

PATOLOGIE DEI TRASPORTATORI ED AFFEZIONI NEUROLOGICHE E PSICHIATRICHE IN ETÀ EVOLUTIVA

Transporter diseases in child neurologic and psychiatric disorders

F. Nardecchia
C. Saulle
V. Leuzzi

*Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria Infantile,
Sapienza Università di Roma, UOD Neurologia Pediatrica*

RIASSUNTO

Questa review si propone di analizzare in maniera sistematica le numerose patologie neurologiche e psichiatriche dell'età evolutiva che, negli ultimi anni, sono state correlate ad alterazioni nel trasporto di membrana. Sono stati presi in esame diversi trasportatori cellulari e mitocondriali: il trasportatore cerebrale del glucosio (GLUT1), il trasportatore del glutammato (GC1), il trasportatore aspartato-glutammato (AGC1), il trasportatore della dopamina (DAT), il trasportatore della creatina (CRTR), il trasportatore della serotonina (SERT o 5-HTT) ed il trasportatore del rame (ATP7A). Nella maggior parte dei casi le mutazioni a carico di un trasportatore sono associate ad uno spettro fenotipico piuttosto che ad un unico fenotipo. Le sindromi correlate ad alterazione nel trasporto oggetto della trattazione sono state suddivise in due ampi gruppi: sindromi neurologiche e sindromi psichiatriche.

Nel primo gruppo sono compresi il deficit di GC1, associato ad encefalopatia epilettogena neonatale (con pattern EEG tipo suppression-brust); il deficit di AGC1, caratterizzato da ritardo psicomotorio, ipotono ed epilessia ad esordio precoce; il deficit di CRTR, causa di sindrome da deficit di creatina, contraddistinto da ritardo mentale con specifico deterioramento nel linguaggio e disturbi del movimento; il deficit di DAT, associato ad una forma infantile di distonia-parkinsonismo; il deficit di GLUT1 che a sua volta può essere diviso in due sindromi principali: la prima caratterizzata da epilessia, microcefalia e ritardo di crescita, la seconda chiamata discinesia parossistica indotta dall'esercizio (PED) o DYT18. Oggetto della trattazione è anche ATP7A il cui deficit è responsabile della sindrome di Menkes e di una neuropatia progressiva distale di tipo motorio ad insorgenza precoce. Nel gruppo delle sindromi psichiatriche sono descritti alcuni polimorfismi. Varianti del SERT sono state associate a disturbi ansiosi e depressivi in età evolutiva e ad aumento del rischio di sviluppare un disturbo post-traumatico da stress. Varianti del DAT sono state associate al disturbo di attenzione ed iperattività mentre alcuni polimorfismi di AGC1 aumentano il rischio relativo di sviluppare un disturbo autistico. Questa rassegna mostra come alterazioni funzionali o deficit nei meccanismi di trasporto coinvolti in numerose vie metaboliche possano determinare sindromi neuropsichiatriche in età evolutiva, ambito molto indagato negli ultimi decenni.

SUMMARY

In recent years many neurological and psychiatric pediatric symptoms have been related to transporters defects. The aim of this study is to analyze them in a systematic way. Several cellular or mitochondrial transmembrane proteins with transporter function are taken into account: glucose transporter (GLUT1), glutamate transporter (GC1), aspartate-glutamate transporter (AGC1), dopamine transporter (DAT), creatine transporter (CRTR), serotonin transporter (SERT or 5-HTT) and copper transporter (ATP7A). Transporter mutations are usually related to a phenotypic spectrum instead of an unique phenotype. Syndromes related to carriers mutations are divided in two groups: neurologic and psychiatric syndromes. The first group is made up of GC1 deficiency, related to neonatal epileptic encephalopathy (with suppression-burst EEG pattern); AGC1 deficiency, associated with psychomotor delay, hypotonus and early onset epilepsy; CRTR deficiency, that is one of the cause of the Creatine Deficiency Syndrome, characterized by mental retardation with specific speech impairment and movement disorders; DAT deficiency, associated with a form of child dystonia-parkinsonism; GLUT1 deficiency, that can be divided into two main syndromes: the first characterized by seizure, microcephaly and growth delay, the second which is also called paroxysmal exercise-induced dyskinesia (PED) or DYT18. The last two neurological syndromes described are caused by copper transporter deficit and they are Menkes disease and an early onset distal neuropathy.

PAROLE CHIAVE

Trasportatore transmembranario - Trasportatori di soluti - Polimorfismo - Allele

KEY WORDS

Transmembrane transporter - Solute carriers - Polymorphism - Allele

In the psychiatric syndromes group are described polymorphism of: SERT, related to anxiety and depression in children and adolescents which further increases predisposition to post-traumatic stress disorder; DAT, associated with ADHD; and AGC1, associated with autism.

This is an overview of how impairment or deficit in transportation mechanisms, that are involved in several metabolic pathways, can be the cause of neurological and psychiatric syndromes in the pediatric age.

INTRODUZIONE

Gli anni '80 e l'inizio dei '90 hanno rappresentato l'era degli enzimi e dei fattori di trascrizione; solo successivamente l'attenzione della comunità scientifica si è concentrata sui trasportatori.

