

Autismo: Uno sguardo d'insieme

Antonio M. Persico, Roberto Sacco, Carla Lintas

Prof. Antonio M. Persico
Laboratorio di Psichiatria Molecolare e Neurogenetica,
Università Campus Bio-Medico
Via Alvaro del Portillo 21
00128 Roma

I.R.C.C.S. "Fondazione S. Lucia"
Dip. di Neuroscienze Sperimentali
C.E.R.C., st.113
Via del Fosso di Fiorano 64
00143 Roma

e-mail a.persico@unicampus.it

Il Disturbo Autistico rientra tra i Disturbi Pervasivi dello Sviluppo ed è caratterizzato da alterazioni nell'ambito del linguaggio, della comunicazione e delle abilità sociali, nonché da comportamenti ripetitivi e stereotipati (1). Il sistema nervoso centrale dei soggetti autistici processa informazioni attivando reti neurali diverse da quelle utilizzate da individui non autistici, specialmente nell'elaborazione di stimoli socialmente rilevanti (2). Un'alterazione del neurosviluppo in epoca prenatale viene oggi concordemente riconosciuta come l'origine neuropatologica della malattia. Studi postmortem hanno evidenziato una riduzione dell'apoptosi e/o un aumento della proliferazione cellulare, alterazioni della migrazione cellulare, anomalie del differenziamento cellulare con presenza di neuroni di dimensione inferiore alla norma, ed alterata sinaptogenesi (3). Queste alterazioni rimandano ad una noxa patogena che deve necessariamente aver agito in epoca prenatale, durante un periodo precoce dello sviluppo. La causa di queste alterazioni appare oggi più complessa di quanto si ritenesse in passato. Da un lato, nessun'altra patologia neuropsichiatrica presenta un contributo altrettanto significativo da parte di fattori genetici, con concordanza pari a 82-92% nei gemelli monozigoti contro l'1-10% nei dizigoti, rischio di ricorrenza nei familiari di primo grado pari al 3-6% e stime di ereditabilità superiori al 90% (4). D'altro canto, gli studi più recenti hanno definitivamente provato l'esistenza di una notevole eterogeneità genetica, laddove una minoranza di casi è dovuta a mutazioni o riarrangiamenti cromosomici *de novo* (ossia, non presenti nei genitori del paziente), mentre la maggioranza dei pazienti è portatrice di una vulnerabilità genetica prodotta dall'interazione tra 15-20 loci, con potenziali interazioni gene-ambiente (5). Tali interazioni risultano particolarmente interessanti alla luce del progressivo aumento di prevalenza rilevato a partire dai primi anni 80, con stime correnti che si aggirano intorno a 15-20/10,000 nati contro i 2-5/10,000 nati registrati fino agli anni 70 (6). Infine, l'espressione fenotipica dei geni che predispongono all'autismo può variare da minimi tratti autistici fino ad una sindrome autistica conclamata, delineando pertanto un'entità clinica ampia definita "Disturbo dello Spettro Autistico" (7).

Nello studio di patologie comportamentali complesse ed eterogenee, come l'autismo, si riconosce di grande utilità il ricorso a marker biologici di malattia o "endofenotipi", ossia parametri ereditabili (di natura biochimica, morfologica, elettrofisiologia, etc), che caratterizzano alcuni sottogruppi di pazienti. Si ritiene infatti che tali parametri siano più direttamente collegati con il

livello di analisi genetico e biologico-cellulare, rispetto a sintomi clinici e tratti comportamentali che incorporano anche gli effetti della plasticità cerebrale da apprendimento esperienziale e da altri fattori ambientali. Nell'ambito dell'autismo, i parametri endofenotipici più studiati ed affidabili sono rappresentati da: (a) "macrocefalia", ossia una circonferenza cranica superiore al 97° percentile presente nel 20% dei pazienti in età pediatrica (8,9); (b) "peptiduria", cioè perdita eccessiva di oligopeptidi con le urine, presente in una percentuale variabile a seconda della nazione d'origine (rara in Italia, arriva fino al 60% in Nord-Europa ed in Nord-America) (10); (c) "iperserotoninemia", ossia livelli ematici di serotonina intra-piastrinica che sono elevati nel 20-50% dei pazienti (11).

