

LES VOIES MYSTÉRIEUSES DE L'AUTISME

V. TH. RAMAEKERS (1, 2)

RÉSUMÉ : Les troubles du spectre autistique sont caractérisés par une triade d'altérations touchant les interactions sociales, la communication verbale et nonverbale ainsi que la restriction des centres d'intérêts se limitant à des rituels et à des stéréotypies. L'origine de l'autisme résulte de l'interaction de facteurs défavorables, d'une part, environnementaux et, d'autre part, génétiques dont les mécanismes exacts n'ont pas encore été clairement identifiés. Les recherches les plus récentes ont permis de mettre en évidence que des facteurs épi-génétiques régularisent l'expression des gènes parmi les « doubles syndromes », c'est-à-dire les syndromes génétiques associés à l'autisme comme le syndrome de Rett, l'X fragile et le syndrome d'Angelman. Les recherches ont aussi révélé la fréquence élevée d'un stress oxydant dans la genèse de l'autisme, mais les causes exactes n'en ont pas été précisées. Nos travaux ont porté sur l'hypothèse qu'une carence cérébrale en 5-méthyltétrahydrofolate était une cause importante dans la genèse de l'autisme typique chez un groupe de patients présentant, en outre, des troubles neurologiques. Chez un certain nombre de patientes atteintes du syndrome de Rett, un déficit cérébral en folates a été retrouvé aussi. Un mécanisme majeur engendrant le déficit cérébral en folates, résulte de la présence dans le sérum d'auto-anticorps bloquants, dirigés contre le récepteur du folate, localisé aux plexus choroïdes. Nos recherches *in vitro* ont révélé qu'un deuxième mécanisme du déficit cérébral en folates peut être attribué à un catabolisme du 5-méthyltétrahydrofolate ou à la destruction des membranes cellulaires après exposition à un stress oxydant. Nos résultats préliminaires obtenus chez des autistes typiques ont confirmé la présence de marqueurs du stress oxydant. Ils plaident en faveur de l'hypothèse d'une voie commune intervenant dans un trouble de l'homéostasie des folates dans le système nerveux central. Ce trouble affecte la méthylation de l'ADN avec, comme conséquence, des altérations de régulation épi-génétique touchant l'expression de gènes développementaux du système nerveux et de gènes neuronaux spécifiques.

MOTS-CLÉS : *Autisme - Stress oxydant - Auto-anticorps - Folate - Génétique*

INTRODUCTION

Il y a plus de 60 ans que l'autisme a été identifié parmi la nébuleuse des retards mentaux et différencié notamment de la schizophrénie. Depuis lors, il y a eu un élargissement de la définition qui, en l'absence de marqueurs biologiques, est uniquement fondée sur la description des anomalies cliniques. Parce que les formes cliniques sont très variées, on parle des autismes ou du spectre autistique.

D'après les études, la prévalence des « troubles du spectre autistique » (TSA) est d'environ

THE MYSTERY OF AUTISM

SUMMARY : The spectrum of autism disorders is defined clinically as the triad of severe qualitative impairment of communicative skills and social interaction, and the presence of limited interests with stereotypies. The general belief is that autism results from the interaction of environmental and genetic abnormalities, but the exact mechanism has not yet been clarified. The explosion of information from genetic research in autism has defined disturbed epigenetic regulatory factors in so-called double syndromes often associated with autism like Rett, fragile-X and Angelman syndromes. Recent evidence points to the presence of oxidative stress in autism, but the underlying pro-oxidative factors and/or failing anti-oxidant defences have not yet been identified. Our research efforts have been based on the hypothesis that CNS folate deficiency represents an important aetiological factor contributing to the pathogenesis of autism within a special subgroup of patients who suffer from infantile autism combined with neurological deficits. In 40 to 50 % of patients with Rett syndrome and in the specific autistic disorder with regression, known as childhood disintegrative disorder, CNS folate deficiency has also been found. One major mechanism contributing to the observed deficiency of spinal fluid 5-methyltetrahydrofolate is the presence of serum auto-antibodies directed against the membrane-associated folate receptor at the choroid plexus, which block the transfer of plasma 5-methyltetrahydrofolate into the spinal fluid compartment. A second mechanism for cerebral folate deficiency is believed to be due to increased catabolism of 5-methyltetrahydrofolate and disruption of cellular membranes following exposure to oxidative stress, which has been confirmed by *in vitro* experiments. Our preliminary findings have confirmed the presence of oxidative stress markers in infantile autism. Our preliminary results substantiate the hypothesis of a common final pathway of abnormal folate homeostasis within the CNS, affecting DNA-methylation with consequent disturbed epigenetic regulation of the expression of developmental genes for the nervous system and neuron-specific genes.

KEYWORDS : *Autism - Oxidative stress - Auto-antibodies - Folate - Genetics*

ron 3 pour 1.000 personnes dans la population générale. De façon générale, plus de garçons que de filles sont atteints de ces troubles (4:1). Le TSA couvre les troubles envahissants du développement (TED), présentés actuellement dans le « Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders » (DSM-IV). Ces troubles ont trois caractéristiques communes :

- altérations qualitatives des interactions sociales,
- altérations qualitatives de la communication verbale et nonverbale,
- intérêts limités et comportements répétitifs.

Le terme « spectre » est également utilisé quelle que soit la gravité du trouble développemental. L'autisme typique (syndrome de

(1) Professeur, Directeur Médical du Centre de Ressources Autisme Liège (CRAL), Polyclinique Universitaire Centre Ville L. Brull, Liège.

(2) Chef de Clinique, Neuropédiatrie et Maladies neuro-métaboliques, CHU-N.D. des Bruyères, Liège.

Kanner), qu'on considère comme étant le trouble le plus grave du spectre, s'accompagne d'un retard verbal et d'altérations cognitives importantes dans environ 75 à 80 % des cas. Cependant, la plupart des personnes atteintes du syndrome d'Asperger ont un fonctionnement intellectuel se situant dans la moyenne et même parfois supérieur à la moyenne. Environ la moitié des personnes atteintes d'autisme typique ne parviennent jamais à développer des compétences linguistiques fonctionnelles alors que les personnes atteintes du syndrome d'Asperger ne manifestent pas, par définition, de retards importants dans le développement du langage.