Il ritardo nello studio di questa classe proteica è in parte dovuto alla natura idrofobica dei trasportatori, alla loro localizzazione transmembranaria e quindi alla difficoltà di isolamento che ne deriva, alla loro minore espressione a livello cellulare ed infine alla maggiore lunghezza dei trascritti (mRNA)¹. Allo stesso tempo il coinvolgimento dei trasportatori in alcuni meccanismi omeostatici e la variabilità delle mutazioni che possono rendere il trasportatore stesso più o meno efficiente fino alla completa perdita della sua funzione, rendono più complesso lo studio e l'individuazione delle varianti patologiche. La rinascita dell'interesse per questo tipo di proteine è stata segnata 12 anni fa dallo sviluppo di tecniche specificatamente dedicate².

Il genoma umano contiene circa 2000 geni che codificano sia per trasportatori di membrana che per proteine associate a trasportatori.

Le proteine con funzione di trasporto possono essere grossolanamente suddivise in tre categorie: pompe ATP-dipendenti, canali ionici e trasportatori di soluti (SLC- solute carrier).

La superfamiglia dei SLC include geni che codificano per trasportatori passivi accoppiati a ioni, per antiporti ed anche per trasportatori mitocondriali e vescicolari. I trasportatori umani "non-SLC" includono trasportatori ATP-dipendenti (ABC-ATP binding cassette), canali, recettori ionotropici, aquaporine ed altre proteine associate ai trasportatori.

Molti geni della superfamiglia SLC sono stati associati a disordini ereditari pediatrici e ad altre patologie nell'uomo³.

Lo scopo del presente lavoro è quello di indagare il ruolo delle mutazioni a carico dei trasportatori nelle patologie neuropsichiatriche dell'età evolutiva con particolare attenzione alla letteratura recente (Tab. I).

Una prima grande suddivisione può essere fatta tra sindromi neurologiche e sindromi psichiatriche, privilegiando la presentazione clinica della patologia.

SINDROMI NEUROLOGICHE

L'Encefalopatia Epilettogena Neonatale con pattern elettroencefalografico tipo Suppression-Burst, caratterizzato dalla presenza all'EEG di raffiche di onde ad alto voltaggio alternate a momenti di attività elettrica soppressa, comprende due forme: l'Encefalopatia Mioclonica Precoce e l'Encefalopatia Epilettogena Infantile Precoce anche detta sindrome di Ohtahara, non sempre differenziabili fra loro. Entrambe sono caratterizzate da esordio nel primo mese di vita con epilessia perlopiù farmaco-resistente ed arresto dello sviluppo psicomotorio con prognosi infausta.

In presenza di un paziente con grave encefalopatia epilettogena con pattern elettroencefalografico tipo suppression-burst ad insorgenza nei primi giorni di vita associato a microcefalia, ipotonia ed alterazioni all'elettroretinogramma si deve sospettare una mutazione del trasportatore del glutammato 1, in quanto una mutazione in omozigosi di questo trasportatore è stata associata ad una forma di Encefalopatia Epilettogena Neonatale con Suppression-Burst^{4,5}.

Il trasportatore del Glutammato 1 (GC1 - glutamate carrier 1) è presente nello spessore della membrana mitocondriale interna ed è responsabile dell'ingresso del glutammato citosolico nella matrice mitocondriale dove diventa substrato della glutammato deidrogenasi, enzima unicamente espresso a livello mitocondriale. In questa sede il glutammato derivante da questo trasporto contribuisce al corretto funzionamento del ciclo dell'urea soprattutto in condizioni di aumentate richieste metaboliche⁶. Il gene che codifica il GC1 è presente sul braccio corto del cromosoma 11 (11p15.5) e prende il nome di SLC25A22⁴.

Nell'adulto l'espressione di tale gene avviene soprattutto a livello epatico e pancreatico⁶, mentre durante

TAB. I. Caratteristiche trasportatori oggetto del lavoro.

Gene	Proteina	Substrato principale	Locus	Tipo di trasportatore*	Tessuto di distribuzione	Sintomi associati in età evolutiva
SLC6A8	CRTR	Creatina	Xq28	C/Na ⁺ , Cl ⁻	Ubiquitario	Sindrome X-linked da deficit di creatina, ritardo mentale, disturbi muscolo-scheletrici
SLC6A3	DAT	Dopamina	5p15.2-15.3	C/Na ⁺ , Cl ⁻	Cervello (neuroni dopaminergici)	Parkinsonismo, sindrome di Tourette, ADHD*
SLC6A4	SERT	Serotonina	17q11.1-q12	C/Na ⁺ , Cl ⁻ , K ⁺	SNC, SNP, cellule epiteliali, piastrine	Ansia, depressione, autismo
SLC25A12	AGC1	Aspartato, glutammato	2q31.1	Scambiatore aspartato-glutammato/H ⁺	Membrane mitocondriali di: cervello, cuore, scheletro, muscoli, polmoni, pancreas, rene	Ritardo mentale, ipotonia, epilessia, autismo
SLC25A22	GC1	Glutammato, H ⁺	11	Scambiatore glutammato/OH ⁻	Membrane mitocondriali interne di: cervello, pancreas, polmoni, testicoli, milza, rene, cuore, fegato, intestino tenue	Encefalopatia epilettogena neonatale con SB**
SLC2A1	GLUT1	Glucosio	1p35-p31.3	Simporto Glucosio-H ⁺	Cellule endoteliali della BEE#	Sindrome da deficit di GLUT1 tipo 1 e 2##, atassia, epilessia, microcefalia
ATP7A	ATPasi 1	Rame	Xq12 - q13	ATPasi	Apparato del Golgi di: cervello, ossa, pelle, endotelio	Malattia di Menkes, neuropatia periferica X-linked