Gli studi che abbiamo condotto fin dal 1997 in collaborazione con tutta la rete di centri clinici e di laboratori della SIRFA hanno sorprendentemente evidenziato come in quella maggioranza di casi in cui il paziente non è portatore di una mutazione o di un riarrangiamento cromosomico responsabili della malattia, la predisposizione genetica potrebbe esprimersi soprattutto attraverso il sistema immunitario. Questa tesi verrà sostenuta sulla base di quattro linee di ricerca convergenti:

- a) la macrocefalia negli autistici non è un dato morfologico isolato, ma si accompagna ad un pari eccesso di altezza e peso, configurandosi più propriamente come una microsomia (12). Questo fenomeno pertanto non può essere legato esclusivamente ad un'eccessiva crescita dei neuriti, perché coinvolge tutto l'organismo ed implica necessariamente un'aumento della cellularità, ossia un'aumento della proliferazione cellulare e/o una diminuzione dell'apoptosi. Sorprendentemente, la circonferenza cranica è correlata ad una storia pregressa di disturbi allergici/immunitari nel paziente e soprattutto nei suoi familiari;
- b) Il nostro gruppo aveva dimostrato un'associazione tra autismo e varianti del gene PON1 che codifica la paraoxonasi, una molecola dotata di varie attività enzimatiche, sintetizzata dal fegato e trasportata nel plasma legata alle HDL (13). Questa associazione era inizialmente stata interpretata in relazione al ruolo che questa molecola svolge nell'inattivazione degli organofosfati, composti utilizzati comunemente come insetticidi in agricoltura e, specie in Nord-America, anche nelle abitazioni. Tuttavia l'attività diazoxonasi (diretta contro il diazoxon, uno dei principali composti organofosfati), sebbene significativamente ridotta nei soggetti autistici rispetto ai controlli ed ai familiari ($P < 0.05$), non mostra una differenza tanto netta quanto l'attività arilesterasica, che è invece molto più ridotta nei pazienti autistici rispetto ai controlli ($P < 0.001$) ed ai loro familiari ($P < 0.05$). La misurazione dell'attività arilesterasica, connessa con il ruolo antiossidante che questo enzima fisiologicamente svolge nei confronti delle LDL, insieme alla caratterizzazione genica di due polimorfismi (rs705379 e rs662) presenti nel gene PON1 permette di distinguere gli autistici dai controlli con una sensibilità del 75%-100%, ed una specificità dell' 82.6%-100%, a seconda dell'aplotipo. Questi parametri sono quasi altrettanto efficaci nel distinguere i controlli dai genitori, i quali a livello biochimico si comportano ambedue come "portatori sani" della patologia. Ora si dovrà procedere con studi di specificità rispetto ad altre patologie, come il ritardo mentale. Si tratta comunque del primo test biochimico/genetico di semplice esecuzione, in grado di fornire informazioni di grande utilità ai clinici, fin da ora per quanto riguarda la distinzione sano (non familiare) – malato, in futuro per quanto concerne l'identificazione dei portatori sani della patologia nella popolazione generale (Provisional US patent n.60/979423). In questa sede è però importante sottolineare che riduzioni dei livelli di attività arilesterasica analoghe a quelle riscontrate nei soggetti autistici, sono state rilevate sia nell'uomo, sia in modelli animali, solo in corso di infezioni virali accompagnate da un'intensa reazione immunitaria (14-16).
- c) Varie associazioni geniche che abbiamo riscontrato sono state originariamente interpretate come legate al neurosviluppo, mentre potrebbero essere invece mediate in tutto o almeno in parte dal sistema immunitario. Ciò vale sia per il gene MET (17,18), sia per il gene PRKCB1 (19), il cui contributo verrà presentato in dettaglio.

- d) Infine lo studio del trasportatore mitocondriale aspartato/glutammato AGC1 e del gene SLC25A12 che lo codifica, studio che abbiamo condotto in collaborazione con il Prof. Luigi Palmieri dell'Università di Bari, ha evidenziato alterati livelli di calcio in tessuto cerebrale post-mortem di soggetti autistici. Questi stessi cervelli hanno evidenziato in uno studio di espressione genome-wide che abbiamo effettuato mediante tecnologia microarray in collaborazione con il Dott. Karoli Mirnics della Vandebilt University, una massiccia attivazione trascrizionale di molti geni che producono citochine e fattori coinvolti nei processi immunitari, mentre un altro ristretto gruppo di geni importanti nello sviluppo del sistema nervoso mostra una riduzione di espressione (20).

Alla luce di questi risultati, considerati nel loro insieme, è possibile oggi prospettare l'autismo come il risultato di una disconnessione di aree cerebrali distanti (21), derivante o da mutazioni genetiche e riarrangiamenti cromosomici che interferiscono direttamente con la sinaptogenesi colpendo geni come quelli che codificano neuroligine, neurexine, e Shank3 (vedi l'abstract del Prof. Thomas Bourgeron), oppure nella maggioranza dei casi derivante da una precoce e patologica attivazione del sistema immunitario a partenza dal sistema nervoso, dall'apparato digerente o da ambedue. I pattern di espressione genica che abbiamo riscontrato a livello cerebrale ricordano molto più le fasi tardive presenti nei modelli animali di patologie cerebrali autoimmuni, quali la sclerosi multipla, piuttosto che le alterazione immunitarie innate non-specifiche presenti in molte patologie degenerative (20). Questo processo patologico su base presumibilmente autoimmune sarebbe presente sia nei pazienti sia nella grande maggioranza dei loro familiari, i quali però sembrano essere protetti dallo sviluppo di una patologia autistica propriamente detta. Mentre da più parti si stanno attivamente ricercando le fonti primarie di questa anomala risposta immunitaria, unitamente ad una comprensione più approfondita del contributo genetico di vulnerabilità e di protezione, questo scenario permette finalmente di apprezzare meglio il valore della riabilitazione precoce, considerando che l'attività dei neuroni circostanti esercita un freno sull'attivazione della microglia e sulla produzione di citochine infiammatorie (21). Esso permette infine di prospettare nuove strategie terapeutiche finalmente fondate su una maggiore comprensione della fisiopatologia del disturbo autistico, che verranno vagliate mediante opportuni studi clinici controllati.

