

# NEUROBIOLOGIA AUTYZMU

Filip Rybakowski

Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

Szkoła Wyższa Psychologii Społecznej w Poznaniu

# **Klasyfikacja i epidemiologia**

# Zmiana w klasyfikacji DSM-5

Zaburzenia zwykle rozpoznawane po raz pierwszy w niemowlęctwie/ dzieciństwie/ adolescencji zastąpione przez

## ZABURZENIA NEUROROZWOJOWE

Niepełnosprawność intelektualna,  
Zaburzenia języka, Zaburzenia mowy,  
ADHD oraz ASD

# Co oznacza termin zaburzenia neurorozwojowe?

W okresie rozwojowym występują:

- ⦿ Szkodliwe czynniki etiopatogenetyczne działające na OUN
- ⦿ Zaburzenia funkcjonowania poznawczego, emocjonalnego i społecznego
- ⦿ Powyższa definicja odnosi się również do: schizofrenii (Kraepelin – Kahn), zaburzeń dwubiegunowych, depresji, zaburzeń lękowych i wielu innych

# Autyzm w DSM-IV-TR i ICD-10

- Zaburzenia autystyczne
- Zespół Aspergera
- Zaburzenia dezintegracyjne
- Całościowe zaburzenia rozwojowe inaczej nie określone
- Zespół Retta

# Różnorodność rozpoznań CZR

- ⦿ Ponad 2 tys. dzieci 4-18 r.ż.
- ⦿ 12 ośrodków akademickich w USA
- ⦿ Objawy zbliżone we wszystkich grupach
- ⦿ Rozkład rozpoznań różny: autyzm/ z. Aspergera, CZR inaczej nie określone- w różnych ośrodkach
- ⦿ Nawet w przypadku stosowania tych samych narzędzi i procedur diagnostycznych

Lord i wsp. 2011

# Klasyfikacja DSM-5

- ⦿ Nazwa: zaburzenia ze spektrum autyzmu
- ⦿ Cel: określenie kryteriów ASD umożliwiających rozpoznanie w każdym wieku i przy każdym poziomie rozwoju poznawczego
- ⦿ Z 3 do 2 wymiarów – interakcje/ komunikacja oraz stereotypowe zachowania
- ⦿ Dla rozpoznania ASD: 3 z 3 objawów zab. interakcji oraz 2 z 4 stereotypowych zachowań

# Klasyfikacja DSM-5 c.d.

- ⦿ Wśród objawów - nadmierna lub zbyt mała wrażliwość sensoryczna
- ⦿ Ocena ciężkości zaburzenia w oparciu o poziom rozwoju językowego i intelektualnego
- ⦿ Nowa kategoria diagnostyczna – zaburzenia komunikacji społecznej – zaburzenia relacji, bez stereotypowych zachowań



# Epidemiologia ASD

- Rozpowszechnienie 22/10 000 – średnia z 26 badań
- Częstość koreluje z okresem publikacji badania; a także odwrotnie z wielkością badanej populacji
- W niedawnym badaniu populacji koreańskiej: 2.6%! (Kim i wsp. 2011 – Am J Psych)
- Stosunek zachorowalności M:K – 4:1

# Współzachorowalność

- ⦿ Niepełnosprawność intelektualna: 60%
- ⦿ ADHD: 50%
- ⦿ Zaburzenia lękowe: 30-50%
- ⦿ Epizod depresji: do 40%
- ⦿ Zaburzenia afektywne dwubiegunowe: 10%
  
- ⦿ Jakiegokolwiek zaburzenia psychiczne poza ASD: 70-100%

# Etiologia

# Genetyka

- Odziedziczalność: 0.7-0.8
- Możliwość znalezienia genetycznego podłoża: 30% przypadków
- Rzadkie warianty o dużej sile oddziaływania
- Częste warianty o małej sile oddziaływania – interakcje

# Badania molekularne – rzadkie warianty

Gene	Location	Associated phenotypes	Nature of mutation(s)	Protein Aliases	Protein function	Protein interactions	References
APBA2	15q13.1	ASD, SZ	CNVs	Mint2	Synaptic adaptor protein	NRXNs	[9**,18,37**,56]
ASTN2	9q33.1	ASD, SZ	CNVs		Neural recognition molecule		[9**,57] <sup>a</sup>
CNTN3	3p12.3	ASD	Homozygous deletion	BIG-1	Axon guidance, synapse formation	CNTNAPs, PTPRG	[34**]
CNTN4	3p26.3	ASD, DD	CNVs, translocation	BIG-2	Axon guidance, synapse formation	CNTNAPs	[57] <sup>a</sup>
CNTN5	11q22.1	SZ	CNVs	NB-2	Axon guidance, synapse formation	CNTNAPs	[51]
CNTNAP2	7q35	ADHD, ASD, E, OCD, SZ, TS	CNVs, point mutations	Caspr2, Nrnx4	NRXN family member	CNTNs, ADAM22, synaptic scaffolding proteins	[18,23*,27*,30,35] <sup>a</sup>
CNTNAP4	16q23.1	E	CNV	Caspr4	NRXN family member	CNTNs	[27*]
CNTNAP5	2q14.3	ASD	CNV	Caspr5	NRXN family member	CNTNs	[58]
CYFIP1	15q11.2	ASD, E, SZ,	CNVs, small deletions		Activity-dependent translation	FMR1	[9**,18,19,21,27*] <sup>a</sup>
DISC1	1q42.2	ASD, BD, MD, SZ	Translocation, point mutations, CNVs		Multiple, including synapse development	NDE1, PDE4B, many others	[4,29]
DLG1	3q29	ASD, MR, SZ	CNVs	PSD93	Synaptic scaffolding	Many synaptic proteins	[17**,18] <sup>a</sup>
DLG2	11q14.1	ASD, SZ	CNVs	PSD95	Synaptic scaffolding	Many synaptic proteins	[17**,18,22] <sup>a</sup>
DLGAP2	8p23.3	ASD, MR, SZ	CNVs		Synaptic organisation	DLG proteins	[20**,37**,49**]
ERBB4	2q34	SZ	CNVs		Cell migration, inhibitory synapse formation	NRG1	[17**], unpublished data
LRFN5	14q21.1	ASD, DD, SZ	CNVs, translocation	SALM5	Synapse formation	PSD95, RTN3	[47] <sup>a</sup>
NDE1	16p13.11	ASD, E, MR, SZ	CNVs, small deletions		Cell migration, synaptically localised	DISC1, LIS1	[9**,18,21,25*,27*] <sup>a</sup>
NLGN1	3p26.31	ASD	CNVs		Excitatory synapse formation	NRXNs, SHANKs	[57]
NLGN3	Xq13.1	ASD	Point mutations		Inhibitory synapse formation	NRXNs, SHANKs	[5]
NLGN4X	Xp22.31	ASD, MR, TS	CNVs, Point mutations		Synapse formation	NRXNs, SHANKs	[5,20**] <sup>a</sup>
NRXN1	2p16.3	ASD, SZ, TS	CNVs, point mutations		Synapse formation	NLGNs, LRRTMs	[18,36*,37**,56,57] <sup>a</sup>
PCDH9	13q21.32	ASD	CNV		Synapse formation		[20**]
PCDH10	4q28.3	ASD	Homozygous deletion		Synapse formation		[34**]
PCDH19	Xq22.1	E, MR, ASD, SZ	CNVs, point mutations		Synapse formation		[49**] <sup>a</sup>
SHANK2	11q13.4	ASD, MR	CNVs, point mutations		Synaptic scaffolding	NLGNs, Homer	[32**,49**]
SHANK3	22q13.3	ASD, SZ	CNVs, point mutations		Synaptic scaffolding	NLGNs, Homer	[20**,31*,37**] <sup>a</sup>
SLITRK1	13q31.1	OCD, TS	Inversion, point mutations		Synapse formation	14-3-3 proteins	[59] <sup>a</sup>
SLITRK2	Xq27.3	SZ	Point mutations		Synapse formation		[33]
SLITRK6	13q31.1	E	CNVs		Synapse formation		[27*]
SYNGAP1	6p21.3	ASD, MR	CNVs, point mutations		Synaptic RasGAP		[49**] <sup>a</sup>
TSPAN7	Xp11.4	ASD, MR, SZ	CNVs, point mutations		Synapse formation	Integrins	[20**,33,37**] <sup>a</sup>
UBE3A	15q11.2	ASD, E, SZ, Angelman syndrome	CNVs, point mutations		Ubiquitination, activity-dependent synapse development	Arc, many others	[18,19,21,46,57]

