

Geni di suscettibilità per i disturbi dello spettro autistico: conferma del ruolo della regione 15q11-13*

Susceptibility genes for autistic spectrum disorders: a confirmation for the role of 15q11-13 region

L. STRIK LIEVERS, G. GUFFANTI, M. ESTIENNE*, N. NARDOCCI*, S. RUSSO**, M.T. BONATI**, L. LARIZZA***, F. MACCIARDI

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche;

** Istituto Neurologico C. Besta, Milano; ** Istituto Auxologico, Milano;*

**** Università di Milano, Dipartimento di Biologia e Genetica*

PAROLE CHIAVE. – Cromosoma 15 - Autismo - Endofenotipi - Imprinting genitoriale
KEY WORDS. – Chromosome 15 - Autism - Endophenotypes - Parent of origin effect

Summary

Objectives. Primary aim of this work is to test in an autistic population the role of *UBE3A* and *ATP10*, two imprinted, maternally expressed genes, located in 15q11-13, region that has particular etiopathogenetic interest for autistic spectrum disorders. Secondary aims are to study the role of imprinting and the association with clinical endophenotypes.

Aims and methods. We screened for transmission a sample of 79 autistic subjects and their families with a set of 4 markers (1 SNP and 3 microsatellites) spanning *UBE3A* and *ATP10*. On a subset of 56 subjects, we densified the region with 6 additional SNPs for a parent-of origin analysis and an association study for clinical endophenotypes.

Results. We replicated evidence of Linkage Disequilibrium at marker *D15S122*, located at the 5' end of *UBE3A*, gene that showed conflicting results in the literature up to now. We documented some suggestions for a role of the region on language endophenotypes and psychomotor regression and a distortion of transmission for paternal alleles in *D15S122*.

* Comunicazione presentata al XXIV Congresso Nazionale della SINPIA "Complessità e specificità in neuropsichiatria dell'età evolutiva: lo sviluppo delle conoscenze e il miglioramento delle cure" – Bari, 27 Maggio 2008, qui pubblicata per invito del Consiglio Direttivo.

Le richieste di estratti vanno inviate a: dott.ssa Luisa Strik Lievers, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche, via Filii Cervi 93, 20090 Segrate (MI) - Tel. +39 02 50320946 - Fax +39 02 5032919.

Conclusions. *Our data support a potential role of UBE3A and of the 15q11-13 region in the complex pathogenic mechanisms of autism.*

Introduzione

Il disturbo autistico rientra, nella classificazione DSM IV ¹, nei Disturbi Generalizzati dello Sviluppo e, come è noto, è definito come una sindrome comportamentale, ad esordio entro i tre anni di età, caratterizzata da una grave compromissione qualitativa dell'interazione sociale, della comunicazione verbale e non verbale e da modalità di comportamento, interessi ed attività ristretti, ripetitivi e stereotipati. Il dibattito attuale sui limiti nosologici del disturbo nasce dall'interpretare l'autismo non più un'entità unica e definita, come nelle iniziali descrizioni di Kanner ¹², bensì uno spettro clinico ad ampia variabilità (ASD, *Autistic Spectrum Disorders*). La dizione di "fenotipo allargato" del disturbo (BAP, *broader autism phenotype*) è stata inoltre introdotta per descrivere un quadro caratterizzato da lievi alterazioni in socializzazione, interessi e linguaggio che spesso si riscontrano in familiari non affetti di pazienti con autismo. Tale estrema variabilità clinica corrisponde alla complessità e variabilità eziopatogenetica.

In estrema sintesi, superate le ipotesi primitivamente ed esclusivamente relazionali, attualmente oggetto di ricerca sono tre grandi ambiti, complementari e non mutuamente esclusivi (per una review, si veda Volkmar & Pauls ³⁰): l'approccio neurocognitivo (con le teorie della mente, del deficit delle funzioni esecutive, del deficit di coerenza centrale), la ricerca di fattori ambientali (farmaci, infezioni, vaccinazioni) e la ricerca neurobiologica, che include l'interpretazione delle evidenze cliniche, neuropatologiche, neurofisiologiche, neurochimiche e genetiche del disturbo.