Parmi le spectre autistique, on considère aussi l'autisme atypique ou les troubles envahissants du développement non spécifiés (TED-NS), les troubles désintégratifs de l'enfance, et presque uniquement chez les filles, le syndrome de Rett. Les définitions et critères cliniques sont décrits par le DSM-IV (Tableau I).

Dans un certain nombre de syndromes génétiques connus, les manifestations autistiques sont présentes avec une plus grande fréquence que dans la population générale et on peut parler alors de «double syndrome» (1).

Actuellement, l'interaction des facteurs génétiques et environnementaux dans le spectre autistique est bien accepté et rend obsolètes les querelles inutiles opposant, d'une part, le monde de la psychiatrie et, d'autre part, celui de la génétique et des neurosciences. Les techniques récentes d'imagerie cérébrale, les recherches biologiques et les découvertes actuelles des chercheurs peuvent contribuer à éclairer l'origine des troubles envahissants du développement.

Dans cet article, les données de la littérature seront résumées sur le plan clinique, anatomo-pathologique, génétique et métabolique. Or, nos recherches sur le métabolisme des folates ont permis de générer des hypothèses quant aux voies étio-pathogéniques du TSA.

BASES NEURO-ANATOMIQUES ET NEURO-DÉVELOPPEMENTALES

Parmi les patients atteints d'autisme, certains ont une croissance cérébrale perturbée: à la naissance le périmètre crânien est réduit, puis il y a une accélération de la croissance cérébrale entre 1-2 mois et, également, entre 6-14 mois. Plus tard, cette surcroissance cérébrale se manifeste encore entre 2 et 4 ans particulièrement au niveau du lobe frontal, du cervelet et des structures du système limbique.

TABLEAU I. CLASSIFICATION INTERNATIONALE SELON LE DSM IV DES TROUBLES DU SPECTRE AUTISTIQUE

Désignation	Synonymes
Autisme typique	Syndrome de Kanner Autisme d'enfance Autisme infantile Autisme classique
Syndrome d'Asperger	Psychopathie autistique Trouble de personnalité schizoïde
Autisme atypique	Troubles envahissants du développement non spécifiés (TED-NS)
Troubles désintégratifs de l'enfance	Syndrome de Heller Dementia infantilis
Syndrome de Rett	Syndrome génétique chez les filles avec altération du gène MeCP2
Doubles syndromes	Syndrome de l'X fragile avec autisme Maladie de Bourneville avec autisme Syndrome de Smith-Magenis Syndrome de Down avec autisme Neurofibromatose avec autisme Smith-Lemli-Optiz syndrome Aberrations chromosomiques avec autisme Autres doubles syndromes (1)

Après ces phases initiales de surcroissance, la croissance du cerveau se ralentit anormalement. Les régions cérébrales atteintes par une surcroissance, sont impliquées dans le développement des acquisitions sociales, communicatives et motrices.

Les études cliniques, neuro-pathologiques et neuro-radiologiques plaident en faveur de l'hypothèse que les syndromes autistiques trouvent leur origine dans des anomalies d'organisation des réseaux neuronaux et, notamment, corticaux, ce qui perturbe profondément l'acquisition et la mémorisation des informations. Il s'agit d'anomalies d'architecture et de fonctionnement synaptiques et dendritiques qui peuvent aboutir à des déconnexions entre les différentes régions cérébrales. Ces altérations des neurostructures influencent le développement du comportement social et de la communication au cours des différentes étapes du développement infantile et semblent être régulées par une interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux. Quelques anomalies morphologiques (par exemple, désorganisation des minicolonnes corticales) démontrent que l'origine de l'autisme se situe au cours des premières étapes neuro-développementales, à savoir pendant le premier et le deuxième trimestres de la grossesse.

FACTEURS GÉNÉTIQUES

Depuis longtemps, les études réalisées chez des couples de jumeaux ont démontré que lorsqu'un des enfants est atteint d'autisme dans un couple de vrais jumeaux (monozygotes), le second a une probabilité de 60 à 90 % d'être atteint également, alors que ce risque est inférieur à 10% pour les couples de faux jumeaux (dizygotes). Etant donné que deux vrais jumeaux n'ont pas le même risque d'être atteints, cela signifie que des facteurs environnementaux (nongénétiques) participent également à l'apparition de l'autisme. Le risque accru dans les fratries ainsi que certaines formes familiales soulignent toutefois indubitablement une forte contribution génétique. Enfin, la faible concordance observée chez les faux jumeaux ainsi que les grandes variations de signes cliniques suggèrent que ce syndrome est probablement dû à l'interaction de plusieurs gènes et que les gènes responsables peuvent varier d'une famille à l'autre.

Grâce à la coopération internationale de ces dernières années, les recherches focalisées sur le dépistage génétique ont révélé un grand nombre de facteurs génétiques, de facteurs épi-géni-

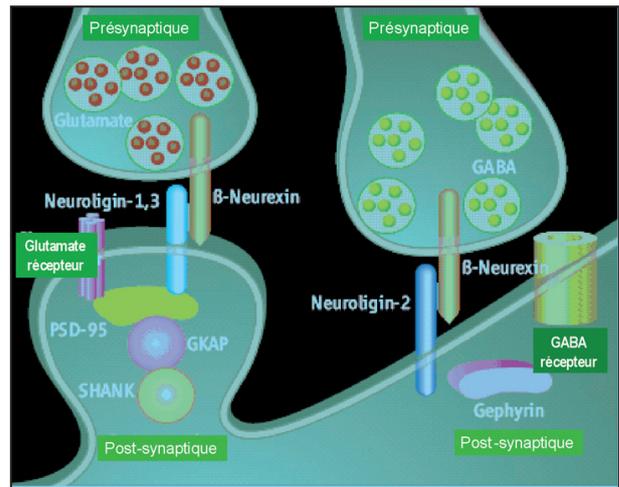


Figure 1. Parmi les études de familles comportant plusieurs fratries atteintes d'autisme, on a identifié des causes mono-géniques dans un faible pourcentage de cas, codant pour des protéines nécessaires à l'ancrage des structures pré- et post-synaptiques (neuroligins-1,2,3, bêta-neurexins), ainsi que des protéines intracellulaires comme PSD-95, GKAP, SHANK, et Gephyrin.

