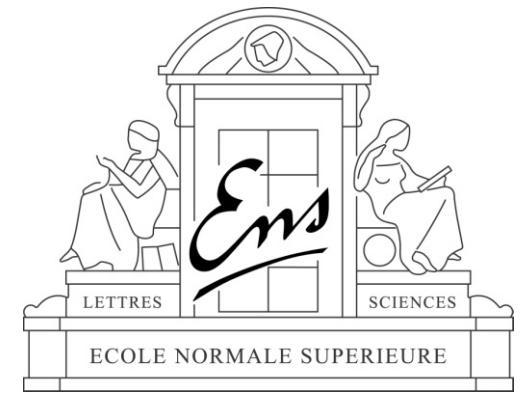




Département d'Etudes Cognitives - Ecole normale supérieure



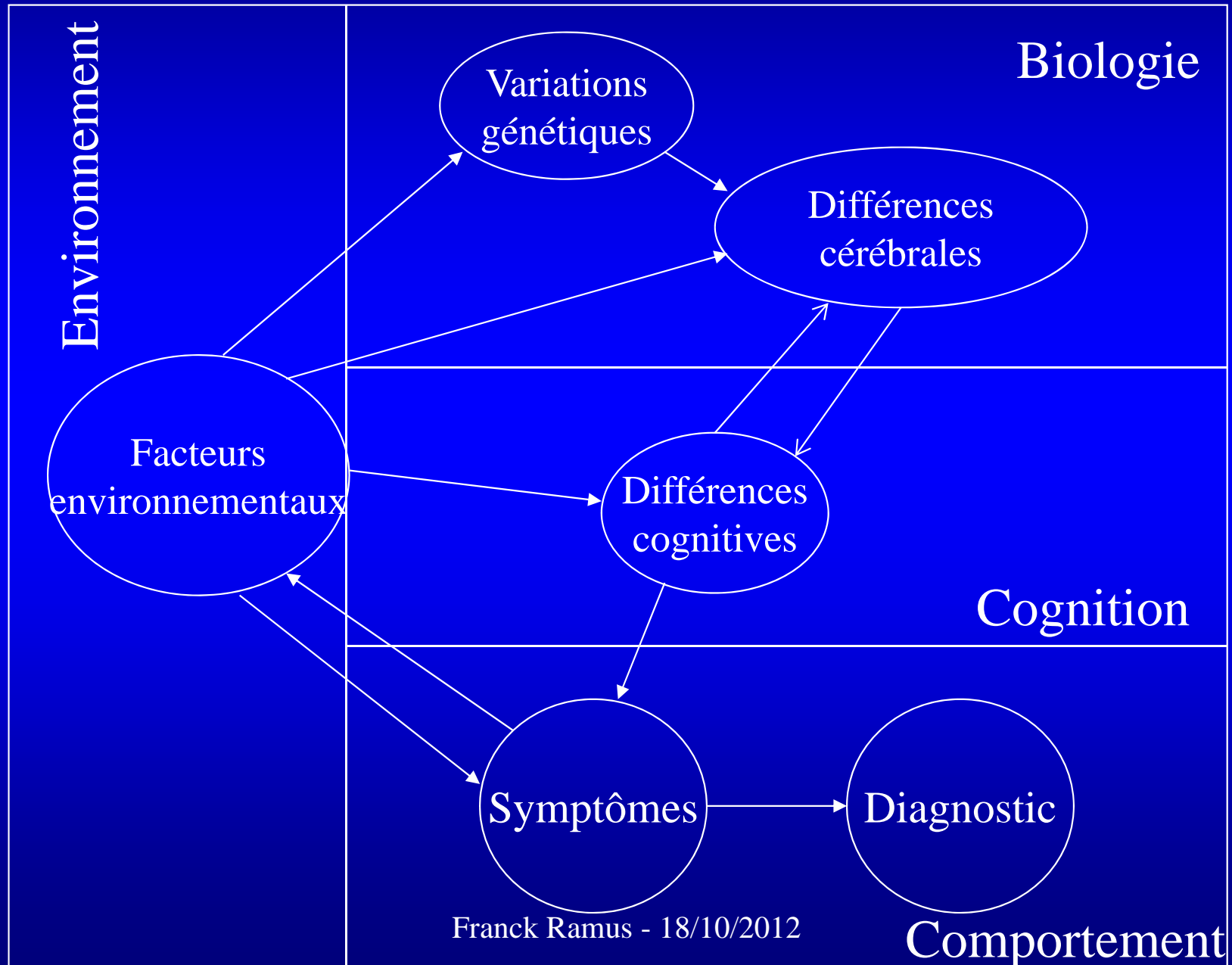
L'hypothèse neurodéveloppementale de l'autisme

Franck Ramus

Laboratoire de Sciences Cognitives et
Psycholinguistique, ENS/EHESS/CNRS, Paris

Franck Ramus - 18/10/2012

Comment explorer les causes de l'autisme?