Il ruolo importante, ancorché non unico, dei fattori genetici nell'autismo "idiopatico" è testimoniata dagli studi sui gemelli. La concordanza del disturbo autistico nei monozigoti è calcolata, nei 4 studi epidemiologici indipendenti esistenti ^{3 7 24 29} fra il 36 e il 96% mentre negli eterozigoti è fra lo 0 e il 30%. Risch et al. ²³ suggeriscono che l'alto rapporto (1:25) della ricorrenza fra dizigoti e monozigoti sia indicativo dell'interazione di numerosi loci di suscettibilità. Lo studio del fenotipo autistico allargato (BAP), inoltre, documenta nei gemelli monozigoti discordanti per la patologia una maggior ricorrenza di alterazioni, in particolare rispetto all'interazione sociale e alla comunicazione, che nei dizigoti discordanti ¹⁴.

Nella ricerca di associazioni genetiche nell'autismo, un'importante aiuto viene dallo studio degli endofenotipi. L'idea è quella di non utilizzare più solo il tratto riduttivo "sano/malato" ma di stratificare la popolazione secondo aspetti clinici che siano potenzialmente più informativi dal punto di vista genetico. Esempi di endofenotipi utilizzati in letteratura per lo studio della genetica del-

l'autismo sono tratti quali le caratteristiche del linguaggio, del comportamento e l'assetto neuropsicologico. È verosimile che i geni di suscettibilità per l'autismo non si associno direttamente ad un fenotipo così complesso come la diagnosi categoriale, ma che possano contribuire al manifestarsi di alcune sue componenti. Lo studio dei fenotipi informativi nell'autismo ha subito un'importante accelerazione dell'introduzione nella diagnostica clinica e nella ricerca di due strumenti standardizzati: l'intervista per i genitori ADI-R ¹⁵ e il protocollo osservativo ADOS ¹⁶. Questi strumenti permettono di ottenere espressioni quantificabili e confrontabili dei fenotipi clinici, e quindi una più agevole stratificazione dei soggetti in esame.

Tre sono gli approcci fondamentali per l'identificazione di loci genetici e di regioni cromosomiche che contengono geni responsabili dell'insorgenza di una patologia a sospetta componente genetica:

- studi di citogenetica volti all'identificazione di anomalie cromosomiche ereditate o de novo nel singolo individuo. Anomalie citogenetiche riportate nell'autismo coinvolgono numerose regioni, fra cui 2q37, 7q31 e 22q11. Con una percentuale dell'1-3% dei casi di disturbi dello spettro autistico ²², l'anomalia citogenetica più frequente riguarda però la parte prossimale del braccio lungo del cromosoma 15, dove si riscontrano inversioni e duplicazioni di origine materna nell'intervallo 15q11-13;
- studi di linkage (ricerca di marcatori genetici condivisi da intere popolazioni di famiglie con più di un individuo che presenti tratti della patologia) (per una review, si veda Freitag ⁸). Evidenza di linkage è stata trovata in due o più studi per le regioni 2q, 3q25-27, 3p25, 6q14-21, 7q31-36 e 17q11-2. Per quanto riguarda gli endofenotipi, attualmente risulta che i geni che influenzano lo sviluppo del linguaggio più verosimilmente potranno essere trovati nel cromosoma 2q e 7q (evidenze per i tratti "ritardo alla prima parola" e "ritardo alla prima frase"). Lo sviluppo psicomotorio inteso come "un'acquisizione rapida delle tappe di sviluppo" ha mostrato linkage nella regione 19p13; il parametro "regressione psicomotoria" al cromosoma 7q e 21q. Rispetto al comportamento, tratti ossessivo-compulsivi hanno mostrato linkage sul cromosoma 1q, atteggiamenti ripetitivi e stereotipati sui cromosomi 7q, 16 e 17 mentre il parametro "insistence on the sameness" (intolleranza ai cambiamenti) ha dato evidenza di linkage nella regione 15q11-13. Ad oggi, gli unici studi che hanno considerato aspetti cognitivi come covariate per stratificare il campione hanno fatto riferimento al parametro "savant skills", inteso come la presenza di aree di funzionamento superiori alle capacità cognitive generali del soggetto (evidenza in un lavoro ²⁰ di linkage nella regione 15q11-13);
- studi di associazione ⁸ si basano sulla ricerca di geni candidati, selezionati a priori per la loro funzione (candidati funzionali) o perché situati in regioni di linkage o di anomalie cromosomiche (candidati posizionali). Negli ultimi dieci anni sono stati studiati più di 100 geni ed evidenze maggiori so-

no a carico del gene della reclina (RELN, cr 7), del trasportatore della serotonina (SLC6A4/5-HTT, cr 17), delle neuroligine (NLGN3 e NLGN4X, crX) e del recettore per il glutammato (GluR6, cr 6). La regione q11-13 del cromosoma 15 ha ricevuto attenzione soprattutto per la presenza di geni per subunità del recettore del GABA (si veda oltre).