* Sindrome da deficit dell'attenzione e iperattività; ** Suppression-Burst; # Barriera emato-encefalica; ## Tipo 1: epilessia farmaco-resistente, microcefalia, ritardo psicomotorio, spasticità, atassia, distonia, disartria, opsocloni - Tipo 2: discinesia parossistica indotta dall'esercizio (PED); * cotrasportatore.

le fasi precoci di sviluppo esso è espresso esclusivamente a livello cerebrale⁴.

Altre patologie nell'uomo sono state associate a mutazioni a carico di trasportatori mitocondriali; tuttavia questo rappresenta il primo gene ad essere associato ad una forma precoce di encefalopatia epilettogena in assenza di modificazioni nel funzionamento dei processi di fosforilazione ossidativa ed in associazione con alterazione dell'elettroretinogramma⁵.

L'SLC25A22 è espresso in maniera prevalente negli astrociti rispetto ai neuroni e ciò fa supporre che il suo deficit possa determinare un accumulo di glutammato a livello citoplasmatico e una sua liberazione inappropriata nel vallo sinaptico. La presenza del neurotrasmettitore a livello intersinaptico sarebbe responsabile della sincronizzazione neuronale causa delle scariche epilettiche cerebrali⁵.

Altra forma di encefalopatia epilettogena si ritrova nella forma classica di deficit del *trasportatore del*

glucosio 1 (GLUT1) caratterizzata da epilessia farmaco-resistente, rallentamento dell'accrescimento della circonferenza cranica, ritardo psicomotorio, spasticità, atassia, distonia, opsocloni ed altre alterazioni neurologiche parossistiche che spesso peggiorano prima dei pasti⁷. La gravidanza, il parto e la nascita dei bimbi affetti appaiono prive di complicanze. Le crisi epilettiche hanno un esordio compreso tra il primo ed il quarto mese di vita e possono essere precedute da episodi di apnea e da movimenti anomali degli occhi simili all'opsocloni. Le crisi epilettiche possono essere toniche o cloniche generalizzate, miocloniche, atoniche, assenze atipiche e non classificate. La frequenza e la gravità dell'epilessia variano da individuo ad individuo concorrendo alla caratterizzazione di diversi gradi di ritardo cognitivo, da un disturbo dell'apprendimento ad un grave ritardo mentale.

Il deficit di GLUT1 è un disturbo autosomico dominante dovuto ad una mutazione nel gene SLC2A1, localiz-

zato sul braccio corto del cromosoma 1 (p35-p31.3). Il difetto di questo trasportatore determina un'alterazione dell'ingresso del glucosio a livello cerebrale⁸ che sul piano biochimico-clinico viene evidenziato con ipoglicorachia e normali livelli di glicemia⁷. I bambini affetti da tale patologia presentano anche atassia ed altri disordini del movimento. Studi successivi hanno ampliato lo spettro fenotipico includendo disturbi ad insorgenza più tardiva, disturbi del movimento senza epilessia e sintomi molto più sfumati⁹.

I sintomi neurologici che si riscontrano nel deficit di GLUT1 derivano da un'alterazione del metabolismo cerebrale secondario ad una riduzione della sua attività di trasporto. Il D-glucosio è il principale metabolita energetico per il tessuto cerebrale, anche se in alternativa possono essere utilizzati i corpi chetonici. L'ingresso del glucosio a livello cerebrale avviene attraverso il GLUT1, la cui localizzazione primaria è nell'endotelio della barriera emato-encefalica.

È stata descritta¹⁰ un'ampia varietà nelle manifestazioni legate al deficit di GLUT1. Risulta evidente, infatti, come tale deficit sia associato ad epilessia generalizzata, ma anche ad epilessia tipo assenza ad insorgenza tra la prima e la quarta decade, di solito associate ad un normale sviluppo intellettivo. Altre forme di epilessia dovute alla mutazione del trasportatore sono l'epilessia mioclonica atatica con fenotipo severo, alcune forme di epilessia generalizzata tonico-clonica isolata ad esordio precoce, altre sindromi come epilessia mioclonica giovanile ed infine varie forme di epilessia tipo assenza con esordio nell'infanzia o in età giovanile. Talvolta possono manifestarsi anche crisi focali in combinazione ad anomalie bioelettriche generalizzate. Al di fuori dell'encefalopatia e dell'epilessia mioclonica-ataatica dovute a deficit di GLUT1, disabilità intellettive non sono comuni: se presenti esse sono comunque lievi.

