

Zaburzenia metaboliczne w autyzmie*

Metabolic disturbances in autism

prof. dr hab. Krzysztof L. Krzystyniak¹, dr n. med. Andrzej Marszałek², prof. dr hab. Mieczysław Obiedziński³

¹ emerytowany prof. dr hab., Université du Québec à Montréal, Canada

² Synevo Polska, Warszawa

³ Państwowa Wyższa Szkoła Informatyzacji i Przedsiębiorczości w Łomży

PDF FULL-TEXT
www.lekwpolisce.pl

Oddano do publikacji: 08.03.2016

Słowa kluczowe: autyzm, zespół zaburzeń autystycznych (ASD), biomarkery szoku tlenowego, glutation, tio-redoksyna, metabolizm siarczanów, witamina D, serotonina, ksenobiotyki środowiskowe, nieprawidłowa mikroflora układu pokarmowego.

Streszczenie: Gwałtowny wzrost częstości występowania zespołu zaburzeń autystycznych (ASD) w czasie minionych kilku dekad, jego etiologia i epidemiologia pozostają niewyjaśnione. W opiniach specjalistów ok. 75-80% monitorowanego wzrostu częstości występowania autyzmu dotyczy wzrostu zachorowalności, a nie zmian w kryteriach diagnozowania. Rozważany jest udział ponad dwustu odrębnych genetycznych loci w ASD, jakkolwiek trwa dyskusja, czy autyzm jest uwarunkowany genetycznie. Wielu naukowców sądzi, że pominięty został aspekt interakcji czynników środowiskowych z predyspozycjami genetycznymi w ASD. Autyzmowi towarzyszy szereg zaburzeń biochemicznych i fizjologicznych.

Keywords: autism, autism spectrum disorders (ASD), oxidative stress biomarkers, glutathione, thioredoxin, sulfate metabolism, vitamin D, serotonin, environmental toxicants, gut dysbiosis.

Abstract: Prevalence of autistic spectrum disorders (ASD) increased dramatically in recent three decades, however, its etiology and epidemiology remains unsolved. It is suggested that about 75-80% of the tracked increase in autism since 1988 is due to an actual increase in the disorder rather than to changing diagnostic criteria. Over two hundred separate genetic loci are considered to play a role in ASD development, however a debate continues whether the disease is heritable. Many scientists agree that the interactions of environmental factors with gene susceptibilities in ASD have been relatively overlooked. Several biochemical and physiological disturbances are consistently associated with autism.

Nie można wytłumaczyć jedynie czynnikami genetycznymi lub ulepszonymi metodami diagnostycznymi notowanego w ostatnich dekadach znaczącego wzrostu liczby przypadków zespołu zaburzeń autystycznych ASD (*autism spectrum disorders*). ASD jest rzadko diagnozowany u dzieci poniżej 2 lat, ponieważ diagnoza jest oparta całkowicie na testach behawioralnych. Zdefiniowane behawioralnie anomalie rozwojowe ośrodkowego układu nerwowego (OUN) są

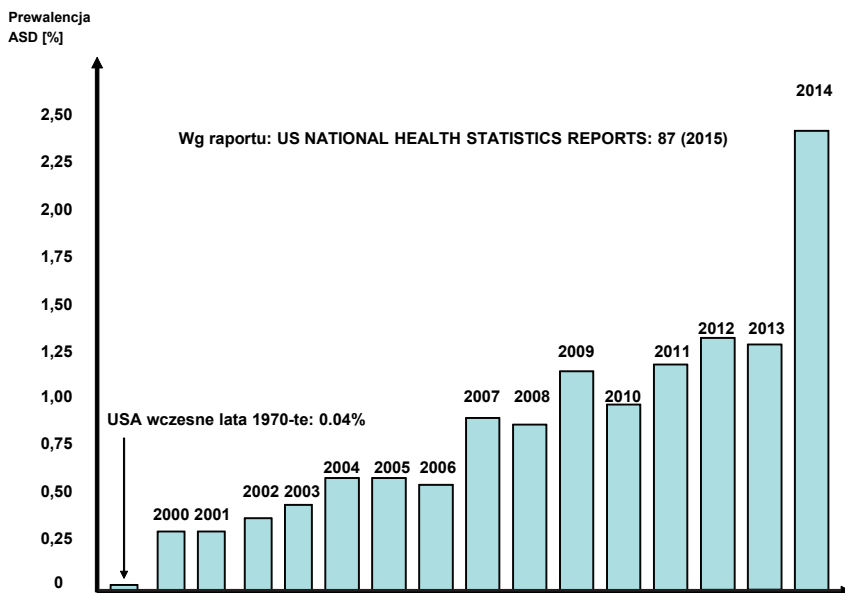
charakteryzowane jako upośledzenie komunikowania się oraz towarzyskich interakcji; pojawiają się zazwyczaj przed upływem 3. r.ż. Pół wieku temu częstość występowania autyzmu szacowano na 1:2000 osób (1:2500 we wczesnych latach 70.). Innymi słowy, autyzm był uznany za rzadkie schorzenie, utrzymywał się na niskim poziomie, dotykając mniej niż 0,05% populacji [1] (rys. 1). Niedawne badania wykazały dramatycznie wyższe dane: 1:42 chłopców w USA, 1:80

