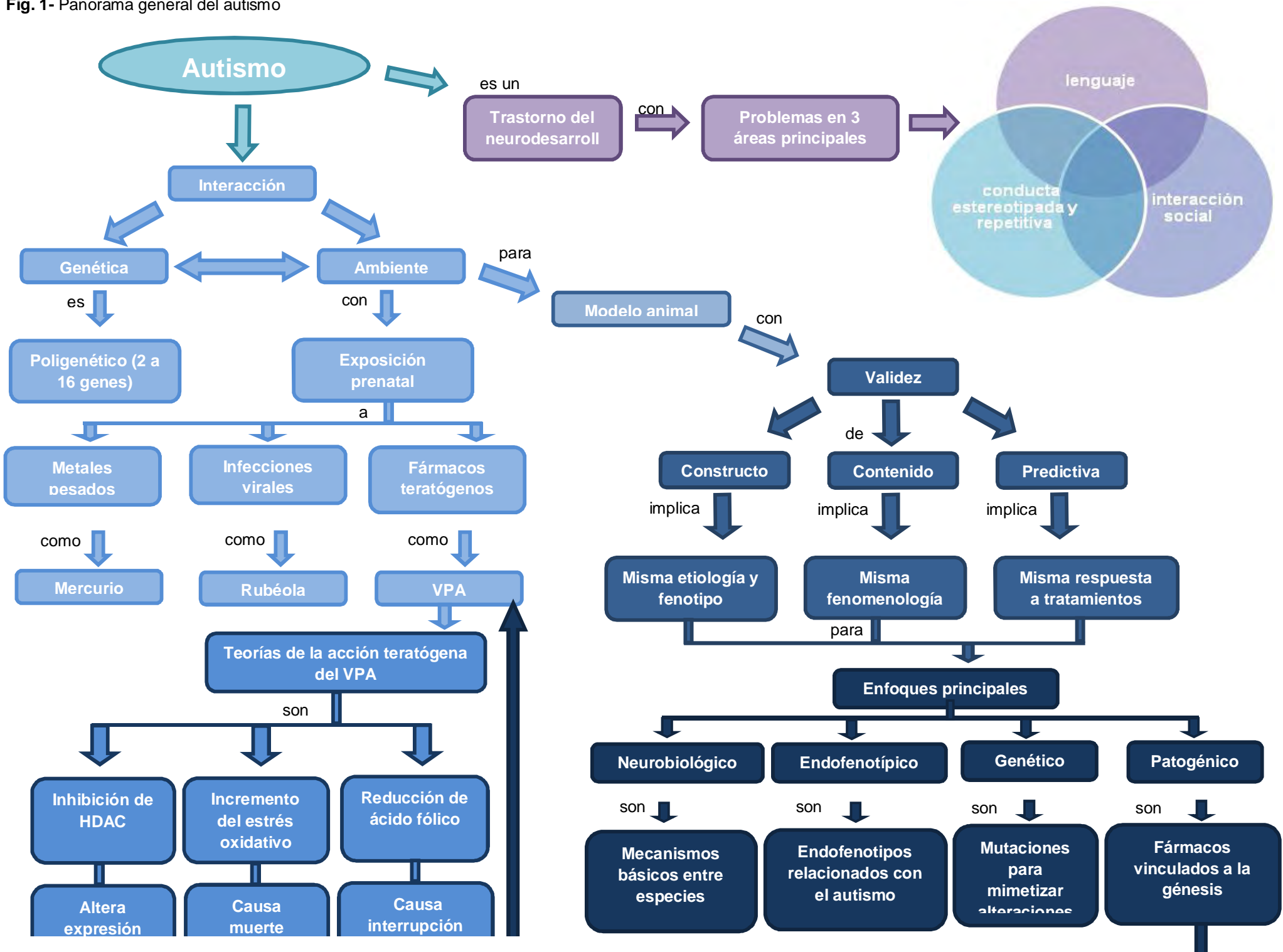


Modelo animal	Comportamientos relacionados a déficits sociales	Referencias
<b>Ratas con infección del virus borna</b>	↓ intensidad de conducta social (olfateo) ↓ juego ↓ interacción social	89,90,91,92
<b>Ratas VPA</b>	↓ número de conductas sociales ↑ latencia a responder a conductas sociales, ↑ conductas repetitivas ↓ sensibilidad al dolor	88,93,94
<b>Ratones BTBR T/+</b>	↓ conducta social, aproximación social e interacciones sociales recíprocas, deterioro en juego juvenil y comunicación social vocalización en cachorros	95,96
<b>Ratones BALB/c</b>	↓ niveles de interacción social ↓ conductas parentales	97
<b>Topos (Microtus montanus)</b>	Emplean poco tiempo con co-específicos ↓ cuidado parental	98
<b>Ratones <i>knock-out</i> de oxitocina</b>	↓ conducta y reconocimiento social	99,100
<b>Ratones <i>knock-out</i> de receptor de glutamato delta 1</b>	↓ hiperactividad, ↑ ansiedad depresión, agresión y déficit en interacción social	101
<b>Macacos con lesión en amígdala</b>	aislamiento social falta de interacción repuestas inapropiadas en actos sociales	102,103
<b>Ratones <i>knock-out</i> de <i>egr1</i> 2</b>	↓ conducta de juego, olfateo social, acicalamiento y conducta agresiva	104
<b>Ratones deficientes de receptor de GABA subunidad beta 3</b>	Crianza inapropiada hacia su descendencia	105
<b>Ratones Shank3 mutados en SH3 y múltiples dominios de repetición de anquirina 3</b>	déficits en interacción social ansiedad conductas de auto lesión	106,107
<b>Ratas Brattleboro</b>	↓ reconocimiento social	108
<b>Ratones <i>Slc6a4</i> mutados en soluto transportador de serotonina familia 6 )miembro 4</b>	↓ sociabilidad carecen de preferencia a ambientes sociales novedosos deterioro en reconocimiento social	109,110
<b>Ratones <i>knock-out</i> de aromatasa</b>	déficits en reconocimiento social	111
<b>Ratas con lesión de amígdala</b>	↓ conducta de juego e interacción social	112

Modelo animal	Comportamientos relacionados a déficits sociales	Referencias
<b>Macacos con lesión en corteza cingulada anterior</b>	↓de interés en otros individuos ↓ memoria para estímulos sociales	113
<b>Ratas con lesión en corteza cingulada anterior</b>	↓ tiempo empleado en interacción social Sin cambios en agresión	114
<b>Ratas con ablación de vermis cerebelar</b>	↓ conductas emocionales ↑ interés hacia estímulos sociales ↓ ansiedad y tiempo permanecido con rata desconocida en la prueba de discriminación social	115
<b>Puerco de guinea GS</b>	↓ frecuencia a la interacción con otros	116
<b>Macacos con lesión de corteza orbitofrontal</b>	efectos en conducta social sólo en respuestas a estímulos levemente inductores de miedo	113
<b>Ratas lesión de corteza orbitofrontal</b>	sin cambios en conducta social ↑ agresión	114
<b>Ratones <i>knock-out</i> de receptor de oxitocina</b>	Déficits en discriminación y memoria social	117,118,119
<b>Ratas con tratamiento perinatal de testosterona</b>	↑ interacción con desconocidos	120
<b>Ratones deficientes del péptido vasoactivo intestinal</b>	↓ afiliación materna ↓ conducta de juego déficits en aproximación social	121,122
<b>Ratones <i>knock-out</i> de receptor de arginina vasopresina 1A</b>	↓ conductas ansiosas Deterioro en reconocimiento e interacción social	123,124
<b>Ratones <i>knock-out</i> de receptor de arginina vasopresina 1B</b>	↓ reconocimiento social and preferencia social modificada agresión ↓ vocalización	125,126,127

**Tabla 4** - Modelos animales para autismo con patrones neuroconductuales relacionados a déficits sociales. ↓ disminución ↑ aumento. Modificada de Olexová et al.<sup>128</sup>.

**Fig. 1-** Panorama general del autismo



## **Justificación y planteamiento del problema**

El autismo es un trastorno con etiología aún desconocida, debido a sus manifestaciones heterogéneas, la disparidad de criterios clínicos y los resultados de las investigaciones, su estudio es complicado y por este motivo no existen tratamientos específicos que minimicen sus efectos. Una de las áreas afectadas en las personas que padecen el trastorno es la interacción social. A través del uso de diferentes técnicas se ha intentado determinar las áreas alteradas que provocan que se presenten estos déficits, una de estas técnicas es el EEG. Las personas autistas presentan alteraciones en los trazos EEG, sin embargo no se ha logrado establecer claramente estas diferencias para considerarlas como parte de los criterios de diagnóstico. Una herramienta alternativa para describir los cambios EEG de manera controlada es el uso de modelos animales. El modelo animal VPA es útil para el estudio del autismo por las similitudes anatómicas, fisiológicas y patológicas observadas en humanos, por esta razón se decidió estudiar los trazos EEG y las conductas sociales de ratas expuestas prenatalmente al ácido valpróico (CRAVP) para determinar si existen diferencias en la interacción social y la actividad EEG en comparación con un grupo control.

## **Hipótesis**

Las ratas expuestas prenatalmente al ácido valpróico (grupo CRAVP) presentarán diferencias en la interacción social y la actividad EEG en comparación con ratas no expuestas al ácido valpróico (grupo control).

## **Objetivos**

Analizar la latencia y frecuencia de las conductas presentadas en la prueba de interacción social.

Analizar los trazos EEG por sesión de interacción y por bandas de potencia de cada rata.

Determinar las diferencias intra e intergrupales de las conductas de interacción y de los trazos EEG.

## ***MATERIAL Y MÉTODO***

## **Material**

1 cuarto sonoamortiguado y en penumbra

Mesa para intervenciones quirúrgicas de animales experimentales

Aparato estereotáxico

Material quirúrgico

Acrílico dental (Nic-Tone)

Cera de hueso

Electrodos bipolares de acero inoxidable

Tornillos calibre 1.16 y 1.3 mm

Conectores de 8 puntas

Anestésico: hidrocloreuro de ketamina

Relajante muscular: hidrocloreuro de xilazina

Antisépticos: alcohol, agua oxigenada, yodo

Diluyente: solución salina

Espongostan (esponja de gelatina absorbente) Jhonson & Jhonson Medical

Taladro dental FOREDOM modelo 21b con fresa dental

Aparato estereotáxico David Kopf con torres para la colocación de los electrodos

Polígrafo Grass 7P511K con 8 amplificadores

Videocámara Sony

Báscula

Equipo de cómputo para el análisis de datos

Digitalizador de señales diseñado y construido en el Laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación de la Dirección de Investigación en Neurociencias (NFCR). Caja de interacción de uso específico de 1 m<sup>3</sup>

### **Sujetos experimentales**

Todos los experimentos se hicieron bajo especificaciones técnicas para la protección, cuidado y uso de los animales del laboratorio de la SAGARPA (NOM-062-ZOO-1999) y aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

Se utilizaron 8 ratas Sprague Dawley machos que fueron descendientes de hembras inyectadas con ácido valpróico (500mg/kg) en el día 12.5 gestacional. Éstas formaron el grupo experimental (CRAVP). El grupo control estuvo conformado por 8 ratas macho de la misma cepa, que descendieron de hembras inyectadas con solución salina en el mismo volumen y día gestacional.

