

Molekularne podłoże zaburzeń ze spektrum autyzmu

Molecular aspects of autism spectrum disorders

Małgorzata Z. Lisik

Katedra i Zakład Biologii Ogólnej Molekularnej i Genetyki ŚUM w Katowicach
Kierownik: prof. dr hab. A.L. Sieroń

Summary

Autism, also known as autism spectrum disorders (ASD), is etiologically and clinically heterogeneous group of neurodevelopmental disabilities. ASD affects 1% of child's population. The sex difference is observed with 4:1 male to female ratio. This is descriptive diagnosis based on observation and analysis of behavior and cognitive functions. ASD does not fit the criteria of known patterns of inheritance. For the majority of patients polygenic model of inheritance with many interacting genes is the most probable. The etiology of ASD is poorly understood. It is estimated that a specific genetic etiology can be determined in up to 20% of individuals with ASD. Advances in microarray technology and next generation sequencing are revealing copy variant numbers (CNV) and single nucleotides polymorphisms (SNP) with important roles in synapse formation and function. For families where a specific etiology has been identified, the risk of recurrence in siblings generally depends on the etiologic diagnosis. For autism of unknown cause, the sibling risk varies across studies but is generally considered to range from 5 to 10 %.

Słowa kluczowe: autyzm, poradnictwo genetyczne

Key words: autism spectrum disorders, genetic counseling

Wstęp

Autyzm stanowi etiologicznie i klinicznie heterogenną grupę zaburzeń określanych mianem zaburzeń ze spektrum autyzmu (autism spectrum disorders – ASD). Po raz pierwszy autyzm został opisany przez Leo Kanner [1] w 1943 roku jako „niezdolność do wchodzenia w normalny sposób w relacje z ludźmi i sytuacjami” lub jako „skrajne wycofanie, które sprawia, że kiedy tylko to możliwe, wszystko, co pochodzi z zewnątrz, jest pomijane, ignorowane, odrzucane” oraz Aspergera [2] w Austrii. Autyzm przez wiele lat pozostawał na marginesie psychiatrii. ASD jest przykładem bardzo tajemniczej choroby, bowiem objawy wiodące stanowią zaburzenia poznania społecznego oraz języka, czyli tego co odróżnia człowieka od innych ssaków. Zrozu-

mienie autyzmu będzie mieć znaczący wpływ na wiedzę o procesach poznawczych oraz rozwój technik terapeutycznych [3].

W późnych latach 80. badania bliźniąt jedno- i dwujajowych wykazały, że autyzm jest chorobą charakteryzującą się wysokim stopniem dziedziczności 0,85-0,92. Badania rodzin dotkniętych autyzmem wykazały podwyższone ryzyko wystąpienia zaburzenia u rodzeństwa probanda (8,6%) [4].

Poznanie i zrozumienie podłoża genetycznego autyzmu jest dużym wyzwaniem. Jako jednostka chorobowa autyzm nie spełnia kryteriów znanych wzorów dziedziczenia. W przypadku większości osób chorych mimo intensywnych badań z zastosowaniem najnowszych metod biologii molekularnej nie udaje się ustalić przyczyny zaburzenia. ASD oraz inne choroby psychiatryczne należą do grupy chorób wielogenowych, w których wiele genów, dziedziczonych w sposób kodominujący, wchodzi w addytywne lub synergistyczne interakcje ze sobą [5].

Nasza wiedza na temat mechanizmów genetycznych ciągle jest zbyt ograniczona, aby stosować testy genetyczne w stawianiu diagnozy ASD. Diagnoza autyzmu pozostaje rozpoznaniem klinicznym, opartym na obserwacji i ocenie zachowania i funkcji poznawczych osoby chorej. Prognoza w przypadku ASD jest trudna. Zaburzenie długoterminowo wpływa na zdolności danej osoby do socjalizacji, dbania o siebie, uczestniczenia w życiu społecznym. Rozpoznanie ASD wpływa także na innych członków rodziny osoby chorej [6,7].

Po postawieniu rozpoznania klinicznego zastosowanie testów genetycznych może być pomocne w lepszym zrozumieniu unikalnej etiologii u szczególnego pacjenta. Postawienie „genetycznej” diagnozy może służyć kilku celom, takim jak: nawiązanie kontaktu z innymi rodzinami dotkniętymi tą samą chorobą poprzez grupy wsparcia, zmniejszenie poczucia winy, bardziej precyzyjne określenie ryzyka powtórzenia choroby u kolejnych dzieci, dostęp do specyficznych metod leczenia [5].