Bibliografia:

- 1) American Psychiatric Association. The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Washington D.C., 1994.
- 2) Gervais H, Belin P, Boddaert N, Leboyer M, Coez A, Sfaello I, Barthelemy C, Brunelle F, Samson Y, Zilbovicius M. *Nat Neurosci* 7, 801-802, 2004.
- 3) Pickett J, London E. *J Neuropathol Exp Neurol* 64, 925-935, 2005.
- 4) Folstein SE, Rosen-Sheidley B. *Nat Rev Genet* 2, 943-955, 2001.
- 5) Persico A.M., Bourgeron T. *Trends Neurosci* 29, 349-358, 2006.
- 6) Rutter M. *Acta Paediatr* 94, 2-15, 2005.
- 7) Piven J, Palmer P, Jacobi D, Childress D, Arndt S. *Am J Psychiatry* 154, 185-190, 1997.
- 8) Woodhouse W, Bailey A, Rutter M, Bolton P, Baird G, Le Couteur A. *J Child Psychol Psychiat* 37, 665-671, 1996.
- 9) Fidler DJ, Bailey JN, Smalley SL. *Dev Med Child Neurol* 42, 737-740, 2000.
- 10) Reichelt WH, Knivsberg AM, Nodland M, Stensrud M, Reichelt KL. *Dev Brain Dysfunct* 10, 44-55, 1997.

- 11) Anderson GM, Horne WC, Chatterjee D, Cohen DJ. *Ann NY Acad Sci* 600, 331-342, 1990.
- 12) Sacco R, Militerni R, Frohli A, Bravaccio C, Gritti A, Elia M, Curatolo P, Manzi B, Trillo S, Lenti C, Saccani M, Schneider C, Melmed R, Reichelt KL, Pascucci T, Puglisi-Allegra S, Persico AM. *Biol Psychiatry* 62, 1038-1047, 2007.
- 13) D'Amelio M., Ricci I., Sacco R., Liu X., D'Agruma L., Muscarella L.A., Guarnieri V., Militerni R., Bravaccio C., Elia M., Schneider C., Melmed R., Trillo S., Pascucci T., Puglisi-Allegra S., Reichelt K.-L., Macciardi F., J.J.A. Holden, Persico A.M. *Mol Psychiatry* 10,1006-1016, 2005.
- 14) Van Lenten BJ, Wagner AC, Anantharamaiah GM, Garber DW, Fishbein MC, Adhikary L, Nayak DP, Hama S, Navab M, Fogelman AM. *Circulation* 106,1127-1132, 2002.
- 15) Kilic SS, Aydin S, Kilic N, Erman F, Aydin S, Celik I. *World J Gastroenterol* 11, 7351-7354, 2005.
- 16) Parra S, Alonso-Villaverde C, Coll B, Ferre N, Marsillach J, Aragones G, Mackness M, Mackness B, Masana L, Joven J, Camps J. *Atherosclerosis* 194, 175-181, 2007
- 17) Campbell D.B., Sutcliffe J.S., Ebert P.J., Militerni R., Bravaccio C., Trillo S., Elia M., Schneider C., Melmed R., Sacco R., Persico A.M., Levitt P. *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 16834-16839, 2006.
- 18) Campbell DB, D'Oronzio R, Garbett K, Ebert PJ, Mirnics K, Levitt P, Persico AM. *Ann Neurol* 62, 243-250, 2007.
- 19) Lintas C, Sacco R, Garbett K, Mirnics K, Militerni R, Bravaccio C, Curatolo P, Manzi B, Schneider C, Melmed R, Elia M, Pascucci T, Puglisi-Allegra S, Reichelt K-L, Persico AM. *Mol Psychiatry*, Epub [4 March, 2008].
- 20) Garbett KA, Ebert PJ, Mitchell A, Lintas C, Manzi B, Mirnics K, Persico AM. *Neurobiol Dis* 2008, in press.
- 21) Geschwind DH, Levitt P. *Curr Opin Neurobiol* 17, 103-111, 2007
- 22) Neumann R. *Glia* 36, 191-1999, 2001.