El procedimiento quirúrgico, el registro conductual y de EEG, de todos los animales se llevó a cabo en la etapa adulta de las ratas, cuando tenían entre 9 y 13 semanas<sup>129</sup>, teniendo un peso de entre 260 y 390 g.

### **Procedimiento quirúrgico**

Los animales fueron pesados y anestesiados vía intramuscular con una mezcla de ketamina (100 mg/kg) y xilazina (20 mg/kg). Se implantaron estereotáxicamente en el hipocampo (Hip) electrodos bipolares de acero inoxidable de manera bilateral (P: 3.6, L: 2.0, V: -3.5) de acuerdo con las coordenadas del Atlas Paxinos y Watson<sup>130</sup>, y en ambas cortezas pre-frontales (CxPf) con tornillos de 1.16mm de bronce aislados, se les colocaron dos tierras de referencia con tornillos de 1.3 mm. Los electrodos y las tierras fueron soldados a un conector de 8 puntas y fijados en el cráneo con acrílico dental. Los animales tuvieron un periodo de recuperación post-operatoria de 7 días.

### **Registro electroencefalográfico (EEG)**

La actividad fue adquirida y almacenada en un disco duro con el sistema ADQCH8 desarrollado en el laboratorio NFCR, utilizando 4 amplificadores marca Grass 7P511K para cada rata, donde el canal 1 correspondía a CxPf I, el 2 a Hip I, el 3 a CxPf D y el 4 a Hip D.

### **Registro de interacción social por pares**

Los registros se llevaron a cabo en un cuarto sonoamortiguado y en penumbra. Se tomó un registro de línea base (sin interacción) de 10 minutos, antes de comenzar el experimento.

La prueba está compuesta por cuatro sesiones de interacción de 10 minutos cada una con un intervalo del mismo tiempo entre ellas. Cada sesión consistió en colocar un par de ratas del mismo grupo en la caja de interacción social tomando registro EEG y filmando con una cámara con luz infrarroja, con el fin de analizar las conductas presentadas por las ratas.

Tomando como referencia la clasificación de conductas sociales en ratas de Crawley<sup>131,132</sup>, se analizaron las siguientes conductas: exploración, pararse en dos patas, investigación, contacto nariz-nariz, seguirse, acicalamiento social, auto-acicalamiento, inactividad, montar, amenaza lateral.

Al término de la manipulación experimental se sacrificó a las ratas con una sobredosis de pentobarbital sódico vía intraperitoneal, posteriormente se realizó una incisión en la línea media abdominal para la perfusión cardiaca introduciendo solución salina (0.09%) para lavar y formaldehído (10%) para fijar el tejido cerebral. Se realizó la extracción manual del cerebro y se conservó en formaldehído para posteriormente realizar la verificación histológica del sitio de los electrodos.

### **Análisis estadístico**

En la prueba de interacción social se analizó el número de veces que se presentó cada conducta, el tiempo acumulado de interacción y la latencia.



Para comparar las conductas emitidas entre el grupo control y el CRAVP se utilizó la prueba U de Mann-Whitney, el análisis intragrupos se realizó con la prueba no paramétrica de rangos para grupos relacionados de Friedman y el análisis *Post hoc* con T de Wilcoxon. La comparación del número y tiempo de interacciones sociales entre cada grupo y sesión se realizó con ANOVA de medidas repetidas.

Los registros EEG se estudiaron por separado analizando la potencia absoluta de las bandas de 1 a 4 Hz, de 5 a 12 Hz y de 13 a 30 Hz por cada canal registrado. A través del programa ADQCH8 se transformó la potencia a valores numéricos que fueron normalizados a 1 para el análisis estadístico con ANOVA de medidas repetidas.

Todos los datos se analizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 15. El grado de significancia para las pruebas fue de  $p < 0.05$ .

## ***RESULTADOS***

## **Resultados**

Las conductas consideradas para el análisis fueron exploración, pararse en dos patas, investigación, contacto nariz-nariz, seguirse, acicalamiento social, auto-acicalamiento, inactividad, montar, amenaza lateral. Se analizó el número de veces que se presentó cada conducta, el tiempo acumulado de interacción y la latencia.

### **Número de conductas**

El análisis de conductas emitidas durante la prueba de interacción social indica diferencias significativas entre el grupo CRAVP y el grupo control en la conducta de investigación en la sesión 1 ( $p < 0.04$ ), en acicalamiento en el total de las sesiones ( $p < 0.05$ ) y en las interacciones sociales (investigación + tocar narices + seguirse + acicalamiento social + montar + amenaza lateral) en la sesión R1 ( $p < 0.02$ ) (figura 2). Las ratas CRAVP muestran un aumento en la emisión de conductas en comparación con el grupo control.

En la comparación intragrupo se observó una diferencia significativa en la conducta de investigación en el grupo CRAVP ( $p < 0.03$ ) (figura 2).

### **Latencia**

La comparación de las latencias indica diferencias significativas en la conducta de exploración en la sesión R1 ( $p < 0.02$ ) y en el total de las sesiones ( $p < 0.04$ ) (figura 3). El grupo CRAVP muestra un aumento en comparación con el grupo control.

En la comparación intragrupos el grupo CRAVP presentó diferencias significativas en la latencia a la inactividad ( $p < 0.01$ ) (figura 3).

### **Potencia espectral**

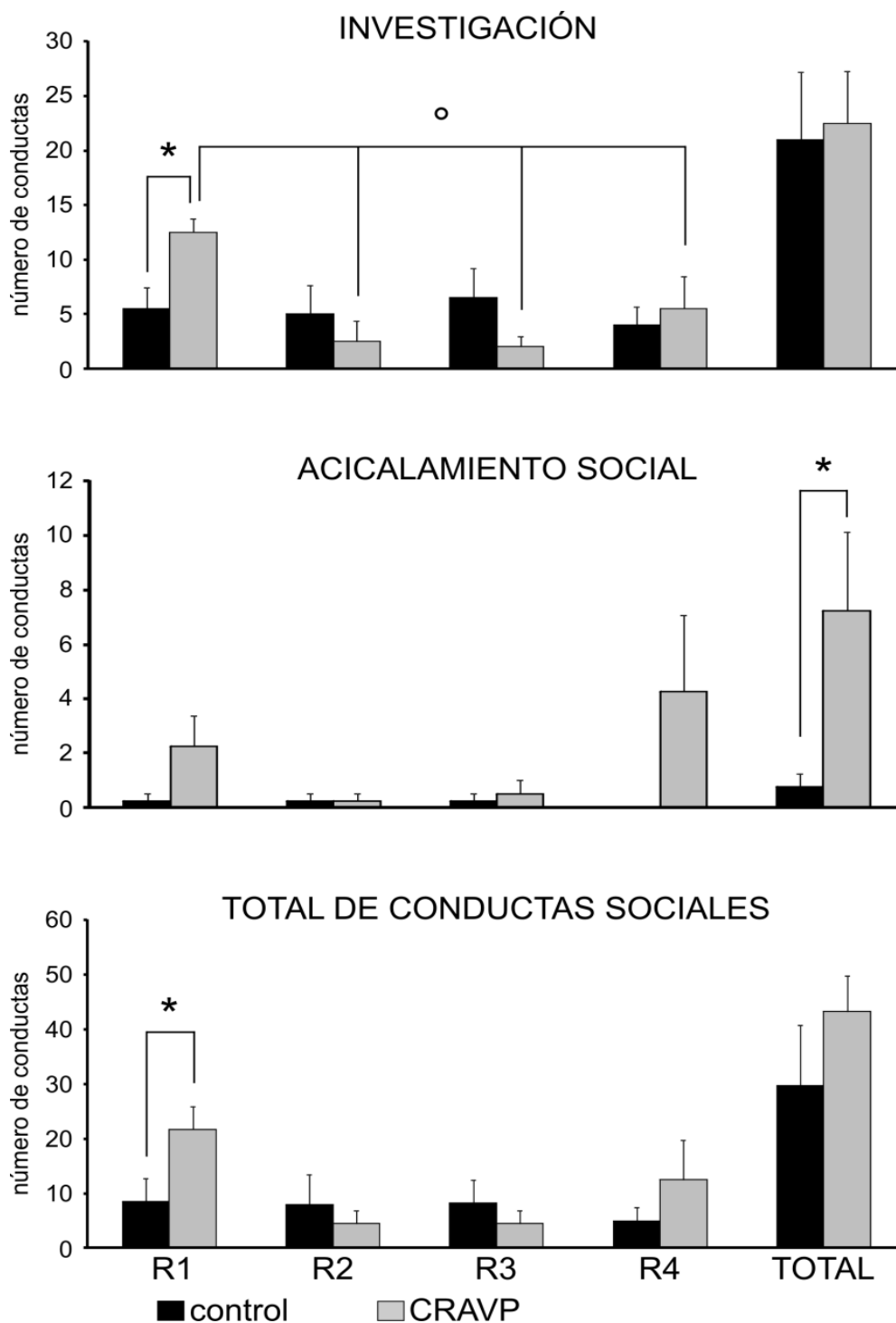
En el EEG se comparó la potencia espectral absoluta de las bandas de frecuencia de 1-4, 5-12 y 13-30 Hz, en corteza prefrontal e hipocampo bilateralmente, se analizó el efecto del tiempo, de la condición, del tiempo-condición y del tiempo-registro.

La comparación de potencia espectral indica diferencias significativas en hipocampo izquierdo de todas las bandas analizadas y en corteza prefrontal izquierda de la banda de 1-4 Hz.