La regione 15q11-13

Questa regione è soggetta a duplicazione di origine materna nell'1-3% dei casi di autismo. Alcuni autori descrivono un fenotipo autistico peculiare in pazienti portatori di duplicazione di 15q11-13 materna. Vi sarebbe infatti ²⁶ maggior incidenza di epilessia, ipotonia muscolare, difficoltà nella coordinazione, ritardo mentale da moderato a severo, ritardo o assenza del linguaggio, iperattività, labilità attentiva, intolleranza alle frustrazioni. La duplicazione della regione 15q11-13 non si associa unicamente ad un fenotipo autistico, ma è stata segnalata in associazione anche a quadri caratterizzati da vari gradi di compromissione cognitiva e disturbi della coordinazione motoria. Duplicazioni di origine materna anche in questo caso sono molto più frequentemente associate a sintomatologia clinica ⁴.

La regione ha una dimensione di circa 3 Mb ed include (Fig. 1):

- un dominio prossimale di circa 2 Mb ad espressività paterna;
- un dominio minore (500 kb) ad espressività materna, dove mappano i geni:
 - UBE3A, che codifica per una ubiquitin-protein ligasi, E6-AP ⁶, implicata nella degradazione delle proteine anche nel sistema nervoso centrale;
 - ATP10, che codifica per un trasportatore anfipatico di fosfolipidi ¹⁰, potenzialmente implicato nella neurotrasmissione;
- una zona ad apparente espressione biallelica, contenente:
 - un gruppo di geni per subunità del recettore GABA_A (GABRB3, GABRA5 e GABRG3), principale neurotrasmettitore inibitorio del sistema nervoso centrale;
 - il gene OCA2, che codifica per un trasportatore coinvolto nella pigmentazione ².

Come è noto, la stessa regione è interessata, in caso di delezione, a due sindromi soggette ad imprinting: la sindrome di Prader Willi che deriva dalla perdita di più geni ad espressività paterna e la sindrome di Angelman legata alla perdita del gene, ad espressività materna, ubiquitin-protein ligasi (UBE3A) e, nel caso di delezione e di unisomia uniparentale, anche del gene ATP10. Pur presentando un quadro clinico assai differente da quello dei disturbi dello spettro autistico, in entrambe le sindromi se ne possono identificare dei tratti. La compromissione del linguaggio e l'alta frequenza di ritardo mentale sono presenti sia nell'autismo che nell'Angelman, mentre è stato segnalato ¹⁸ che pazienti con sindrome di Prader Willi dovuta a disomia uniparentale presenterebbero più di-

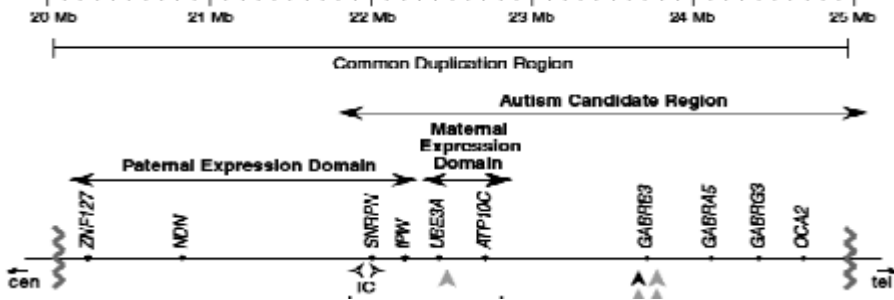


Fig. 1. Mappa della regione candidata 15q11-13 (da Nurmi et al., 2003²⁰, mod.).

sturbi della relazione rispetto a quelli con delezione interstiziale sul cromosoma paterno (e questo deporrebbe per un possibile ruolo dei geni ad imprinting materno nell'intervallo 15q11-13 nell'autismo).

Data la frequenza delle duplicazioni, interessante è cercare una risposta alla questione se questa regione abbia un ruolo anche nei soggetti autistici citogeneticamente normali.

