

Implicații genetice în tulburările din spectrul autismului

Genetic implications in autism spectrum disorders

Abstract	Rezumat	
<p>Autism is an etiologically and clinically heterogeneous group of disorders, diagnosed solely by the complex behavioral phenotype. On the basis of the high-heritability index, geneticists are confident that autism will be the first behavioral disorder for which the genetic basis can be well established. Although it was initially assumed that major genome-wide and candidate gene association studies would lead most directly to common autism genes, progress has been slow. Rather, most discoveries have come from studies of known genetic disorders associated with the behavioral phenotype. New technologies, especially array chromosomal genomic hybridization (aCGH) and next generation sequencing (NGS), have both increased the identification of putative autism genes and raised to approximately 20% the percentage of children for whom an autism-related genetic change can be identified. Incorporating clinical geneticists into the diagnostic and autism research arenas is vital to the field. Interpreting this new technology and deciphering autism's genetic montage require the skill set of the clinical geneticist including knowing how to acquire and interpret family pedigrees, how to analyze complex morphologic, neurologic, and medical phenotypes, sorting out heterogeneity, developing rational genetic models, and designing studies. The current emphasis on deciphering autism spectrum disorders has accelerated the field of neuroscience and demonstrated the necessity of multidisciplinary research that must include clinical geneticists both in the clinics and in the design and implementation of basic, clinical, and translational research.</p> <p>Keywords: autism spectrum disorders, autism genes, prenatal diagnosis</p>	<p>Autismul este un grup de tulburări clinice și etiologice heterogene, diagnosticate numai pe baza fenotipului complex comportamental. Pe baza indicelui de heritabilitate crescut, geneticienii sunt încrezători că autismul va fi prima tulburare de comportament pentru care baza genetică poate fi bine stabilită. Deși inițial s-a presupus că tehnicile de analiză genetică de tip genome wide association (GWAS) și analiza genelor candidate ar elucida etiologia genetică a tulburărilor din spectrul autismului (TSA), progresul a fost lent. Cele mai multe informații au venit de la studii de analiză genetică a unor tulburări genetice cunoscute a fi asociate cu fenotipul de comportament autist. Noile tehnologii, în special hibridizarea genomică comparativă (aCGH) și secvențierea de generație următoare (NGS), au dus atât la creșterea numărului de gene presupuse a fi implicate în autism, cât și la creșterea la aproximativ 20% a procentului de copii cu TSA pentru care pot fi identificate modificări genetice. Implicarea geneticienilor în echipa multidisciplinară de diagnostic și cercetare în autism este esențială pentru progresul domeniului bolilor neurocomportamentale. Interpretarea rezultatelor obținute prin noile tehnologii și descifrarea modificărilor genetice din autism impun personal înalt calificat, genetician clinic, capabil să realizeze și să interpreteze arborele genealogic familial, apt să analizeze fenotipurile morfologice, neurologice și medicale complexe. Accentul actual privind analiza tulburărilor din spectrul autismului a regenerat domeniul neurologiei și a demonstrat necesitatea unei cercetări multidisciplinare.</p> <p>Cuvinte-cheie: tulburări de spectru autist, gene autism, diagnostic prenatal</p>	<p>Viorica Rădoi¹, Laurențiu Bohilțea¹, Roxana Bohilțea², Monica Cîrstoiu²</p> <p>1. UMF „Carol Davila” București, Departamentul de Genetică Medicală 2. UMF „Carol Davila” București, Departamentul de Obstetrică-Ginecologie, Spitalul Universitar de Urgență București</p> <p>Correspondență: Roxana Bohilțea e-mail: r.bohiltea@ yahoo.com</p>

Tulburările din spectrul autismului reprezintă un grup de afecțiuni sporadice și familiale care apar cu o incidență de 1:68 de nou-născuți și care se caracterizează prin:

- interacțiune socială anormală
- comunicare deficitară
- stereotipii comportamentale^(1,2).

Cauzele genetice ale autismului sunt susținute de concordanța de peste 70% la gemenii monoziagoți și de riscul crescut de recurență în fratrie (frații persoanelor afectate) comparativ cu populația generală⁽¹⁾.

Cele mai frecvente tulburări din spectrul autismului sunt:

- autismul clasic
- sindromul Asperger
- tulburările globale de dezvoltare nespecificate altfel
- sindromul Rett
- tulburarea dezintegrativă a copilăriei⁽²⁾.