Diagnoza

Triada zaburzeń wyodrębniona przez Wing i Gould [8] znalazła odzwierciedlenie w obowiązujących klasyfikacjach: DSM 5 oraz ICD-10, według których do zaburzeń ze spektrum autyzmu zaliczone zostały zaburzenia, w których w różnym nasileniu występują następujące objawy:

1. nieprawidłowości w rozwoju społecznym, szczególnie zdolności do uczestnictwa w naprzemiennych interakcjach społecznych,
2. deficyty i dysfunkcje w porozumiewaniu się (słownym oraz bezsłownym)
3. występowanie sztywnych wzorców zachowania, aktywności oraz zainteresowań.

Najnowsza klasyfikacja Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego – DSM-5 wprowadza kategorię zaburzeń ze spektrum autyzmu (autism spectrum disorders – ASD), która zastępuje dotychczas stosowane diagnozy autyzmu wczesnodziecięcego, zespołu Aspergera i całościowych zaburzeń rozwojowych inaczej nie określonych. Osiowym objawem ASD są pojawiające się w bardzo wczesnym okresie postnatalnym deficyty w zakresie interakcji społecznych. Mają one tendencje do narastania wraz ze wzrostem złożoności relacji społecznych, a w ostateczności prowadzą do nasilonych

zaburzeń funkcjonowania. Autyzm reprezentuje raczej jakościowe spektrum zaburzeń niż konkretną jednostkę chorobową. Pacjenci reprezentują zróżnicowaną klinicznie populację [3,5,6].

Myślenie o autyzmie jako o „chorobie” jest użyteczne w kontekście aspektów fenotypu, który powoduje, że pacjent szuka pomocy lekarza. Drugim wymiarem fenotypu jest stopień ciężkości zaburzenia. Fenotyp powstaje na skutek interakcji powszechnych lub rzadkich wariantów genetycznych, czynników epigenetycznych, genów modyfikujących i czynników środowiskowych [9].

U osób z zaburzeniami ze spektrum autyzmu częściej współwystępują także zaburzenia somatyczne oraz psychiczne w postaci: stanów lękowych, padaczki, zaburzeń snu, nadpobudliwości psychoruchowej z zaburzeniami koncentracji uwagi, zaburzenia obsesyjno-kompulsyjnego, zmienności nastrojów, choroby afektywnej dwubiegunowej z objawami psychotycznymi, schizofrenii [4].

Obecnie brak efektywnych sposobów zapobiegania chorobie, biomarkerów pomocnych w postawieniu wczesnej diagnozy oraz specyficznych metod leczenia czy leku, który „leczyłby” ASD. Bardzo istotne jest wczesne postawienie rozpoznania i objęcie dziecka programami wczesnego wspomagania rozwoju [5,6].

Częstość występowania

W ostatnich dwóch dekadach odnotowano rosnącą liczbę dzieci, u których diagnozuje się autyzm. Spowodowało to znaczny wzrost zainteresowania zaburzeniem zarówno rodziców jak i lekarzy oraz naukowców, obawiających się, że przyczyną „epidemii” autyzmu mogą być toksyny obecne w środowisku. Jednakże analizy epidemiologiczne wykazały, że wzrost liczby dzieci z diagnozą ASD nie jest skutkiem wzrostu częstości zaburzenia, lecz efektem wzrostu czujności rodziców i profesjonalistów oraz rozszerzeniem kryteriów diagnostycznych. Szacuje się, że ASD dotyczy 1% populacji dziecięcej, zdecydowanie częściej dotyczy płci męskiej, stosunek chłopców do dziewczynek wynosi 4:1 [10].

W przypadku ASD bardzo ważna jest analiza danych z wywiadu rodzinnego (w postaci rodowodu obejmującego co najmniej trzy pokolenia). Zaburzenie może pojawić się w danej rodzinie sporadycznie lub występować u kilkorga dzieci należących do tego samego pokolenia. Zhao i wsp. [11] wysunęli hipotezę, że istnieją dwa typy rodzin z ASD: rodziny niskiego ryzyka z postacią sporadyczną, będącą następstwem mutacji *de novo*, charakteryzujące się wysoką penetracją w przypadku chłopców oraz niską w przypadku dziewcząt oraz rodziny wysokiego ryzyka, w których probandzi otrzymali mutację dominującą, najczęściej przekazaną przez matkę nosicielkę, która nie wykazywała cech ASD.

Etiologia ASD pozostaje bardzo słabo poznana. Podłoże genetyczne zaburzenia udaje się ustalić w przypadku 20-25% chorych. W grupie badanych osób z ASD zidentyfikowano wiele powszechnych wariantów, wariantów liczby kopii (CNV) oraz polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP), z których każdy miał jedynie niewielki wpływ na obserwowany fenotyp [4].