ques, d'anomalies chromosomiques ainsi que de syndromes génétiques associés à l'autisme; mais dans l'ensemble, tous ces facteurs ne concernent qu'un faible pourcentage de tous les patients atteints d'autisme. Néanmoins, ces

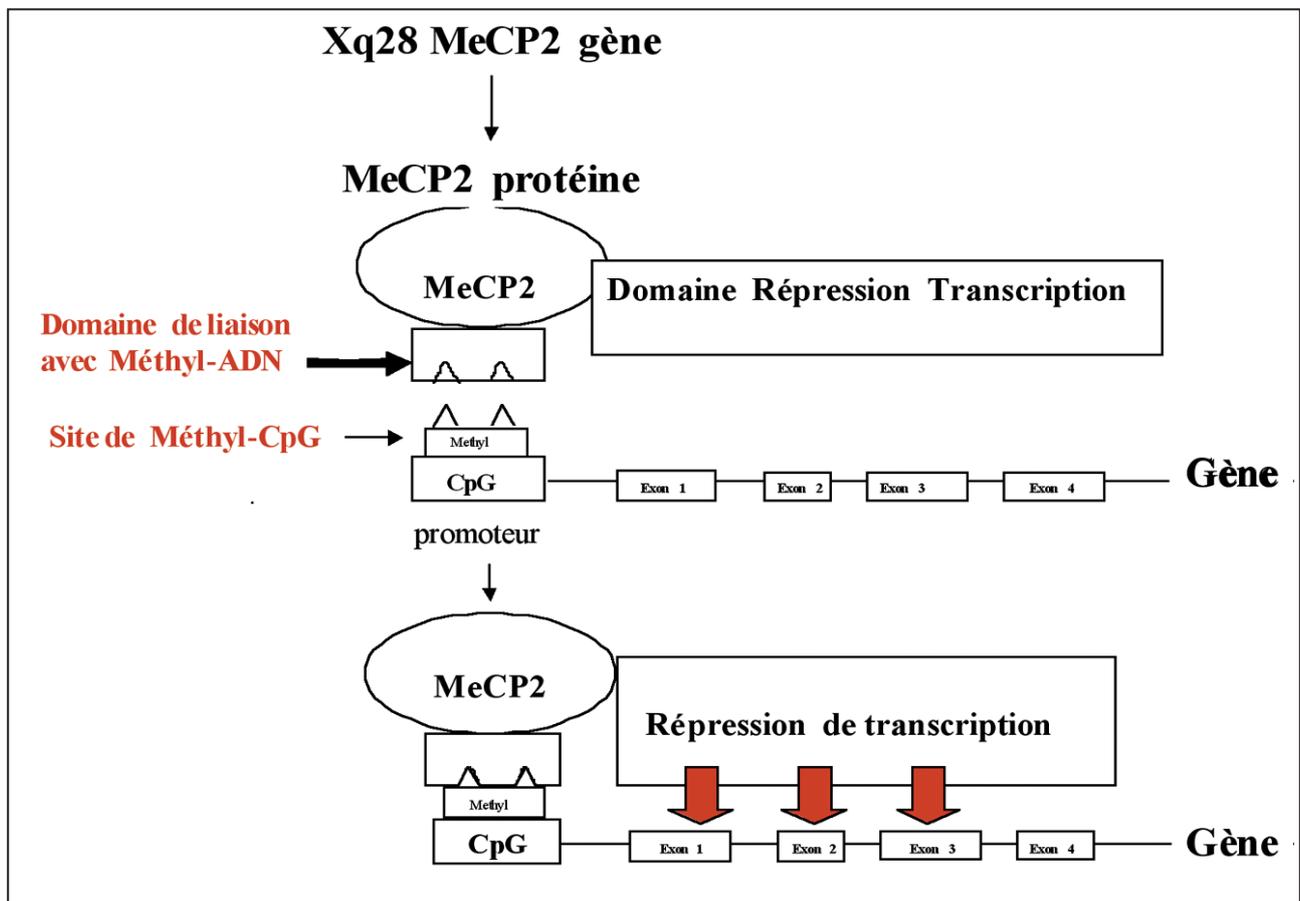


Figure 2. Cette illustration montre les mécanismes de régulation épi-génétique, effectuée par l'ancrage entre la protéine MeCP2 et les sites CpG des promoteurs des gènes (cette figure est explicitée plus avant dans le texte de la rubrique - Déficit cérébral en folate et spectre de l'autisme-).

maladies génétiques peuvent nous apporter des informations intéressantes sur la pathogénie de l'autisme sans oublier l'influence de certains facteurs environnementaux (Fig. 1).

Parmi les syndromes génétiques associés à l'autisme les plus connus, il y a la sclérose tubéreuse de Bourneville, le syndrome de l'X fragile, le syndrome de Rett, le syndrome d'Angelman et le syndrome de Down (trisomie 21). Il est intéressant de noter que le syndrome de l'X fragile (gène FMR1) et le syndrome de Rett (gène MeCP2) sont deux exemples de gènes du type épi-génétique. Ceux-ci régularisent la transcription de l'ADN et la traduction de nombreux gènes par les ARN messagers (Fig. 2). Parmi de nombreux syndromes génétiques, des dysmorphies et des manifestations cliniques spécifiques peuvent aider le clinicien à reconnaître le syndrome génétique.

Une collaboration internationale en génétique a permis d'étudier des familles dont plusieurs membres sont atteints d'autisme. Les régions chromosomiques liées à la prédisposition pour l'autisme ont été localisées sur les bras longs des chromosomes 2 et 7. Ces régions contiennent plusieurs dizaines de gènes, dont certains organisent la structuration du tissu nerveux lors de sa formation, par exemple, les gènes RELN et WNT2 situés sur le chromosome 7q. Le gène RELN joue un rôle clé dans le développement des structures cérébrales laminaires (en couche), par exemple, le cortex cérébral ou le cervelet. Enfin, toutes les études épidémiologiques rapportent qu'il y a quatre fois plus de garçons que de filles touchés par l'autisme, soulignant l'implication du chromosome sexuel X. Dans deux régions situées sur le chromosome X, on a identifié deux gènes codant pour des protéines de la famille des neuroliques. Les neuroliques sont des molécules d'adhésion situées sur la membrane post-synaptique; elles sont nécessaires pour la formation de contacts avec leurs partenaires de liaison, les neurexines, exprimées dans la partie pré-synaptique. Les recherches concernant les facteurs génétiques jouant un rôle dans la formation des synapses dans l'autisme ont ouvert la voie vers la découverte de nombreuses mutations ou délétions d'autres gènes responsables de l'architecture et du fonctionnement synaptiques (Fig. 1).