Riconoscere la sindrome da difetto di GLUT1 è molto importante perché essa è una patologia suscettibile di trattamento specifico con la dieta chetogena. La dieta chetogena è un regime alimentare normocalorico caratterizzato da alto introito di grassi e basso di carboidrati, che determina una chetosi permanente e fornisce in questo modo un substrato energetico alternativo a livello cerebrale. Questo tipo di trattamento deve essere iniziato il prima possibile e continuato fino

all'adolescenza non solo nei casi di encefalopatia ma anche nel caso di pazienti con disturbo del movimento senza epilessia⁸.

Un'altra forma riconosciuta di deficit di GLUT1 è la discinesia parossistica indotta dall'esercizio (PED – paroxysmal exercise-induced dyskinesia) conosciuta anche col nome di DYT18, che viene classificata tra le forme monogeniche di distonia ad esordio nell'infanzia¹¹. Gli attacchi caratteristici di questa patologia sono una combinazione di movimenti coreici, atetosici e distonici a carico dei segmenti corporei sollecitati dall'esercizio fisico con una durata che va da pochi minuti ad un'ora. Le gambe dunque sono più frequentemente interessate da questi fenomeni. Oltre a disturbi del movimento molti pazienti presentano altre manifestazioni patologiche come epilessia, anemia emolitica ed emicrania.

Nella PED le manifestazioni possono essere piuttosto variabili con possibilità di disturbi lievi anche nei soggetti con epilessia; infatti un grave disturbo motorio, di solito associato a disturbi intellettivi, può non essere accompagnato da epilessia¹⁰.

Lo spettro sindromico dovuto all'alterazione del GLUT1 deve essere sospettato nei soggetti con encefalopatia epilettogena precoce, ma anche in quei pazienti con storia familiare suggestiva di epilessia generalizzata idiopatica o discinesia parossistica indotta dall'esercizio a trasmissione autosomica dominante, soprattutto quando queste manifestazioni coesistono all'interno della stessa famiglia¹⁰. In questi casi deve essere effettuata una rachicentesi a digiuno. Il riscontro di ipoglicorachia con normale glicemia, in combinazione con bassi o normali livelli di lattato nel liquor depone per questa sindrome. La diagnosi può essere confermata dall'analisi del gene SLC2A1.

Studi di correlazione genotipo-fenotipo e dati biochimici evidenziano come le mutazioni che causano maggiori danni al trasportatore (delezioni multiple o mutazioni nonsense, frame-shift o splice-site) determinano più bassi livelli di glucosio liquorali e più basso rapporto glicorachia/glicemia rispetto alle mutazioni che danneggiano meno il trasportatore (mutazioni missense o piccole delezioni in-frame). Allo stesso modo le mutazioni più gravi determinano una sintomatologia più severa. Tuttavia ci possono essere delle variazioni individuali a causa delle fluttuazioni dei livelli di glucosio liquorali e plasmatici in relazione ai pasti ed allo stress⁸.

Continuando la rassegna sulle sindromi neurologiche associate a mutazioni dei trasportatori va riportato il caso di una bambina con arresto dello sviluppo psicomotorio, grave ipotonia ed epilessia con esordio nei primi mesi di vita dovuto a deficit del *trasportatore aspartato-glutammato 1* (AGC1)¹².

AGC1 è una proteina che si localizza nella membrana mitocondriale interna: il suo ruolo è quello di trasportare l'aspartato dalla matrice mitocondriale al citosol ed il glutammato nella direzione opposta. La sua funzione entra in gioco nel trasferimento degli equivalenti riducenti del citosol al mitocondrio e partecipa allo shuttle del malato-aspartato.

Il sistema shuttle del malato-aspartato è un sistema biologico che ha il fine di trasferire gli elettroni prodotti durante la glicolisi nel citosol alla matrice mitocondriale. Questi elettroni, trasportati come ione idruro dal NADH, verranno poi sfruttati nella fosforilazione ossidativa per generare ATP.

Questo sistema shuttle è indispensabile alla cellula in quanto la membrana interna, a differenza di quella esterna, è impermeabile al NADH ed alla sua forma ossidata NAD⁺.

AGC1 viene codificato dal gene SLC25A12, che si localizza sul braccio lungo del cromosoma 2 (2q24). La sua espressione è ristretta al sistema nervoso centrale ed al muscolo scheletrico; a livello del SNC esso viene espresso esclusivamente nei neuroni¹³ ed è assente nella sostanza bianca.

La mutazione del gene in omozigosi determinava nella piccola paziente il completo deficit funzionale del trasportatore. Dal punto di vista clinico sono poi emersi segni di spasticità ed una diminuzione della mielinizzazione degli emisferi cerebrali alle indagini di risonanza magnetica; l'indagine spettroscopica mostrava una severa diminuzione del picco di N-acetil-aspartato con normale picco di colina ed un aumento del picco di mio-inositolo.

Si ipotizza che il meccanismo patogenetico di questa sindrome, che interessa primariamente la sostanza grigia, sia dovuto all'alterato trasporto dell'aspartato nei neuroni che determina un difetto secondario di N-acetil-aspartato a livello degli oligodendrociti e di conseguenza una modificazione della formazione della mielina¹².