Wyniki licznych badań mających na celu poznanie patomechanizmów leżących u podłoża ASD przyczyniły się do powszechnej akceptacji założenia o istotnej roli czynników genetycznych w etiologii zaburzenia. Stopień zgodności występowania autyzmu wśród bliźniąt jednojajowych sięga 90% w porównaniu z 10-20% zgodności wśród bliźniąt dwujajowych. W żadnym z badań stopień zgodności występowania zaburzenia u bliźniąt jednojajowych nie wynosił 100%, co wskazuje na udział czynników epigenetycznych i środowiskowych w etiologii zaburzenia [4]. W przypadku większości osób z ASD najbardziej wiarygodny wydaje się wielogenowy model dziedziczenia, w którym wiele genów, dziedziczonych w sposób kodominujący, wchodzi w addytywne lub synergistyczne interakcje ze sobą [21].

Specyficzna postać ASD

Zaburzenia ze spektrum autyzmu podzielić można na dwie grupy: autyzm specyficzny oraz idiopatyczny. ASD może stanowić jeden z objawów zespołu uwarunkowanego autosomalnie dominująco, autosomalnie recesywnie lub sprzężonego z chromosomem X (~5%) [12].

W każdym przypadku ASD należy dokładnie zbadać dziecko oraz rodziców w celu wykluczenia znanych przyczyn zaburzenia. Celem poradnictwa genetycznego jest udzielenie rodzinie informacji o chorobie, a także określenie ryzyka powtórnego wystąpienia choroby u kolejnych dzieci.

Najczęstszą chorobą jednogenową, w której jednym z wiodących objawów jest ASD, stanowi zespół łamliwego chromosomu X (FXS), najczęstsza rodzinna postać niepełnosprawności intelektualnej. Mutacja dynamiczna odpowiedzialna za FXS polega na powieleniu liczby powtórzeń trójki CGG w regionie promotorowym genu *FMRI* prowadząc do braku transkrypcji genu, a w konsekwencji braku jego produktu białkowego FMRP. FMRP jest białkiem transportowym wiążącym RNA. Na poziomie synapsy FMRP reguluje translację wielu białek. Brak białka FMRP prowadzi do powstania zespołu objawów, od zaburzenia funkcji poznawczych, do zachowań autystycznych. Zespół FXS występuje u obojga płci, a objawy kliniczne są zróżnicowane i bardziej nasilone u mężczyzn. Wiodącym objawem zespołu u mężczyzn po okresie pokwitania jest niepełnosprawność intelektualna, zwykle umiarkowanego lub znacznego stopnia, której towarzyszą zaburzenia zachowania pod postacią: zaburzeń koncentracji uwagi, labilności emocjonalnej, cech autystycznych, stereotypii ruchowych. Występowanie cech autystycznych często prowadzi do pierwotnej diagnozy ASD, szczególnie u starszych chłopców. W chwili obecnej zespół FXS uważany jest za najczęstszą jednogenową przyczynę zaburzeń ze spektrum autyzmu. U 2% chorych, u których pierwotnie postawiono diagnozę ASD, ostatecznie rozpoznaje się FXS. Ostatnie postępy w rozumieniu neurobiologii oraz funkcji produktu białkowego genu *FMRI* oparte są głównie na badaniu mysiego modelu choroby. FXS jest chorobą, w której dochodzi do zaburzeń plastyczności synaptycznej. Znane geny związane z ASD wchodzi w interakcje ze sobą w ścieżce translacyjnej, która ulega zaburzeniu u chorych z FXS. W przypadku zmniejszenia ilości lub braku białka FMRP dochodzi do zaburzeń funkcjonowania różnych ścieżek sygnałowych, prowadząc do dysregu-

lacji białek związanych z plastycznością synaptyczną, co zaburza prawidłowy rozwój mózgu. Wysłunięto hipotezę zakładającą istnienie podobieństw molekularnych ścieżek sygnałowych oraz mechanizmów zaburzeń synaptycznych w przypadku FXS oraz ASD. W przyszłości celowane leczenie stworzone dla FXS może okazać się skuteczne także w leczeniu chorych z ASD [13].

Inne choroby jednogenowe, w których współwystępuje ASD to: stwardnienie guzowate (*TSC1* i *TSC2*), neurofibromatoza typu I (*NF1*), zespół Angelmana (*UBE3A*), zespół Smitha, Lemlego i Opitza, zespół Retta (*MeCP2*), zespół Jouberta, zespoły guzów hamartomatycznych związane z mutacjami w genie *PTEN*. [4,12,14].

Ryzyko wystąpienia zaburzeń ze spektrum autyzmu wzrasta także u dzieci eksponowanych *in utero* na kwas walproinowy oraz talidomid [4].

Badania genetyczne w ASD

Postęp w zakresie badań genetycznych w ostatniej dekadzie, zastosowanie mikromacierzy w badaniach przesiewowych genomu w poszukiwaniu zmienności pojedynczych nukleotydów oraz większych segmentów DNA zaowocował eksplozją informacji na temat zmian na poziomie genomu występujących u osób z ASD, co przyczyniło się do odkrycia heterogennego oraz złożonego podłoża genetycznego zaburzenia, pozwalając na częściowe zrozumienie procesów prowadzących do powstawania zróżnicowanych fenotypów. Identyfikacja mutacji w kilku genach kandydatach, takich jak geny kodujące: neuroliginy, neuroreksyny oraz SHANK, wskazały na synapsę jako głównego gracza w podatności na wystąpienie ASD [14].