Studiile recente au arătat că semnele precoce ale autismului apar la nivelul creierului începând cu vârsta de 6 luni, sugerând astfel că inițierea timpurie a măsurilor terapeutice are un impact major asupra dezvoltării ulterioare a

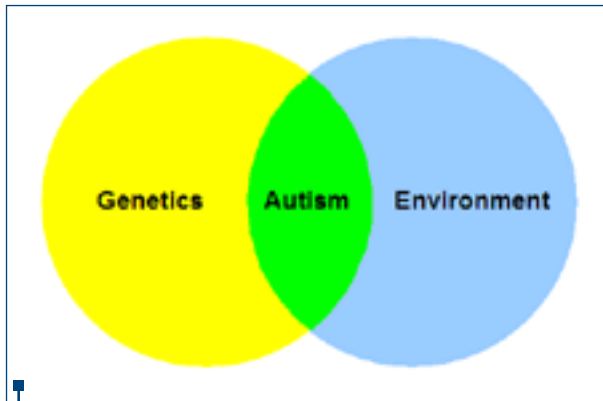


Figura 1. TSA - etiologie multifactorială: componenta genetică și implicarea mediului

copilului, fiind foarte bine cunoscut faptul că primul an de viață este extrem de important în dezvoltarea creierului^(1,2).

Apariția autismului poate fi considerată o interacțiune între bagajul genetic și experiența proprie a copilului cu mediul înconjurător (Wolf). Academia Americană de Pediatrie a propus recent introducerea unui screening pentru depistarea precoce a semnelor de autism la copiii aparent sănătoși, cu ocazia vizitelor regulate la pediatru între 18 și 24 de luni. Specialiștii în neuroștiințe au dovedit că manipularea timpurie a mediului înconjurător al copilului are un rol covârșitor în dezvoltarea creierului. Din păcate însă, nu există în momentul de față unelte de screening specifice pentru depistarea autismului la vârsta mică (6-12 luni)^(2,3).

Testele genetice pot avea un rol util în depistarea precoce a autismului la copil, în vederea instaurării terapiei specifice, cu beneficii majore asupra dezvoltării ulterioare. Cercetătorii au încercat să dezvolte teste care ar putea ajuta la stabilirea diagnosticului, marea provocare venind însă din imensa heterogenitate genetică a etiologiei bolii. O serie de teste genetice utile pentru depistarea predispoziției la autism sau pentru diagnosticul precoce sunt deja disponibile⁽³⁾:

- teste care analizează SNP (modificări ale unei singure nucleotide în structura ADN-ului matern) asociate cu tulburările din spectrul autismului; testul se recomandă femeilor care au o persoană afectată în familie și care doresc un copil;

- testul de hibridizare genomică comparativă (CGH Array - figura 2), care este indicat în cazurile de întârziere în dezvoltarea intelectuală, de crize convulsive, copiilor cu trăsături dismorfice care nu pot fi încadrate într-un sindrom genetic cunoscut, celor cu anomalii congenitale multiple și manifestări din spectrul autismului;

- teste de secvențiere a genelor implicate în tulburările de spectru autist (inclusiv pentru sindroame genetice cunoscute și care au printre manifestări tulburările din spectrul autismului^(1,3,4))

Deși autismul are o componentă genetică importantă, nu există un test genetic capabil să determine dacă un copil are autism sau nu - diagnosticul de tulburare din spectrul autismului este bazat pe observațiile clinice ale

comportamentului copilului -, însă anumite modificări genetice în structura AND-ului sunt cunoscute a fi în legătură cu autismul. Aceste modificări sunt rare, dar se recomandă a fi verificate deoarece ele pot cauza și alte patologii medicale. Pentru anumite familii, informațiile obținute prin teste genetice sunt importante pentru planificarea familială (stabilirea riscului de recurență a bolii la un alt copil al cuplului)⁽⁵⁾.

Care sunt primele semne/caracteristici care sugerează o posibilă tulburare de dezvoltare/de comunicare sau pre-autism?

1. Pasivitatea exagerată, lipsa plânsului, lipsa de mișcare, lipsa de interes față de mediul înconjurător, absența exprimării stării de foame, somnul ocupând cea mai mare parte a timpului.

2. Hiperactivitatea, plânsul continuu, agitația permanentă fără legătură cu orice altă cauză medicală; uneori, copiii care par pasivi în timpul primului an de viață devin hiperactivi în al doilea an. Studiile au dovedit că acei copii care plâng foarte mult în timpul primului an de viață au mai multe șanse de a deveni hiperactivi în timpul copilăriei.