Tra le sindromi neurologiche ad esordio nella prima infanzia dovute a difetto di un trasportatore va ricor-

data la malattia di Menkes che è caratterizzata da un processo di neurodegenerazione e da un mancato accrescimento staturponderale con inizio a 2-3 mesi dalla nascita. A quest'età i pazienti presentano crisi epilettiche che possono essere focali o generalizzate: entro il primo anno di vita essi vanno incontro ad una perdita delle acquisizioni psicomotorie, ad alterazioni del tono muscolare (spasticità o ipotonia) e ad un progressivo peggioramento della sintomatologia neurologica negli anni successivi.

La malattia di Menkes è una patologia X-linked a carattere recessivo dovuta alla mutazione di un esteso gene chiamato ATP7A localizzato sul braccio lungo del cromosoma X (X q12-q13). Tale gene codifica per una ATPasi di membrana che funge da *trasportatore del rame*¹⁴: il suo difetto determina basse concentrazioni dell'oligoelemento in alcuni tessuti come risultato dell'alterato assorbimento intestinale, il suo accumulo in altri tessuti e la riduzione dell'attività degli enzimi Cu⁺⁺-dipendenti.

La difettosa funzionalità enzimatica degli enzimi Cu⁺⁺-dipendenti determina la sintomatologia tipica della malattia di Menkes (Tab. II).

Tale patologia deve essere sospettata in bambini che mostrano le sopradescritte alterazioni neurologiche insieme alle altrettanto caratteristiche modificazioni a carico dei capelli (corti, radi, ruvidi, torti). La sintomatologia è caratterizzata anche da disfunzioni autonome che includono instabilità della temperatura corporea ed ipoglicemia, più frequenti nel periodo neonatale, e talvolta da sincopi e diarrea. La progressione della patologia, che ha una prognosi infausta tra i 7 mesi e i 3 anni e mezzo di vita, può essere talvolta fermata

TAB. II. Enzimi Cu⁺⁺-dipendenti.

Nome enzima	Funzione compromessa in sindrome di Menkes
Tirosina-chinasi	Depigmentazione capelli e pelle
Lisina-idrossilasi	Fragilità pareti vasali
Monoamine ossidasi	Capelli crespi
Citocromo C-ossidasi	Ipotermia
Ac. ascorbico ossidasi	Demineralizzazione ossea
Dopamina beta-idrossilasi	Disfunzioni autonome

La loro funzione è compromessa nella sindrome di Menkes a causa del deficit del trasportatore del rame ATP7A, che regola l'ingresso di Cu⁺⁺ in determinati organi (cervello, ossa, pelle, endotelio).

o rallentata dalla somministrazione precoce di rame istidinato sottocute. Il trattamento entro i primi dieci giorni di vita può normalizzare lo sviluppo successivo ed in qualche individuo migliorare l'outcome neurologico¹⁵.

Mutazioni missense dello stesso trasportatore sono state recentemente associate a neuropatia distale progressiva senza altri sintomi sistemici da deficit di rame. Sono state studiate, infatti, due famiglie in cui le donne portatrici del gene mutato presentavano un lieve deficit motorio, mentre gli uomini affetti presentavano una neuropatia di tipo motorio ai quattro arti il cui esordio, in 7 casi su 12, era avvenuto in un'età compresa tra i 2 e i 15 anni¹⁶.

Altra sindrome neurologica ad esordio infantile è la sindrome da deficit di creatina, caratterizzata da ritardo mentale medio-grave, epilessia, disturbi prevalenti nella sfera comunicativo-linguistica ed alterazioni del comportamento ad insorgenza precoce¹⁷.

Tre proteine principali sono alla base del metabolismo della creatina: arginina-glicina aminotransferasi (AGAT), S-adenosil-L-metionin-N-guanidinoacetato metiltransferasi (GAMT) ed il trasportatore della creatina. Il deficit di ciascuna di esse determina il quadro sindromico.

La sindrome da deficit della creatina dovuta al difetto del *trasportatore della creatina* (CRTR) è una malattia X-linked a carattere recessivo, determinata dalla mutazione del gene SLC6A8, localizzato sul braccio lungo del cromosoma X (X q28), che codifica per un trasportatore Na/Cl creatina-dipendente a livello della BEE. La creatina è un amminoacido essenziale, indispensabile per la formazione di energia sotto forma di ATP soprattutto negli organi dove viene richiesta una maggiore quantità di energia in breve tempo. Essa funge, infatti, da trasportatore intracitoplasmatico di gruppi fosforici. Viene fosforilata in fosfocreatina e successivamente defosforilata cedendo il gruppo fosforico all'ADP, determinando la formazione di nuovo ATP.

Il cattivo funzionamento del CRTR impedisce il passaggio della creatina plasmatica nel SNC determinando un progressivo deterioramento neuronale e delle cellule gliali¹⁸.

I marker biochimici caratteristici di questa patologia sono le elevate concentrazioni di Cr nel plasma ed un aumentato rapporto Cr/Creatinina determinato nelle

urine delle 24 ore. Il riscontro dell'alterazione di questi valori insieme alla valutazione dell'attività del trasportatore della creatina in fibroblasti in coltura permette la diagnosi di deficit del CRTR.