Badania genomu z zastosowaniem mikromacierzy pozwoliły na identyfikację submikroskopowych delecji oraz duplikacji, zwanych wariantami liczby kopii (CNV), w wielu *loci*, pojawiających się *de novo* u 5-15% osób z ASD. Ostatnio sekwencjonowanie eksomów pozwoliło na wykrycie patogennych mutacji *de novo* u 3,6 – 8,8 % osób z ASD.

Wyniki badań wykazują, że autyzm stanowi etiologicznie heterogenną grupę zaburzeń, obejmując różne rodzaje wariantów liczby kopii (CNV) i polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) zlokalizowanych w prawie każdym chromosomie oraz charakteryzujących się różnym stopniem penetracji. Występowanie tej samej mutacji opisano w 1-2% przypadków ASD [15].

Warianty liczby kopii (CNV)

Badania z zastosowaniem porównawczej hybrydyzacji genomowej do macierzy (aCGH) pozwoliły na wykrycie submikroskopowych delecji i duplikacji w różnych *loci* genowych określanymi mianem wariantów liczby kopii (CNV – *copy number variants*) stwierdzanych u 10-20 % pacjentów z idiopatycznym ASD [12]. CNV prowadzące do autyzmu często powstają *de novo* w linii komórek rozrodczych. Najczęstszą aberracją chromosomową stwierdzaną u pacjentów z ASD była duplikacja 15q11-13, wykryta u 1-3% osób z ASD. Duplikacja ta wykazywała cechy efektu pochodzenia rodzicielskiego.

skiego, odziedziczenie duplikacji po ojcu wiązało się z wystąpieniem prawidłowego fenotypu [16].

Inne opisane w piśmiennictwie CNV obejmowały delecje zlokalizowane w chromosomach: 1q21.1, 2p16.3, (obejmujące gen *NRXN1*), 2q37, 7q22q13.3, 16p11.2 (600 pz) 22q21q23 i Xp22 oraz duplikacje w chromosomach: 7q11.23, 16p13.1, 17p11.2. [16-18].

W niektórych przypadkach, takich jak CNV w regionach chromosomów 16p11 oraz 15q11-13, były przekazywane przez rodzica, u którego nie występował autyzm, ale prowadziły do ujawnienia się zaburzenia u potomstwa. Mechanizm genetyczny czy epigenetyczny odpowiedzialny za zmniejszoną penetrację CNV u rodzica, nosiciela mutacji, pozostaje nieznanym [16-18].

Do chwili obecnej przebadano ponad 3800 osób z ASD, 1200 ich zdrowego rodzeństwa oraz 600 osób z grup kontrolnych. Dodatkowo badaniom poddano także rodziców badanych z ASD. We wszystkich badaniach stwierdzono zwiększoną częstość występowania wariantów liczby kopii powstałych *de novo* w porównaniu ze zdrowym rodzeństwem oraz grupą kontrolną. 6,6% osób z postacią sporadyczną ASD miało co najmniej jeden powstały *de novo* wariant liczby kopii, w porównaniu z 4,1% osób z ASD i chorym krewnym I stopnia, 1,4% u zdrowego rodzeństwa oraz 1,9% w grupie kontrolnej. Analiza wielkości wariantów liczby kopii *de novo* wykazała, że były one większe, a co tym idzie większą liczbę genów u osób z ASD w porównaniu ze zdrowym rodzeństwem oraz grupą kontrolną [15].

Mechanizmy działania CNV w patogenezie ASD mogą obejmować:

1. Zmianę koniecznej liczby kopii lub kontekstu pozycyjnego kluczowych elementów sekwencji DNA wymaganych do prawidłowej regulacji ekspresji sąsiednich genów
2. Wpływ na jeszcze nieodkryte geny lub niekodujące RNA zlokalizowane w pobliżu regionów CNV
3. Delecje fragmentów nieopisanych jeszcze przyległych genów w pobliżu regionów CNV [19].

Mutacje w genach

Zastosowanie technologii sekwencjonowania następnej generacji, takich jak: sekwencjonowanie eksomu czy całego genomu, pozwoliły na identyfikację rosnącej liczby genów związanych z ASD. Badania genomu pozwoliły na identyfikację licznych potencjalnych „genów autyzmu”. Rzadkie oraz powstałe *de novo* mutacje w sekwencjach kodujących geny neuronalne zidentyfikowano u 5-10% osób z ASD. Powszechne warianty polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) wydają się wpływać na podatność na wystąpienie ASD, ale ich efekt wydaje się niewielki. Biorąc pod uwagę różnorodność fenotypową oraz heterogenne podłoże genetyczne ASD wydaje się, że stanowi ono wysoce heterogenną grupę obejmującą kombinację alleli o niskiej oraz wysokiej penetracji. Mutacje w genach zaangażowanych w remodelowanie chromatyny, metabolizm, translację mRNA oraz funkcję synaps wydają się współdziałać na poziomie ścieżek sygnalizacyjnych uczestniczących w utrzymaniu homeostazy neuronalnej i synaptycznej [20].