dzieci w Skandynawii [1,2]). W Sztokholmie 2,5% wszystkich nastolatków otrzymało kliniczną diagnozę ASD, jednakże w systemie szwedzkiej rejestracji nie można wykluczyć czynnika administracyjnego [1].

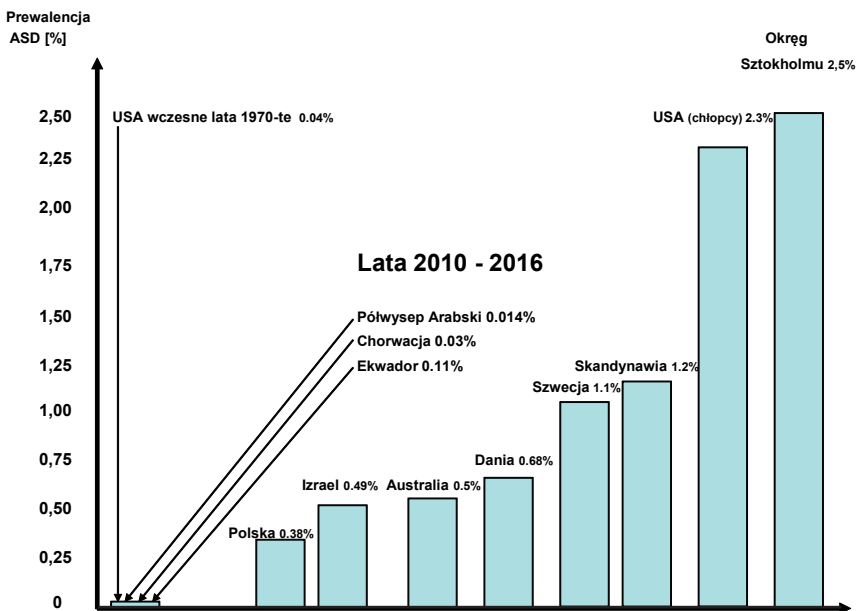
Szacunkowa częstość występowania ASD oparta na danych USA z 2014 r. wynosi 2,24%, co jest znacząco wyższą wartością w odniesieniu do występowania ASD – 1,25% – z lat 2011-13 [3]. W Polsce (zachodnie Pomorze) częstość występowania ASD wynosi 1:285 i dotyczy czterokrotnie częściej chłopców [4]. Nie można wykluczyć roli czynników środowiskowych: przykładowo w amerykańskim stanie Minnesota, z względnie wysoką częstością występowania autyzmu, liczba przypadków ASD była znacząco wyższa w szkołach znajdujących się w pobliżu ośrodków przemysłowych EPA Superfund sites [5]. Podobnie zwiększoną częstość występowania ASD powiązano z bliskością miejskich obszarów mieszkaniowych, wokół których istnieją

ce zakłady przemysłowe emitowały niebezpieczne odpady chemiczne zawierające metale ciężkie [6]. Różnice regionalne występowania ASD są znaczące (rys. 2): na przykład dane Ekwadoru wskazują na względnie niskie (0,11%) występowanie autyzmu [7], wobec ponad 2-procentowej częstości autyzmu w USA [3] i okręgu Sztokholmu w Szwecji [1].