# Badania molekularne – częste warianty

Region sprzężony	Dodatknie wyniki badań asocjacyjnych
2q31-32	<i>SLC25A12</i> mitochondrialne białko nośnikowe asparginianu/glutaminianu
7q21-22	<i>RELN</i>
7q35	<i>CNTNP-2</i> białko należące do neureksyn uczestniczące w budowie synaps
Geny badane ze względu na proponowany mechanizm patogenetyczny	
	GABRB3
	<i>GRIK2</i> (GluR6)
	Gen receptora oksytocyny
	Gen receptora wazopresyny

# Badania GWAS

- Trzy największe badania w ASD – wyniki niespójne (zbyt mała grupa)
- Badanie 5 zaburzeń SCH, BD, MD, ASD, ADHD (>30 tys. pacjentów vs. gr kontrolna)
- 4 warianty genetyczne (2 dla podjednostek kanałów wapniowych) zwiększają ryzyko wystąpienia wszystkich analizowanych zaburzeń psychicznych

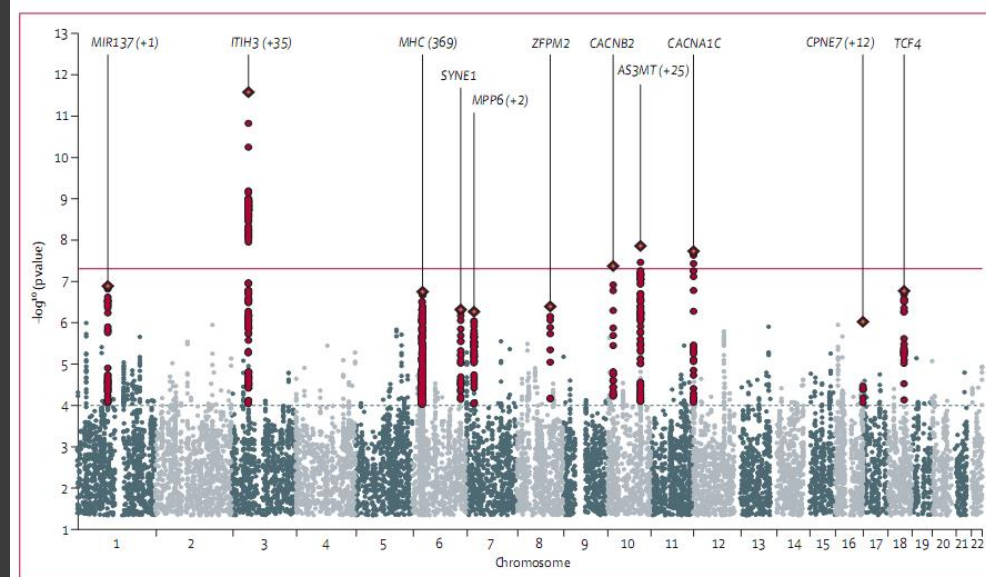


Figure 1: Manhattan plot of primary fixed-effects meta-analysis  
Horizontal line shows threshold for genome-wide significance ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ).

	Chromosome	Base-pair position*	Nearest gene	Alleles	Frequency†	Imputation quality score (INFO)	p value	OR (95% CI)‡	Heterogeneity p value	Best-fit model (BIC)§
rs2535629	3	52808259	ITIH3 (+ many)	G/A	0.651	0.942	$2.54 \times 10^{-12}$	1.10 (1.07-1.12)	0.27	Five disorder¶
rs11191454	10	104649994	AS3MT (+ many)	A/G	0.910	1.01	$1.39 \times 10^{-6}$	1.13 (1.08-1.18)	0.32	Five disorder¶
rs1024582	12	2272507	CACNA1C	A/G	0.337	0.98	$1.87 \times 10^{-6}$	1.07 (1.05-1.10)	0.0057	BPD, schizophrenia
rs2799573	10	18641934	CACNB2	T/C	0.715	0.825	$4.29 \times 10^{-6}$	1.08 (1.05-1.12)	0.57	Five disorder¶

# Wiek rodziców

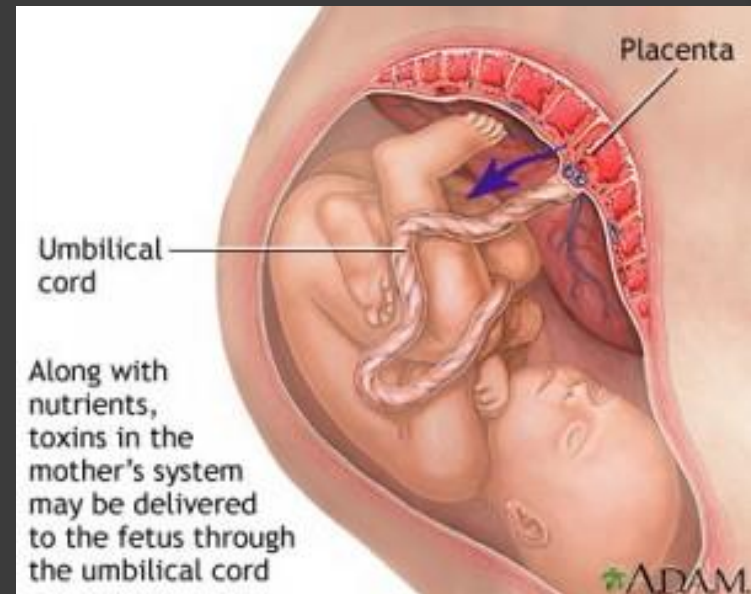
- Prawdopodobnie - czynnik genetyczny
- Po 30 r.ż. każde 5 l. w wieku ojca i matki związane z większym o ok. 5-10% ryzykiem ASD
- Wiek rodziców związany z większym ryzykiem mutacji *de novo* oraz nieprawidłowości chromosomalnych