Un grand nombre d'autres facteurs génétiques ont été identifiés. Par exemple le gène PTEN code pour une protéine ayant une action de phosphatase; cette dernière régularise la signalisation intracellulaire par la voie de la phosphoinositol-3-kinase et, en outre, joue un rôle important dans la régulation de la croissance, de la migration et de la différenciation cellulaire. Des mutations du gène PTEN ont été associées aux syndromes d'autisme

comportant une macrocéphalie tels que le syndrome de Cowden, Bannayan-Riley-Ruvalcaba et le syndrome de Proteus.

D'autres protéines impliquées dans l'autisme et qui jouent un rôle essentiel dans l'organisation neuronale et corticale pendant le développement prénatal du cerveau sont le HGF (Hepatic Growth Factor) et son récepteur MET, des facteurs neurotrophiques comme le BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor), la sérotonine et d'autres neurotransmetteurs, ainsi que d'autres protéines de la signalisation intracellulaire. D'excellents articles existent qui résument les mécanismes et les connaissances concernant cette matière (2).

Certaines maladies métaboliques sont associées à l'autisme, comme par exemple la phénylcétonurie, la déficience en adénylosuccinase, les encéphalopathies mitochondriales, la déficience en guanidinoacétate-méthyl-transférase et les syndromes liés au déficit cérébral en folates.

FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX

Pendant la grossesse, certains facteurs environnementaux peuvent contribuer à la genèse de l'autisme, comme des intoxications par le mercure, le plomb et l'alcool, ainsi que la prise de certains médicaments (thalidomide, valproate), mais aussi les infections pré- et périnatales (rubéole, cytomégalovirus), des toxiques comme le benzène et certains pesticides, ainsi que des carences affectives et nutritionnelles (orphelinats en Roumanie et Bulgarie). Il a été aussi suggéré que des perturbations du système immunologique au cours de la grossesse peuvent produire des immunoglobulines IgG maternelles qui traversent le placenta et se lient à certains antigènes du système nerveux fœtal (3, 4). Les neuro-antigènes fœtaux en cause n'ont pas encore été identifiés. Dans une étude récente, l'injection d'IgG de mères ayant eu plusieurs enfants autistes, a été pratiquée à des macaques rhésus qui ensuite ont présenté des comportements stéréotypés et hyperactifs.

STRESS OXYDANT

Au cours des dernières années un certain nombre d'études ont démontré la présence de marqueurs d'un stress oxydant chez des enfants atteints d'autisme, mais ceci n'est pas du tout spécifique à l'autisme parce que le stress oxydant est aussi retrouvé dans d'autres maladies neuropsychiatriques comme, par exemple, la schizophrénie et la dépression majeure.

Dans l'autisme, la présence d'un stress oxydant provient de plusieurs origines :

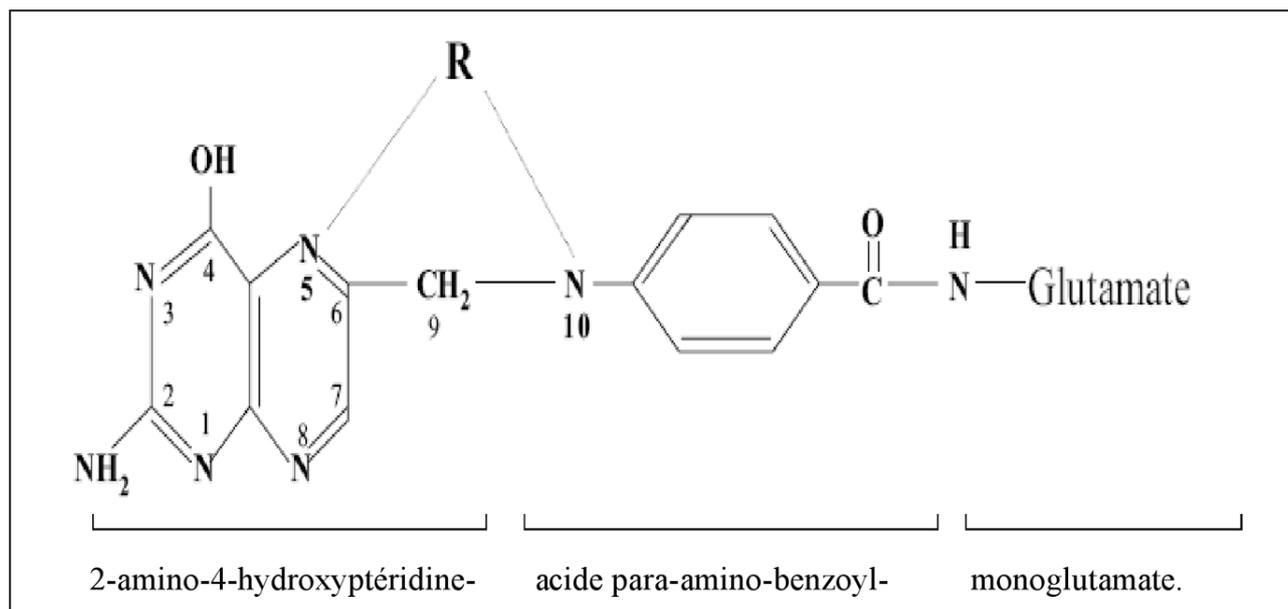


Figure 3. Formule structurale de l'acide folique. Celui-ci est composé d'une molécule oxydée de 2-amino-4-hydroxy-ptéridine qui en position C9, est liée par le méthyle au para-aminobenzoylmono-glutamate. Le groupe R représente le groupe d'unité de carbone en différents états redox en forme de méthyl-, méthényl-, ou formyl, attaché aux sites N-5 et/ou N-10. La forme active en métabolisme, représenté par le tétrahydrofolate, est réduite aux positions 5, 6, 7, 8 de ptéridine.

a) une production élevée de pro-oxydants endogènes (comme par exemple le NO, la xanthine oxydase, l'homocystéine) ou pro-oxydants exogènes (métaux lourds, produits toxiques).

b) une carence en anti-oxydants (céruoplasmine, transferrine, superoxide dismutase, glutathion peroxydase, catalase, glutathion réduit).

c) l'ajout et l'interaction de ces deux causes.