Biologie

Cognition

Activités
et intérêts
stéréotypés
et répétitifs

Troubles des
interactions
sociales

Troubles de la
communication

Franck Ramus - 18/10/2012

Comportement

Environnement

Biologie

Cognition

Environnement

Déficiences intellectuelles

Problèmes d'équilibre, démarche "bizarre"

Intérêts restreints, attention au détail

Talents

Activités stéréotypées et répétitives

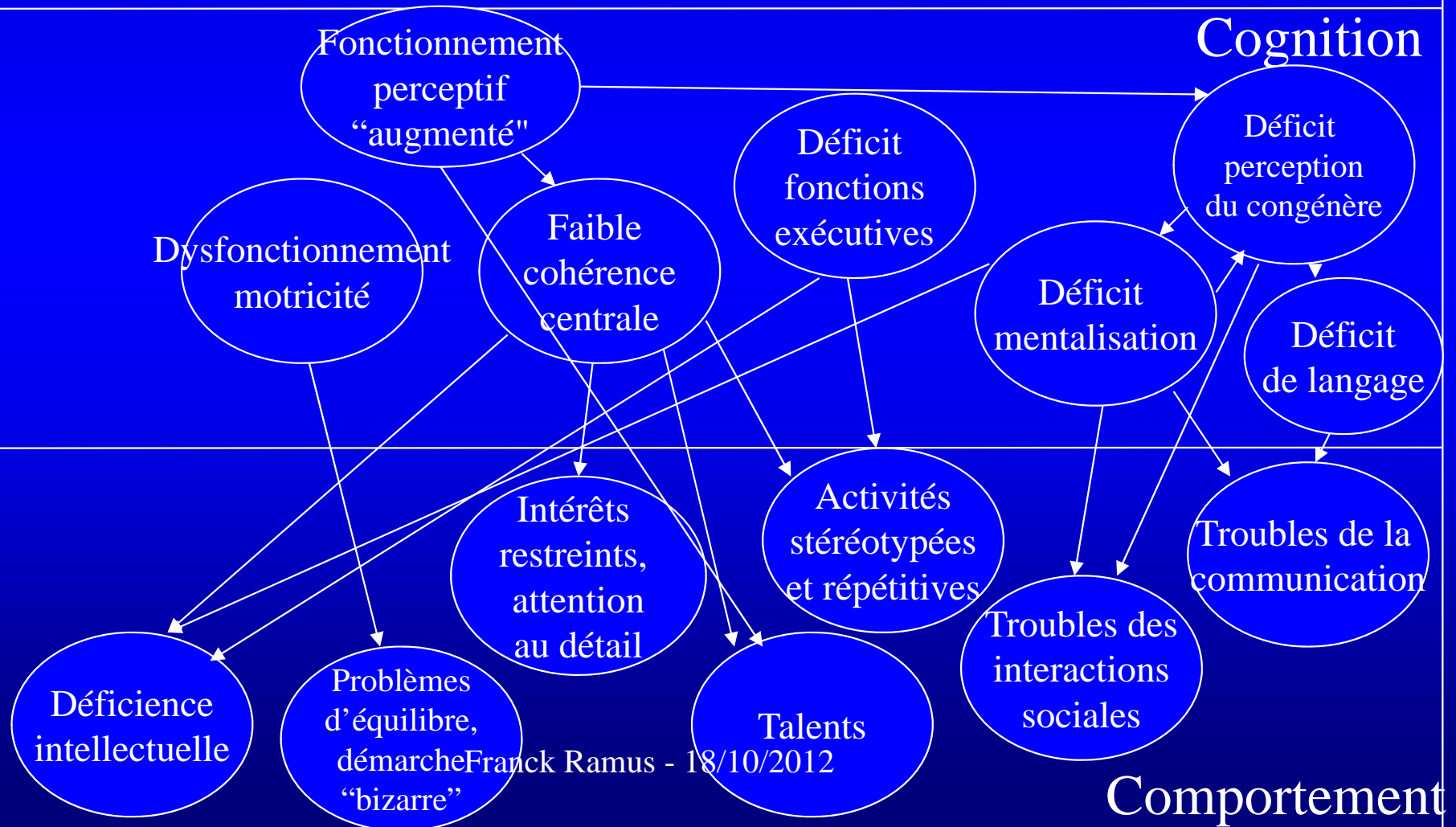
Troubles des interactions sociales

Troubles de la communication

Comportement

Cognition

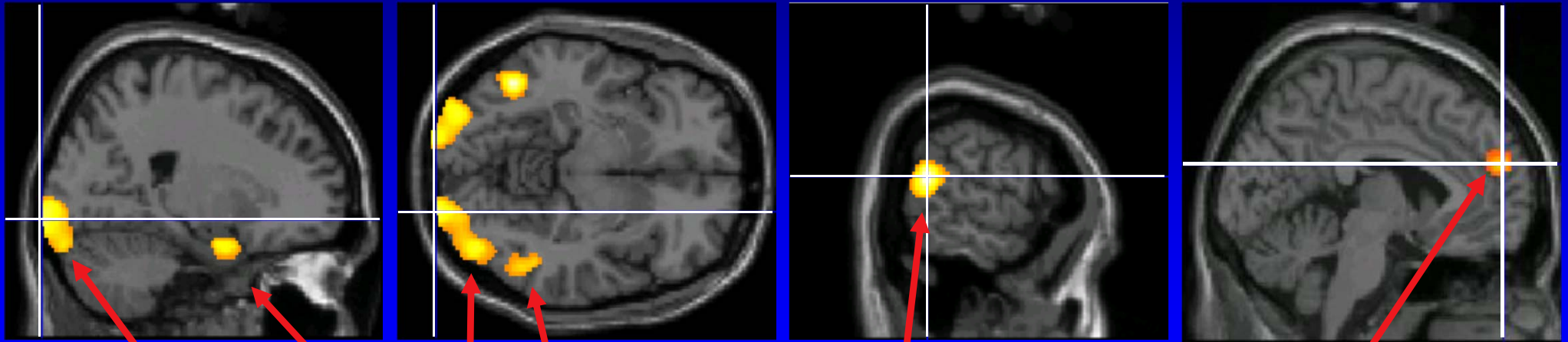
Environnement



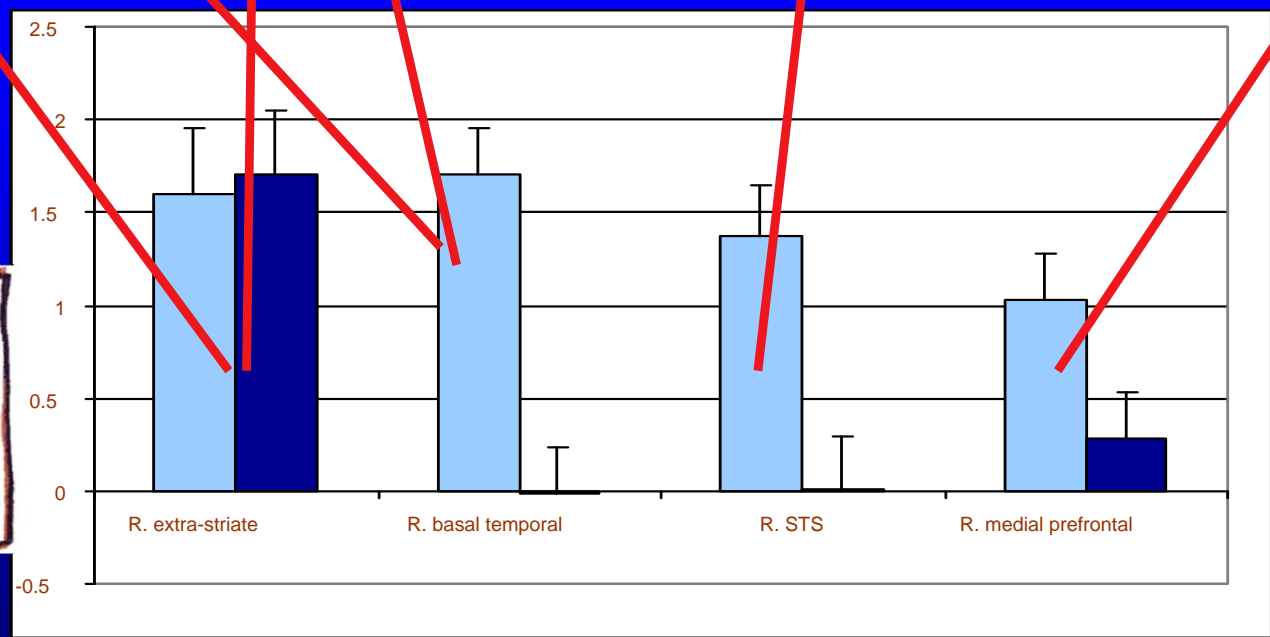
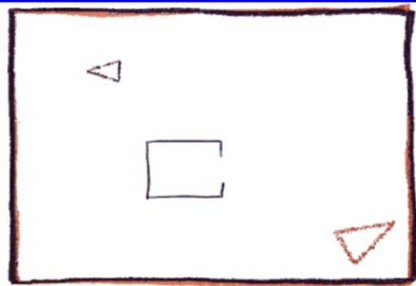
Comportement