Gran parte degli studi di associazione nella regione si sono occupati dei recettori del GABA, che non mostra fenomeni di imprinting, con risultati contrastanti (per una review, Freitag⁸). Altri studi hanno analizzato la regione includendo anche marcatori attorno ad UBE3A e ATP10, in considerazione del fatto che entrambi i geni sono degli ottimi candidati, sia funzionali (per il ruolo delle rispettive proteine nel sistema nervoso centrale) che posizionali (in quanto situati nella regione di duplicazione associata all'autismo e all'interno di questa regione proprio nella zona ad espressività materna).

Evidenze significative in UBE3A sono state trovate da Nurmi et al.¹⁹, che riscontrano associazione con il microsatellite D15S122, che si trova al 5' di UBE3A, in una regione intronica non trascritta. Il dato non era stato trovato invece in un lavoro precedente⁵ né replicato in uno successivo²¹, in cui invece marcatori ed aplotipi in ATP10 risultano preferenzialmente trasmessi. Altri lavori su ATP10 sono quelli di Kim et al.¹³, che non riscontrano associazioni significative, e di Kato et al.¹¹ sulla popolazione giapponese. L'effetto dell'imprinting in questa regione è stato studiato da Nurmi et al nel lavoro del 2001¹⁹, evidenziando un effetto materno per la trasmissione preferenziale di un allele di D15S122.

Materiali e metodi

Sintesi del protocollo

Scopo principale del lavoro è quello di testare, su una popolazione italiana di 79 bambini con diagnosi di disturbo dello spettro autistico, la trasmissione di UBE3A e ATP10.

Obiettivi secondari sono quelli di studiare, su una sottopopolazione di 56 soggetti:

- l'effetto dell'imprinting genitoriale sulla trasmissione;
- l'effetto degli stessi geni stratificando la popolazione per caratteristiche cliniche potenzialmente più informative dal punto di vista genetico: il ritardo alla prima parola (>18 mesi), alla prima frase (>36 mesi), la regressione psicomotoria e l'intolleranza al cambiamento ("insistence on the sameness"), espresse come variabili dicotomiche.

Popolazione e genotipizzazione

Il campione complessivo utilizzato è costituito da 79 pazienti, 13 femmine e 66 maschi. Complessivamente sono stati genotipizzati 232 soggetti (146 genitori, 79 pazienti e 7 fratelli sani) (Tab. I) con 4 marcatori (Tabella II), uno in UBE3A (il microsatellite D15S122) e 3 in ATP10 (lo SNP rs2066704 e i microsatelliti D15S1534 e D15S1535). Su questa popolazione è stato effettuato lo studio di trasmissione (analisi primaria).

Per l'analisi secondaria è stato utilizzato una parte del campione, costituito da 56 pazienti, 9 femmine e 47 maschi, per 171 soggetti complessivi (108 genitori, 56 pazienti, 7 fratelli sani) (Tab. I) per cui è stata densificata la mappatura aggiungendo gli SNPs rs4906951, rs12717754, rs12592500, rs749632, rs12916907 e rs4906716 (Tab. II).

La popolazione è stata reclutata presso l'Istituto Besta (reparto Neuropsichiatria Infantile) e l'Istituto Auxologico Italiano di Milano.

Unico criterio di inclusione è la diagnosi di disturbo generalizzato dello sviluppo (disturbo autistico, 68% dei pazienti, o disturbo generalizzato dello sviluppo NAS, 32%). La diagnosi è stata effettuata, a seconda del centro di re-

Tab. I. Descrizione della popolazione.

	Analisi primaria	Analisi secondaria
Numero di famiglie	73	54
Numero figli affetti	79	56
Fratelli affetti	6	2
Fratelli sani	7	7
Genere (maschi:femmine)	66:13	47:9
Età (mesi)	78 ± 42	77 ± 45

Tab. II. Descrizione dei marcatori.

Gene	Numero marker	Nome marker	Posizione	Distanza fra markers	Regione	Tipo
UBE3A	1	rs4906951	23126764	-	3'UTR	C/T
UBE3A	2	rs12717754	23165020	38256	Intron	T/C
UBE3A	3	D15S122	23231137(-291)	66117	5'UTR	(CA) _n
	4	rs12592500	23267036	35899	intergenic	G/A
	5	rs7496320	23268982	1946	intergenic	T/C
	6	rs12916907	23283640	14658	intergenic	A/G
	7	rs4906716	23283703	63	intergenic	T/C
ATP10A	8	D15S1535	23477200	193497	Intron 18	GTT ins/del
ATP10A	9	rs2066704	23504535	27335	Non-syn coding	C/T
ATP10A	10	D15S1534	23517800	13265	Intron 8	(CA) _n

clutamento e dell'indicazione clinica, attraverso osservazioni di gioco, scala CARS²⁵ o ADOS¹⁶ ed intervista ADI-R¹⁵. Criterio di esclusione è la presenza di autismo secondario a patologia nota o in corso di inquadramento.