Le indagini neuroradiologiche non mostrano alterazioni morfologiche mentre l'indagine spettroscopica evidenzia un'importante riduzione dei livelli di creatina totale (tCr) a livello cerebrale.

Il difetto del CRTR è responsabile dell'1% dei casi di RM ad eziologia sconosciuta nel sesso maschile. In presenza di un bambino con ritardo mentale, soprattutto se associato ad epilessia ed a disturbi prevalenti nella comunicazione verbale è quindi raccomandabile ricercare le alterazioni metaboliche tipiche di questa patologia e l'eventuale conferma genetica. Importante è anche l'analisi genetica della madre del paziente, poiché è stato evidenziato che le donne portatrici di una mutazione possono essere asintomatiche oppure presentare ritardo mentale di grado lieve¹⁷.

Per quanto riguarda l'approccio terapeutico i pazienti affetti da deficit del trasportatore della creatina non sembrano rispondere alla somministrazione di creatina-monoidrato, terapia proposta nelle altre sindromi da carenza di creatina¹⁷. La mancata risposta terapeutica alla somministrazione di creatina-monoidrato, associata ad una mancata modificazione della tCr alla spettroscopia, orientano la diagnosi verso il deficit di CRTR rispetto alla stessa sindrome dovuta ad altri difetti metabolici (GAMT, AGAT).

Recentemente sono stati descritti 4 pazienti con deficit di CRTR trattati con L-arginina per via orale senza miglioramento sul piano neuropsicologico mentre un altro soggetto, sottoposto allo stesso trattamento, ha dimostrato una remissione della sintomatologia neurologica, linguistica, comportamentale ed un incremento della creatina cerebrale e della fosfocreatina all'indagine spettroscopica¹⁹.

Altra grave sindrome neurologica ad esordio precoce caratterizzata stavolta principalmente da un disturbo del movimento è una forma di Parkinsonismo-Distonia Infantile autosomica recessiva dovuta al deficit del *trasportatore della dopamina* (DAT)²⁰ che precocemente si manifesta con un parkinsonismo ipocinetico²¹. Successivamente si sviluppa un complesso disturbo del movimento con distonia in associazione ad ipotonia

assiale ed ipertono agli arti. Tale condizione è piuttosto grave e può essere fatale; è rara ma spesso è sottodiagnosticata poiché la presentazione clinica può mimare alcuni tipi di paralisi cerebrale infantile.

Il DAT è una proteina di membrana espressa esclusivamente nei neuroni dopaminergici, responsabile del re-uptake del neurotrasmettitore rilasciato nel vallo sinaptico. La sua funzione è quella di regolare l'ampiezza e la durata del segnale dopaminergico.

Il gene che codifica per il DAT è localizzato sul braccio corto del cromosoma 5 (5p 15.3) e prende il nome di SLC6A3.

I pazienti in cui era stata individuata la mutazione mostravano ritardo psicomotorio e successivamente non manifestavano disturbi comportamentali o psichiatrici. L'analisi del liquido cefalo-rachidiano mostrava elevate concentrazioni di acido omovanillico (HVA), con normali livelli di acido 5-idrossiindolacetico²⁰.

SINDROMI PSICHIATRICHE

Mutazioni che determinano varianti polimorfiche in geni che codificano trasportatori di membrana sono state associate anche a varie sindromi psichiatriche ad esordio in età evolutiva. La perdita di funzione di alcuni trasportatori sopra descritti oltre ad essere causa di sindromi neurologiche è stata anche associata a sindromi con prevalente espressione sul piano comportamentale.

Per esempio, varianti del *trasportatore della dopamina* (per la descrizione genica e proteica vedi sopra) sono state associate alla sindrome da deficit dell'attenzione ed iperattività (ADHD) ed alla sindrome di Tourette.

In particolare sono stati individuati polimorfismi di sequenze ripetute in tandem (variable-number tandem repeat – VNTR) con variazioni nel numero di ripetizioni che vanno da 3 a 11 copie²².

Numerose linee di ricerca supportano l'ipotesi della disfunzione dopaminergica nella patogenesi dell'ADHD e numerosi studi hanno individuato un'associazione con il polimorfismo del gene DAT²³.

Studi di linkage effettuati su una coorte di famiglie i cui componenti erano affetti dalla sindrome di Tourette avevano individuato un'associazione con una porzione del braccio corto del cromosoma 5, in cui è contenuto il gene SLC6A3. Tuttavia il successivo studio sulla

stessa coorte di pazienti ha escluso l'associazione con il gene proposto anche se gli Autori non escludono che il DAT non possa influenzare le manifestazioni della patologia in combinazione con altri loci²⁴.

Per quanto riguarda trasportatori già descritti, alcuni dati sono presenti anche per il *trasportatore aspartato-gluttammato 1*. Numerosi studi indipendenti hanno messo in evidenza un'associazione significativa tra autismo e porzioni del braccio lungo del cromosoma 2 (2q) e del cromosoma 7 (7q). Per quanto riguarda il cromosoma 2 studi di linkage hanno individuato un'associazione con la regione 2q24-q33²⁵.