Etudes d'imagerie cérébrale fonctionnelle

Brain activity associated with mentalising



V3 TP/amygdala LO Inferior temporal STS medial prefrontal

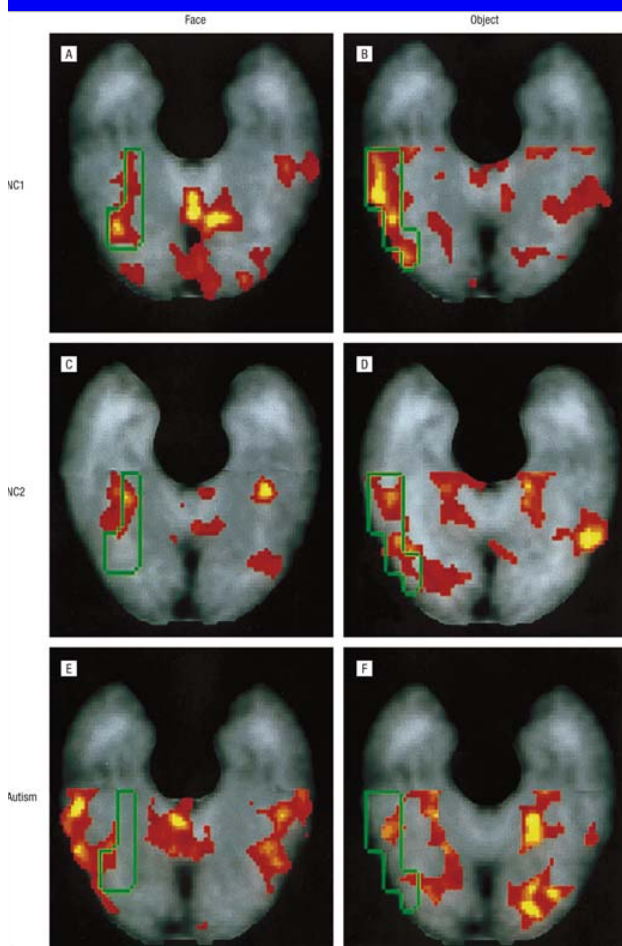


10 autistic
10 control

Face perception in autism

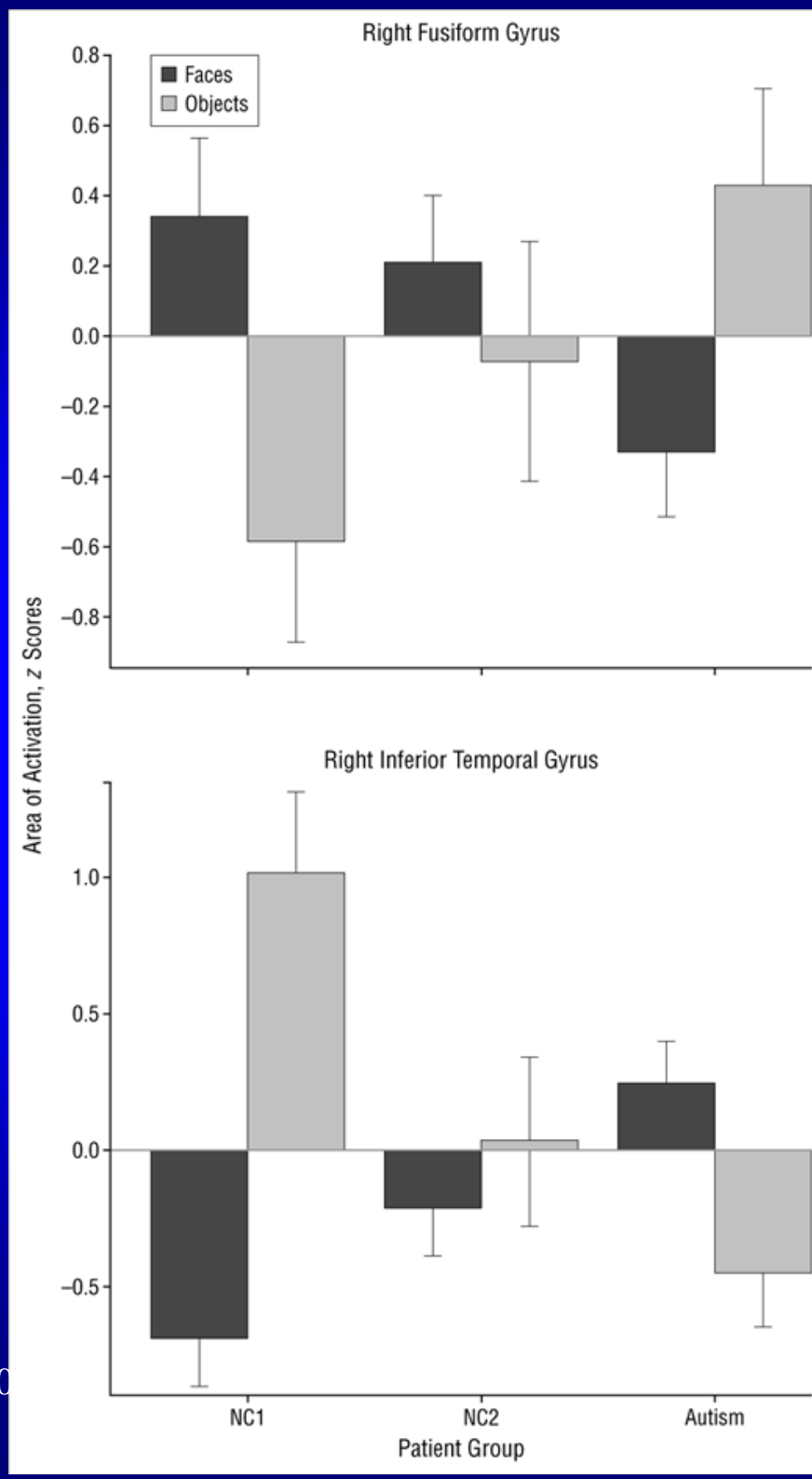
Reduced activity in the 'fusiform face area'
-3 studies