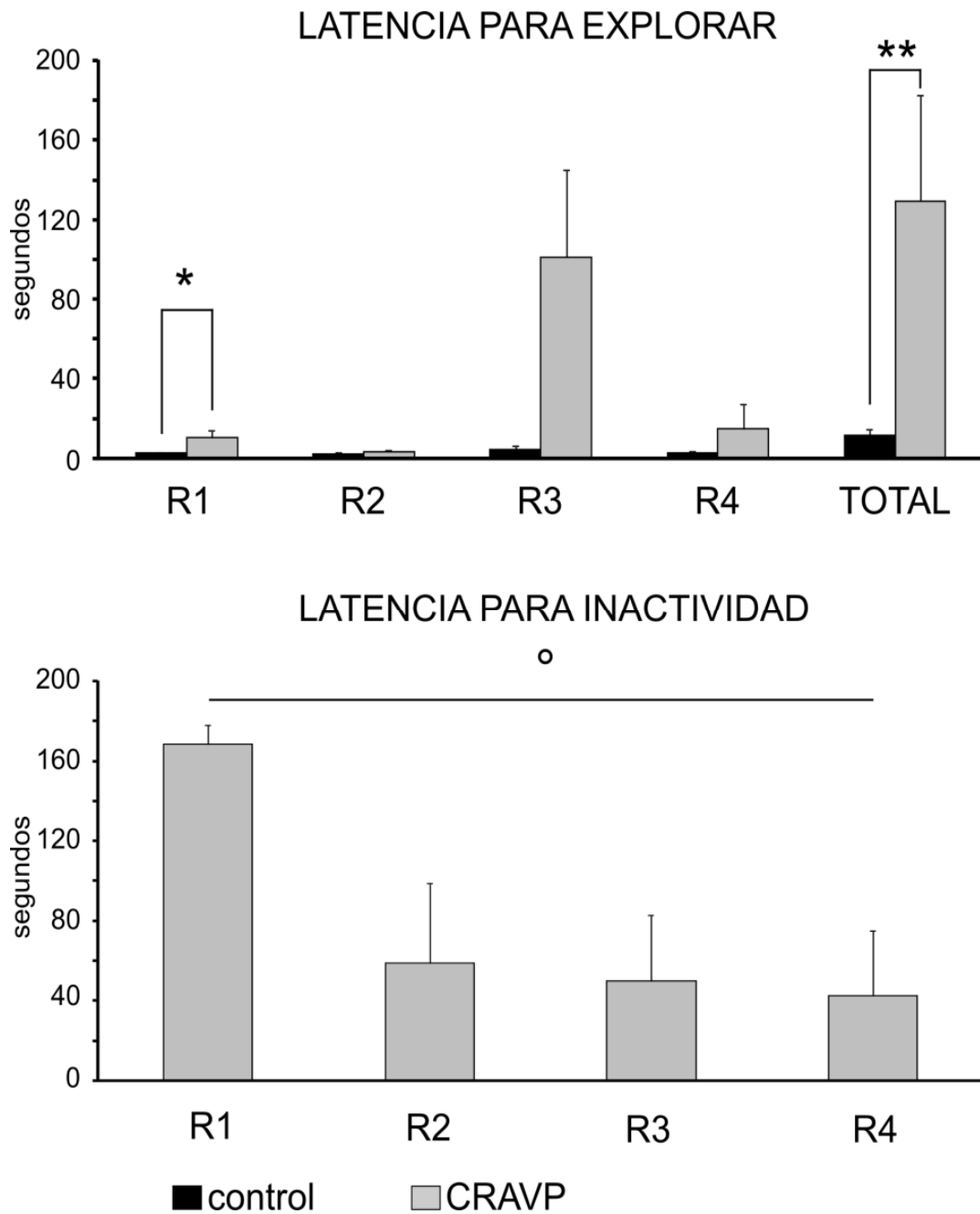
La comparación entre grupos de la banda de 1-4 Hz en hipocampo izquierdo indica diferencias significativas en el tiempo ( $p < 0.001$ ), condición ( $p < 0.005$ ) y tiempo-condición ( $p < 0.001$ ), el grupo CRAVP presenta una menor potencia en todos los registros. En la comparación intragrupal hay diferencias en el tiempo ( $p < 0.001$ ) y en el tiempo-registro ( $p < 0.05$ ). También se encuentran diferencias entre grupos en corteza prefrontal izquierda en la condición ( $p < 0.02$ ) con una mayor potencia en el grupo CRAVP (figura 4).

En la banda de 5-12 Hz hay diferencias entre grupos en el tiempo ( $p < 0.001$ ), en la condición ( $p < 0.004$ ) y en el tiempo-condición ( $p < 0.01$ ) presentando menor potencia el grupo CRAVP (figura 5).

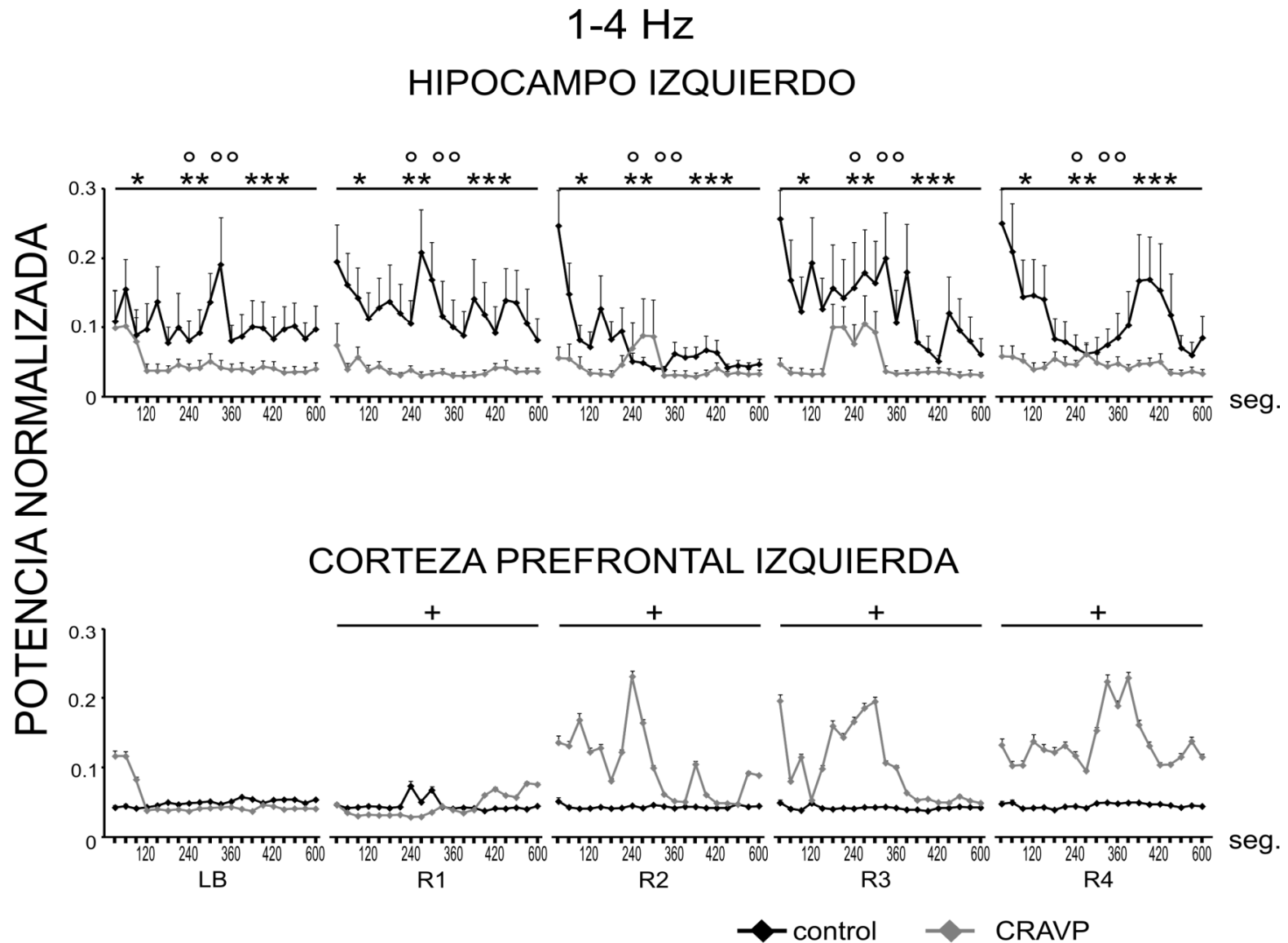
En la banda de 13-30 Hz las diferencias encontradas fueron entre grupos en el tiempo ( $p < 0.001$ ) y en la condición ( $p < 0.05$ ), con una menor potencia en el grupo CRAVP (figura 5).



**Fig. 2-** Promedio (+error estándar EE) de conductas presentadas por todos los animales de ambas condiciones en cada sesión de registro (R) y el total acumulado. Entre las ratas control y CRAVP se observó una diferencia significativa con la prueba U de Mann Whitney en la conducta de investigación en R1 (\* $p < 0.04$ ), en el total acumulado de conductas acicalamiento social (\* $p < 0.05$ ) y en R1 en el total de conductas sociales (\* $p < 0.02$ ). También se observó entre los diferentes registros de CRAVP una diferencia significativa en la conducta de investigación (° $p < 0.03$  prueba de Friedman).



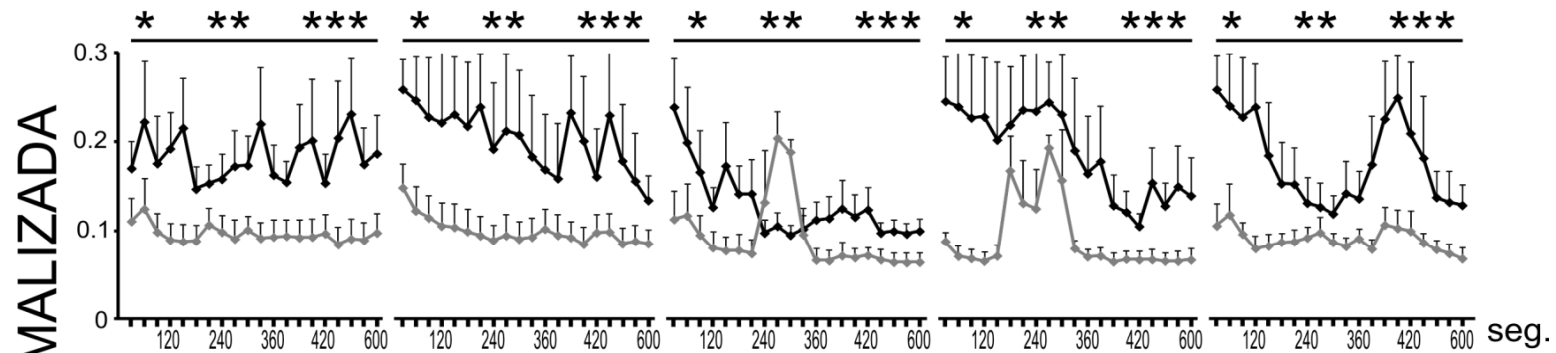
**Fig. 3-** Promedio (+EE) de la latencia presentada por todos los animales de ambas condiciones en cada sesión de registro (R) y el total acumulado. Entre las ratas control y CRAVP se observó una diferencia significativa con la prueba U de Mann Whitney en la conducta de exploración en R1 (\* $p < 0.02$ ) y en el total acumulado (\* $p < 0.04$ ). Asimismo, entre los diferentes registros de CRAVP se observó una diferencia significativa en la latencia para la inactividad ( $p < 0.01$  prueba de Friedman).