È stata studiata²⁶ la regione 2q31 in 411 pedigree che includevano 671 bambini autistici ed attraverso uno studio sistematico delle varianti genetiche nei pazienti affetti da autismo ed è stato individuato un linkage tra autismo e 2 polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs – single nucleotides polymorphisms) nel gene SLC25A12. Gli Autori hanno stimato che il rischio relativo in un soggetto con genotipo omozigote di sviluppare un disturbo autistico è compreso tra 2,4 e 4,8.

Un lavoro successivo²⁷ ha confermato una associazione significativa tra autismo ed entrambi gli alleli C attraverso il transmission disequilibrium test (TDT).

Trasportatore molto studiato per quanto riguarda il suo coinvolgimento in patologie psichiatriche è il *trasportatore della serotonina* (SERT o 5-HTT). Il SERT è un trasportatore presinaptico Na/Cl-dipendente presente sia a livello centrale che periferico responsabile del re-uptake della serotonina dallo spazio sinaptico. Il gene che codifica per questo trasportatore è chiamato SLC6A4 ed è localizzato sul braccio lungo del cromosoma 17 in posizione 11.1-12.

Questo gene ha un polimorfismo funzionalmente triallelico nella sua regione promotrice (5-HTTLPR), che consiste nella delezione (allele S - short) o inserzione (allele L – long) di 44 basi con conseguenze sull'attività trascrizionale del gene stesso²⁸.

L'isoforma S, soprattutto in omozigosi, è stata associata a tratti ansiosi e depressivi di personalità e sembra essere un fattore predisponente all'insorgenza del disturbo depressivo maggiore anche in età pre-adolescenziale²⁹; l'isoforma S è stata anche associata a maggiore probabilità di sviluppare un disturbo post-traumatico da stress, in particolare in età evolutiva³⁰

ed è stata anche fortemente associata a comportamenti suicidali violenti in pazienti con disturbo bipolare. L'isoforma L è stata invece associata al disturbo ossessivo-compulsivo (OCD) ad insorgenza infantile³¹. Alcuni Autori hanno individuato nell'SLC6A4 un locus di suscettibilità per l'autismo³². Tuttavia i risultati di ulteriori lavori di conferma non sono stati sempre positivi³³. Il trasportatore della serotonina ha inoltre un ruolo fondamentale nella regolazione della risposta ad alcuni farmaci: la presenza di un'omozigosi L/L determina una migliore risposta alla somministrazione di SSRI in

soggetti affetti da disturbo depressivo maggiore ed anche una migliore risposta terapeutica al metilfenidato in bambini affetti da ADHD³⁴.

Come si evince da quanto detto sinora lo studio dei trasportatori di membrana e delle mutazioni che ne determinano un'alterazione funzionale è attualmente fonte di grande interesse ed attività di ricerca nella comunità scientifica contribuendo in modo peculiare alla comprensione della patogenesi di patologie quanto mai diverse tra loro, e dove la neuropsichiatria infantile riveste un ruolo di rilievo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 He L, Vasiliou K, Nebert DW. *Analysis and update of the human solute carrier (SLC) gene superfamily*. Hum Genomics 2009;3:195-206.
- 2 Romero MF, Kanai Y, Gunshin H, et al. *Expression cloning using Xenopus laevis oocytes*. Methods Enzymol 1998;296:17-52.
- 3 Bergeron MJ, Simonin A, Bürzle M, et al. *Inherited epithelial transporter disorders-an overview*. J Inherit Metab Dis 2008;31:178-87.
- 4 Molinari F, Raas-Rothschild A, Rio M, et al. *Impaired mitochondrial glutamate transport in autosomal recessive neonatal myoclonic epilepsy*. Am J Hum Genet 2005;76:334-9.
- 5 Molinari F, Kaminska A, Fiermonte G, et al. *Mutations in the mitochondrial glutamate carrier SLC25A22 in neonatal epileptic encephalopathy with suppression bursts*. Clin Genet 2009;76:188-94.
- 6 Fiermonte G, Palmieri L, Todisco S, et al. *Identification of the mitochondrial glutamate transporter. Bacterial expression, reconstitution, functional characterization, and tissue distribution of two human isoforms*. J Biol Chem 2002;277:19289-94.
- 7 De Vivo D, Trifiletti RR, Jacobson RI, et al. *Defective glucose transport across the blood-brain barrier as a cause of persistent hypoglycemia, seizures, and developmental delay*. N Engl J Med 1991;325:703-9.
- 8 Leen WG, Klepper J, Verbeek MM, et al. *Glucose transporter-1 deficiency syndrome: the expanding clinical and genetic spectrum of a treatable disorder*. Brain 2010;133:655-70.
- 9 Roulet-Perez E, Ballhausen D, Bonafé L, et al. *Glut-1 deficiency syndrome masquerading as idiopathic generalized epilepsy*. Epilepsia 2008;49:1955-8.
- 10 Mullen SA, Suls A, De Jonghe P, et al. *Absence epilepsies with widely variable onset are a key feature of familial GLUT1 deficiency*. Neurology 2010;75:432-40.
- 11 Suls A, Dedeken P, Goffin K, et al. *Paroxysmal exercise-induced dyskinesia and epilepsy is due to mutations in SLC2A1, encoding the glucose transporter GLUT1*. Brain 2008;131:1831-44.
- 12 Wibom R, Lasorsa FM, Tohonon V, et al. *AGC1 deficiency associated with global cerebral hypomyelination*. New Eng J Med 2009;361:489-95.
- 13 Ramos M, del Arco A, Pardo B, et al. *Developmental changes in the Ca²⁺-regulated mitochondrial aspartate-glutamate carrier aralar1 in brain and prominent expression in the spinal cord*. Brain Res Dev Brain Res 2003;143:33-46.
- 14 Vulpe C, Levinson B, Whitney S, et al. *Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper-transporting ATPase*. Nature Genet 1993;3:7-13.
- 15 Kaler SG, Holmes CS, Goldstein DS, et al. *Neonatal diagnosis and treatment of Menkes disease*. N Engl J Med 2008;358:605-14.
- 16 Kennerson ML, Nicholson GA, Kaler SG, et al. *Missense mutations in the copper transporter gene ATP7A cause X-linked distal hereditary motor neuropathy*. Am J Hum Genet 2010;86:343-52.
- 17 Stöckler-Ipsiroglu S, Salomons GS. *Creatine deficiency syndromes*. In: Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe G, eds. *Inborn Metabolic Diseases*. Heidelberg, Germany: Springer Verlag 2006, pp. 211-217.
- 18 Salomons GS, van Dooren SJ, Verhoeven NM, et al. *X-linked creatine transporter defect: an overview*. J Inherit Metab Dis 2003;26:309-18.
- 19 Chilosi A, Leuzzi V, Battini R, et al. *Treatment with L-arginine improves neuropsychological disorders in a child with creatine transporter defect*. Neurocase 2008;14:151-61.
- 20 Kurian MA, Zhen J, Cheng SY, et al. *Homozygous loss-of-function mutations in the gene encoding the dopamine transporter are associated with infantile parkinsonism-dystonia*. J Clin Invest 2009;119:1595-603.
- 21 Assmann BE, Robinson RO, Surtees RA, et al. *Infantile Parkinsonism-dystonia and elevated dopamine metabolites in CSF*. Neurology 2004;62:1872-4.