3. Absența dorinței de a mânca sau chiar rezistența în fața încercărilor părinților de a-i hrăni. Un procent ridicat de copii cu tulburări de spectru autist manifestă dificultăți la diferite niveluri de administrare a hranei: refuzul de a fi alăptați, refuzul de a face tranziția la hrănirea cu biberonul sau de a face tranziția de la alimentația lichidă la cea solidă, mâncând doar o gamă restrânsă de alimente. În multe cazuri, aceste probleme pot fi deja observate în primele luni de viață.

4. Lipsa contactului vizual direct cu persoanele din anturaj, deși contactul vizual cu obiectele înconjurătoare există. Un copil cu o tulburare din spectrul autismului nu are nici o dificultate în vizualizarea unui obiect, dar are dificultăți în dezvoltarea contactului vizual direct cu oamenii.

5. Lipsa de reacție la vocea sau prezența unui părinte,

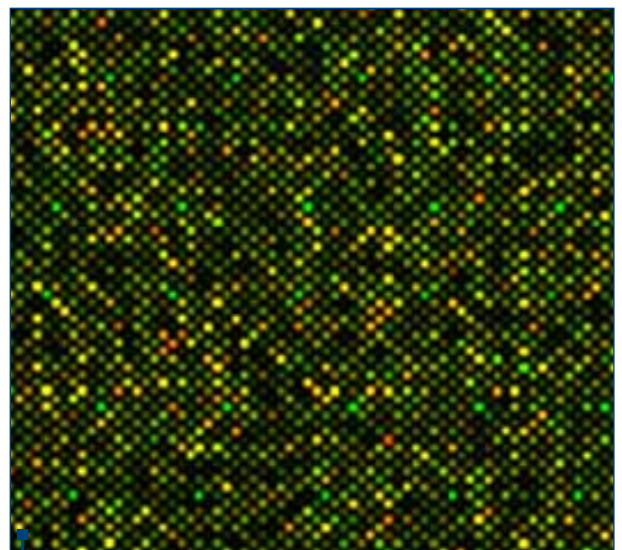


Figura 2. aCGH identifică mai multe modificări în același timp

absența mișcărilor capului, a zâmbetului sau a semnalelor sonore vocale de recunoaștere. Este important să se facă distincția între lipsa de reacție la o voce și lipsa de reacție la prezența unui părinte: chiar dacă micuțul nu aude, el va reacționa la prezența părintelui. Evaluarea în prealabil a auzului este esențială.

6. Retragerea de la atingerea părinților (sau a oricărei alte persoane). Acest lucru generează în mod evident resentimente din partea părinților, pentru care este important să li se explice faptul că respingerea copilului nu are caracter personal, ci se datorează unor dificultăți reale de percepție tactilă.

7. Dezvoltare motorie întârziată. Unii copii cu tulburări din spectrul autismului au o dezvoltare motorie corespunzătoare, dar de foarte multe ori copiii prezintă hipotonie.

8. Creșterea accelerată a circumferinței capului în raport cu dimensiunea de plecare. Un studiu realizat de Courchesne (2003) a constatat că în anumite cazuri copiii diagnosticați cu autism s-au născut cu microcefalie, dar în doi ani circumferința craniană a crescut rapid, astfel încât acesta a atins dimensiuni mai mari în comparație cu dezvoltarea copiilor normali. Acest semn nu este însă concludent pentru diagnostic^(1,2,5,6,7).

Este important de menționat faptul că fiecare dintre aceste semne poate indica o tulburare de spectru autist, prin urmare este imperios necesar în primul rând a efectua examene medicale. Persistența în timp a două dintre simptomele menționate mai sus impune investigarea posibilității existenței unei tulburări de comunicare și relaționare^(1,8).

Elucidarea componentei genetice a autismului s-a dovedit a fi mai provocatoare decât s-a crezut inițial. Progresele cele mai mari în identificarea cauzelor genetice ale tulburărilor din spectrul autismului au fost înregistrate prin identificarea unor mutații genetice și afecțiuni genetice ce predispun la dezvoltarea simptomatologiei specifice^(9,10).