Mimo intensywnych badań ukierunkowanych na ASD w ostatnich dekadach, etiologia i epidemiologia autyzmu pozostaje nieznana. Wykresy rokrocznych trendów sugerują, że ok. 75-80% monitorowanego wzrostu autyzmu od 1988 r. raczej dotyczy wzrostu przypadków ASD, a nie wynika ze zmian w kryteriach diagnostycznych [2]. Według danych empirycznych, uwarunkowania genetyczne są przyczyną 6-15% przypadków ASD [8]. Należy jednak podkreślić, że współwystępowanie autyzmu u bliźniaków jednojajowych sięga 60-92%, w porównaniu ze współwystępowaniem autyzmu rządu



Rysunek 1. Zgłaszana przez rodziców diagnoza zespołu zaburzeń autystycznych (ASD) u dzieci w wieku 3-17 lat, w analizowanych latach: USA 2000 – 2014 [3].



Rysunek 2. Częstość występowania zespołu zaburzeń autystycznych (ASD) w różnych krajach [1, 4, 24, 25]

0-10% u bliźniaków dwujajowych, co wskazuje na udział czynników genetycznych w rozwoju autyzmu [9]. Powiązanie częstszego występowania autyzmu z bliskością dzielnic mieszkaniowych i rejonów zakładów przemysłowych oraz składowisk toksycznych odpadów jest kolejno potwierdzane danymi naukowymi [5,6,9,10]. Co więcej, potwierdzono związek pomiędzy podwyższonym ryzykiem autyzmu i ekspozycją na pestycydy [11].

Zgodnie z niedawnymi badaniami zespołowi ASD współtowarzyszy szereg zaburzeń biochemicznych i fizjologicznych.

Zaburzenia stężeń serotoniny: niskie stężenia serotoniny w mózgu, przy wysokich stężeniach serotoniny poza barierą krew-mózg. U młodych dorosłych mężczyzn z ASD wykazano odwrotną zależność pomiędzy wysokimi stężeniami serotoniny w surowicy krwi i niską neurotransmisją serotoninową [12].

Niskie stężenie witaminy D: występowanie niskich stężeń prekursora witaminy D, tzn.

25-hydroksywitaminy D [$25(\text{OH})\text{D}_3$]. Niedostateczny poziom witaminy D w czasie ciąży oraz we wczesnym życiu dziecka jest uznawany za jeden z czynników ryzyka w patogenezie ASD. Hipoteza ta wiąże się z wykryciem miejsc regulatorowych VDREs (*Vitamin D Response Elements*) w genach dwóch funkcjonalnie przeciwstawnych enzymów – hydroksylaz tryptofanowych TPH (*tryptophan hydroxylase*), które biorą udział w syntezie serotoniny. Transkrypcja genu TPH1 jest hamowana przez witaminę D w tkankach poza barierą krew-mózg, natomiast transkrypcja genu mózgowego enzymu TPH2 jest aktywowana przez witaminę D [13].

Podwyższone stężenie tioredoksyny: stężenie tioredoksyny TRX (*thioredoxin*) w surowicy krwi powyżej 10,6 ng/ml powiązane z 15-krotnym wzrostem ryzyka autyzmu [8]. Tioredoksyna jest multifunkcyjnym białkiem o dwusiarczko-wo-tiolowym potencjale oksydacyjno-redukcyjnym. Zaproponowano, by wartości stężeń TRX w surowicy mogły służyć jako wskaźnik szoku

tlenowego, rozregulowania odpowiedzi immunologicznej i stanu zapalnego. TRX może być silnie indukowana w wyniku szoku tlenowego. Wykazano również istotną rolę TRX w regulacji apoptozy/przeżycia komórek, ich różnicowania i proliferacji. Zaproponowano, aby wartości TRX, które wzrastają wraz z pogłębianiem się objawów AST (tab. 1) służyły jako niezależny marker diagnostyczny u dzieci z autyzmem [8]. Podobnie powiązано wysokie stężenie tioredoksyny > 11 ng/ml w surowicy krwi z podwyższonym ryzykiem udaru mózgu oraz zaproponowano, by wartości TRX służyły jako dodatkowy marker w diagnozie ostrego udaru niedokrwiennego [14].