In autistic people, inferior temporal gyrus (shape) rather than fusiform gyrus (faces) is activated by faces.



Schultz et al., 2000, *Arch. Gen. Psychiatry*

Franck Ramus - 18/10/20



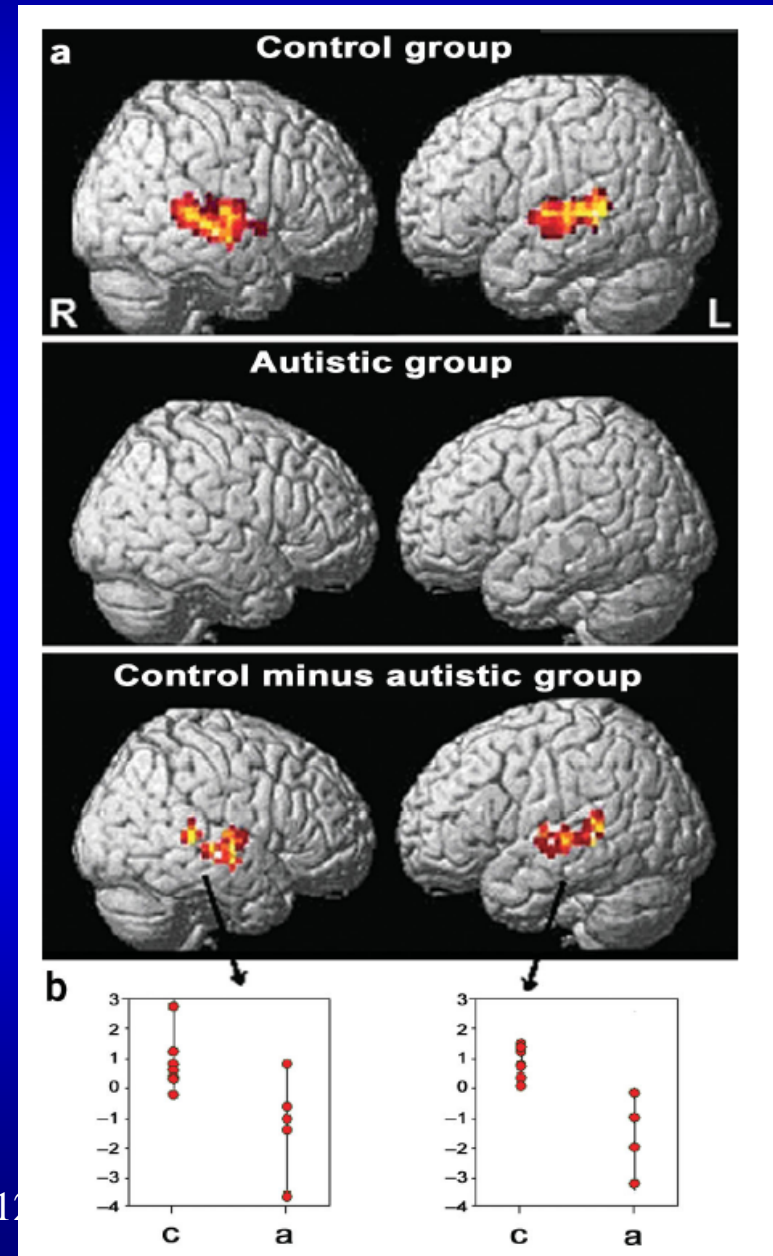
Voice processing in autism

Abnormal cortical voice processing in autism

Hélène Gervais¹, Pascal Belin^{2,3}, Nathalie Boddaert^{1,4},
Marion Leboyer⁵, Arnaud Coez¹, Ignacio Sfaello¹,
Catherine Barthélémy⁶, Francis Brunelle^{1,4}, Yves Samson^{1,7} &
Mônica Zilbovicius¹