Il DNA è stato genotipizzati presso i laboratori dell'Istituto Auxologico di Milano.

Statistica

ANALISI PRIMARIA

Per l'elaborazione statistica dei risultati di trasmissione è stato applicato il *Transmission Disequilibrium Test* (TDT). Il test valuta la presenza di un possibile LD (*Linkage Disequilibrium*) tra i singoli SNP ed un ipotetico locus-malattia effettuando l'analisi di trasmissione dai genitori informativi ai figli affetti di ogni singolo marcatore, sia, per quanto riguarda i microsatelliti, come test biallelico che come test multiallelico. Con lo stesso programma si è inoltre eseguita l'analisi della configurazione aplo-tipica.

ANALISI SECONDARIA

Un'analisi di trasmissione è stata utilizzata anche per studiare l'origine materna o paterna del genotipo dei figli affetti. Per l'analisi di associazione con gli endofenotipi è stato infine effettuato un test di regressione lineare, attraverso una statistica univariata. Per entrambe le analisi secondarie i due microsatelliti multiallelici (D15S122 e D15S1534, CA repeat) sono stati biallelizzati considerando come allele maggiore l'allele più trasmesso negli affetti.

Risultati

Analisi di trasmissione

All'analisi per singolo marcatore si documenta una significativa distorsione della trasmissione di D15S122, microsatellite posto al 5' di UBE3A ($\chi^2 = 10,78$; 4 df; p-value = 0,029). L'analisi di trasmissione per singolo allele dimostra come la significatività di D15S122 sia legata all'allele 222bp, significativamente (p-value = 0,005) meno trasmesso ai figli affetti (come per un significato "protettivo"). Lo studio degli aplotipi conferma e rafforza questo dato: due aplotipi a 4 marker costruiti includendo l'allele 222bp di D15S122 dimostrano significativa distorsione della trasmissione (h6 p = 0,01 e h5 p = 0,06). Quest'ultimo sopravvive alla correzione per test multipli: p corretto = 0,024. Aplotipi costruiti sui marcatori in ATP10 non hanno invece dato risultati significativi. Questo dato supporta l'ipotesi del ruolo di UBE3A più che di ATP10 come locus di suscettibilità per il disturbo autistico: l'evidenza dell'associazione sembra a carico di D15S122 o di una variante in stretto LD con questo marker.

Analisi per l'effetto dell'imprinting

Emerge una tendenza significativa per la trasmissione paterna, sempre a livello di D15S122: l'allele 222bp viene significativamente (p = 0,0042) meno trasmesso dai padri ai figli affetti. Non emerge invece significativa distorsione della trasmissione materna.

Analisi di associazione con gli endofenotipi

Un esordio con regressione psicomotoria è descritta nel 16% dei pazienti ed è risultata associata allo SNP intergenico rs4906716 (p = 0,0045). Un ritardo nell'acquisizione della prima parola è riportato nel 41% dei pazienti e mostra un'associazione significativa con i markers in ATP10 (DS15s1535 p = 0,008, rs2066704 p = 0,036 e DS15s1534 p = 0,016).

Il ritardo alla prima frase (58% dei pazienti) e la presenza di intolleranza al cambiamento (33%) non hanno invece dato associazioni significative.

Discussione

Nel nostro campione si è valutata la trasmissione dai genitori ai figli affetti di 4 marcatori, tre microsatelliti ed uno SNP, collocati uno in UBE3A e 3 in ATP10.

Si ha una conferma della significatività della distorsione della trasmissione del microsatellite D15S122, il microsatellite in UBE3a, riscontrata da Nurmi et al. nel loro lavoro del 2001¹⁹. Questo dato è molto interessante in quanto rappresenta la prima conferma a livello di questo marcatore, che è stato studiato in altri due lavori senza mostrare evidenze di associazione^{5 21}.

L'analisi degli aplotipi nella nostra popolazione evidenzia la significativa distorsione nella trasmissione ai figli affetti dei blocchi aplotipici contenenti, per D15S122, l'allele 222bp. Questo dato, anche in considerazione della relativa scarsa numerosità del nostro campione, rafforza il valore dell'indicazione che in questa regione genomica esista un sito di suscettibilità.