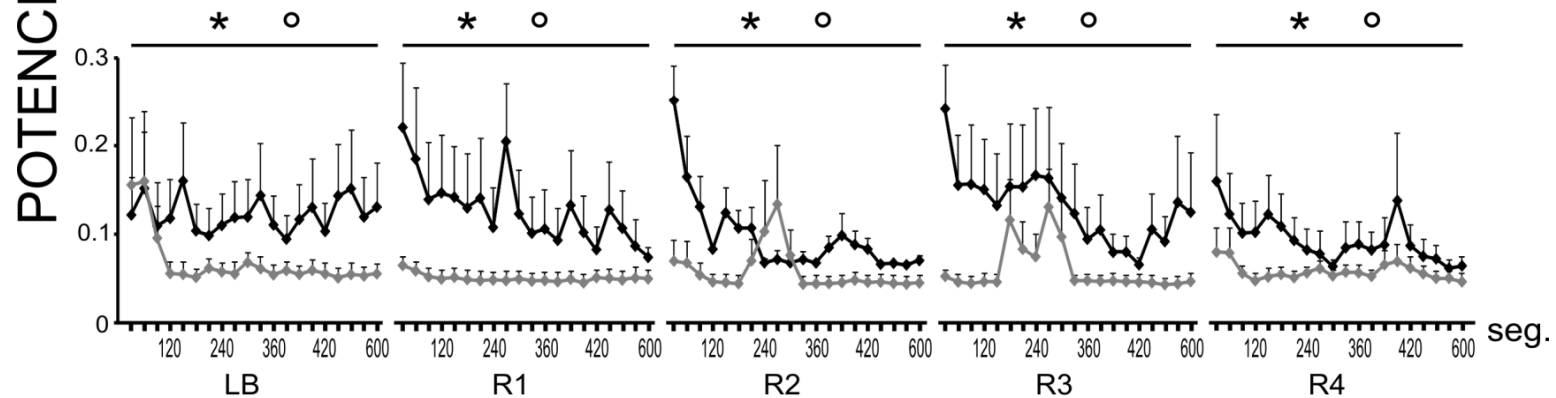
**Fig. 4-** Promedio (+EE) de la potencia normalizada de la banda de 1 a 4 Hz del hipocampo y la corteza prefrontal izquierdos de todos los animales de ambas condiciones. Nótese en el hipocampo, la diferencia entre grupos por las variables tiempo \* $p < 0.001$ , condición \*\* $p < 0.005$  y tiempo-condición \*\*\* $p < 0.001$ ; y la diferencia intragrupo por las variables tiempo  $p < 0.001$  y tiempo-registro °  $p < 0.05$  del grupo CRAVP (prueba anova de medidas repetidas). En la corteza prefrontal se observa una diferencia significativa entre grupos por la variable condición + $p < 0.02$  (prueba anova de medidas repetidas).

# HIPOCAMPO IZQUIERDO

## 5-12 Hz



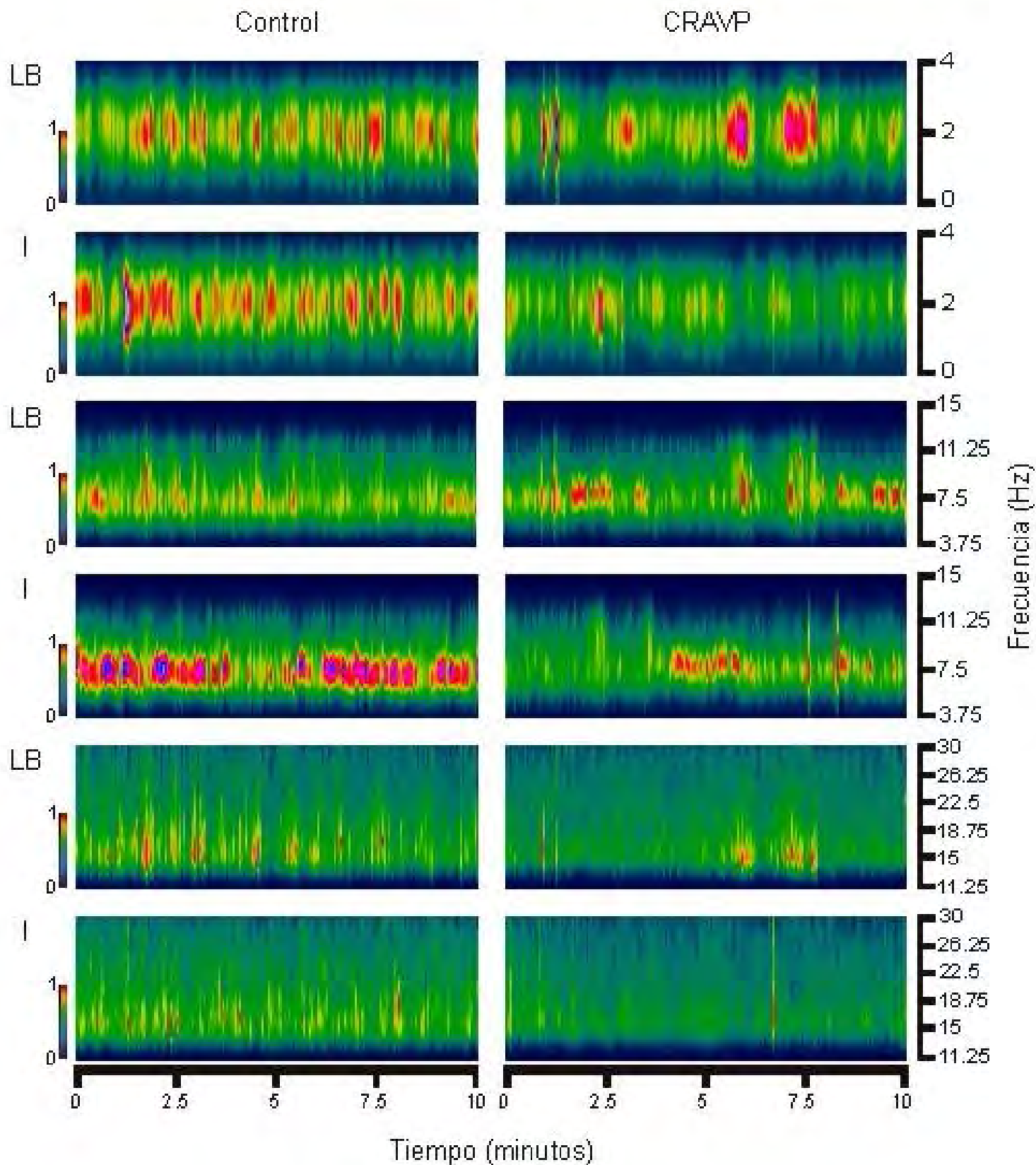
## 13-30 Hz



◆ control    ◆ CRAVP

**Fig. 5-** Promedio (+EE) de la potencia normalizada del hipocampo izquierdo de todos los animales de ambas condiciones. Nótese la diferencia significativa entre grupos por las variables tiempo \* $p < 0.001$ , condición \*\* $p < 0.004$  y tiempo-condición \*\*\* $p < 0.01$  para la banda de 5 a 12 Hz (prueba anova de medidas repetidas). Asimismo, en la banda de 13 a 30 Hz nótese la diferencia significativa por las variables tiempo \* $p < 0.001$  y condición ° $p < 0.05$  (prueba anova de medidas repetidas).





**Fig. 6-** Potencia espectral de registros de hipocampo izquierdo con 10 minutos de duración en bandas de frecuencia 1-4, 5-12 y 13-30 Hz de línea base y sesiones de interacción de una rata CRAVP y una control. Los colores cálidos indican mayor potencia espectral. Nótese menor potencia en todas las bandas de la rata CRAVP y menor variación entre los registros de línea base e interacción.

## ***DISCUSIÓN***

El diagnóstico del trastorno autista es complicado debido a las diferentes manifestaciones de los síntomas centrales, aunque se ha propuesto manejar el padecimiento como un espectro en el que puede variar la intensidad de los síntomas aún persisten problemáticas para que los especialistas realicen un diagnóstico adecuado.

A pesar de los avances realizados en identificar algunos factores ambientales y genéticos que pueden generar la enfermedad, aún se desconoce la etiología del autismo y no se han identificado los mecanismos de dinámica cerebral que propician el trastorno. En el campo de la investigación se han realizado estudios *post mortem* que han identificado zonas alteradas, también se han realizado estudios comparativos de electroencefalografía y neuroimagen sin embargo estos estudios tienen limitantes porque se realizan con autistas de alto funcionamiento y no incluyen a personas con síntomas más severos por la imposibilidad de realizar las evaluaciones con ellos. Estos estudios arrojan resultados diferentes, lo cual no ha permitido describir de forma precisa las alteraciones que ocurren en el cerebro de los autistas y conlleva a que no existan tratamientos que ayuden a disminuir los síntomas.

Debido a estas complicaciones se han desarrollado modelos animales que integran analogías de los síntomas del trastorno y permiten estudiar los sistemas implicados en la manifestación conductual, entre estos modelos se encuentra el modelo VPA viable por su vínculo con la génesis del autismo en humanos y similitudes sintomatológicas.

Uno de los síntomas más estudiados en modelos animales de autismo es la interacción social anormal. La interacción social, constituye un factor adaptativo fundamental en la dinámica interna de grupos de animales y seres humanos. En el ser humano, las alteraciones en los patrones de conductas de interacción social se asocian con diversas patologías neuropsiquiátricas, tales como el autismo, es por esto que en los modelos animales se utilizan pruebas conductuales que analizan las conductas sociales<sup>131,132</sup>. Para esta investigación se utilizó el test de interacción social recíproca para observar los patrones conductuales de las ratas CRAVP.

De acuerdo a los resultados de este estudio las ratas CRAVP muestran un aumento en la emisión de conductas de interacción social comparadas con el grupo control. Esto contrasta con investigaciones anteriores en donde se ha encontrado que las ratas CRAVP exhiben disminución en el número de conductas sociales y mayor latencia a la conducta social. Sin embargo, el aumento de conductas de interacción social presentado en las CRAVP no significa que presenten mayor nivel de sociabilidad porque estas conductas no se presentan en un patrón estable que indique una buena adaptación a la nueva situación, pero podría indicar estereotipia e hiperactividad, alteración encontrada en otras investigaciones y que es un síntoma distintivo de este trastorno<sup>93,133</sup>.

Es importante destacar que las ratas empleadas en esta investigación se registraron en edad adulta y es posible que el aumento en las conductas sociales y la hiperactividad sean efectos de la edad, lo que hace necesario que las investigaciones en este campo consideren la edad de las ratas y evalúen el desarrollo de los síntomas en este modelo, pues extrapolándolo a las personas que padecen autismo, algunos síntomas se pueden atenuar y otros se mantienen constantes en el tiempo. En una revisión de Seltzer, et al.<sup>134</sup> sobre el progreso de la sintomatología de las personas autistas se concluyó que síntomas como las deficiencias en la comunicación pueden mejorar con el tiempo en algunas personas, pero la mayoría de las veces se mantienen, los comportamientos estereotipados y los patrones de intereses restringidos pueden cambiar de forma cualitativa con la edad, mientras que los déficits en la interacción social permanecen en la edad adulta, lo que sugiere que existen mecanismos cerebrales dependientes de la edad que propician los cambios sintomatológicos que se presentan.

En estudios neuroanatómicos se ha detectado que en las personas autistas existen cambios en el tamaño del cerebro relacionados con la edad, que se caracterizan por un crecimiento excesivo durante los primeros tres años, seguido de una degeneración acelerada que inicia alrededor de los doce años, estos hallazgos conducen a hipotetizar que las anomalías anatómicas pueden deberse a cambios de expresión genética, molecular, celular y

sináptica que se manifiestan en etapas específicas y pueden ser un buen predictor de la severidad de los síntomas<sup>135,136</sup>.