Istnieją dowody na ważną rolę genów kodujących białka synaptyczne w patofizjologii ASD. Hipoteza ta została poparta poprzez identyfikację mutacji (zarówno CNV jak i mutacji punktowych) w licznych genach kodujących białka kluczowe dla tworzenia, dojrzewania oraz stabilizacji synaps. Noh i wsp. [20] stwierdzili, że duża liczba genów zlokalizowanych w obrębie CNV związana jest z transmisją synaptyczną pomiędzy komórkami nerwowymi. Wiadomo, że białka kodowane przez te geny wchodzi w interakcje ze sobą oraz białkami kodowanymi przez inne geny zlokalizowane w regionach CNV, tworząc dużą połączoną ze sobą sieć biologiczną. Wśród białek związanych z funkcją synaps wyróżnić można: presynaptyczne neureksyny (*NRXN1*, *NRXN2*, *NRXN3*) oraz ich postsynaptyczne ligandy (*NLGN1*, *NLGN3*, *NLGN4X*, *NLGN4Y*), a także rodzinę białek SHANK wchodzących w skład gęstości postsynaptycznej (*SHANK1*, *SHANK2*, *SHANK3*). Na poziomie pozakomórkowym postsynaptyczne neuroliginy wchodzi w interakcje z presynaptycznymi α - lub β -neureksynami, stymulując tworzenie presynaptycznych pęcherzyków, zaś na poziomie wewnątrzkomórkowym neuroliginy wiążą się z postsynaptycznymi białkami SHANK [14,21-23]. Badania funkcjonalne obejmujące stworzenie modeli zwierzęcych, wykazały, że zmiany stężeń tych białek zmieniają morfologię, funkcję, plastyczność synaps. Co ważne, wiele fenotypów może ulec odwróceniu pod wpływem zmiany stężenia białek [7].

Występowanie mutacji *de novo* w genach, ulegających ekspresji w mózgu jest wyższe w przypadku osób z ASD w porównaniu z grupami kontrolnymi. Allele związane z ASD występują rzadko, ponieważ osoby z ASD rzadko posiadają potomstwo. Dwie trzecie mutacji było pochodzenia ojcowskiego. Wykazano istnienie silnej dodatniej korelacji pomiędzy wiekiem ojca a ryzykiem wystąpienia ASD, co sugeruje, że mutacje związane z ASD mogą powstawać *de novo* w linii ojcowskich komórek rozrodczych [20].

Rosnąca liczba danych dotyczących odrębnych, indywidualnych, rzadkich genetycznych przyczyn ASD sugeruje, że heterogenne podłoże genetyczne autyzmu przypomina podłoże niepełnosprawności intelektualnej (NI), w przypadku której opisano wiele mutacji na poziomie genomu i genów, z których każda odpowiada jedynie za niewielki odsetek przypadków [24].

Autyzm stanowi końcowy etap powszechnej ścieżki sygnałowej dla licznych chorób genetycznych mózgu. Mutacje w wielu dobrze poznanych genach związanych z niepełnosprawnością intelektualną mogą także prowadzić do ASD, któremu towarzyszy lub nie, niepełnosprawność intelektualna. Podobnie mutacje w kilku genach początkowo zidentyfikowanych u osób z padaczką opisano później także u osób z ASD i NI. Informacje te wskazują, że opisane geny tworzą podłoże kontinuum chorób neurorozwojowych, prowadząc do zmiennej manifestacji zależnie od interakcji z innymi czynnikami genetycznymi lub środowiskowymi. Wszystkie znane genetyczne przyczyny ASD prowadzą także do niepełnosprawności intelektualnej (NI), co sugeruje, że u podłoża obu zaburzeń neurorozwojowych mogą leżeć zaburzenia we wspólnych ścieżkach sygnałowych [24].

Do tej pory opisano ponad 100 genów, w których mutacje, delecje, duplikacje lub które uległy przerwaniu wskutek translokacji (punkt złamania w obrębie genu)

prowadziły do ASD lub cech autystycznych. Wszystkie zidentyfikowane mutacje w genach oraz aberracje chromosomowe opisane w przypadku ASD stanowią także dobrze poznane przyczyny NI, zarówno postaci specyficznych jak i niespecyficznych. Kilka z nich wykazuje związek z występowaniem padaczki [24].