Data l'importanza dei fenomeni di imprinting nella regione 15q11-13, è stata effettuata un'analisi TDT considerando il genitore di origine. Ne risulta nuovamente un'indicazione al ruolo di D15S122, che (biallelizzato sull'allele maggiore, l'allele 222pb), risulta significativamente meno trasmesso dai padri ai figli affetti. Questo dato è coerente con quanto è noto dallo studio delle anomalie citogenetiche nell'autismo: la duplicazione di 15q11-13, presente nell'1-3% dei casi di autismo, è di origine materna. Potrebbe esservi un effetto "dose" nelle informazioni genetiche di origine materna ed un eventuale sito "protettivo" paterno verrebbe, come nel nostro campione, preferenzialmente non trasmesso ai figli affetti. Anche Nurmi et al.¹⁹ hanno studiato l'effetto di imprinting, che nel loro campione si approssima alla significatività sempre per il marcatore D15S122. Analizzando i singoli alleli del microsatellite, gli autori descrivono come, coerentemente con quanto sopra descritto rispetto all'imprinting genomico in questa regione, l'allele "di rischio" venga preferenzialmente trasmesso dalle madri (mentre non evidenziano significatività per il loro allele "protettivo").

La principale differenza fra il lavoro di Nurmi et al.¹⁹ e il nostro consiste nel tipo di campione utilizzato (nel loro prevalentemente sib pairs, ovvero coppie di fratelli affetti, in questo prevalentemente trios, ovvero famiglie con un solo figlio affetto). La conferma della significatività dell'associazione con D15S122 depone per la presenza, in questa regione genica, di un sito di suscettibilità che potenzialmente gioca un ruolo nell'eziologia dell'autismo, sia nelle forme ad elevata ricorrenza familiare (come è il caso di più figli affetti) sia nelle forme isolate, che pure potrebbero avere un differente meccanismo genetico sottostante.

Allo scopo di effettuare le analisi su campioni potenzialmente più informativi dal punto di vista genetico in quanto più omogenei, la nostra popolazione è stata poi stratificata, secondo quanto riportato in letteratura, rispetto a parametri relativi allo sviluppo del linguaggio (età alla prima parola ed età alla prima frase), alla modalità di esordio (presenza o meno in anamnesi di regressione psicomotoria) e del tratto clinico "insistence on the sameness" (rituali e necessità di mantenere l'invariabilità di ambiente e routines).

Si osserva un'associazione fra il ritardo di acquisizione della parola e tutti e 3 i marcatori che mappano in ATP10 (ovvero i due microsatelliti D15S1535, D15S1543 e lo SNP rs2066704). Questo dato, che sposta la significatività da UBE3A – per il tratto "affetto/non affetto" – ad ATP10 – per il tratto "autismo con ritardo della prima parola/senza ritardo" –, lungi dall'essere di per sé informativo, testimonia dell'utilità di ricorrere a sottoclassificazioni basate sulla clinica in una patologia eterogenea dal punto di vista sintomatologico ed eziopatogenetico quale l'autismo.

Significatività viene evidenziata anche per il fenotipo “regressione psicomotoria”, associato allo SNP rs4906716, situato in una regione intergenica fra UBE3A e ATP10. Entrambi i risultati sono la prima associazione documentata in letteratura fra questi endofenotipi e la regione 15q11-13.

Nessuna significatività risulta infine per il parametro “insistence on the sameness”, che invece aveva nel lavoro di Shao et al. ²⁷ dato associazione nella regione attorno ai geni per il recettore del GABA.

Il limite principale di questo studio deriva dalla non omogeneità del protocollo diagnostico provenendo il campione da centri differenti non è stato possibile uniformare completamente le batterie testali. Questo ha comportato, per esempio, che i fenotipi informativi venissero dedotti in parte dalla raccolta anamnestica ed in parte, ove disponibile, dall’intervista ADI-R. Non è stato inoltre possibile utilizzare come covariate delle nostre analisi numerose informazioni, in quanto disponibili solo per parte del campione. Fra queste, la valutazione cognitiva (effettuata solo nel 30% dei pazienti) anche per le note difficoltà di collaborazione dei bambini con disturbo autistico) ed i dati relativi agli esami ematochimici e strumentali eseguiti.