Para corroborar el patrón conductual inestable de las ratas CRAVP se realizó la comparación intragrupos, encontrando diferencias significativas en la conducta de investigación, parámetro considerado para medir el acercamiento entre las ratas y evaluar las pautas de interacción social. Schneider et al.<sup>93</sup> argumentan que este patrón de acercamiento es el resultado de una disminución en la habilidad para expresar y entender señales comunicativas específicas que les impide realizar conductas sociales adecuadas. Esta característica de las ratas CRAVP es comparable a las deficiencias para interpretar señales no verbales presentes en humanos con autismo situación que no les permite establecer relaciones adecuadas a su nivel de desarrollo.

Otro parámetro cuantificable que da información acerca de las anomalías conductuales que presentan las ratas CRAVP es el tiempo que tardan las ratas en emitir cada conducta, los resultados de esta investigación indican un aumento en la latencia a explorar comparado con el grupo control, esta alteración se ha reportado en algunos estudios y se ha relacionado con una pérdida de motivación a explorar ambientes novedosos<sup>93,133</sup> que implicaría una alteración del sistema límbico en regiones como amígdala, corteza frontal, corteza del cíngulo e hipocampo<sup>137,138</sup>.

Algunos estudios reportan alteraciones en estructuras límbicas en las personas que padecen autismo, por ejemplo se ha detectado que los niños preescolares con el trastorno presentan mayor volumen en la amígdala cuando se compara con personas sin el trastorno, y al llegar a la adolescencia estas diferencias se reducen. Se ha relacionado el volumen de la amígdala con las severidad del trastorno lo que implica que un mayor volumen de amígdala podría ser responsable de mayor ansiedad, mas déficit en las habilidades sociales y de comunicación<sup>139,140</sup>.

En la corteza frontal se ha encontrado que la porción medial y dorsolateral crece más que el resto de la corteza de los dos a los nueve años, se presenta disminución de la densidad de células piramidales y reducción del tamaño de las minicolumnas en áreas de asociación de la corteza frontal y parietal<sup>85,138</sup>.

En el giro del cíngulo se reportan diferentes alteraciones dependiendo de la porción, en la parte posterior, estructura implicada en el reconocimiento facial de las emociones, se encuentran disminuidos los receptores a GABA<sub>A</sub> y a benzodiazepinas<sup>141</sup>, esto sugiere una interrupción del control inhibitorio en la corteza que puede contribuir a las alteraciones principales del comportamiento socio-emocional del trastorno; y en la parte anterior del cíngulo, implicada en las respuestas de inhibición y en procesos de autopercepción, se ha observado una hipoactivación al momento de realizar tareas específicas, alteraciones que podrían explicar los comportamientos estereotipados que presentan los autistas<sup>142</sup>.

En el hipocampo las anormalidades descritas incluyen la disminución del tamaño de las células e incremento en las de empaquetamiento que pueden ser efecto de la edad, algunos estudios encontraron un patrón de crecimiento similar al de la amígdala, pero estos hallazgos no son homogéneos, por lo que es necesario más investigación para determinar como se ve afectada esta área con el padecimiento<sup>85</sup>.

Una variable en donde también se encontraron diferencias significativas en el grupo CRAVP fue la latencia a la inactividad, con un aumento en la sesión R1 que podría ser un indicador de hiperactividad al inicio de la prueba causada por ansiedad de estar en un ambiente desconocido expresada en mayor actividad locomotora. La ansiedad ha sido un síntoma relacionado con el autismo y anatómicamente se vincula con alteraciones en la amígdala. Markram et al.<sup>94</sup>, encontraron que las ratas tratadas con VPA tenían mayor retención y generalización de memorias de miedo e histológicamente las células de amígdala mostraban hiperreactividad a la estimulación eléctrica y mayor plasticidad sináptica, que podría ser el mecanismo que explique el aumento de la ansiedad descrito por Kanner.

Los déficits conductuales que presentan las personas que padecen autismo son reflejo de alteraciones en la estructura neuronal que se manifiestan en actividad bioeléctrica que puede ser observable a través de EEG. Esta técnica aporta información acerca de la conectividad neuronal, e indirectamente puede dar marcadores acerca de la morfología de las células nerviosas.

Investigaciones en humanos han encontrado diferencias en los trazos de EEG en personas con autismo comparadas con personas sin el padecimiento, pero las diferencias en el diseño experimental, las bandas espectrales empleadas, las regiones cerebrales analizadas, los estados cerebrales (activado o en reposo), el tipo de análisis, el tamaño de la muestra, las diferencias en los rangos de edad, la gravedad del trastorno, y la inconsistencia de los resultados dificultan la generalización de los hallazgos<sup>143</sup>. Por esta razón, además de identificar diferencias de interacción que presentan las ratas CRAVP, esta investigación tenía el objetivo de analizar la actividad electroencefalográfica en la prueba de interacción recíproca para determinar si la potencia espectral podía relacionarse con el padecimiento.

Nuestros resultados señalan que hay diferencias en el EEG, principalmente en el hipocampo izquierdo. Esto podría deberse a la diferencia de lateralidad entre los hemisferios, los estudios en personas reportan que el cerebro de personas sanas responde hacia los estímulos del exterior activando principalmente grupos neuronales del lado derecho, mientras los autistas activan las neuronas de lado izquierdo y de forma más sutil, con lo que se ha concluido que no presentan un patrón claro de lateralización. Esta alteración en la lateralización podría afectar funciones cognitivas como la atención, proceso que se encuentra alterado en las personas con el padecimiento, y aunque no se considera dentro de los signos centrales se ha relacionado con las características diagnósticas del trastorno<sup>144</sup>.

Las deficiencias en la atención se han corroborado con resonancia magnética y potenciales relacionados a eventos. Se observa una lateralización atípica a la respuesta auditiva binaural a clics en niños autistas, presentando dificultades para centrar su atención a estímulos auditivos y discriminarlos de otros sonidos irrelevantes<sup>144</sup>. Estos déficits en la atención espacial auditiva pueden ser un factor que refleja excitación anormal que compromete la capacidad de regular una respuesta óptima e impide la interacción social particularmente en ambientes ruidosos<sup>145</sup>.

Una manera distinta de investigar las alteraciones de la lateralización que se presentan en las personas con autismo, es a través del análisis de la

coherencia interhemisférica en el EEG, debido a que refleja patrones de conectividad cortical a través de señales neuronales y sus fluctuaciones temporales. Estudios en humanos con el padecimiento reportan disminución en la coherencia interhemisférica en los lóbulos frontal, parietal y occipital comparados con personas con un desarrollo normal que podría reflejar una disminución en la conectividad estructural asociada a la reducción del cuerpo calloso en las personas con autismo<sup>146</sup>.

Otra técnica alterna para observar los cambios que se presentan en el EEG de personas autistas es la estimulación fónica, debido a que mejora la manifestación latente de mecanismos neurofisiológicos anormales espontáneos, que no se presentan en un registro de EEG en estado de reposo, Lazarev et al.<sup>147</sup>, utilizaron esta técnica y concluyeron que las personas con autismo muestran una hiperconectividad en el hemisferio izquierdo que pueden ser de carácter compensatorio en relación con una probable hipoactividad del hemisferio derecho.

Los análisis de EEG proveen de evidencia de baja conectividad de largo alcance e hiperconectividad en neuronas cercanas en personas autistas<sup>146</sup>. Estudios *in vitro* de electrofisiología en ratas expuestas prenatalmente al valproato confirman este patrón de hiperconectividad pero con sinapsis excitatorias débiles, lo que sugiere que la exposición al valproato podría generar hiperconectividad y debilidad en la sinapsis que podría ser un mecanismo compensatorio de esta alteración, debido a un desarrollo inadecuado en los circuitos por la exposición al VPA que altera la expresión de GABA y glutamato, neurotransmisores claves para la sinaptogénesis y la diferenciación neuronal en etapas embrionarias<sup>148</sup>.

Las anomalías en el sistema GABAérgico y glutamatérgico que presentan las personas con autismo han llevado a proponer la teoría del desequilibrio de inhibición/excitación, en donde hipotetizan que en el autismo se presenta una pérdida de inhibición local y de excitación a larga distancia durante el desarrollo<sup>138</sup>. Este motivo ha llevado a desarrollar investigación en modelos animales de autismo para analizar alteraciones a nivel de neurotransmisores.



El glutamato tiene un papel importante en diferentes actividades del cerebro, como control motor, plasticidad neuronal, aprendizaje, memoria, cognición, maduración neuronal y organización cortical, por este motivo las áreas afectadas en el cerebro autista como el hipocampo y el cerebelo se han relacionado con alteraciones en el sistema glutamatérgico<sup>149</sup>. Shimmura et al.<sup>150</sup>, analizaron los niveles de glutamato y glutamina en el plasma con personas autistas detectando que presentan hiperglutamatergia. Fatemi, et al.<sup>151</sup>, encontraron que las enzimas responsables de transformar el glutamato en GABA (GAD 65 y GAD 67) estaban disminuidas en personas con autismo y es probable que sea esta disminución la que propicie la hiperglutamatergia.

Para prevenir la excitotoxicidad generada por el exceso de glutamato los transportadores regulan los niveles del neurotransmisor. Bristot et al.<sup>152</sup>, analizaron parámetros astrocíticos, por su relación con los transportadores y precursores de glutamato utilizando ratas CRAVP jóvenes y adultas, observaron que las ratas adultas expuestas al valproato tenían una disminución en la actividad de síntesis de glutamina dependiente de la edad, que podría ser reflejo de disfunciones en la maduración astrocítica en ratas expuestas prenatalmente al ácido valproico concluyendo que, por su participación activa en la sinapsis, debe considerarse el papel de las células gliales en la neurodegeneración que ocurre en los autistas.

La serotonina es otro neurotransmisor que se encuentra alterado en las personas con autismo, su desequilibrio se ha relacionado con la percepción anormal de los estímulos neutros y dolorosos que presentan las personas con este padecimiento, también podría estar implicado en alteraciones morfológicas, debido a que durante el neurodesarrollo es un factor de diferenciación neuronal y modulador de sinaptogénesis<sup>153</sup>. Chugani et al.<sup>154</sup>, detectaron que en los niños que padecen autismo la capacidad de síntesis serotoninérgica aumenta con la edad, contrario a lo que ocurre en niños con un desarrollo normal lo que sugiere una alteración en los mecanismos serotoninérgicos durante el crecimiento. Sin embargo se ha reportado que los cambios en este neurotransmisor varía según el área de estudio por ejemplo en el núcleo dentado derecho los autistas presentan un aumento de serotonina en comparación con personas sin el trastorno, mientras que en estructuras como

la corteza frontal izquierda, el tálamo y el hipocampo hay una disminución<sup>155</sup>. Dufour-Rainfray et al.<sup>88</sup>, midieron niveles serotoninérgicos en ratas del modelo VPA encontrando una disminución en el hipocampo asociado a las deficiencias en los comportamientos sociales.

Además de causar alteraciones en los neurotransmisores, el ácido valpróico puede alterar la morfología y conectividad de las células nerviosas, una estructura particularmente sensible a los efectos del fármaco es el hipocampo, región donde puede causar muerte neuronal, produciendo deficiencias en la memoria y el aprendizaje<sup>156</sup>.