# Czynniki prenatalne

- Matczyne czynniki metaboliczne i autoimmunologiczne, endokrynowe
- Ekspozycja na leki w okresie prenatalnym
- Zakażenia w ciąży: TORCH, prenatalne



# Czynniki perinatalne

- ⦿ Poród przed 37 t.c.
- ⦿ Położenie miednicowe
- ⦿ Cięcie cesarskie ze wskazań nagłych
- ⦿ Niska (<2500g) oraz bardzo niska masa urodzeniowa (<1500g)
- ⦿ Hipotrofia wewnątrzmaciczna (niska masa ciała względem wieku ciążowego)
- ⦿ Niska punktacja w skali Apgar w 1 oraz w 5 minucie życia
- ⦿ Resuscytacja i tlenoterapia u noworodka

# Aspekty neurologiczne

- U większości pacjentów z ASD: cechy niezgrabności ruchowej, zaburzenia wzorca ruchowego- chód na palcach, zmienność długości kroku, zaburzenia napięcia osiowego oraz nieprawidłowy odruch podszwowy
- Padaczka: 10-40%
- Padaczka, ataksja, objawy uszkodzenia układu piramidowego i pozapiramidowego – w zespołach o poznanej etiologii genetycznej – stwardnienie guzowate, zespół łamliwego X

# Aspekty gastroenterologiczne

- Współwystępowanie problemów gastroenterologicznych w ASD: 9-91%
- Związki patogenetyczne: zaburzenia immunologiczne, metaboliczne, zwiększona przepuszczalności bariery jelitowej, dysfunkcja osi jelito-mózg oraz wpływ mikroflory jelitowej
- Wpływ objawów alergicznych i terapeutyczny efekt diet eliminacyjnych – nie został potwierdzony

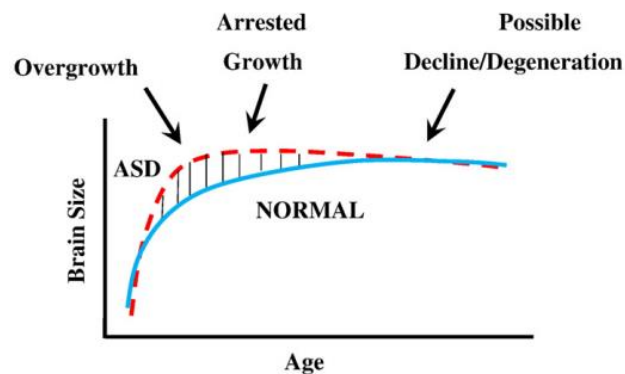
# Aspekty metaboliczne

- ⦿ Objawy ASD w:
  - deficyt liazy adenozylobursztynianu (zaburzenie metabolizmu puryn)
  - defekty biosyntezy i transportu kreatyny
  - deficyt dehydrogenazy semialdehydu bursztynianu (defekt metabolizmu GABA)
  - defekty metabolizmu biopteryn,
  - defekty cyklu mocznikowego,
  - homocystynuria,
  - niektóre lizosomalne choroby spichrzeniowe, jak zespół Sanfilippo czy choroba Niemann-Picka typu C, a także nieleczona fenylketonuria
- ⦿ Zaburzenia mitochondrialne: stres oksydacyjny?
- ⦿ Diagnostyka metaboliczna szczególnie w przypadku współwystępowania: dysmorfii, padaczki, ataksji, dystonii, małogłowie, opóźnionego rozwoju mowy oraz niepełnosprawności intelektualnej

# **Podłoże neurobiologiczne**

# Skala makro – zmiany neuroanatomiczne

A



B

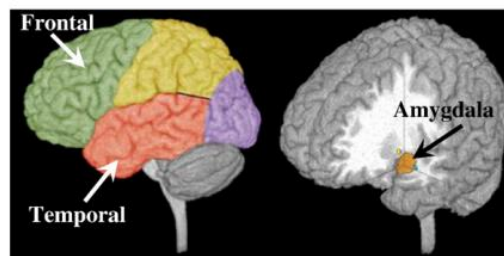
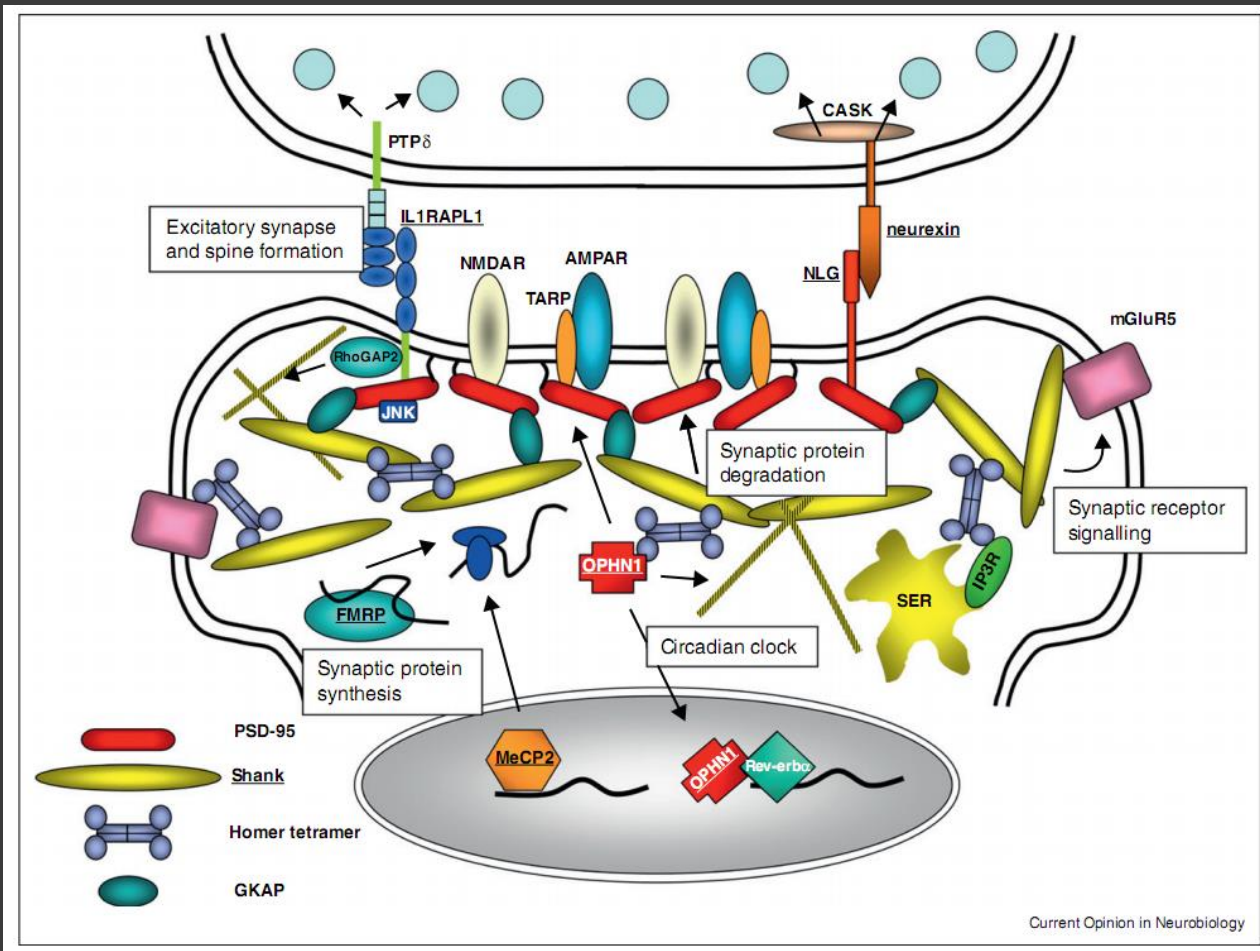