Utilizând tehnicile actuale de diagnostic genetic, cauzele TSA pot fi identificate în maximum 20% din cazurile diagnosticate clinic, un număr mic de cazuri pot fi legate de expunerea la teratogeni, iar restul de 75-80% din cazuri rămân de etiologie neprecizată. Copiii cu TSA și trăsături dismorfice au mai probabil o cauză genetică, decât cei care prezintă exclusiv tulburările din spectrul autismului^(11,12).

Etiologia genetică a autismului

Cauzele genetice identificabile pot fi împărțite în:

- anomalii cromozomiale: aproximativ 5% (identificate prin cariotipare de înaltă rezoluție);
- CNV (microdeleții/duplicații): aproximativ 15% (identificate prin aCGH);
- boli monogenice: aproximativ 5%^(12,13,14), identificate prin teste moleculare specifice fiecărei condiții patologice în parte.

Anomaliile citogenetice vizibile prin cariotipare de înaltă rezoluție apar la aproximativ 5% dintre pacienții cu TSA. Alte 3-5% din cazuri au modificări cromozomiale submicroscopice (sub 5 Mb) care pot fi evidențiate prin tehnica FISH (hibridizare fluorescentă *in situ*). Aceste modificări cromozomiale neechilibrate apar la pacienții

care pe lângă tulburările de spectru autist asociază și trăsături dismorfice. Anomaliile neechilibrate pot apărea la nivelul oricărui cromozom, cel mai frecvent implicat fiind cromozomul 15 (1-3% din toate cazurile).

Conform studiilor realizate pe gemeni monozigoti, ereditabilitatea în autism este de peste 90%. Pacienții cu diferite boli monogenice - ca, de exemplu, sindrom Rett (mutație în gena MECP2), sindromul X fragil (mutații în gena FMR1), neurofibromatoza de tip 1 (gena NF1), scleroză tuberoasă (genele TSC1 și 2), sindrom Smith-Lemli-Opitz, sindrom Cowden, sindrom Rubinstein-Taybi - prezintă în tabloul clinic și trăsături din spectrul autismului.

Studiile familiale au arătat că TSA are un pattern de trăsături poligenice și multifactoriale.

Defectele de la nivelul sinapselor neuronale stau la baza fiziopatologiei manifestărilor din TSA. Mutații apărute în diferite gene-candidat care codifică pentru molecule implicate în procesele de neurotransmitere au fost identificate la pacienții cu autism. De exemplu, o mutație în gena care codifică pentru neuroligină (NLGN), care este situată pe cromozomul X, sau polimorfisme în gene care codifică pentru neurexine (NRXN) sunt implicate în apariția simptomatologiei clinice la pacienții cu TSA, având în vedere că interacțiunile între neuroliginele postsinaptice și beta-neurexinele presinaptice sunt esențiale pentru sinaptogeneză.

Utilizând secvențierea de nouă generație (NGS), au fost secvențiate 20 de exomuri familiale (3 exomuri a câte 20 de familii), identificându-se astfel 4 gene-candidat în familiile cu cazuri sporadice *de novo* de TSA. Aceste 4 gene - FOXP1, GRIN2B, SCN1A și LAMC3 - codifică pentru proteine implicate în neurotransmitere.

O altă tehnică genetică - analiza variațiilor numărului de copii (CNV) - a identificat modificări la nivelul unor gene care codifică pentru caderine și protocaderine și care au consecințe la nivelul căilor de adeziune neuronală, cu rol critic în dezvoltarea sistemului nervos, prin contribuția la ghidarea axonală, la formarea sinapselor și interacțiunile dintre neuroni și celulele gliale.

Modificări ale CNV în genele care codifică pentru proteine implicate în sistemul ubiquitin-proteasom (cu rol în reglarea funcțiilor sinaptice) au fost identificate la pacienții cu TSA, alături de variații în genele care codifică pentru molecule ca NRXN1, NLGN3/4X și SHANK3, ce contribuie la maturizarea și funcționarea sinapselor glutamatergice importante în căile de maturizare neuronală.

Hibridizarea genomică comparativă (aCGH) identifică modificări cromozomiale neechilibrate cu relevanță clinică la 7-20% dintre pacienții cu TSA de cauză neprecizată.