La investigación histológica reporta un aumento de neurogénesis hipocampal por el aprendizaje de nuevas habilidades<sup>149</sup>, teniendo esto como antecedente se ha propuesto el uso de ambientes enriquecidos para el tratamiento de lesiones cerebrales, observando efectos conductuales positivos acompañados de modificaciones neuroquímicas y anatómicas en el cerebro. Schneider, Turczak y Przewlocki<sup>157</sup>, examinaron el efecto del ambiente enriquecido en el comportamiento de ratas expuestas prenatalmente al ácido valpróico encontrando que reducía la ansiedad y aumentaba las conductas sociales.

Considerando que las alteraciones conductuales y anatómicas que se presentan en el autismo son dependientes de la edad, es importante que las personas con el padecimiento lleven un tratamiento conductual desde etapas tempranas para formar redes neuronales compensatorias que disminuyan la sintomatología y sirva como protección para la neurodegeneración que presentan.

La combinación de la experiencia enriquecida con los tratamientos farmacológicos puede fortalecer y mejorar la eficacia terapéutica. El modelo animal empleado para este trabajo puede servir como herramienta para investigar con más detalle los cambios que ocurren en el proceso de maduración y mejorar el entendimiento de la biología y la heterogeneidad del autismo para permitir el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento que aumenten la calidad de vida.

## ***CONCLUSIONES***

1. El modelo VPA es una opción viable para el estudio controlado de los mecanismos cerebrales que ocasionan las manifestaciones clínicas del trastorno y sus posibles cambios durante el desarrollo.
2. Los resultados obtenidos muestran cambios conductuales y de actividad EEG en los animales CRAVP.
3. Las alteraciones conductuales podrían ser reflejo de mecanismos cerebrales compensatorios a los daños ocurridos en etapas tempranas del desarrollo del sistema nervioso.
4. Los patrones anormales de lateralidad en el EEG podrían servir como herramienta de apoyo diagnóstico.

## ***REFERENCIAS***

1. Gillberg C. The biology of the autistic syndromes, USA: Cambridge University Press; 2000.
2. Wing L. El autismo en niños y adultos una guía para la familia. México: Paidós; 1998.
3. Happé F. Introducción al autismo, España: Psicología Alianza Editorial; 2007.
4. Polaino A. Introducción al estudio científico del autismo infantil, España: Alhambra; 1982.
5. López S., Rivas R. y Taboada E. Revisiones sobre el autismo, Revista Latinoamericana de Psicología. 2009; 41(3): 555-570.
6. López S., Rivas R. y Taboada E. Historia del trastorno autista, Apuntes de psicología. 2010; 28: 51-64.
7. Soutullo C. y Mardomingo M. Manual de psiquiatría del niño y del adolescente. España; Editorial Médica Panamericana; 2010.
8. American Psychological Association. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales DSM-III. México: Masson; 1980.
9. American Psychological Association. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales DSM-III- R. México: Masson; 1987.
10. American Psychological Association. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales DSM-IV. México: Masson; 1994.
11. Organización Mundial de la Salud. Clasificación de los Trastornos mentales y del comportamiento con glosario y criterios Diagnósticos de Investigación. México: Editorial Médica Panamericana; 2010.
12. Cuxart F. El autismo aspectos descriptivos y terapéuticos, España: Aljibe; 2000.
13. Swartz. LS. Autismo. México: Innovación Editorial Lagares de México; 2004.

14. American Psychological Association. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales DSM-IV- R. México: Masson; 2002.
15. Autismo Diario [sede web] México: Autismo Diario; 2011 [actualizado el 29 de enero del 2011; acceso 7 de noviembre del 2012]. De Bermúdez LV. Nuevo estudio sobre la prevalencia del Autismo en México. Disponible en: <http://wp.me/p1lUm3-RT>.
16. Elzouki, A.Y., Harfi, H.A., Nazer, H., Oh, W., Stapleton y F.B., Whitley, R.J. Textbook of Clinical Pediatrics, USA, Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
17. Murcia CL, Gulden F y Herrup K. A question of balance: a proposal for new mouse models of autism. *Int J Dev Neurosci*. 2005; 23(2-3):265-75.
18. Neuhaus E, Beauchaine TP y Bernier R. Neurobiological correlates of social functioning in autism. *Clin Psychol Rev*. 2010; 30(6):733-48.
19. Varela-González M, Ruíz-García M, Vela-Amieva M, Munive-Baez L y Hernández-Antúnez B. Conceptos actuales sobre la etiología del autismo. *Acta Pediatr Mex*. 2011; 32(4):213-222.
20. Currenti SA. Understanding and determining the etiology of autism. *Cell Mol Neurobiol*. 2010; 30(2):161-71.
21. Bernard S, Enayati A, Redwood L, Roger H y Binstock T. Autism: a novel form of mercury poisoning. *Med Hypotheses*. 2001; 56(4):462-71.
22. Miller E. Measles-mumps-rubella vaccine and the development of autism. *Semin Pediatr Infect Dis*. 2003; 14(3):199-206.
23. Miyazaki K, Narita N y Narita M. Maternal administration of thalidomide or valproic acid causes abnormal serotonergic neurons in the offspring: implication for pathogenesis of autism. *Int J Dev Neurosci*. 2005; 23(2-3):287-97.
24. Arndt TL, Stodgell CJ y Rodier PM. The teratology of autism. *Int J Dev Neurosci*. 2005; 23(2-3):189-99.

- 25.Löscher W. Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs*. 2002; 16(10):669-94.
- 26.Manoguerra AS, Erdman AR, Woolf AD, Chyka PA, Caravati EM, Scharman EJ, et al. Valproic acid poisoning: an evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clin Toxicol*. 2008; 46(7):661-76.
- 27.Johannessen CU y Johannessen SI. Valproate: past, present, and future. *CNS Drug Rev*. 2003; 9(2):199-216.
- 28.Meador K, y Loring D. Risks of In Utero Exposure to Valproate *JAMA*. 2013; 309(16): 1730–1731.
- 29.Genton P, Semah F y Trinka E, Valproic acid in epilepsy: pregnancy-related issues. *Drug Saf*. 2006; 29(1):1-21.
- 30.Christianson AL, Chesler N y Kromberg JG. Fetal valproate syndrome: clinical and neuro-developmental features in two sibling pairs, *Dev Med Child Neurol*. 1994; 36(4):361-9.
- 31.Ornoy A. Valproic acid in pregnancy: how much are we endangering the embryo and fetus? *Reprod Toxicol*. 2009; 28(1):1-10.
- 32.Rasalam AD, Hailey H, Williams JHG, Moore SJ, Turnpenny PD, Lloyd DJ, et al. Characteristics of fetal anticonvulsant syndrome associated with autistic disorder. *Dev Med Child Neurol* 2005; 47:551–5.
- 33.Fujiki R, Sato A, Fujitani M y Yamashita T A proapoptotic effect of valproic acid on progenitors of embryonic stem cell-derived glutamatergic neurons. *Cell Death Dis*. 2013; 20(4):1-10.
- 34.Palmen SJ, van Engeland H, Hof PR y Schmitz C. Neuropathological findings in autism. *Brain*. 2004; 127(12):2572-83.
- 35.Stanfield AC, McIntosh AM, Spencer MD, Philip R, Gaur S y Lawrie SM, Towards a neuroanatomy of autism: a systematic review and meta-analysis of structural magnetic resonance imaging studies, *Eur Psychiatry*. 2008; 23(4):289-99.



36. Brambilla P, Hardan A, di Nemi SU, Perez J, Soares JC y Barale F. Brain anatomy and development in autism: review of structural MRI studies. *Brain Res Bull.* 2003; 61(6):557-69.
37. Sacco R, Militerni R, Frolli A, Bravaccio C, Gritti A, Elia M. et al. Clinical, morphological, and biochemical correlates of head circumference in autism. *Biol Psychiatry.* 2007; 62(9):1038-47.
38. Schumann CM, Hamstra J, Goodlin-Jones BL, Lotspeich LJ, Kwon H, Buonocore MH, et al. The amygdala is enlarged in children but not adolescents with autism; the hippocampus is enlarged at all ages. *J Neurosci.* 2004; 24(28):6392-401.
39. Dementieva YA, Vance DD, Donnelly SL, Elston LA, Wolpert CM, Ravan SA, et al. Accelerated head growth in early development of individuals with autism. *Pediatr Neurol.* 2005; 32(2):102-8.
40. Dawson G, Munson J, Webb SJ, Nalty T, Abbott R. y Toth K. Rate of head growth decelerates and symptoms worsen in the second year of life in autism. *Biol Psychiatry.* 2007; 61(4):458-64.
41. Herbert MR, Ziegler DA, Deutsch CK, O'brien LM, Lange N y Bakardjiev A. et al. Dissociations of cerebral cortex, subcortical and cerebral white matter volumes in autistic boys. *Brain.* 2003; 126: 1182–1192.
42. Carper RA, Moses P, Tigue ZD y Courchesne E, Cerebral lobes in autism: early hyperplasia and abnormal age effects. *Neuroimage.* 2002; 16(4):1038-51.
43. Courchesne E, y Pierce K. Why the frontal cortex in autism might be talking only to itself: local over-connectivity but long-distance disconnection. *Curr Opin Neurobiol.* 2005; 15(2):225-30.
44. Buxhoeveden DP, Semendeferi K, Buckwalter J, Schenker N, Switzer R, y Courchesne E. Reduced minicolumns in the frontal cortex of patients with autism. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2006; 32(5):483-91.

45. Carper RA y Courchesne E, Localized enlargement of the frontal cortex in early autism, *Biol Psychiatry*. 2005; 15; 57(2):126-33.
46. Haznedar MM, Buchsbaum MS, Wei TC, Hof PR, Cartwright C, Bienstock CA y Hollander E. Limbic circuitry in patients with autism spectrum disorders studied with positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Am J Psychiatry*. 2000; 157(12):1994-2001.
47. Kemper TL. y Bauman ML. Neuropathology of infantile autism. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1998; 57, 645–652.
48. Dawson G, Meltzoff AN, Osterling J, y Rinaldi J. Neuropsychological correlates of early symptoms of autism. *Child Dev.* 1998; 69(5): 1276-85.
49. Raymond GV, Bauman ML y Kemper TL. Hippocampus in autism: a Golgi analysis. *Acta Neuropathol.* 1996; 91(1):117-9.
50. Bauman ML y Kemper TL. Neuroanatomic observations of the brain in autism: a review and future directions. *Int J Dev Neurosci.* 2005; 23(2-3):183-7.
51. Sparks, B.F., Friedman, S.D., Shaw, D.W., Aylward, E.H., Echelard, D., Artru, A.A., et al. Brain structural abnormalities in young children with autism spectrum disorder. *Neurology* 2002; 59, 184–192.
52. Sprick U. Functional aspects of the involvement of the hippocampus in behavior and memory functions. *Behav Brain Res.* 66 (1995) 61-64.
53. Gruber AJ y McDonald RJ. Context, emotion, and the strategic pursuit of goals: interactions among multiple brain systems controlling motivated behavior. *Front Behav Neurosci.* 2012; 6, 50.
54. Bannerman DM, Rawlins JN, McHugh SB, Deacon RM, Yee BK y Bast T. et al. Regional dissociations within the hippocampus--memory and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004; 28(3):273-83.
55. Nicolson R, DeVito TJ, Vidal CN, Sui Y, Hayashi KM, Drost DJ. et al. Detection and mapping of hippocampal abnormalities in autism. *Psychiatry Res.* 2006; 148(1):11-21.