Fig. 1 – Three phases of growth pathology in autism. (A) Model of early brain overgrowth in autism that is followed by arrest of growth. Red line represents ASD, while blue line represents age-matched typically developing individuals. In some regions and individuals, the arrest of growth may be followed by degeneration, indicated by the red dashes that slope slightly downward. (B) Sites of regional overgrowth in ASD include frontal and temporal cortices and amygdala (from Courchesne et al., 2007).

# Geny wskazują na synapsy glutaminianergiczne





# Białko SHANK3 – rusztowanie dla struktur synapsy

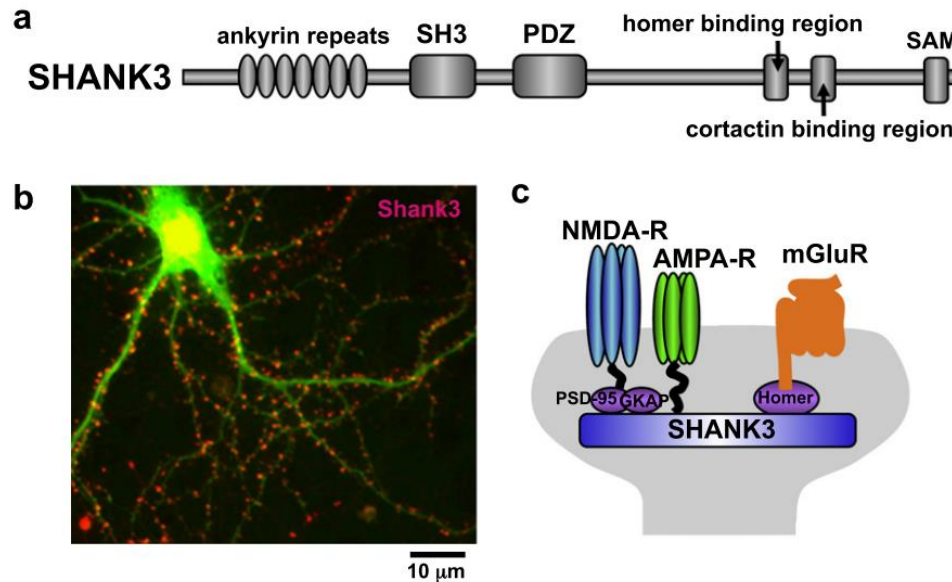
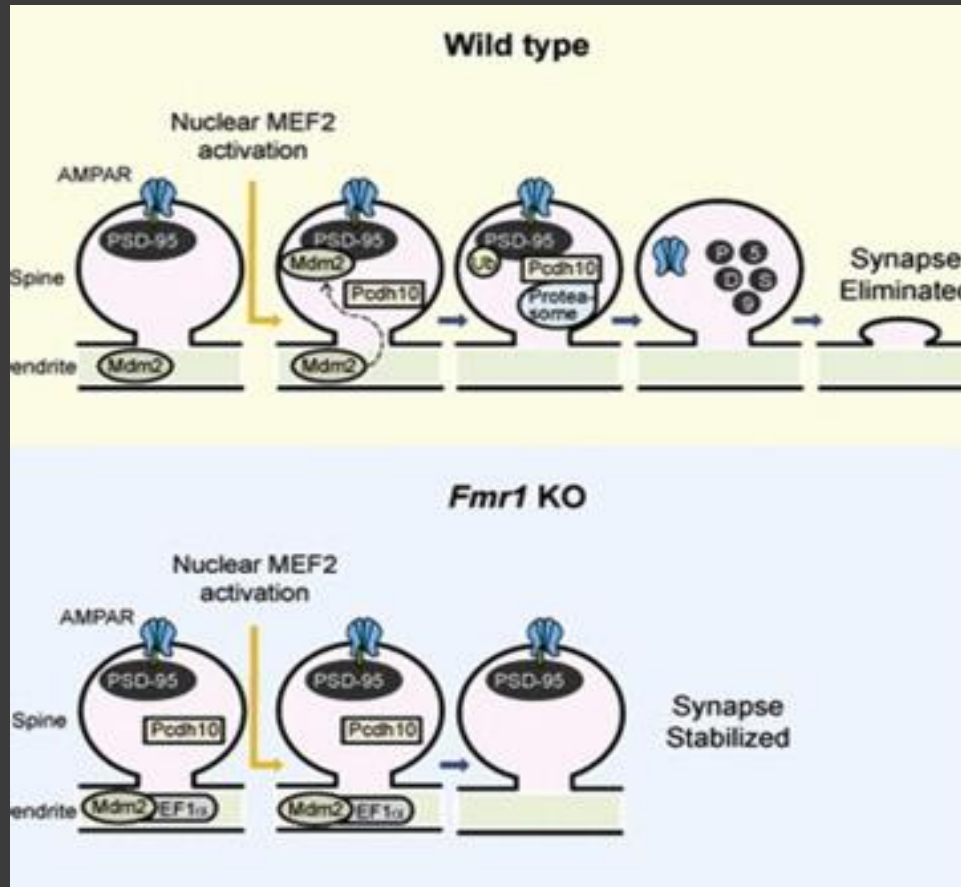