Teoria kilku uderzeń w ASD

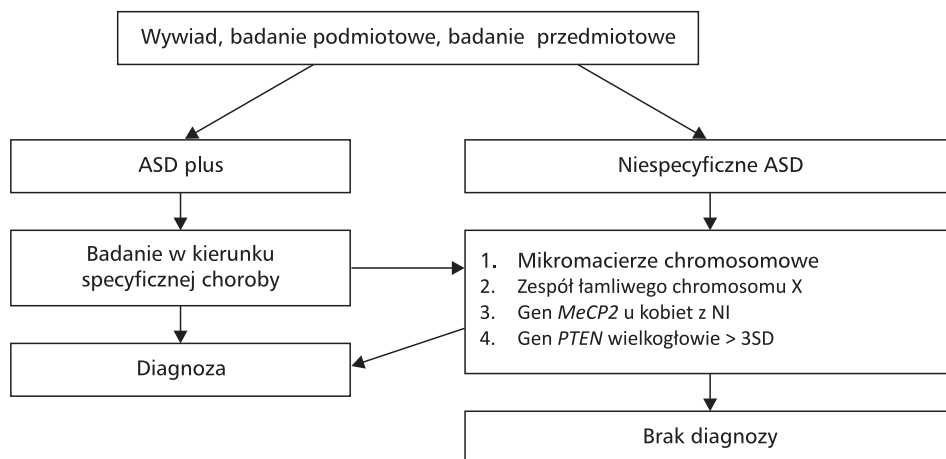
Każdy indywidualny wariant liczby kopii występuje rzadko i odpowiada za mniej niż 1% wszystkich przypadków ASD. Większość CNV występuje nie tylko u osób z ASD, ale pojawia się także u zdrowych osób z grup kontrolnych, chociaż z dużo mniejszą częstością. Żaden pojedynczy wariant nie ulega pełnej penetracji. Genetyczny wariant stanowi jedynie pierwsze uderzenia w dwu- lub wielouderzeniowym procesie, który prowadzi do wystąpienia choroby. Stopień obciążenia (liczba kopii lub sekwencji) ma istotne znaczenie w określaniu ryzyka dla danej osoby. Model wielu uderzeń obejmuje relatywnie małą liczbę genów u danego pacjenta. Autyzm jest złożoną chorobą genetyczną wynikającą z samoistnych wariacji w kilku lub wielu genach [4].

Biorąc pod uwagę, że mutacje *de novo* występują tylko u niewielkiego odsetka osób z ASD (< 15%), wydaje się, że odziedziczone warianty powinny odgrywać większą rolę w podatności na wystąpienie autyzmu. Odziedziczone allele ryzyka i ochronne mogą wywierać wpływ na niepełną penetrację i zmienną ekspresję obserwowaną u nosicieli patogenicznych mutacji powstałych *de novo*. Wyniki kilku badań wykazały obecność więcej niż jednej mutacji patogenicznej (liczne uderzenia) u osób z ASD. Wydaje się, że ASD jest następstwem występowania złożonych interakcji pomiędzy produktami białkowymi licznych genów charakteryzującymi się różną wrażliwością oraz wpływem czynników epigenetycznych [15].

U części osób dotkniętych ASD wykryto mutacje w genach kodujących białka uczestniczące w szerokim spektrum mechanizmów molekularnych: adhezji komórek, uwalniania pęcherzyków synaptycznych i neurotransmisji, budowy synaps, przetwarzania i składania RNA, translację białek zależną od aktywności. Różnorodność potencjalnych mechanizmów oraz widoczny brak specyficznych mutacji związanych z ASD nasuwa pytanie, czy właściwe jest traktowanie ASD jako jednej, odrębnej jednostki chorobowej. Pytanie, czy szerokie spektrum genów zaangażowanych w etiologię ASD może uczestniczyć we wspólnych ścieżkach sygnałowych, staje się kluczowym zagadnieniem ważnym dla zrozumienia podłoża molekularnego autyzmu i powstania nowych strategii terapeutycznych [3].

Poradnictwo genetyczne

Amerykańska Akademia Neurologiczna, Amerykańska Akademia Pediatria oraz Amerykańskie Towarzystwo Genetyki Medycznej opracowały wytyczne dotyczące postępowania diagnostycznego w przypadku pacjentów z zaburzeniami ze spektrum autyzmu.



Rys. 1. Algorytm postępowania diagnostycznego w przypadku zaburzeń ze spektrum autyzmu wg Carter [12]

Rekomendowane badanie pierwszego rzutu to porównawcza hybrydyzacja genomowa do macierzy (aCGH) [25,26].

Dlaczego należy diagnozować pacjentów z ASD [26]:

1. Możliwość opracowania terapii w przypadku dzieci manifestujących objawy, które można leczyć
2. Uzyskanie informacji na temat ryzyka powtórzenia choroby u kolejnych dzieci danej pary oraz innych członków rodziny
3. Poznanie specyficznego etiologii zaburzenia, nawet w przypadku, gdy nie istnieje możliwość celowanego leczenia, pozwala na lepsze zrozumienie patofizjologii.