De faibles valeurs sériques de céruoplasmine (protéine de transport du cuivre) et de transferrine (protéine de transport de fer) chez les personnes autistes ont permis d'évoquer la possibilité que le métabolisme du fer et du cuivre (comme importants pro-oxydants) soit anormal. Dans le système nerveux, le stress oxydant peut engendrer des anomalies des membranes lipidiques, un dysfonctionnement mitochondrial, une excitotoxicité et des réactions inflammatoires ainsi que des dysfonctionnements immunitaires. Ces anomalies peuvent contribuer aux changements de comportement, aux insomnies et aux troubles gastro-intestinaux souvent observés chez les autistes.

Dans ce contexte, il faut remarquer qu'il n'existe pas encore de preuves suffisantes pour affirmer la théorie du stress oxydant dans l'autisme et qu'il reste encore des questions importantes relatives aux origines des troubles du métabolisme du cuivre et du fer. Il faut aussi remarquer qu'on trouve souvent des problèmes nutritionnels importants chez les jeunes enfants autistes qui aboutissent à des carences en vitamines et oligoéléments ainsi qu'à un apport calorique insuffisant. Ainsi, les problèmes alimentaires seraient plutôt à l'origine du stress oxydant.

Néanmoins, il est possible que l'expression d'une prédisposition génétique pour l'autisme puisse être favorisée par des carences nutritionnelles.

MÉTABOLISME DES FOLATES

Les folates appartiennent à une famille de substances ayant une structure commune qui est définie par les molécules de base 2-amino-4-hydroxyptéridine en liaison avec le para-aminobenzoylmono- ou polyglutamate (Fig. 3). Il est important de mentionner que, seuls, les folates à l'état réduit peuvent fonctionner comme co-facteurs actifs au sein du métabolisme cellulaire. Les folates peuvent transférer des unités de carbone sous trois formes différentes d'état redox, c'est à dire sous forme méthyl-, méthényl- ou formyl-, attachée au nitrogène en position 5 ou 10 du tétrahydrofolate. Certaines enzymes spécifiques peuvent transformer une forme de folate en une autre.

La fonction physiologique des différentes formes réduites de folate est de participer à la synthèse *de novo* des purines et de la thymidine, à la méthylation de l'ADN, à la conversion de l'homocystéine en méthionine, et à la formation du donneur actif des groupes méthyl-, comme le S-adenosyl-méthionine (SAM); ce dernier est utilisé dans plus d'une centaine de réactions de transfert des groupes méthyl.

Le 5-méthyltétrahydrofolate est la forme active principale en physiologie et c'est la seule forme de folate capable de passer la barrière hémato-encéphalique au niveau des plexus choroïdes