56. Aylward, E.H., Minshew, N.J., Goldstein, G., Honeycutt, N.A., Augustine, A.M., Yates, K.O. et al. MRI volumes of amygdala and hippocampus in non-mentally retarded autistic adolescents and adults. *Neurol.* 1999; 53, 2145–2150.
57. Saitoh, O., Karns, C.M., Courchesne, E. Development of the hippocampal formation from 2 to 42 years: MRI evidence of smaller area dentata in autism. *Brain.* 2001; 124, 1317–1324.
58. Piven, J., Arndt, S., Bailey, J., Havercamp, S., Andreasen, N.C., Palmer, P. An MRI study of brain size in autism. *Am. J. Psychiatry.* 1995; 152 1145–1149.
59. Davidovitch M, Patterson B, Gartside P. Head circumference measurements in children with autism. *J. Child Neurol.* 1996; 11, 389–393.
60. Piven J, Arndt S, Bailey J. y Andreasen, N. Regional brain enlargement in autism: a magnetic resonance imaging study. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 1996; 35, 530–536.
61. Lainhart JE, Piven J, Wzorek M, Landa R, Santangelo, SL, Coon H, et al. Macrocephaly in children and adults with autism. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 1997; 36, 282–290.
62. Courchesne E, Karns CM, Davis HR, Ziccardi R. Carper RA, Tigue ZD, et al. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: an MRI study. *Neurology.* 2001; 57, 245–254.
63. Bailey, A., Luthert, P., Dean, A., Harding, B., Janota, I., Montgomery, M. et al. A clinicopathological study of autism. *Brain.* 1998; 121, 889–905.
64. Aylward, E.H., Minshew, N.J., Field, K., Sparks, B.F., Singh, N. Effects of age on brain volume and head circumference in autism. *Neurology* 2002.59, 175–183.
65. Pierce K, Muller RA, Ambrose J, Allen G y Courchesne E. Face processing occurs outside the fusiform ‘face area’ in autism: evidence from functional MRI. *Brain.* 2001; 124, 2059–2073.

66. Howard MA, Cowell PE, Boucher J, Broks P, Mayes A, Farrant A, et al. Convergent neuroanatomical and behavioral evidence of an amygdala hypothesis of autism. *Neuroreport*. 2000; 11: 2931–2935.
67. Abell, F., Krams, M., Ashburner, J., Passingham, R., Friston, K., Frackowiak, R. The neuroanatomy of autism: a voxel-based whole brain analysis of structural scans. *Neuroreport*. 1999; 10, 1647–1651.
68. Piven, J., Bailey, J., Ranson, B.J., Arndt, S. No difference in hippocampus volume detected on magnetic resonance imaging in autistic individuals. *J. Autism Dev. Disord*. 1998; 28, 105–110.
69. Saitoh O, Courchesne E, Egaas B, Lincoln AJ. y Schreibman L. Cross-sectional area of the posterior hippocampus in autistic patients with cerebellar and corpus callosum abnormalities. *Neurol*. 1995; 45, 317–324.
70. Courchesne, E., Yeung-Courchesne, R., Press, G.A., Hesselink, J.R., Jernigan, T.L. Hypoplasia of cerebellar vermal lobules VI and VII in autism. *N. Engl. J. Med*. 1988; 318, 1349–1354.
71. Saitoh, O., Courchesne, E. Magnetic resonance imaging study of the brain in autism. *Psychiatry Clin Neurosci*. 1998; 52, S219–222.
72. Holtum, J.R., Minschew, N.J., Sanders, R.S., Phillips, N.E. Magnetic resonance imaging of the posterior fossa in autism. *Biol. Psychiatry* 1992; 32, 1091–1101.
73. Bauman ML y Kemper TL. Histoanatomic observations of the brain in early infantile autism. *Neurology* 1985; 35, 866–874.
74. Ritvo ER, Freeman BJ, Scheibel AB, Duong T, Robinson H, Guthrie D, et al. Lower Purkinje cell counts in the cerebella of four autistic subjects: initial findings of the UCLA-NSAC Autopsy Research Report. *Am. J. Psychiatry* 1986; 143, 862–866.
75. Kemper TL. y Bauman ML. The contribution of neuropathologic studies to the understanding of autism. *Neurol. Clin*. 1993; 11, 175–187.

- 76.Rodier, P.M., Ingram, J.L., Tisdale, B., Nelson, S., Romano, J. Embryological origin for autism: developmental anomalies of the cranial nerve motor nuclei. *J. Comp. Neurol.* 1996; 370, 247–261.
- 77.Casanova MF, Buxhoeveden DP, Switala AE y Roy E. Minicolumnar pathology in autism. *Neurol.* 2002; 58, 428–432.
- 78.Tejeiro, J. *Electroencefalografía clínica básica*. Madrid: Viguera; 2005.
- 79.Müller RA. The study of autism as a distributed disorder. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2007; 13(1):85-95.
- 80.Cantor DS, Thatcher RW, Hrybyk M y Kaye H. Computerized EEG analyses of autistic children. *J Autism Dev Disord.* 1986; 16(2):169-87.
- 81.Coben R, Clarke AR, Hudspeth W y Barry RJ. EEG power and coherence in autistic spectrum disorder. *Clin Neurophysiol.* 2008; 119(5):1002-9.
- 82.Stroganova TA, Nygren G, Tsetlin MM, Posikera IN, Gillberg C, Elam M y Orekhova EV. Abnormal EEG lateralization in boys with autism. *Clin Neurophysiol.* 2007; 118(8):1842-54.
- 83.Dawson G, Klinger LG, Panagiotides H, Lewy A y Castelloe P. Subgroups of autistic children based on social behavior display distinct patterns of brain activity. *J Abnorm Child Psychol.* 1995; 23(5):569-83.
- 84.Belzung, C., Leman, S., Vourc'h, P. y Andres, C. Rodent models for autism: a critical review. *Drug discov today.* 2005; 2(2), 93-101.
- 85.Moldin SO y Rubenstein JL. *Understanding autism from basic neuroscience to treatment*. USA: Taylor & Francis Group; 2006.
- 86.DiCicco-Bloom E, Lord C, Zwaigenbaum L, Courchesne E, Dager SR, Schmitz C, et al. The developmental neurobiology of autism spectrum disorder. *J Neurosci.* 2006; 26(26):6897-906.

87. Rice D y Barone S. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect.* 2000; 108 (3):511-33.
88. Dufour-Rainfray D, Vourc'h P, Le Guisquet AM, Garreau L, Ternant D, Bodard S., et al. Behavior and serotonergic disorders in rats exposed prenatally to valproate: a model for autism. *Neurosci Lett.* 2010; 470(1):55-9.
89. Pletnikov, M.V., Rubin, S.A., Vasudevan, K., Moran, T.H., Carbone, K.M. Developmental brain injury associated with abnormal play behaviour in neonatally Borna disease virus-infected Lewis rats: a model of autism. *Behav. Brain Res.* 1999; 100, 43–50.
90. Pletnikov, M.V., Rubin, S.A., Schwartz, G.J., Carbone, K.M., Moran, T.H. Effects of neonatal rat Borna disease virus (BDV) infection on the postnatal development of the brain monoaminergic systems. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 2000; 119, 179–185.
91. Pletnikov, M.V., Moran, T.H., Carbone, K.M. Borna disease virus infection of the neonatal rat: developmental brain injury model of autism spectrum disorders. *Front. Biosci.* 2002; 7, 593–607.
92. Lancaster, K., Dietz, D.M., Moran, T.H., Pletnikov, M.V. Abnormal social behaviours in young and adult rats neonatally infected with Borna disease virus. *Behav. Brain Res.* 2007; 176, 141–148.
93. Schneider T y Przewlocki R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. *Neuropsychopharmacology.* 2005; 30(1):80-9.
94. Markram K, Rinaldi T, La Mendola D, Sandi C y Markram H. Abnormal fear conditioning and amygdala processing in an animal model of autism. *Neuropsychopharmacol.* 2008; 33(4):901-12.
95. McFarlane, H.G., Kusek, G.K., Yang, M., Phoenix, J.L., Bolivar, V.J., Crawley, J.N. Autism-like behavioural phenotypes in BTBR T1tf/J mice. *Genes Brain Behav.* 2008; 7, 152–163.

- 96.Scattoni, M.L., Gandhi, S.U., Ricceri, L., Crawley, J.N. Unusual repertoire of vocalizations in the BTBR T+tf/J mouse model of autism. PLoS ONE 2008a; 3 e3067.
- 97.Brodkin, E.S. BALB/c mice: low sociability and other phenotypes that may be relevant to autism. Behav. Brain Res. 2007; 176, 53–65.
- 98.Insel, T.R., Shapiro, L.E. Oxytocin receptor distribution reflects social organization in monogamous and polygamous voles. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1992; 89, 981–985.
- 99.Ferguson, J.N., Aldag, J.M., Insel, T.R., Young, L.J. Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse. J. Neurosci. 2001; 2, 8278–8285.
- 100.Winslow, J.T., Insel, T.R. The social deficits of the oxytocin knockout mouse. Neuropeptides. 2002; 36, 221–229.
- 101.Yadav, R., Gupta, S.C., Hillman, B.G., Bhatt, J.M., Stairs, D.J., Dravid, S.M. Deletion of glutamate delta-1 receptor in mouse leads to aberrant emotional and social behaviours. PLoS ONE. 2012; 7, 3296- 9.
- 102.Kling, A., Brothers, L.The amygdala and social behaviour. In: Aggleton, J. (Ed.), Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction. Wiley- Liss, Inc., New York, 1999; 353–377.
- 103.Bachevalier, J. Medial temporal lobe structures and autism: a review of clinical and experimental findings. Neuropsychol. 1994; 32, 627–648.
- 104.Cheh, M.A., Millonig, J.H., Roselli, L.M., Ming, X., Jacobsen, E., Kamdar, S., Wagner, G.C. En2 knockout mice display neurobehavioural and neurochemical alterations relevant to autism spectrum disorder. Brain Res. 2006; 1116, 166–176.
- 105.Homanics, G.E., DeLorey, T.M., Firestone, L.L., Quinlan, J.J., Handforth, A., Harrison, N.L., et al. Mice devoid of gammaaminobutyrate type A receptor

beta3 subunit have epilepsy, cleft palate, and hypersensitive behaviour. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1997; 94, 4143–4148.

106. Bangash, M.A., Park, J.M., Melnikova, T., Wang, D., Jeon, S.K., Lee, D., et al. Enhanced polyubiquitination of Shank3 and NMDA receptor in a mouse model of autism. *Cell.* 2011; 145, 758–772.

107. Peca, J., Feliciano, C., Ting, J.T., Wang, W., Wells, M.F., Venkatraman, T.N., et al. Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction. *Nature* 2011; 472, 437–442.

108. Engelmann, M., Landgraf, R. Microdialysis administration of vasopressin into the septum improves social recognition in Brattleboro rats. *Physiol. Behav.* 1994; 55, 145–149.