W przypadku wykrycia patogenicznej mutacji lub CNV powstałej *de novo* u probanda ryzyko powtórzenia u kolejnych dzieci wynosi 1%. W tym przypadku należy wziąć pod uwagę możliwość wystąpienia mozaikowości germinalnej lub nosicielstwa rearanżacji chromosomowej predysponującej do powstania CNV u jednego z rodziców [26].

Jeden z najtrudniejszych scenariuszy w poradnictwie genetycznym dotyczy sytuacji, gdy u probanda wykryto CNV, które wykazuje niepełną penetrację i/lub zmienną ekspresję. W przypadku, gdy brak wyników szerszych badań korelacji genotyp-fenotyp, należy rozważyć podanie wartości ryzyka empirycznego 15-20%, niezależnie od wyniku badania porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy (aCGH) [26].

W przypadku, gdy nie znamy przyczyny ASD u probanda, a dotyczy to zdecydowanej większości chorych, ryzyko powtórnego wystąpienia choroby u kolejnych dzieci danej pary oceniane jest na podstawie danych empirycznych. Wyniki retrospektywnych badań rodzinnych opublikowanych w latach 90. szacowały ryzyko urodzenia kolejnego dziecka z ASD jako 3-10%. Jednakże badania te przeprowadzono na małych grupach. W związku z rozszerzeniem kryteriów diagnostycznych w ostatnich latach rodzeństwo

z łagodniejszymi postaciami zaburzenia mogło nie zostać uwzględnione we wcześniejszych badaniach [12,27]. Ostatnie duże, długoterminowe badania prospektywne niemowląt z grupy podwyższonego ryzyka wykazały, że ryzyko powtórzenia ASD u kolejnych dzieci jest wyższe. W badaniach tych u 18,7% młodszego rodzeństwa probanda z ASD zdiagnozowano ASD. Ryzyko powtórzenia zaburzenia nie zależało od ciężkości ASD ani płci probanda. Jednakże płeć następnego dziecka wpływała na ryzyko wystąpienia zaburzenia, chłopcy bowiem mieli większe prawdopodobieństwo zachorowania. W przypadku dwojga dzieci z ASD w danej rodzinie ryzyko zachorowania dla kolejnego dziecka wynosiło 32,2 %, co jest zgodne z wcześniejszymi doniesieniami (25-35%). Ryzyko wystąpienia ASD u potomstwa osób z ASD pozostaje nieznane, najprawdopodobniej także jest podwyższone [28].

Populacyjne badania obejmujące ponad 1500 000 dzieci urodzonych w Danii w latach 1980 do 2004 wykazały ryzyko powtórzenia ASD u kolejnych dzieci jako 4,5-10,5%. [29].

Wiedza o różnorodnym podłożu genetycznym ASD rodzi następne wyzwanie, jakim jest zrozumienie, w jaki sposób ASD rozwija się w szerokie spektrum fenotypów. Zmienność fenotypowa stanowi kolejny poważny problem w leczeniu ASD. Chociaż magiczna „tabletką przeciw ASD” nie powstanie w najbliższym czasie, to kompleksowe genotypowanie pacjentów z ASD oraz ich rodzeństwa w połączeniu z wynikami badań modeli zwierzęcych mogą zaowocować personalizowanymi opcjami terapeutycznymi. Możliwe jest także, że autyzm stanowi fenotypowo heterogenną grupę chorób będących następstwem kombinacji zmian w wielu genach kandydatach, innych w przypadku każdego pacjenta, i w związku z tym wymagających indywidualnej strategii postępowania terapeutycznego [21].

Przyszłość badań genetycznych w ASD

Wciąż niewiele wiemy o genetycznych przyczynach ASD oraz innych chorób neurorozwojowych. Dostępne testy genetyczne w przypadku ASD ograniczają się do wykluczenia znanych jednostek chorobowych uwarunkowanych genetycznie oraz badań przesiewowych genomu mających na celu poszukiwanie rzadkich CNV, które mogą wchodzić w interakcje z innymi czynnikami ryzyka o nieznanym charakterze. Badania z zastosowaniem metod sekwencjonowania następnej generacji pozwolą na identyfikację nowych genów kandydatów dla ASD, mutacji *de novo* w genach kodujących białka obecnych u probandów z ASD, ale nie w grupach kontrolnych.

Piśmiennictwo

1. Kanner L. *Autistic disturbances of affective contact*. Nervous Child 1943; 2: 217–250.
2. Asperger H. *Die 'autistischen psychopathen' im Kindesalter*. Arch. Psychiatr. Nervenkr. 1944; 117: 73–136.
3. Geschwind DH. *Genetics of autism spectrum disorders*. Trends Cogn. Sci. 2011; 15: 409–416.