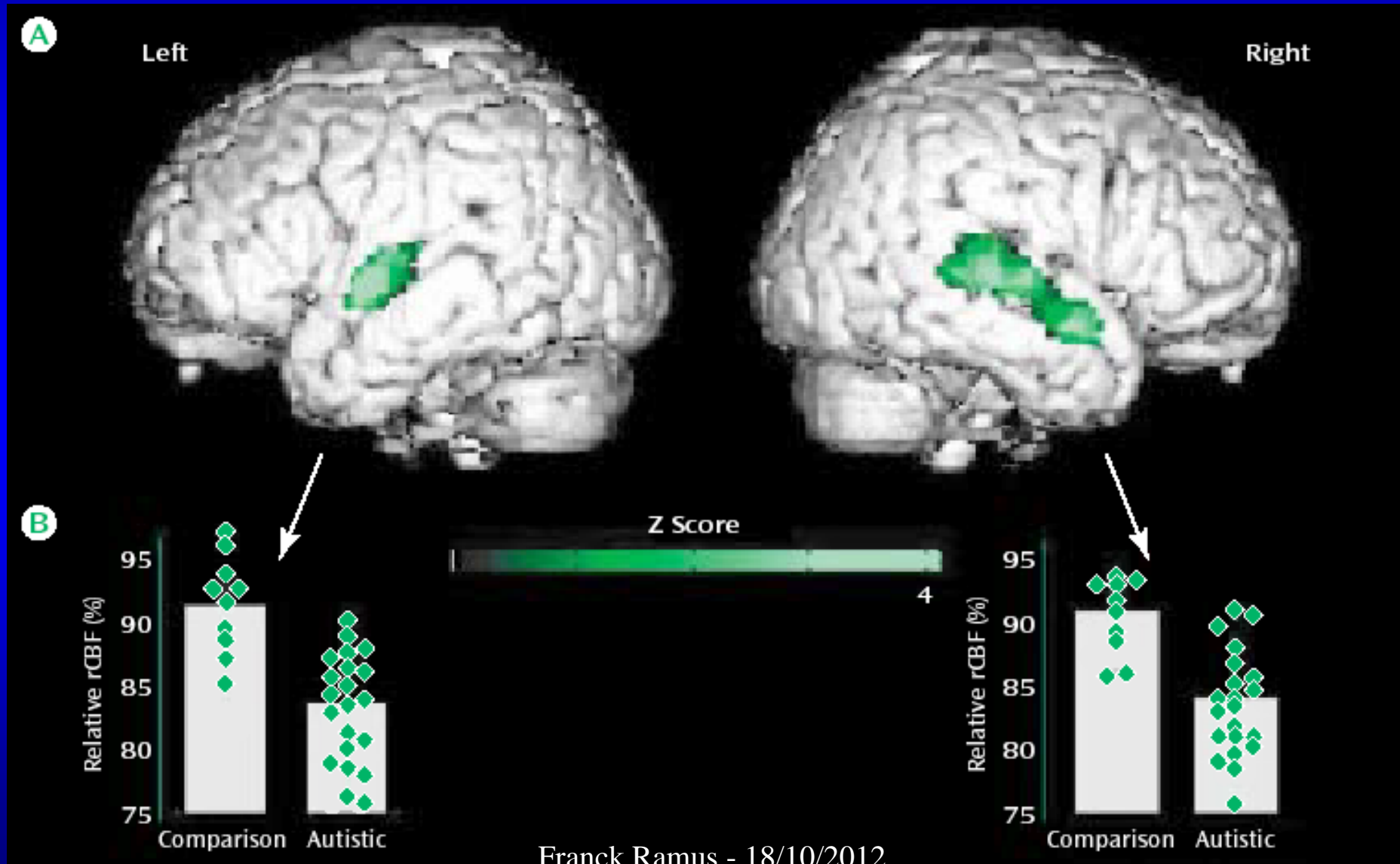
NATURE NEUROSCIENCE VOLUME 7 | NUMBER 8 | AUGUST 2004

Participants with autism can hear voices
but fail to activate voice-specific
cortical areas



Abnormal “resting” blood flow

Reduced blood flow in superior temporal sulcus bilaterally



Franck Ramus - 18/10/2012

Zilbovicius et al 2000 *Am J Psychiatry*

Etudes d'imagerie cérébrale anatomique

Cause ou conséquence?