Una riflessione, infine, sulla “regressione psicomotoria”, che in letteratura è riportata nel 20-30% dei bambini autistici, generalmente in un’età compresa fra i 18 e i 24 mesi ⁹. L’utilità di questo endofenotipo per lo studio dell’autismo non deve far trascurare le numerose evidenze che descrivono come molto spesso lo sviluppo psicomotorio precedente alla regressione, seppur riferito come adeguato, possa invece presentare alcuni tratti patologici precoci ^{17 28}.

Conclusioni

I risultati di trasmissione, imprinting ed associazione con endofenotipi supportano l’importanza della regione cromosomica 15q11-13 nei disturbi dello spettro autistico anche in assenza di anomalie citogenetiche ed in particolare il ruolo potenziale del gene UBE3A, buon candidato posizionale e funzionale. Questo dato è un’importante conferma di quanto è stato recentemente ma non univocamente descritto in letteratura e merita quindi ulteriori approfondimenti. Prospettive future includono, oltre alla densificazione della regione e alla replicazione del lavoro in un’altra e più ampia popolazione, anche l’approfondimento dei fenomeni di imprinting sia genetico che epigenetico, nonché l’analisi dell’effetto dell’interazione fra geni in siti differenti.

Riassunto

Obiettivi. Scopo principale di questo lavoro è di studiare, in una popolazione di pazienti autistici, il ruolo di UBE3A ed ATP10, geni ad espressività materna che si trovano all’interno di 15q11-13, regione importante nell’eziopato-

genesi del disturbo. Obiettivi secondari sono quelli di analizzare il ruolo dell'imprinting e l'associazione con endofenotipi clinici.

Materiali e metodi. Si è effettuata un'analisi di trasmissione in una popolazione di 79 pazienti autistici e le loro famiglie studiando 4 marcatori (1 SNP e 3 microsattelliti) attorno ad UBE3A e ATP10. Su una sottopopolazione di 56 pazienti, la regione è stata densificata con 6 ulteriori SNP per effettuare lo studio dell'imprinting e dell'associazione con endofenotipi.

Risultati. È stata replicata l'evidenza di Linkage Disequilibrium al marcatore D15S122, situato al 5' di UBE3A, per cui in letteratura esistono ad oggi evidenze discordanti. Emergono elementi per il ruolo di questa regione rispetto allo sviluppo del linguaggio e alla regressione psicomotoria, nonché una distorsione della trasmissione per alleli di origine paterna in D15S122.

Conclusioni. I risultati supportano il ruolo potenziale di UBE3A e della regione 15q11-13 nella complessa eziopatogenesi dell'autismo.

Bibliografia

- 1 American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistic manual of mental disorders*. IV ed. Washington: American Psychiatric Association 1994.
- 2 Ancans J, Tobin DJ, Hoogdujin MJ, Smit NP, Wakamatsu K, Thody AJ. *Control rate of melanogenesis, eumelanin/phaeomelanin ratio and melanosome maturation in melanocytes and melanoma cells*. *Exp Cell Res* 2001;268:26-35.
- 3 Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, et al. *Autism as a strongly genetic disorder: Evidence from a British twin study*. *Psychol Med* 1995;25:63-77.
- 4 Bolton PF, Dennis NR, Browne CE, Thomas NS, Veltman MW, Thompson RJ, et al. *The phenotypic manifestations of interstitial duplications of proximal 15q with special reference to the autistic spectrum disorders*. *Am J Med Genet* 2001;105:675-85.
- 5 Cook EH, Courchesne RY, Cox NJ, Lord C, Gonen D, Guter SJ, et al. *Linkage-disequilibrium mapping of autistic disorder, with 15q11-13 markers*. *Am J Hum Genet* 1998;62:1077-83.
- 6 Fang P, Lev-Lehman E, Tsai TF, Matsuura T, Benton CS, Sutcliffe JS, et al. *The spectrum of mutations in UBE3A causing Angelman syndrome*. *Hum Mol Genet* 1999;8:129-35.
- 7 Folstein S, Rutter M. *Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs*. *J Child Psychol Psychiatr* 1977;18:297-321.
- 8 Freitag CM. *The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature*. *Mol Psychiatr* 2007;12:2-22.
- 9 Goldberg W, Osann K, Filipek P, Laulhere T, Jarvis K, Modahl C, et al. *Language and other regression: assessment and timing*. *J Aut Dev Disord* 2003;33:607-16.
- 10 Herzing LB, Kim SJ, Cook Jr EH, Ledbetter DH. *The human aminophospholipid-transporting ATPase gene ATP10C maps adjacent to UBE3A and exhibits similar imprinted expression*. *Am J Hum Genet* 2001;68:1501-5.
- 11 Kato C, Tochigi M, Ohashi J, Koishi S, Kawakubo Y, Yamamoto K, et al. *Association study of the 15q11-q13 maternal expression domain in Japanese autistic patients*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008;147B:1008-12.
- 12 Kanner L. *Autistic disturbances of affective contact*. *Nerv Child* 1943;2:217-50.
- 13 Kim SJ, Herzing LB, Veenstra-VanderWeele J, Lord C, Courchesne R, Leventhal BL, et al. *Mutation screening and transmission disequilibrium study of ATP10C in autism*. *Am J Med Genet* 2002;114:137-43.
- 14 Le Couteur A, Bailey A, Goode S, Pickles A, Robertson S, Gottesman I, et al. *A broader phenotype of autism: the clinical spectrum in twins*. *J Child Psychol Psychiatr* 1996;37:785-801.