Jacquemont și colab., într-un studiu realizat pe 29 de subiecți cu autism, trăsături dismorfice și cariotip normal, au identificat CNV cu relevanță clinică la 27,5% dintre pacienți. Sabat și colab., într-un studiu realizat pe familii cu unu sau mai mulți indivizi cu TSA, au identificat modificări ale CNV la 10% dintre pacienții care erau caz unic în familie și la 2% dintre pacienții proveniți din familii cu mai mulți membri afectați. În lotul de control, modificări ale CNV au fost identificate la 1% dintre subiecți. Cel mai frecvent întâlnite

modificări au fost duplicații în regiunea 15q11.2-11.3, microdeleții și microduplicații în regiunea 16p11.2 (care reprezintă un hot spot pentru instabilitate genomică) și microdeleții/ microduplicații în regiunea 7q11.23 (regiunea pentru sindromul Williams).

Consultul și sfatul genetic

Consultul genetic este foarte important pentru observarea eventualelor trăsături dismorfice care se pot asocia. Consilierea genetică trebuie oferită după evaluarea completă (inclusiv testare genetică, dacă este posibil).

Pentru familiile în care a fost identificată o etiologie specifică, riscul de recurență în fratrie depinde de defectul molecular.

Pentru cazurile de TSA fără etiologie cunoscută, riscul de recurență variază, situându-se între 5-10%. Pentru fa-

miliile cu mai mult de doi copii afectați, riscul de recurență se apropie de 35%.

Provocarea pentru medicul genetician este dată de interpretarea corectă a datelor genetice obținute din studiile efectuate până în prezent, detalierea analizei fenotipice, obținerea cu acuratețe a unui arbore genealogic complet și descifrarea fenotipurilor complexe(1,15).

Evaluarea copiilor cu tulburări de spectru autist trebuie să fie complexă, realizată de o echipă multidisciplinară, să includă istoricul familial și psihosocial. Este importantă și detectarea comorbidităților asociate, cu implicații în tratament sau în consilierea genetică.

Deși în ultimii ani au fost făcute progrese remarcabile în identificarea cauzelor genetice ale tulburărilor de spectru autist, aplicarea tehnicilor avansate de diagnostic descifrează etiologia TSA în maximum 20% dintre cazuri. ■

Bibliografie

1. National Institute of Mental Health. Autism Spectrum Disorders (Pervasive Developmental Disorders). Available at: <http://www.nimh.nih.gov/health/publications/autism/nimhautismspectrum.pdf>. Accessed July 13,2010
2. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child*, 1943; 2:217-50
3. Asperger H. Die autistischen psychopathen in kindersalter. Cambridge, Cambridge Univ Press, 1944.
4. Monaco AP, Bailey AJ. Autism. The search for susceptibility genes. *Lancet*, 2001; 358:suppl S3.
5. Smalley SL, Asarnow RF, Spence MA. Autism and Genetics. *Arch Gen Psychiatry*, 1988; 45:953-61.
6. Ritvo ER, Jorde LB, Mason-Brothers A, et al. The UCLA-University of Utah epidemiologic survey of autism: recurrence risk estimates and genetic counseling. *Am J Psychiatry*, 1989; 146:1032-6.
7. Schaefer GB, Mendelsohn NJ. Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders. *Genet Med* 2008; 10:301-5.
8. Fombonne E. Is there an epidemic of autism? *Pediatrics*, 2001;107:411-2.
9. Arvidsson T, Danielsson B, Forsberg P, Gillberg C, Johansson M, Kjellgren G. Autism in 3-6-year-old children in a suburb of Goteborg, Sweden. *Autism*, 1997; 1:163-73.
10. Baird G, Charman T, Baron-Cohen S, et al. A screening instrument for autism at 18 months of age: a 6-year follow-up study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2000; 39:694-702.
11. Chakrabarti S, Fombonne E. Pervasive developmental disorders in preschool children: confirmation of high prevalence. *Am J Psychiatry*, 2005; 162:1133-41.
12. Centers for Disease Control and Prevention Prevalence of autism and Brick Township, New Jersey, 1998: community report. Atlanta, GA, Department of Health and Human Services, 2000.
13. Kogan MD, Blumberg SJ, Schieve LA, et al. Prevalence of parent-reported diagnosis of autism spectrum disorder among children in the US, 2007. *Pediatrics*, 2009; 124:1395-1403.
14. Centers for Disease Control and Prevention Prevalence of autism spectrum disorders - autism and developmental disabilities monitoring network, US, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2009; 58:1-20.
15. Gernsbacher M, Dawson M, Goldsmith H. Three reasons not to believe and autism epidemic. *Curr Dir Psychol Sci*, 2005; 14:55-8.