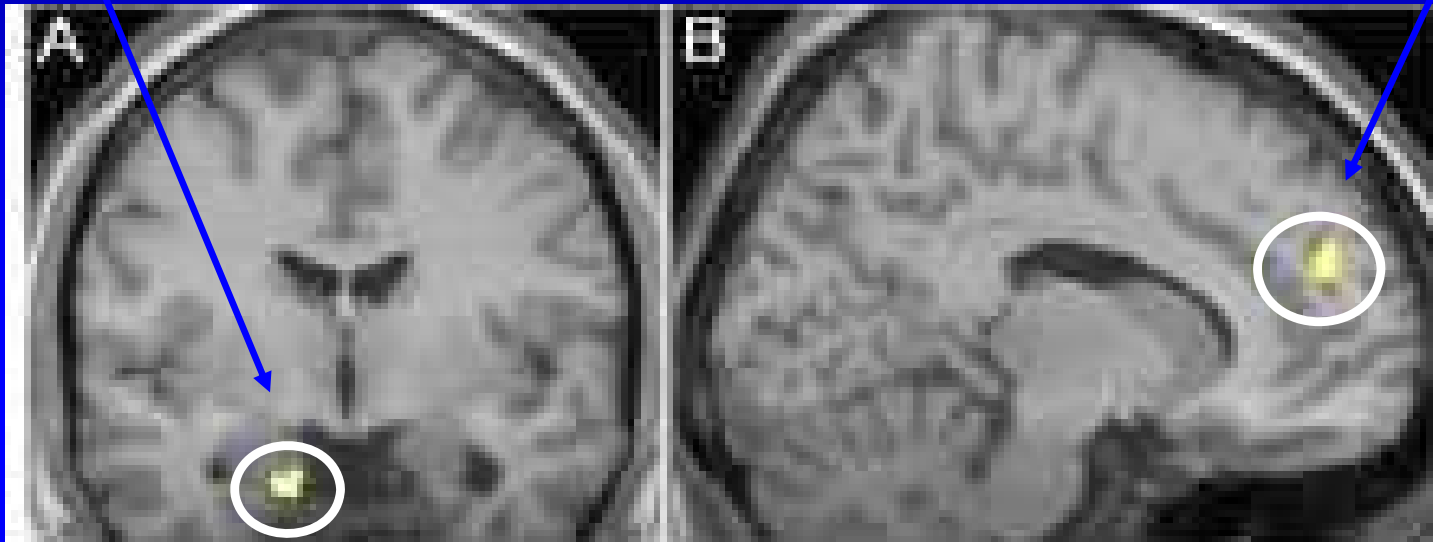
Les études d'imagerie fonctionnelle
ne montrent que des corrélats
neurofonctionnels des déficits
cognitifs.