4. Miles JH. *Autism spectrum disorders – a genetics review*. Genet. Med. 2011; 13: 278–294.
5. Heil KM, Schaaf CP. *The genetics of autism spectrum disorders – a guide for clinicians*. Curr. Psychiatry Rep. 2013; 15: 334.
6. Yates K. (tłum. Szczęsny E.) *Diagnostyka autyzmu*. Med. Prakt. Pediatr. 2009; 3: 79–88.
7. Komender J, Jagielska G, Bryńska A. *Autyzm i zespół Aspergera*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie: PZWL; 2009.
8. Wing L, Gould J. *Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: epidemiology and classification*. J. Autism Dev. Disord. 1979; 9: 11–29.
9. Scherer SW, Dawson G. *Risk factors for autism: translating genomic discoveries into diagnostics*. Hum. Genet. 2011; 130: 12831–12836.
10. Leonard H, Dixon G, Whitehouse JO, Bourke J, Aiberti K, Nassar N. i wsp. *Unpacking the complex nature of the autism epidemic*. Res. Autism Spectr. Disord. 2001; 4: 548–554.
11. Zhao X, Leotta A, Kustanovich V, Lajonchere C, Geschwind DH, Law K. i wsp. *A unified genetic theory for sporadic and inherited autism*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2007; 104(31): 12831–12836.
12. Carter MT, Scherer SW. *Autism spectrum disorder in the genetics clinic: a review*. Clin. Genet. 2013; 83: 399–407.
13. Hagerman RJ, Rivera SM, Hagerman PJ. *The fragile X family of disorders: a model for autism and targeted treatments*. Curr. Pediatr. Rev. 2008; 4: 40–52.
14. Persico AM, Napolioni V. *Autism genetics*. Behav. Brain Res. 2013; 251: 95–112.
15. Huguet G, Ey E, Bourgeon T. *The genetic landscapes of autism spectrum disorders*. Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2013; 14: 191–213.
16. Stankiewicz P, Lupski JR. *Structural variations in the human genome and its role in disease*. Annu. Rev. Med. 2010; 61: 437–455.
17. Vorstman JAS, Staal WG, van Daalen E, van Engeland H, Hochstenbach PFR, Franke I. *Identification of novel autism candidate regions through analysis of reported cytogenetic abnormalities associated with autism*. Mol. Psychiatry 2006; 11: 18–28.
18. Grayton HM, Fernandes C, Rujescu D, Collier DA. *Copy number variations in neurodevelopmental disorders*. Prog. Neurobiol. 2012; 99: 81–91.
19. Walker S, Scherer SW. *Identification of candidate intergenic risk loci in autism spectrum disorder*. BMC Genomics 2013; 14: 499.
20. Noh HJ, Ponting CP, Boulding HC, Meander S, Betancur C, Buxbaum JD. i wsp. *Network topologies and convergent aetiologies arising from deletions and duplications observed in individuals with autism*. PLOS Genetics 2013; 9(6): e1003523.
21. Poot M. *Towards identification of individual etiologies by resolving genomic and biological conundrums in patients with autism spectrum disorders*. Mol. Syndromol. 2013; 4: 213–226.
22. Peca J, Feng G. *Cellular and synaptic network defects in autism*. Curr. Opin. Neurobiol. 2012; 22: 1–7.
23. Won H, Mah W, Kim E. *Autism spectrum disorder causes, mechanisms and treatments: focus on neuronal synapses*. Front. Mol. Neurosci. 2013; 6: 19.
24. Betancur C. *Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: More than 100 genetic and genomic disorders and still counting*. Brain Res. 2011; 1380: 42–77.
25. Toriello HV. *Approach to the genetic evaluation of child with autism*. Pediatr. Clin. North Am. 2012; 59: 113–128.

26. Manning M, Hudgins L. *Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities*. Genet. Med. 2010; 12: 742–745.
27. Constantino JN, Zhang Y, Frazier T, Abbacchi AM, Law P. *Sibling recurrence and the genetic epidemiology of autism*. Am. J. Psychiatry 2010; 167(11): 1349–1356.
28. Ozonoff S, Young GS, Carter A, Messinger D, Yirmiya N, Zwaigenbaum L. i wsp. *Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study*. Pediatrics 2011; 128: e488–e595.
29. Grønberg TK, Schendel DE, Parner ET. *Recurrence of autism spectrum disorders in full- and half-siblings and trends over time: A population-based cohort study*. JAMA Pediatr. 167(10): 947–953.

Adres: Małgorzata Z. Lisik
Katedra i Zakład Biologii Ogólnej Molekularnej i Genetyki
Śląski Uniwersytet Medyczny
42-583 Katowice, ul. Medyków 18

Otrzymano: 25.11.2013
Zrecenzowano: 31.01.2014
Otrzymano po poprawie: 5.02.2014
Przyjęto do druku: 1.07.2014