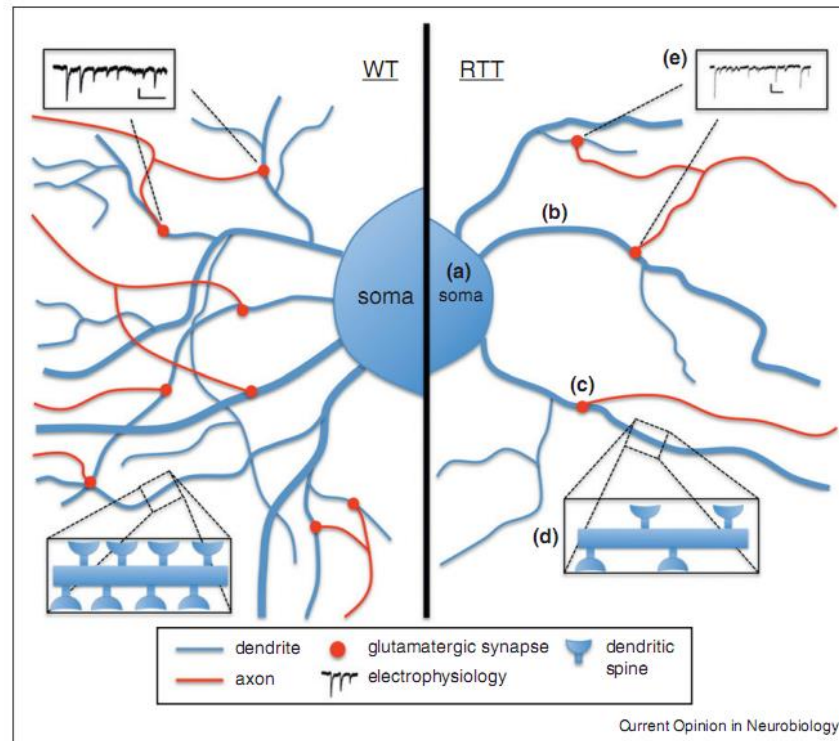
Fig. 1. Schematic structure of SHANK3 protein and expression in synapses. (a) Schematic structure of SHANK3 protein. (b) Immunostaining image of SHANK3 expression in synapses. Primary mouse neocortical neurons cultured for 12 days were transfected with enhanced green fluorescent protein (EGFP) to visualize and clarify their morphology, and 2 days later the neurons were fixed and stained with anti-Shank3 antibody (red) [10]. (c) Schematic diagram of postsynaptic protein assembly organized by SHANK3 on the glutamate receptor complex.