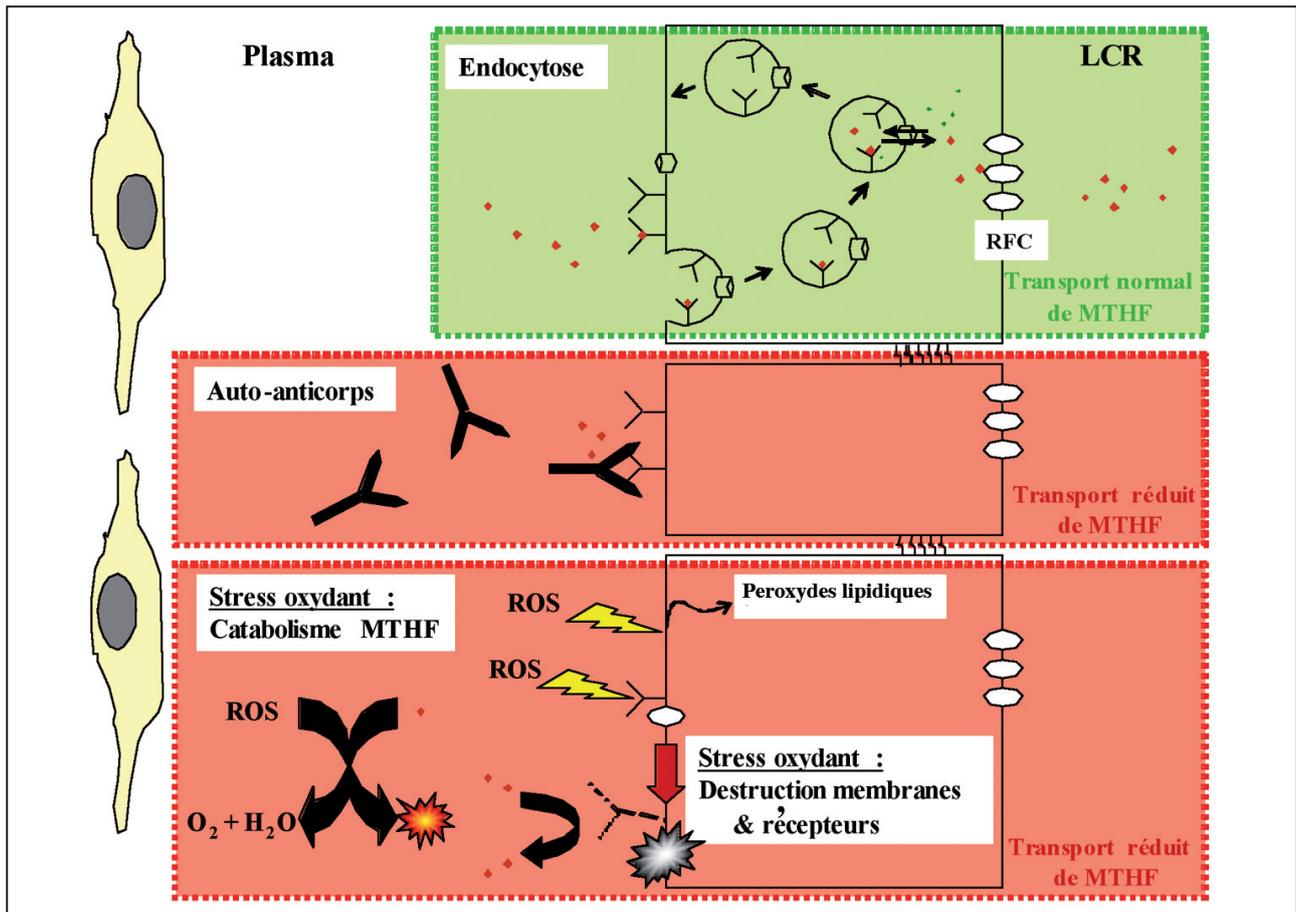


Figure 4. En haut le transport normal de 5-méthyltétrahydrofolate (•) à travers la barrière hémato-encéphalique est réalisé par le processus d'endocytose des récepteurs du folate (Y), où un flux de protons par le proton-couplé-folate-transporter (O) dans les vésicules d'endocytose peut libérer le 5MTHF de son site de liaison avec le récepteur du folate pour sortir des vésicules dans le cytoplasme. Les molécules de 5MTHF peuvent sortir par le reduced folate carrier (O). En bas : deux situations du transport réduit de 5MTHF existent et sont illustrées. A la façade plasmatique des cellules chorio-épithéliales, les auto-anticorps spécifiques provenant du sérum peuvent bloquer les récepteurs du folate. La présence extracellulaire d'un stress oxydant (ROS) peut dégrader les molécules de 5MTHF et détruire les structures membranaires.

et de pénétrer dans le système nerveux central. Cette entrée se fait par un processus de transport actif et demande donc de l'énergie, parce que les taux de 5-méthyltétrahydrofolate dans le LCR sont 2 à 5 fois plus élevés que ceux du sérum. L'incorporation de 5-méthyltétrahydrofolate par les plexus choroïdes s'opère par le récepteur du folate qui est lié à la face plasmatique des cellules épithéliales choroïdiennes, et fonctionne par endocytose. Il existe d'autres protéines de transport intracellulaire et transcellulaire des folates (reduced folate carrier, proton-coupled folate transporter) au niveau des barrières intestinales et placentaires, stipulant que ces protéines de transport du folate possèdent une affinité inférieure à celle du récepteur de folate alpha et bêta (Fig. 4, partie supérieure).

Pour le fonctionnement du système nerveux central, un apport régulier en 5-méthyltétrahydrofolate est indispensable, et cela, parce que le dihydrofolate et l'acide folique ne peuvent plus être réutilisés puisque le système nerveux

central ne dispose pas de l'enzyme nécessaire, notamment la dihydrofolate réductase. Toutefois, le système nerveux est capable de stocker des réserves de folates par liaison aux protéines cellulaires sous forme de folyl-polyglutamates pour une période de 90 jours.

DÉFICIT CÉRÉBRAL EN FOLATE (DCF)

Le DCF est défini par toute affection neuropsychiatrique associée à un niveau faible en 5-méthyltétrahydrofolate (5MTHF) dans le LCR alors que le métabolisme des folates est normal dans le reste de l'organisme (5). L'expression du phénotype dépend de l'âge d'apparition de la carence en folates au niveau du système nerveux central. Le syndrome DCF infantile se manifeste au cours de la période post-natale entre 4 et 6 mois. Sur le plan clinique, dans la plupart des cas, ce syndrome DCF infantile contient au moins 3 des 7 signes et symptômes neurologiques suivants :

1. Irritabilité et insomnie;
2. Réduction de croissance du périmètre céphalique à partir de 4-6 mois;
3. Retard psychomoteur pouvant être suivi par une régression;
4. Hypotonie et ataxie;
5. Spasticité des membres inférieurs;
6. Dyskinésies avec choréo-athétose, dystonies, ou ballisme;
7. Epilepsie.

Ce syndrome DCF infantile est associé à un syndrome autistique typique dans environ 20 % des cas. Ceci apporte des données intéressantes quant à la pathogénie de l'autisme et ouvre de nouvelles pistes de recherches.

Etant donné que les taux de 5MTHF sont normalement 2 à 5 fois plus élevés dans le LCR que dans le plasma, le DCF infantile chez la plupart des patients peut être expliqué par la présence d'auto-anticorps dans le sérum. Ces auto-anticorps bloquent le transport du 5MTHF vers le LCR et vers le système nerveux central (6).

Comme le syndrome DCF infantile se manifeste souvent après l'introduction du lait de vache dans la nutrition de l'enfant, l'hypothèse a été émise que la formation des auto-anticorps contre le récepteur du folate humain serait provoquée par le récepteur du folate bovin qui est présent dans le lait de vache sous forme soluble et qui ressemble très fort à l'antigène humain quant à sa composition en acides aminés ainsi que par sa structure tri-dimensionnelle. Après traitement par suppléments en acide folinique suivi par la prise de mesures diététiques strictes consistant en une exclusion de produits laitiers chez 12 patients avec DCF infantile, on a pu constater une diminution des taux d'auto-anticorps contre le récepteur du folate chez tous ces patients, parmi lesquels 6 étaient aussi atteints d'autisme. En outre, plusieurs améliorations cliniques ont été observées.

Ces observations sur l'effet positif de l'exclusion du lait de vache rappellent les anecdotes selon lesquelles, chez certains patients autistes, une amélioration de l'état a été observée suite à un régime sans gluten et sans lait de vache. Les réactions croisées de ces anticorps spécifiques contre le récepteur du folate soluble d'origine bovine et l'antigène humain constituent une explication scientifique à ces anecdotes.

Cependant, si le sérum ne contient pas d'auto-anticorps contre le récepteur du folate, d'autres mécanismes générateurs du DCF pourraient exister, mais jusqu'à présent les analyses des gènes codant pour les récepteurs du folate alpha

et bêta, ainsi que pour le reduced folate carrier, sont dépourvues d'anomalies.

Des hypothèses relatives à un turnover accéléré du 5MTHF lié à un catabolisme accru au niveau du sang ou du système nerveux central ont été émises. Une hypothèse récente est que le stress oxydant peut jouer un rôle dans la dégradation des folates réduits et du 5MTHF.

DÉFICIT CÉRÉBRAL EN FOLATE (DCF) ET SPECTRE DE L'AUTISME

Parmi les différentes formes cliniques du spectre autistique, des études d'orientation sont actuellement en cours; elles concernent l'incidence du syndrome DCF caractérisé par une auto-immunité contre le récepteur du folate. Les résultats de ces études pourront apporter des pistes de traitement (suppléments en folates et mesures diététiques).