- 15 Lord C, Rutter M, Le Couteur A. *Autism: Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders*. J Autism Dev Disord 1994;24:659-85.
- 16 Lord C, Rutter M, DiLavore PC, Risi S. *Autism diagnostic observation schedule*. Los Angeles: Western Psychological Services 2002.
- 17 Lord C, Shulman C, DiLavore P. *Regression and word loss in autistic spectrum disorders*. J Child Psychol Psychiatry 2004;45:936-55.
- 18 Milner KM, Craig EE, Thompson RJ, Veltman MW, Thomas NS, Roberts S, et al. *Prader-Willi syndrome: intellectual abilities and behavioural features by genetic subtype*. J Child Psychol Psychiatr 2005;46:1089-96.
- 19 Nurmi EL, Bradford Y, Chen Y. *Linkage disequilibrium at the Angelman syndrome gene UBE3A in autism families*. Genomics 2001;77:105-13.
- 20 Nurmi EL, Dowd M, Tadevosyan-Leyfer O, Haines JL, Folstein SE, Sutcliffe JS. *Exploratory subsetting of autism families based on savant skills improves evidence of genetic linkage to 15q11-13*. J Am Acad Child Adolesc Psychiatr 2003;42:856-63.
- 21 Nurmi EL, Amin T, Olson LM, Jacobs MM, McCauley JL, Lam AY, et al. *Dense linkage disequilibrium mapping in the 15q11-q13 maternal expression domain yields evidence for association in autism*. Mol Psychiatr 2003;8:624-34.
- 22 Reddy KS. *Cytogenetic abnormalities and fragile x syndrome in autism spectrum disorder*. BMC Med Genet 2005;6:3-19.
- 23 Risch N, Spiker D, Lotspeich L, Nouri N, Hinds D, Hallmayer J, et al. *A genomic screen of autism: Evidence for a multilocus etiology*. Am J Hum Genet 1999;65:493-507.
- 24 Ritvo ER, Spence MA, Freeman BJ, Mason-Brothers A, Mo A, Marazita ML. *Evidence for autosomal recessive inheritance in 46 families with multiple incidences of autism*. Am J Psychiatr 1985;142:187-92.
- 25 Scholper E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. *The Childhood Autism Rating Scale (CARS)*. Los Angeles: Western Psychological Services 1988.
- 26 Schroer Rj, Phelan MC, Michaelis RC, Crawford EC, Skinner SA, Cuccaro M, et al. *Autism and maternally derived aberrations of chromosome 15q11-13*. Am J Med Genet 1998;76:327-36.
- 27 Shao Y, Cuccaro ML, Hauser ER, Raiford KL, Menold MM, Wolpert CM et al. *Fine mapping of autistic disorder to chromosome 15q11-q13 by use of phenotypic subtypes*. Am J Hum Genet 2003;72:539-48.
- 28 Siperstein R, Volkmar F. *Parental reporting of regression in autism*. J Aut Dev Disord 2004;4:731-4.
- 29 Steffenburg S, Gillberg C, Hellgren L, Andersson L, Gillberg IC, Jakobsson G, et al. *A twin study of autism in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden*. J Child Psychol Psychiatry 1989;30:405-16.
- 30 Volkmar FR, Pauls D. *Autism*. Lancet 2003;362:1133-41.