# Zaburzenia w eliminacji kolcy dendrytycznych – model FXS



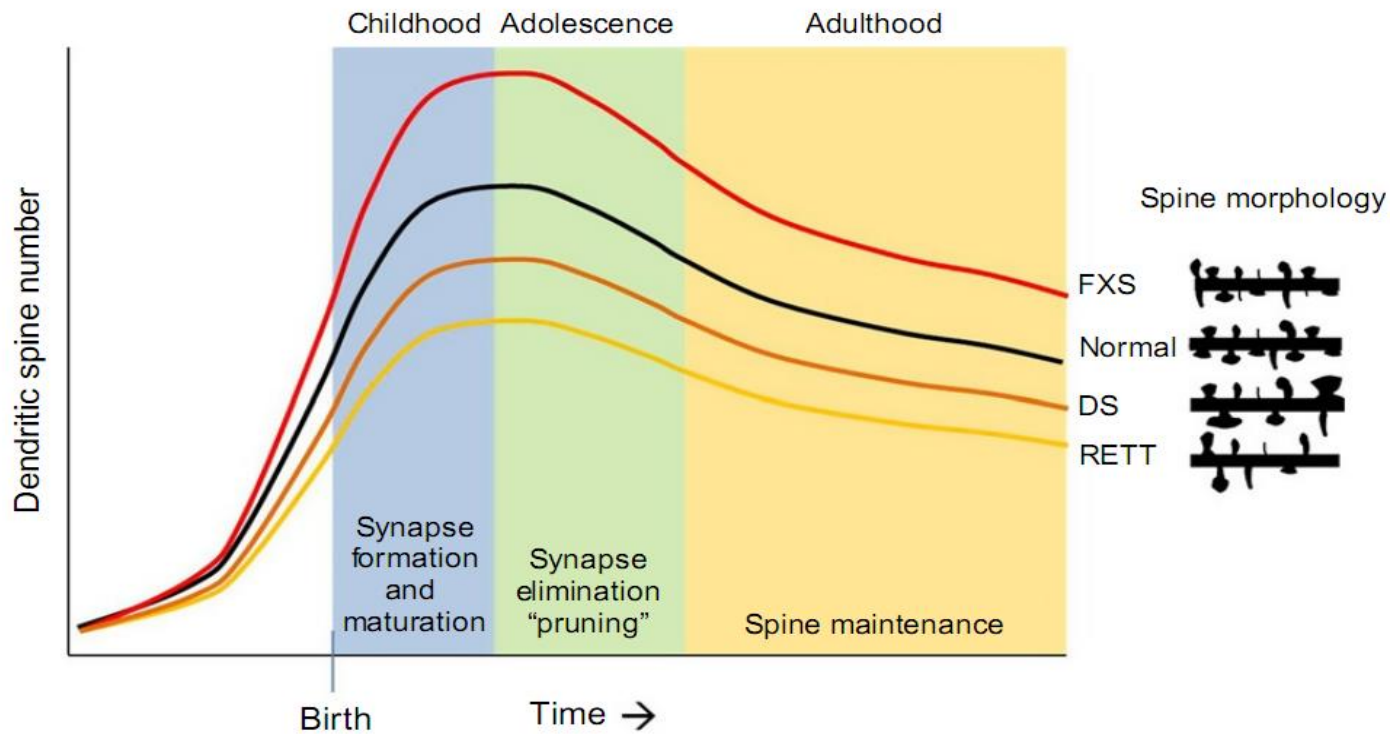
# Badania nad komórkami macierzystymi

Figure 1



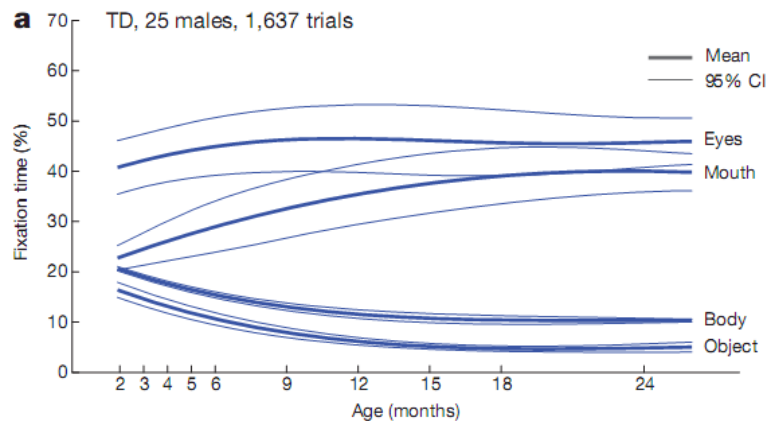
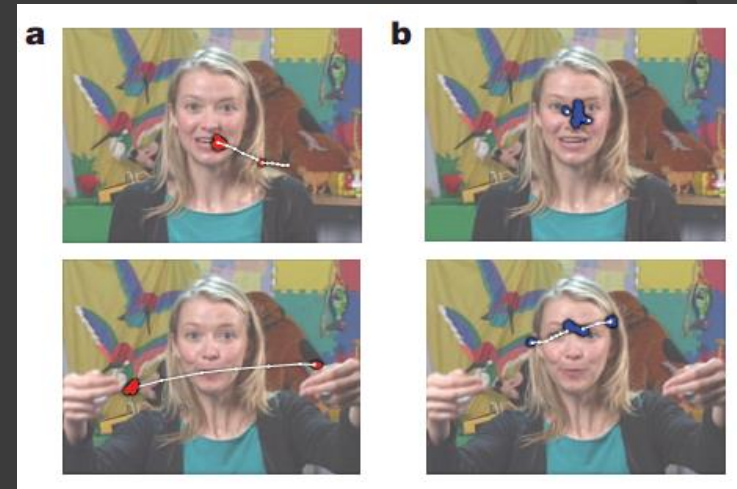
Phenotypes demonstrated by human iPSC-derived RTT neurons. We generated a human cellular model for RTT by reprogramming the fibroblasts of human patients to iPSCs. Neurons differentiated from these iPSCs exhibited cellular phenotypes such as **(a)** smaller soma size, **(b)** reduced dendritic branching, and **(c)** fewer glutamatergic synapses and **(d)** dendritic spines. These morphological alterations contributed to the functional phenotype of **(e)** altered electrophysiology, as RTT-neurons demonstrated a decreased frequency of spontaneous postsynaptic currents.

# Budowa dendrytów w różnych zaburzeniach neurorozwojowych

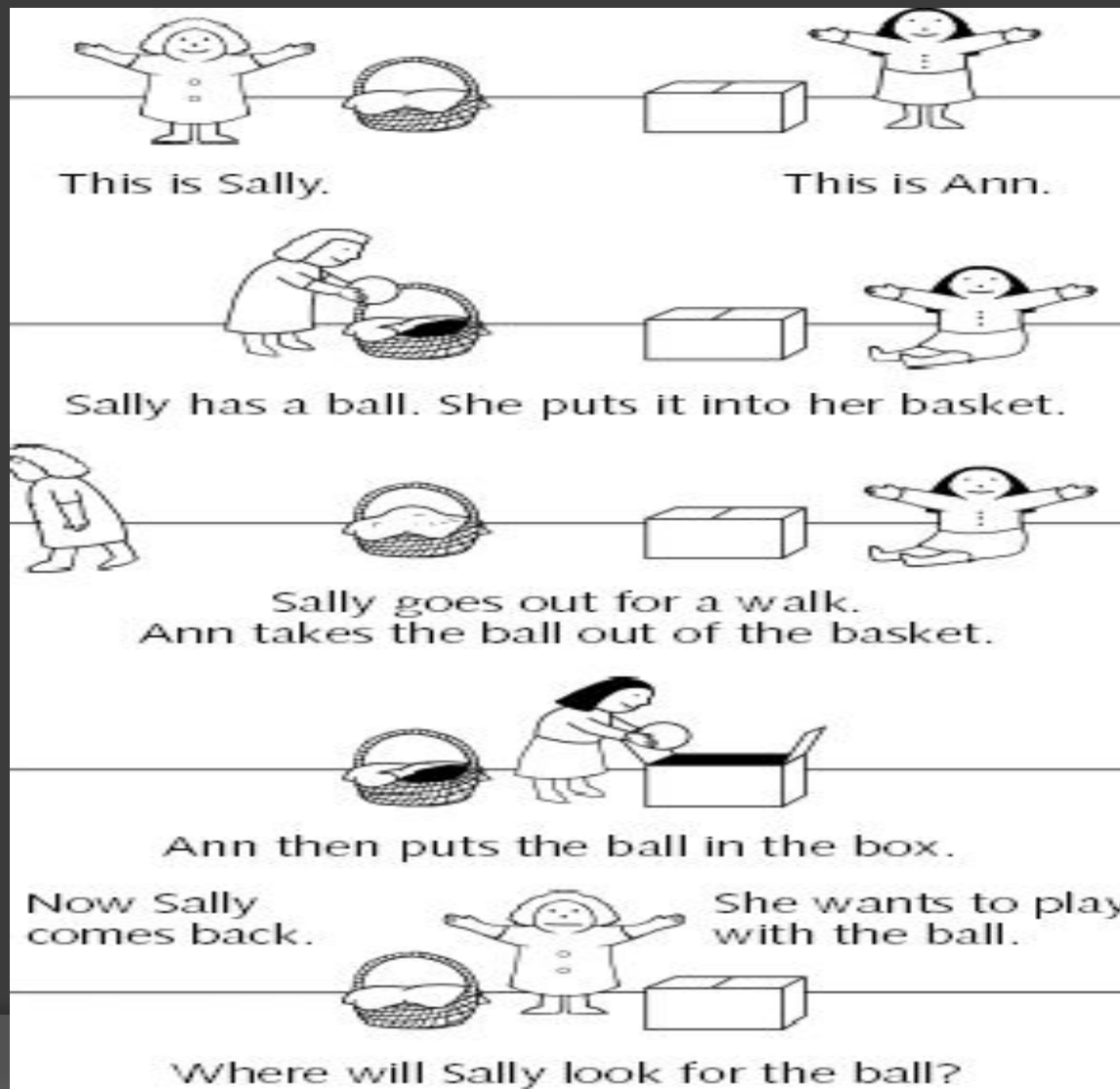


# Nieprawidłowa fiksacja gałek ocznych

- Badanie prospektywne niemowląt – 59 wysokie ryzyko, 51 niskie ryzyko ASD
- Dane zbierane 10- krotnie prospektywnie
- Rozpoznanie ASD w 36 msc życia; 12/59 w.r. oraz 1/51 n.r.