Dans la classification des autismes typiques, il semble important de faire la différence entre l'autisme pur qui existe depuis la naissance, et un autre groupe d'autismes typiques combinés à des déficits neurologiques qui se manifestent avec un minimum de 2 des 7 critères du syndrome de DCF infantile. Parmi les autistes typiques sans déficits neurologiques, on trouve rarement la présence d'auto-anticorps sériques contre le récepteur du folate. Par contre, dans le groupe d'autistes typiques présentant des déficits neurologiques, on trouve, dans la majorité des cas, cette auto-immunité contre le récepteur du folate associée à une carence en 5MTHF dans le LCR (7). Il convient de noter également que, parmi les autistes typiques avec ou sans déficits neurologiques, n'ayant pas d'auto-anticorps, il existe un certain nombre de patients présentant des valeurs inférieures de 5MTHF dans le LCR. Parce que les analyses génétiques réalisées chez les autistes typiques restaient négatives, nous avons entrepris l'étude en laboratoire de l'interaction entre le stress oxydant et la stabilité des folates réduits, en particulier du 5-méthyltétrahydrofolate (5MTHF) ainsi que de son incorporation intracellulaire.

Deux enfants présentant un syndrome d'Asperger avec DCF ont été examinés. L'analyse des auto-anticorps était positive chez l'un des deux, et, chez lui, le traitement par L-méthyl-tétrahydrofolate par voie orale a apporté une amélioration spectaculaire. Les autres patients atteints par le syndrome d'Asperger seront étudiés l'année suivante.

Plusieurs enfants présentant un trouble désintégratif associé à un DCF avec présence d'auto-anticorps contre le récepteur du folate ont fait

l'objet d'une étude: le développement initial était normal pendant les premières années; puis, une régression est apparue avec évolution vers un état autistique associé à une épilepsie réfractaire, spasticité et ataxie. Un traitement par acide folinique a apporté une amélioration spectaculaire, mais les troubles autistiques ont peu régressé (8).

Le syndrome de Rett est un syndrome génétique avec autisme qui atteint seulement les filles et est souvent associé à des altérations du gène MeCP2, localisé sur le chromosome Xq28 et ayant une action épi-génétique, c'est-à-dire une répression sélective de transcription de nombreux gènes. La protéine MeCP2 représente un facteur de transcription qui forme des ancrages avec les sites méthyl-CpG, présents dans le promoteur de nombreux gènes. Antérieurement, ce promoteur a été transformé par l'enzyme ADN-méthylase par addition de groupes méthyl aux sites CpG. La liaison de MeCP2 aux promoteurs méthyl-CpG se connecte avec la machinerie de répression de transcription de l'ADN, qui comporte plusieurs protéines et enzymes. Cette machinerie de répression est capable de supprimer l'expression du génome méthylé à proximité. L'apport de groupes méthyl par l'ADN méthylase vers les sites CpG est effectué par le substrat S-adénosyl-méthionine (SAM), qui dépend du transfert de groupes méthyl délivrés par les molécules méthyl-cobalamine et 5-méthyltétrahydrofolate.

Des altérations du MeCP2 vont engendrer un dysfonctionnement de la machinerie de répression de transcription d'ADN. Par conséquent, ces transcriptions anormales de nombreux facteurs génétiques peuvent désorganiser le trafic de signalisation cellulaire et le développement neuronal. Le tableau clinique du syndrome de Rett avec traits autistiques et stéréotypies se manifeste également par un décrochage de la croissance du périmètre crânien, un retard psychomoteur, une ataxie et, dans un certain nombre de cas, une épilepsie. Le syndrome de Rett ressemble très fort sur le plan clinique à un syndrome DCF infantile (9).

En Europe, 40-50 % des patientes atteintes d'un syndrome de Rett ont une diminution des taux de 5-méthyltétrahydrofolate dans le LCR. Les observations de DCF dans le syndrome de Rett ont permis de mettre en évidence la présence d'auto-anticorps contre le récepteur du folate chez les filles atteintes du syndrome de Rett originaires de pays européens, gros consommateurs de produits dérivés du lait de vache (6-10). Par contre, dans d'autres pays comme l'Espagne et le Portugal, les auto-anticorps n'ont pas été décelés et la question se pose de savoir

si un stress oxydant dans le syndrome de Rett peut être évoqué dans la pathogénie du DCF. Il existe seulement une étude ayant démontré l'élévation d'un marqueur pour le stress oxydant en présence d'une activité réduite de l'enzyme superoxyde dismutase érythrocytaire (11). Dans cette étude, on n'a pas étudié la corrélation entre le stress oxydant et les taux de 5-méthyltétrahydrofolate dans le LCR.

Dans ce contexte, il est intéressant de souligner qu'on a trouvé un DCF avec auto-anticorps positifs chez trois filles atteintes d'un syndrome de Rett où l'analyse génétique de MeCP2 était tout à fait normale. En présence d'un DCF attribué aux auto-anticorps contre le récepteur du folate, le transfert des groupes méthyl par 5MTHF à travers la barrière hémato-encéphalique vers le système nerveux central serait mis en cause ainsi que la disponibilité du substrat SAM pour l'ADN méthylase. Cela signifie que certains sites de CpG au niveau du génome neuronal ne seront plus convertis en méthyl-CpG avec perte des points de référence destinés à l'ancrage de la protéine MeCP2 et au processus de répression de la transcription. En résumé, on peut constater que la présence d'un syndrome DCF représente une situation particulière qui est responsable d'une aberration épi-génétique dans le système nerveux central.

STRESS OXYDANT ET MÉTABOLISME DES FOLATES

Des recherches en laboratoire ont révélé que la production de radicaux d'oxygène *in vitro* est capable de dégrader les molécules de 5MTHF et que, dans les cultures de cellules du type KB, la présence extracellulaire des anions superoxydes peut réduire la liaison de 5MTHF aux membranes et diminuer ainsi l'incorporation intracellulaire de 5MTHF. Les cellules KB ont été cultivées à partir de carcinomes épithéliaux nasals et possèdent une haute expression des récepteurs du folate. Ensuite, pendant la même séquence expérimentale, l'incubation de vitamine C, capteur de radicaux d'oxygène, pouvait neutraliser la dégradation du 5MTHF et rétablir à 100 % l'incorporation intracellulaire de 5MTHF.