- ²² Byerley W, Hoff M, Holik J, et al. VNTR polymorphism for the human dopamine transporter gene (DAT1). *Hum Mol Genet* 1993;2:335.
- ²³ DiMaio S, Grizenko N, Joobor R. Dopamine genes and attention-deficit hyperactivity disorder: a review. *J Psychiatry Neurosci* 2003;28:27-38.
- ²⁴ Gelernter J, Vandenbergh D, Kruger SD, et al. The dopamine transporter protein gene (SLC6A3): primary linkage mapping and linkage studies in Tourette syndrome. *Genomics* 1995;30:459-6.
- ²⁵ Buxbaum JD, Silverman JM, Smith CJ, et al. Evidence for a susceptibility gene for autism on chromosome 2 and for genetic heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2001;68:1514-20.
- ²⁶ Ramoz N, Reichert JG, Smith CJ, et al. Linkage and association of the mitochondrial aspartate/glutamate carrier SLC25A12 gene with autism. *Am J Psychiatry* 2004;161:662-9.
- ²⁷ Segurado R, Conroy J, Meally E, et al. Confirmation of association between autism and the mitochondrial aspartate/glutamate carrier SLC25A12 gene on chromosome 2q31. *Am J Psychiatry* 2005;162:2182-4.
- ²⁸ Heils A, Teufel A, Petri S, et al. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* 1996;66:2621-4.
- ²⁹ Harro J, Merenäkk L, Nordquist N, et al. Personality and the serotonin transporter gene: Associations in a longitudinal population-based study. *Biol Psychol* 2009;81:9-13.
- ³⁰ Xie P, Kranzler HR, Poling J, et al. Interactive effect of stressful life events and the serotonin transporter 5-HTTLPR genotype on posttraumatic stress disorder diagnosis in 2 independent populations. *Arch Gen Psychiatry* 2009;66:1201-9.
- ³¹ Bloch MH, Landeros-Weisenberger A, Sen S, et al. Association of the serotonin transporter polymorphism and obsessive-compulsive disorder: systematic review. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008;147B:850-8.
- ³² Sutcliffe JS, Delahanty RJ, Prasad HC, et al. Allelic heterogeneity at the serotonin transporter locus (SLC6A4) confers susceptibility to autism and rigid-compulsive behaviors. *Am J Hum Genet* 2005;77:265-79.
- ³³ Sakurai T, Reichert J, Hoffman EJ, et al. A large-scale screen for coding variants in SERT/SLC6A4 in autism spectrum disorders. *Autism Res* 2008;1:251-7.
- ³⁴ Thakur GA, Grizenko N, Sengupta SM, et al. The 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene and short term behavioral response to methylphenidate in children with ADHD. *BMC Psychiatry* 2010;10:50.

Corrispondenza: Francesca Nardecchia, via dei Sabelli 108, 00185 Roma - E-mail: francesca.nardecchia@gmail.com