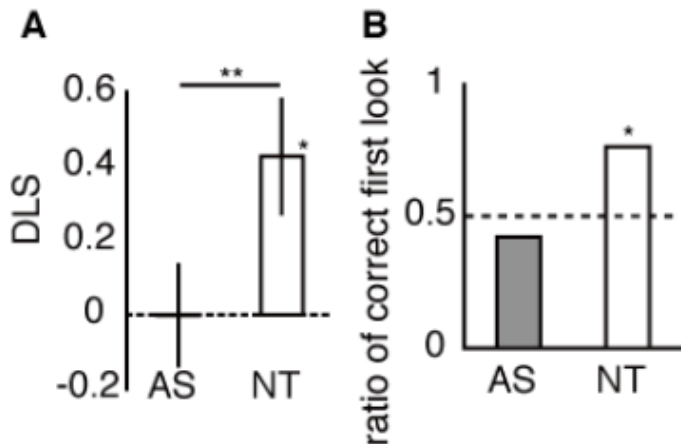
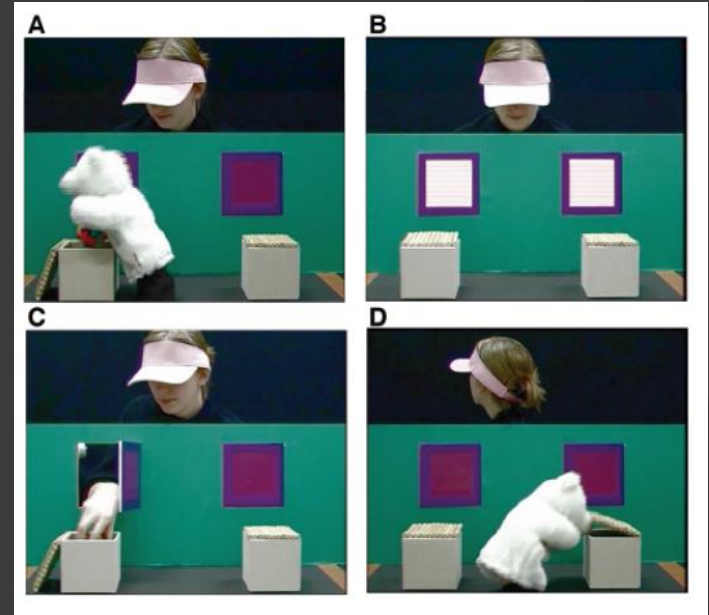
# Fałszywe przekonania I-rzędu – test teorii umysłu



# Zaburzony rozwój spontanicznego poznania społecznego

Pomimo prawidłowego wykonania testu fałszywych przekonań, pacjenci z zespołem Aspergera nie kierowali spontanicznie wzroku zgodnie z fałszywymi przekonaniem aktora

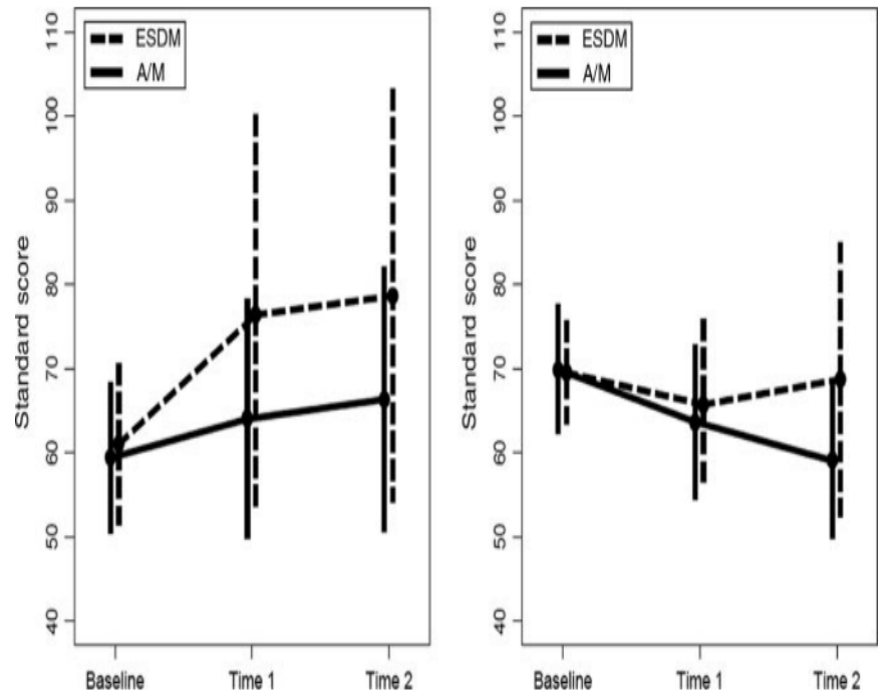
Senju i wsp. 2009 Science



**Figure 2.** (A) Mean ( $\pm$  SEM) difference looking scores (DLS, (19)) and (B) the ratio of the number of participants who made correct first saccades in each group. AS: participants with Asperger Syndrome ( $N = 19$ ), NT: neurotypical participants ( $N = 17$ ), \*:  $p < .05$ , \*\*:  $p < .01$ , dotted lines: chance level, statistical test used: (A) t-test and (B) binominal test.

# Wczesna interwencja w autyzmie

- Badanie randomizowane
- 48 dzieci z rozpoznaniem autyzmu (18-30 msc życia)
- 2 lata intensywnej terapii behawioralnej vs. 2 lata opieki w środowisku
- Poprawa o około 1 OS w porównaniu do opieki w środowisku
- Zarówno w teście oceniającym ff. poznawcze- MSEL, jak i w teście oceniającym ff. społeczne -VABS



**FIGURE 2**

Mean scores on the MSEL (left) and the VABS composite (right) for children in the ESDM and A/M groups 1 and 2 years after entering study. Error bars indicate  $\pm 1$  SD.