Certaines maladies mitochondriales sont des modèles *in vivo* d'un état élevé de stress oxydant comportant une production abondante de radicaux d'oxygène. Deux études réalisées chez des patients atteints d'encéphalopathies mitochondriales ont objectivé une réduction des taux de 5MTHF dans le LCR chez 50 % d'entre eux. Le DCF dans les encéphalopathies mitochondriales peut non seulement être attribué à la présence

de radicaux d'oxygène avec dégradation du 5MTHF et perturbation du passage transmembranaire du 5MTHF, mais aussi à la diminution de production d'ATP, qui est indispensable au transport actif du 5MTHF vers le système nerveux central.

Dans ce contexte, il faut remarquer qu'il existe une encéphalopathie mitochondriale associée à l'autisme, ce double syndrome est connu sous le nom de syndrome HEADD (Hypotonie, Epilepsie, Autisme, Déficit du Développement) (12).

PERSPECTIVES

Parmi les patients présentant un syndrome d'autisme typique associé à des déficits neurologiques, on trouve souvent un déficit cérébral en folate, caractérisé par la diminution du 5-méthyl-tétrahydrofolate dans le liquide céphalorachidien en présence d'une valeur normale de folate en dehors du système nerveux central. Parce que le 5MTHF dans le sérum représente la seule forme de folate capable de traverser la barrière hémato-encéphalique, les taux faibles du 5MTHF mesurés dans le LCR peuvent résulter de l'instabilité de son précurseur dans le sérum ou de l'inhibition du passage du 5MTHF à travers les plexus choroïdes. Cette inhibition est attribuée à la formation de complexes antigènes-anticorps bloquants entre le récepteur de folate et les auto-anticorps spécifiques provenant de la circulation. Mais, la carence en 5MTHF dans le LCR peut aussi être attribuée à une accélération du turnover de 5MTHF dans le système nerveux central. Des observations *in vitro* ont permis d'identifier les radicaux d'oxygène comme pouvant être une cause nouvelle et importante de dégradation du 5MTHF ainsi que de perturbation de son incorporation dans les cellules.

Nos analyses cliniques ont permis d'identifier la présence de ces auto-anticorps spécifiques dans un groupe de patients présentant un autisme typique associé à des déficits neurologiques, mais aussi chez quelques enfants atteints d'un autisme typique sans déficit neurologique, chez deux enfants souffrant d'un trouble désintégratif, chez un patient atteint d'un syndrome d'Asperger et, aussi, chez un certain nombre de filles atteintes du syndrome de Rett. Des recherches sont actuellement en cours dans le but de réaliser un dépistage dans une cohorte de patients atteints d'autisme typique sans déficit neurologique ainsi que dans une autre cohorte d'enfants atteints du syndrome d'Asperger. Nos recherches relatives à l'analyse des facteurs neurobiologiques et génétiques peuvent offrir de nouvelles approches thérapeutiques ainsi que mettre en évidence l'importance des

mécanismes d'altérations épi-génétiques dans le système nerveux central.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie le Dr Jean-Marie Dubru et le Dr Ludo Pinckers pour l'aide généreuse dans la lecture et les commentaires de ce manuscrit, ainsi que le Prof. Dr. Guy Bricteux pour la recherche clinique réalisée au sein du Service de Pédiatrie Hospitalière, site «CHU-N.D.des Bruyères».

BIBLIOGRAPHIE

1. Gillberg C, Coleman M.— (2000). The biology of the autistic syndromes. *Clinics in Developmental Medicine. Mac Keith Press*, 2000, 153-154. ISBN: 1 898683 22 0
2. Pardo CA, Eberhart CG.— The Neurobiology of Autism. *Brain Pathol*, 2007, **17**, 434-447.
3. Braunschweig D, Ashwood P, Krakowiak P, et al.— Autism: maternally derived antibodies specific for fetal brain proteins. *Neurotoxicology*, 2008, **29**, 226-231.
4. Martin LA, Ashwood P, Braunschweig D, et al.— Stereotypies and hyperactivity in rhesus monkeys exposed to IgG from mothers of children with autism. *Brain Behav Immun*, 2008, **22** (6), 806-816.
5. Ramaekers V, Häusler M, Opladen T, et al.— Psychomotor retardation, spastic paraplegia, cerebellar ataxia, and dyskinesia associated with low 5-methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid: A novel neurometabolic condition responding to folic acid substitution. *Neuropediatrics*, 2002, **33**, 301-308.
6. Ramaekers VT, Rothenberg SP, Sequeira J, et al.— Autoantibodies to folate receptors in the cerebral folate deficiency syndrome. *N Engl J Med*, 2005, **352**, 1985-1991.
7. Ramaekers VT, Blau N, Sequeira JM, et al.— Folate receptor autoimmunity and cerebral folate deficiency in low-functioning autism with neurological deficits. *Neuropediatrics*, 2007, **38**, 276-281.
8. Moretti P, Sahoo T, Hyland K et al.— Cerebral folate deficiency with developmental delay, autism, and response to folic acid. *Neurology*, 2005, **64**, 1088-1090.
9. Ramaekers V, Hansen SI, Holm J et al.— Reduced folate transport to the CNS in female Rett patients. *Neurology*, 2003, **61**, 506-514.
10. Ramaekers VT, Sequeira JM, Artuch R, et al.— Folate Receptor Autoantibodies and Spinal Fluid 5-Methyltetrahydrofolate Deficiency in Rett Syndrome. *Neuropediatrics*, 2007, **38**, 179-183.
11. Sierra C, Vilaseca MA, Brandi N, et al.— Oxidative stress in Rett syndrome. *Brain Dev*, 2001, **23** Suppl 1, S236-239.
12. Fillano JJ, Goldenthal MJ, Rhodes CH, et al.— Mitochondrial dysfunction in patients with hypotonia, epilepsy, autism, and developmental delay: HEADD syndrome. *J Child Neurol*, 2002, **17**, 435-439.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr. V. Ramaekers, Centre de Ressources Autisme Liège, Polyclinique Universitaire Centre Ville L. Brull, Quai G. Kurth 45, 4020 Liège, Belgique.