Zaburzony metabolizm związków siarki: autyzmowi towarzyszy niskie stężenie niezwiązanych siarczanów w krwi (zaledwie 1/3 prawidłowego stężenia siarczanów), nadprodukcja tlenu azotu, nadmierny wzrost bakterii produkujących fenol, jak *Clostridium difficile*,

oraz podwyższone stężenie toksycznego fenolu, p-krezolu w moczu. Powiązано również autyzm z obniżoną zdolnością sulfonowania/detoksykacji acetaminofenu, co można tłumaczyć niewystarczającą biodostępnością siarcznanu. Wykryto powiązane z autyzmem genetyczne niedobory enzymu sulfotransferazy fenolowej [15,16]. Z autyzmem wiązано też nadmierny wzrost bakterii redukujących siarkę *Desulfovibrio*.

Biomarkery podwyższonego szoku tlenowego: zgodnie z systematycznym przeglądem i metaanalizą danych wykazano znaczący związek ASD z podwyższonym poziomem biomarkerów szoku tlenowego [17]. W krwi pacjentów z ASD wykryto obniżone stężenie zredukowanego glutationu GSH (o 27%), peroksydazy glutationowej (o 18%), metioniny (o 13%), cysteiny (o 14%) oraz podwyższone stężenie utlenionego glutationu GSSG (o 45%), w odniesieniu do gru-

Tabela I. Wzrastające nasilenie zespołu zaburzeń autystycznych (ASD), współzależne z podwyższonym poziomem markerów/zdarzeń biochemicznych, metabolicznych i zaburzeń fizjologicznych [8,12,15,16,18]

Zaburzenia biochemiczne, metaboliczne, fizjologiczne oraz interwencje farmakologiczne ASD	Współzależność z nasileniem objawów ASD
Leki psychotropowe w ciąży (kwas walproinowy)	8-krotny wzrost ryzyka ASD
Kontakt z pestycydami fosforoorganicznymi w okresie zajęcia w ciążę	60% wzrost ryzyka ASD
Podwyższone stężenie rtęci we włosach	współzależność z nasileniem objawów ASD
Obniżony poziom witaminy D u matki	wzrost ryzyka infekcji wirusowych matki, podwyższone ryzyko ASD u dziecka, obniżony poziom witaminy D u dzieci z ASD
Wzrastające stężenie tioredoksyny TRX w surowicy	nasilenie choroby (13-krotny wzrost ryzyka ASD przy wartościach TRX > 10,6 ng/ml)
Obniżone stężenie glutationu GSH w surowicy	wzrastające nasilenie objawów ASD
Powwyższone stężenie 3-nitrotyrozyny (3NT) w mózdku oraz w korze mózgowej	współzależne z miejscowym stężeniem GSH oraz współzależne z nasileniem objawów ASD
Podwyższony szok tlenowy i azotowy oraz podwyższona peroksydacja lipidów	współwystępuje z obniżonym poziomem w surowicy witamin, minerałów, aminokwasów, łącznie z tryptofanem, oraz z nasileniem objawów ASD
Podwyższony poziom interferonu IFN-gamma	współwystępuje z metabolitami NO (azotany, azotyny) w ASD
Wzrost ilości mieloidalnych komórek dendrytycznych	współwystępuje ze zmianą objętości ciała migdałowatego i regresją rozwojową w ASD

py kontrolnej. Znaczące obniżone stężenie GSH w mózdzku (o 34%) i korze skroniowej (o 44%) pacjentów z ASD wiązało się z równoczesnym podwyższeniem stężenia utlenionego glutationu GSSG w tych obszarach mózgu (odpowiednio o 38% i 45%), w odniesieniu do grupy kontrolnej. U pacjentów z ASD notowano obniżone stężenie głównych białek o potencjale przeciwutleniającym, transferyny i ceruloplazminy [18]. Warto dodać, że w badaniach *post mortem* pacjentów z ASD wykryto podwyższoną gęstość upakowania komórek i zmniejszone wymiary neuronów w mózdzku (obniżoną liczbę komórek Purkiniego) oraz w korze mózgowej (dysgeneza kory mózgowej, redukcja mikrogleju) [19]. Przeciwnie, nie wykryto istotnych zmian w indeksie oksydoredukcyjnym GSH/GSSG glutationu w czołowych, ciemieniowych i potylicznych obszarach kory mózgowej w autyzmie, w odniesieniu do grupy kontrolnej [20].