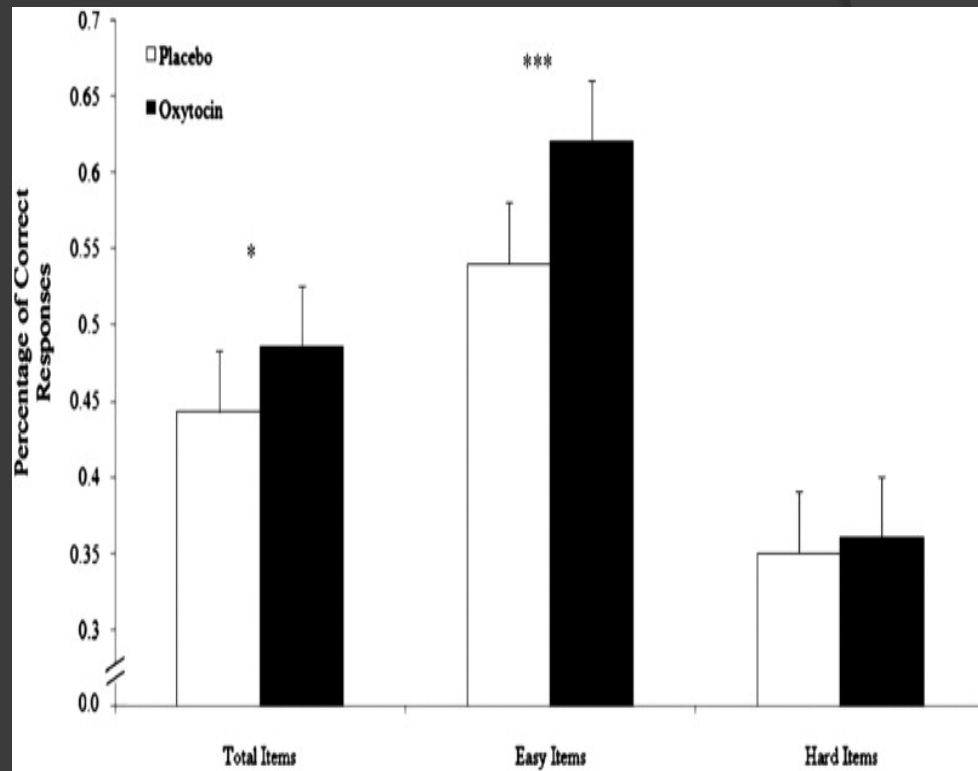


# Leczenie farmakologiczne

Compound	Indication: target	Stage of development	Mechanism of action	Approved in
Fluoxetine ODT	Autism: repetitive behavior	Pre-registered	Selective serotonin reuptake inhibitor	
Citalopram	Autism: repetitive behavior	Phase II	Selective serotonin reuptake inhibitor	
Riluzole	Autism: repetitive behavior	Phase II	Glutamate antagonist	ALS
Atomoxetine	Autism: ADHD symptoms	Phase III	Selective norepinephrine reuptake inhibitor	
Methylphenidate	Autism: ADHD symptoms	Phase II	Norepinephrine and dopamine reuptake inhibitor	
Guanfacine	Autism: ADHD symptoms	Phase II	$\alpha_2$ -Adrenergic agonist	
Risperidone	Autism: irritability	FDA-approved	Dopamine D2 antagonist 5-HT2A antagonist	
Aripiprazole	Autism: irritability	FDA-approved	Dopamine D2 partial agonist 5-HT1A partial agonist 5-HT2A antagonist	
Paliperidone	Autism: irritability	Phase III	5-HT2A antagonist Dopamine D2 antagonist	
Arbaclofen	Autism: irritability	Phase II	GABA-B agonist	
Secretin	Autism: social impairment	Phase III	Secretin agonist	
Memantine hydrochloride	Autism: social impairment	Phase II	NMDA antagonist glutamate release antagonist	Alzheimer's disease
D-Cycloserine	Autism: social impairment	Phase III	NMDA modulator	
Lamotrigine	Autism: social impairment	Phase II	Glutamatergic modulator	
Amantadine	Autism: social impairment	Phase II	NMDA antagonist	
AFO-056	Autism	Preclinical	Metabotropic glutamate 5 antagonist	
CM-AT	Autism: core symptoms	Phase III	Digestive supplement	
Pioglitazone	Autism: core symptoms	Suspended	PPAR $\gamma$ inhibitor	Multiple sclerosis, type 2 diabetes
Galantamine	Autism - communication		Acetylcholinesterase inhibitor	
Ziprasidone	ASD: irritability	Phase II		Schizophrenia
Olanzapine	ASD: irritability	Phase II/III		Schizophrenia
Divaloprex sodium	ASD: irritability	Phase II/III/IV		Epilepsy, major depressive disorder
Buspirone	ASD: anxiety			

# Oksytocyna w spektrum autyzmu

- Chłopcy w wieku 12-19 lat z rozpoznaniem ASD
- Podawanie OXT kontrolowane placebo
- OXT powodowała poprawę w teście: Reading the Mind in the Eyes



# Leki działające bezpośrednio na plastyczność neuronalną

## Open-label add-on treatment trial of minocycline in fragile X syndrome

Carlo Paribello<sup>1\*</sup>, Leeping Tao<sup>1</sup>, Anthony Folino<sup>1</sup>, Elizabeth Berry-Kravis<sup>2</sup>, Michael Tranfaglia<sup>3</sup>, Iryna M Ethell<sup>4</sup>, Douglas W Ethell<sup>4,5</sup>

### Abstract

**Background:** Fragile X syndrome (FXS) is a disorder characterized by a variety of disabilities, including cognitive deficits, attention-deficit/hyperactivity disorder, autism, and other socio-emotional problems. It is hypothesized that the absence of the fragile X mental retardation protein (FMRP) leads to higher levels of matrix metallo-proteinase-9 activity (MMP-9) in the brain. Minocycline inhibits MMP-9 activity, and alleviates behavioural and synapse abnormalities in *fmr1* knockout mice, an established model for FXS. This open-label add-on pilot trial was conducted to evaluate safety and efficacy of minocycline in treating behavioural abnormalities that occur in humans with FXS.

**Methods:** Twenty individuals with FXS, ages 13-32, were randomly assigned to receive 100 mg or 200 mg of minocycline daily. Behavioural evaluations were made prior to treatment (baseline) and again 8 weeks after daily minocycline treatment. The primary outcome measure was the Aberrant Behaviour Checklist-Community Edition (ABC-C) Irritability Subscale, and the secondary outcome measures were the other ABC-C subscales, clinical global improvement scale (CGI), and the visual analog scale for behaviour (VAS). Side effects were assessed using an adverse events checklist, a complete blood count (CBC), hepatic and renal function tests, and antinuclear antibody screen (ANA), done at baseline and at 8 weeks.

**Results:** The ABC-C Irritability Subscale scores showed significant improvement ( $p < 0.001$ ), as did the VAS ( $p = 0.003$ ) and the CGI ( $p < 0.001$ ). The only significant treatment-related side effects were minor diarrhea ( $n = 3$ ) and seroconversion to a positive ANA ( $n = 2$ ).

**Conclusions:** Results from this study demonstrate that minocycline provides significant functional benefits to FXS patients and that it is well-tolerated. These findings are consistent with the *fmr1* knockout mouse model results, suggesting that minocycline modifies underlying neural defects that account for behavioural abnormalities. A placebo-controlled trial of minocycline in FXS is warranted.

**Trial registration:** ClinicalTrials.gov Open-Label Trial NCT00858689.

# Wnioski

- Umiejętność spontanicznego nawiązywania i rozumienia interakcji społecznych jest zdolnością naszego gatunku (instynkt społeczny)
- Dla prawidłowego rozwoju wymaga ona niezakłóconej interakcji genów regulujących plastyczność OUN z czynnikami środowiskowymi
- Różnorodne zakłócenia powyższych procesów mogą prowadzić do zaburzeń ze spektrum autyzmu
- Poznanie neurobiologicznych mechanizmów ASD może doprowadzić do skuteczniejszych metod oddziaływania farmakologicznego
- Istnienie podstawowych deficytów w spontanicznym poznaniu społecznym nie uniemożliwia bardziej świadomego nabywania takich umiejętności