109. Moy, S.S., Nadler, J.J., Young, N.B., Nonneman, R.J., Grossman, A.W., Murphy, D.L., et al. Social approach in genetically engineered mouse lines relevant to autism. *Genes Brain Behav.* 2009; 8, 129–142.

110. Page, D.T., Kuti, O.J., Prestia, C., Sur, M. Haploinsufficiency for Pten and Serotonin transporter cooperatively influences brain size and social behaviour. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2009; 106, 1989–1994.

111. Pierman, S., Sica, M., Allieri, F., Viglietti-Panzica, C., Panzica, G.C., Bakker, J. Activational effects of estradiol and dihydrotestosterone on social recognition and the arginine-vasopressin immunoreactive system in male mice lacking a functional aromatase gene. *Horm. Behav.* 2008; 54, 98–106.

112. Wolterink, G., Daenen, L.E., Dubbeldam, S., Gerrits, M.A., van Rijn, R., Kruse, C.G., Van et al. Early amygdala damage in the rat as a model for neurodevelopmental psychopathological disorders. *Neuropsychopharmacol.* 2001; 11, 51–59.

113. Rudebeck, P.H., Buckley, M.J., Walton, M.E., Rushworth, M.F.S. A role for the macaque anterior cingulate gyrus in social valuation. *Science* 2006; 313, 1310–1312.



114. Rudebeck, P.H., Walton, M.E., Millette, B.H.P., Shirley, E., Rushworth, M.F.S., Bannerman, D.M. Distinct contributions of frontal areas to emotion and social behaviour in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 2007; 26, 2315–2326.
115. Bobee, S., Mariette, E., Tremblay-Leveau, H., Caston, J. Effects of early midline cerebellar lesion on cognitive and emotional functions in the rat. *Behav. Brain Res.* 2000; 112, 107–117.
116. Caston, J., Yon, E., Mellier, D., Godfrey, H.P., Delhaye-Bouchard, N., Mariani, J. An animal model of autism: behavioural studies in the GS guinea-pig. *Eur. J. Neurosci.* 1998; 10, 2677–2684.
117. Takayanagi, Y., Yoshida, M., Bielsky, I.F., Ross, H.E., Kawamata, M., Onaka, T., et al. Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005; 102, 16096–16101.
118. Sala, M., Braida, D., Lentini, D., Busnelli, M., Bulgheroni, E., Capurro, V. et al. Pharmacologic rescue of impaired cognitive flexibility, social deficits, increased aggression, and seizure susceptibility in oxytocin receptor null mice: a neurobehavioural model of autism. *Biol. Psychiatry.* 2011; 69, 875–882.
119. Pobbe, R.L., Pearson, B.L., Defensor, E.B., Bolivar, V.J., Young 3rd, W.S., Lee, H.J., Blanchard, D.C., Blanchard, R.J. Oxytocin receptor knockout mice display deficits in the expression of autism-related behaviours. *Horm. Behav.* 2012; 61, 436–444.
120. Talarovičova, A. The effect of prenatally elevated levels of androgens on the postnatal development of mammal offspring. Dissertation Thesis. Comenius University in Bratislava, 2010; 147.
121. Lim, M.A., Stack, C.M., Cuasay, K., Stone, M.M., McFarlane, H.G., Waschek, J.A., et al. Regardless of genotype, offspring of VIP-deficient female mice exhibit developmental delays and deficits in social behaviour. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2008; 26, 423–434.
122. Stack, C.M., Lim, M.A., Cuasay, K., Stone, M.M., Seibert, K.M., Spivak-Pohis, I, et al. Deficits in social behaviour and reversal learning are more

prevalent in male offspring of VIP deficient female mice. *Exp. Neurol.* 2008; 211, 67–84.

123. Bielsky, I.F., Hu, S.B., Szegda, K.L., Westphal, H., Young, L.J. Profound impairment in social recognition and reduction in anxiety-like behavior in vasopressin V1a receptor knockout mice. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29, 483–493.

124. Egashira, N., Tanoue, A., Matsuda, T., Koushi, E., Harada, S., Takano, Y. et al. Impaired social interaction and reduced anxiety-related behaviour in vasopressin V1a receptor knockout mice. *Behav. Brain Res.* 2007; 178, 123–127.

125. Wersinger, S.R., Ginns, E.I., O'Carroll, A.M., Lolait, S.J., Young 3rd, W.S. Vasopressin V1b receptor knockout reduces aggressive behaviour in male mice. *Mol. Psychiatry* 2002; 7, 975–984.

126. Wersinger, S.R., Kelliher, K.R., Zufall, F., Lolait, S.J., O'Carroll, A.M., Young 3rd, W.S. Social motivation is reduced in vasopressin 1b receptor null mice despite normal performance in an olfactory discrimination task. *Horm. Behav.* 2004; 46, 638–645.

127. Scattoni, M.L., McFarlane, H.G., Zhodzishsky, V., Caldwell, H.K., Young, W.S., Ricceri, L. et al. Reduced ultrasonic vocalizations in vasopressin 1b knockout mice. *Behav. Brain Res.* 2008b; 187, 371–378.

128. Olexová L, Talarovičová A, Lewis-Evans B, Borbélyová V, y Kršková L. Animal models of autism with a particular focus on the neural basis of changes in social behaviour: an update article. *Neurosci Res.* 2012; 74(3-4):184-94.

129. Sengupta P. A Scientific Review of Age Determination for a Laboratory Rat: How Old is it in Comparison with Human Age?. 2011; 2: 81-89.

130. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates The New Coronal Set.* 5a ed. USA: Academic Press; 2004.

- 131.Crawley JN. Mouse behavioral assays relevant to the symptoms of autism. *Brain Pathol.* 2007; 17(4):448-59.
- 132.Crawley JN. *Social Behavior Tests for Mice* Laboratory of Behavioral Neuroscience, Maryland. 2007: 63-70.
- 133.Bambini-Junior V, Rodrigues L, Behr GA, Moreira JC, Riesgo R y Gottfried C. Animal model of autism induced by prenatal exposure to valproate: behavioral changes and liver parameters. *Brain Res.* 2011; 1408:8-16.
- 134.Seltzer MM, Shattuck P, Abbeduto L, Greenberg JS. Trajectory of development in adolescents and adults with autism. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2004; 10(4):234-47.
- 135.Courchesne E, Carper R y Akshoomoff N. Evidence of brain overgrowth in the first year of life in autism. *JAMA.* 2003; 290(3): 337-44.
- 136.Courchesne E, Campbell K y Solso S. Brain growth across the life span in autism: age-specific changes in anatomical pathology. *Brain Res.* 2011; 1380:138-45.
- 137.Amaral DG, Schumann CM y Nordahl CW. Neuroanatomy of autism. *Trends Neurosci.* 2008; 31(3):137-45.
- 138.Polšek D, Jagatic T, Cepanec M, Hof P y Šimić G. Recent developments in neuropathology of autism spectrum disorders, *Transl Neurosci.* 2011; 2(3): 256–264.
- 139.Juranek J, Filipek PA, Berenji GR, Modahl C, Osann K y Spence MA. Association between amygdala volume and anxiety level: magnetic resonance imaging (MRI) study in autistic children. *J Child Neurol.* 2006; 12, 1051-8.
- 140.Munson J, Dawson G, Abbott R, Faja S, Webb SJ, Friedman SD. et al. Amygdalar volume and behavioral development in autism. *Arch Gen Psychiatry.* 2006; 63(6):686-93.

141. Blatt GJ, Fitzgerald CM, Guptill JT, Booker AB, Kemper TL y Bauman ML. Density and distribution of hippocampal neurotransmitter receptors in autism: an autoradiographic study. *J Autism Dev Disord.* 2001; 31(6):537-43.
142. Oblak AL, Gibbs TT, Blatt GJ. Reduced GABAA receptors and benzodiazepine binding sites in the posterior cingulate cortex and fusiform gyrus in autism. *Brain Res.* 2011; 1380:218-28.
143. Duffy FH. y Als H. A stable pattern of EEG spectral coherence distinguishes children with autism from neuro-typical controls – a large case control study, *BMC Medicine.* 2012; 10(64): 1-18.
144. Orekhova EV, Tsetlin MM, Butorina AV, Novikova SI, Gratchev VV, Sokolov PA. et al. Auditory cortex responses to clicks and sensory modulation difficulties in children with autism spectrum disorders (ASD). *PLoS One.* 2012; 7(6): 1-10.
145. Teder-Sälejärvi WA, Pierce KL, Courchesne E y Hillyard SA Auditory spatial localization and attention deficits in autistic adults. *Brain Res Cogn Brain Res.* 2005; 23(2-3):221-34.
146. Catarino A, Andrade A, Churches O, Wagner AP, Baron-Cohen S y Ring H. Task-related functional connectivity in autism spectrum conditions: an EEG study using wavelet transform coherence. *Mol Autism.* 2013; 4(1):1.
147. Lazarev VV, Pontes A, Mitrofanov AA y deAzevedo LC. Interhemispheric asymmetry in EEG photic driving coherence in childhood autism. *Clin Neurophysiol.* 2010; 121(2):145-52.
148. Rinaldi T, Silberberg G y Markram H. Hyperconnectivity of Local Neocortical Microcircuitry Induced by Prenatal Exposure to Valproic Acid. *cercor.* 2008; 18: 763-770.
149. Choudhury PR, Lahiri S y Rajamma U. Glutamate mediated signaling in the pathophysiology of autism spectrum disorders. *Pharmacol Biochem Behav.* 2012; 100(4):841-9.

150. Shimmura C., Suda S., Tsuchiya K., Hashimoto K., Ohno K., Matsuzaki H. et al. Alteration of plasma glutamate and glutamine levels in children with high-functioning autism. *PLoS ONE*. 2011; 6 (10):1-6.
151. Fatemi SH, Halt AR, Stary JM, Kanodia R, Schulz SC y Realmuto GR. Glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa proteins are reduced in autistic parietal and cerebellar cortices. *Biol Psychiatry*. 2002; 52(8):805-10.
152. Bristot Silvestrin R, Bambini-Junior V, Galland F, Daniele Bobermim L, Quincozes-Santos A, Torres Abib R. et al. Animal model of autism induced by prenatal exposure to valproate: altered glutamate metabolism in the hippocampus. *Brain Res*. 2013; 1495:52-60.
153. Lam KS, Aman MG y Arnold LE Neurochemical correlates of autistic disorder: a review of the literature. *Res Dev Disabil*. 2006; 27(3):254-89.
154. Chugani DC, Muzik O, Behen M, Rothermel R, Janisse JJ, Lee J, et al. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Ann Neurol*. 1999; 45(3):287-95.
155. Whitaker-Azmitia PM. Serotonin and brain development: role in human developmental diseases. *Brain Res Bull*. 2001; 56(5):479-85.
156. Filgueiras CC, Pohl-Guimarães F, Krahe TE y Medina AE. Sodium valproate exposure during the brain growth spurt transiently impairs spatial learning in prepubertal rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013; 103(3):684-91.
157. Schneider T, Turczak J y Przewłocki R. Environmental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: issues for a therapeutic approach in autism. *Neuropsychopharmacol*. 2006; 31(1):36-46.