Toksyny środowiskowe: wykazano, że bliska odległość, poniżej 16-23 km, od chemicznych zakładów przemysłowych/składowisk toksycznych chemikaliów EPA Superfund sites podwyższa ryzyko wystąpienia autyzmu u dzieci z pobliskich szkół [5]. Podwyższoną prevalencję ASD powiązano z bliskością dzielnic mieszkaniowych i zakładów przemysłowych emitujących niebezpieczne zanieczyszczenia chemiczne, zawierające metale ciężkie [6]. **Ołów i rtęć:** wykryto wysokie stężenia tych dwóch powszechnie występujących środowiskowych zanieczyszczeń chemicznych u dzieci z autyzmem: ołów 55 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (9 $\mu\text{g}/\text{dl}$ w kontroli) oraz rtęć 4 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (0 $\mu\text{g}/\text{dl}$ w kontroli) [21]. **Rtęć, kadm ołów in utero:** przypuszczalnie zachodzi interakcja z genami podatności na ASD [18].

Pestycydy w rolnictwie: najbardziej rozpowszechniony herbicyd **glifosat** (Roundup) oraz jego metabolit kwas aminometylofosfonowy AMPA (*aminomethylphosphonic acid*) są neurotoksyczne [15,16]. Ekspozycja na niskie stężenia **pyretroidów**, a zwłaszcza pyretroidu **del-**

tametryny ogólnie może negatywnie wpłynąć na rozwój funkcji neuropoznawczych dziecka w wieku do 6 lat [22]. Podwyższone ryzyko ASD notowano w przypadkach ekspozycji matek na **pestycydy fosforoorganiczne** oraz chloropiryfos [11]. **Endokrynomicetyki** ECDs (*endocrine disrupting chemicals*): ekspozycję *in utero* na niektóre ECDs (polibromowane difenyletery PBDE, nonachlor) powiązano z autystycznymi zachowaniami dzieci [23].

Zaburzenia mikroflory jelitowej: powiązano występowanie autyzmu z nadmiernym wzrostem bakterii *Clostridia*, *Bacterioidetes*, *Desulfovibrio*. Wykazano, że produkty pośrednie fermentacji beztlenowej w jelicie grubym, jak fenole, amoniak, siarkowodór, mogą być toksyczne. Wykazano silne powiązanie pomiędzy autyzmem i wątrobowozależnym encefalitis, gdzie istotnym czynnikiem patologicznym może być nadmiar amoniaku we krwi. **Glifosat** okazał się selektywnym inhibitorem jelitowych bakterii *Lactobacillus*. Powiązano wzrost częstości występowania szeregu chorób z powszechnym stosowaniem glifosatu, szczególnie w przemysłowej hodowli transgenicznych (GMO) roślin soi i kukurydzy [15, 16].

Substancje zapachowe: względnie toksyczne dodatki do perfum mogą prenatalnie mieć swój udział w modyfikacjach neurologicznych i neurotoksyczności u potomstwa, nawet w stężeniach femtomolarnych (10^{-15} mola) [18].

Podsumowanie

Wzrastająca częstość występowania autyzmu w ostatnich dekadach nie może być wyjaśniona jedynie czynnikami genetycznymi i udoskonaloną diagnostyką choroby. Sądzi się, że w analizie czynników ryzyka autyzmu pominięto interakcje czynników środowiskowych z genami podatności na ASD.



Piśmiennictwo:

1. Lundstrom S, Reichenberg A, Anckarsater H, et al. (2015). Autism phenotype versus registered diagnosis in Swedish children: prevalence trends over 10 years in general population samples. *BMJ* 350: 1-6.
2. Nevison S. (2014). A comparison of temporal trends in United States autism prevalence to trends in suspected environmental factors. *Environ Res.* 13: 73-89.
3. Zablotsky B, Black LI, Maenner MJ, et al (2015). Estimated prevalence of autism and other developmental disabilities following questionnaire changes in the 2014 National Health Interview Survey. *Nat Health Stat Rep. (CDC)*. 87: 6-20.
4. Skonieczna-Zydecka K, Gorzkowska I, Pietrzak-Sominka J, et al. (2016). The prevalence of autism spectrum disorders in West Pomeranian and Pomeranian regions of Poland *J Appl Res Intellect Disabil.* (Jan. 14) doi: 10.1111/jar.12238.
5. DeSoto MC. (2009). Ockham razor and autism: The case for neurodevelopmental neurotoxins contributing to a disease of neurodevelopment. *Neurotoxicol.* 30: 331-337.
6. Dickerson AS, Rahbar MH, Han I, et al., (2015). Autism spectrum disorder prevalence and proximity to industrial facilities releasing arsenic, lead or mercury. *Sci Total Environ.* 536: 254-251.
7. Dekkers LMS, Groot NA, Diaz Mosquera EN, et al. (2015). Prevalence of autism spectrum disorders in Ecuador: a pilot study in Quito. *J Autism Dev Disord.* 45: 4165-4173.
8. Zhang Q, Gao S, Zhao H. (2015). Thioredoxin: a novel, independent diagnosis marker in children with autism. *Int J Dev Neurosci.* 40: 92-96.
9. Lei GAO, Quian XI, Jun WU et al. (2015). Association between prenatal environmental factors and child autism. A case-control study in Tianjin, China. *Biomed Environ Sci.* 28: 642-650.
10. Roberts EM, English PB, Grether JK, et al. (2007). Maternal residence near agricultural pesticide application and autism spectrum disorders among children in the California Central Valley. *Environ Health Perspect.* 115: 1482-1489.
11. Shelton JF, Geraghty EM, Tancredi D, et al. (2014). Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: The CHARGE Study. *Environ Health Persp.* 122: 1103-1109.
12. Patrick RP, Ames BN. (2014) Vitamin D hormone regulates serotonin synthesis. Part 1: relevance for autism. *FASEB J.* 28: 2398-2413.
13. Kocovska E, Fernell E, Billsted E, et al. (2012). Vitamin D and autism: Clinical review. *Res Develop Disabil.* 33: 1541-1550.
14. Wu MH, Song FY, Wei LP et al. (2016). Serum levels of thioredoxin are associated with stroke risk, severity and lesion volumes. *Mol Neurobiol.* 53: 677-685.
15. Samsel A, Seneff S (2013). Glyphosate suppression of cytochrome P450 enzymes and amino acids biosynthesis by the gut microbiome: pathways to modern diseases. *Entropy* 15: 1416-1463.
16. Samsel A, Seneff S. (2015). Glyphosate, pathways to modern diseases III: Manganese, neurological diseases, and associated pathologies. *Surg Neurol Int.* 6: 45-60.
17. Frustaci A, Neri M, Cesario A, et al. (2012). Oxidative stress-related biomarkers in autism: systematic review and meta-analysis. *Free Rad Biol Med.* 52: 2128-2141.
18. Anderson G, Maes M. (2014). Redox regulation in the autistic spectrum: role of tryptophan catabolites, immune-inflammation, autoimmunity and the amygdale. *Curr Neuropsychopharmacol.* 12: 148-167.
19. Gentile I, Zapullo E, Milliterni R, et al. (2013). Etiopathogenesis of autism spectrum disorders : fitting the pieces of the puzzle together. *Med Hypoth.* 81: 26-35.
20. Chauhan A, Audhya T, Chauhan V. (2012). Brain region-specific glutathione redox imbalance in autism. *Neurochem Res.* 37: 1681-1689.
21. Yassa HA (2014). Autism: A form of lead and mercury toxicity. *Environ Toxicol Pharmacol* 38: 1016-1024.
22. Viel JF, Warembourg C, Maner-Idrissi G. et al., (2015). Pyrethroid insecticide exposure and cognitive developmental disabilities in children: The PELAGIE mother-child cohort. *Environ Int.* 82: 69-75.
23. Brown J-M, Kalkbrenner AE, Just AC, et al. (2014). Gestational exposure to endocrine-disrupting chemicals and reciprocal social, repetitive and stereotypic behaviors in 4- and 5-year old children: The HOME Study. *Environ Health Persp.* 122: 513-520.
24. Raz R, Weisskopf MG, Davidovitch M, et al. (2015). Differences in autism spectrum disorders incidence by sub-populations in Israel 1992-2009: a total population study. *J Autism Dev Disord.* 45: 1062-1069.
25. Parner ET, Thorsen P, Dixon G, et al. (2011). A comparison of autism prevalence trends in Denmark and Western Australia. *J Autism Dev Disord.* 41: 16012-1608.

* Fragment przygotowywanej książki:
„Biomonitorowanie człowieka w profilaktyce
zatruczeń środowiskowych”; K.L. Krzysztyniak,
A. Marszałek, H. Kalota, M. Obiedziński. Wydawnictwo Medyk, Warszawa
2016.

prof. dr hab. Krzysztof L. Krzysztyniak
ball@medyk.com.pl