Abnormal proportion of grey/white matter

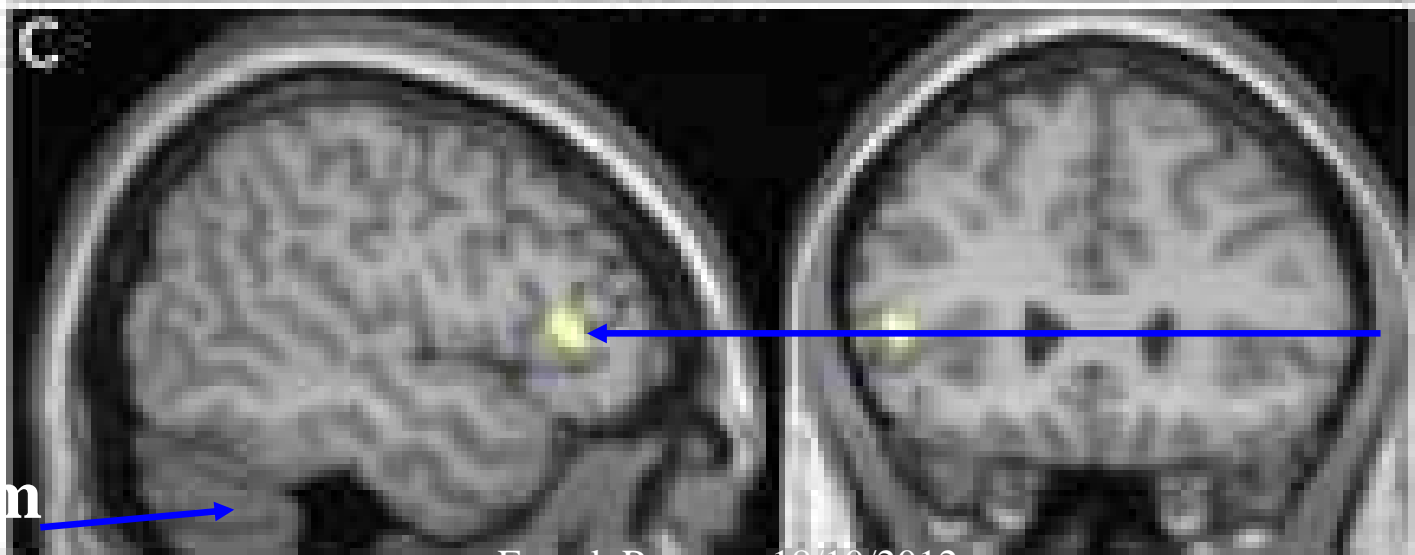
Periamygdaloid region

Medial prefrontal cortex

More



Less



Cerebellum

Inferior frontal cortex

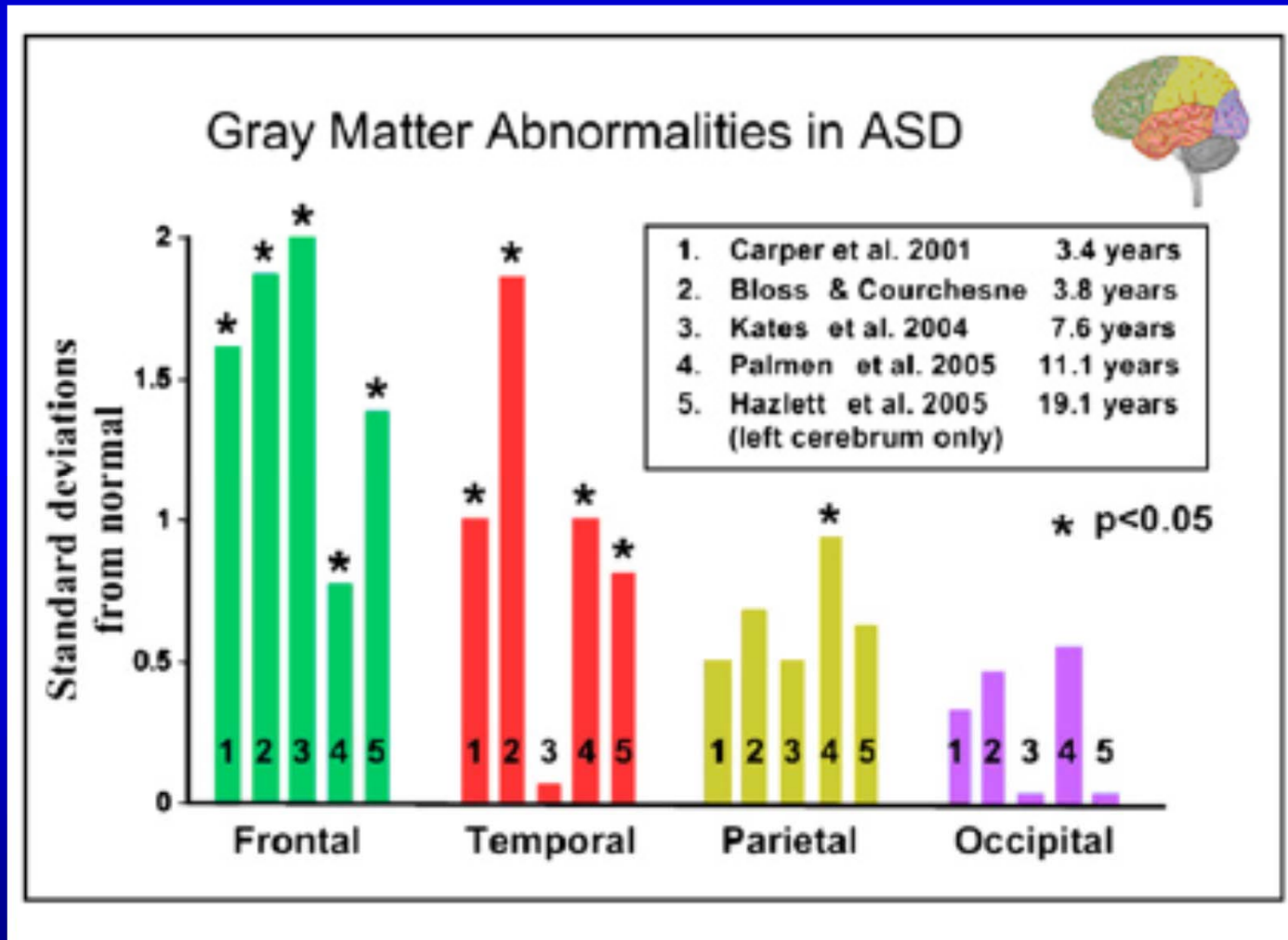
More

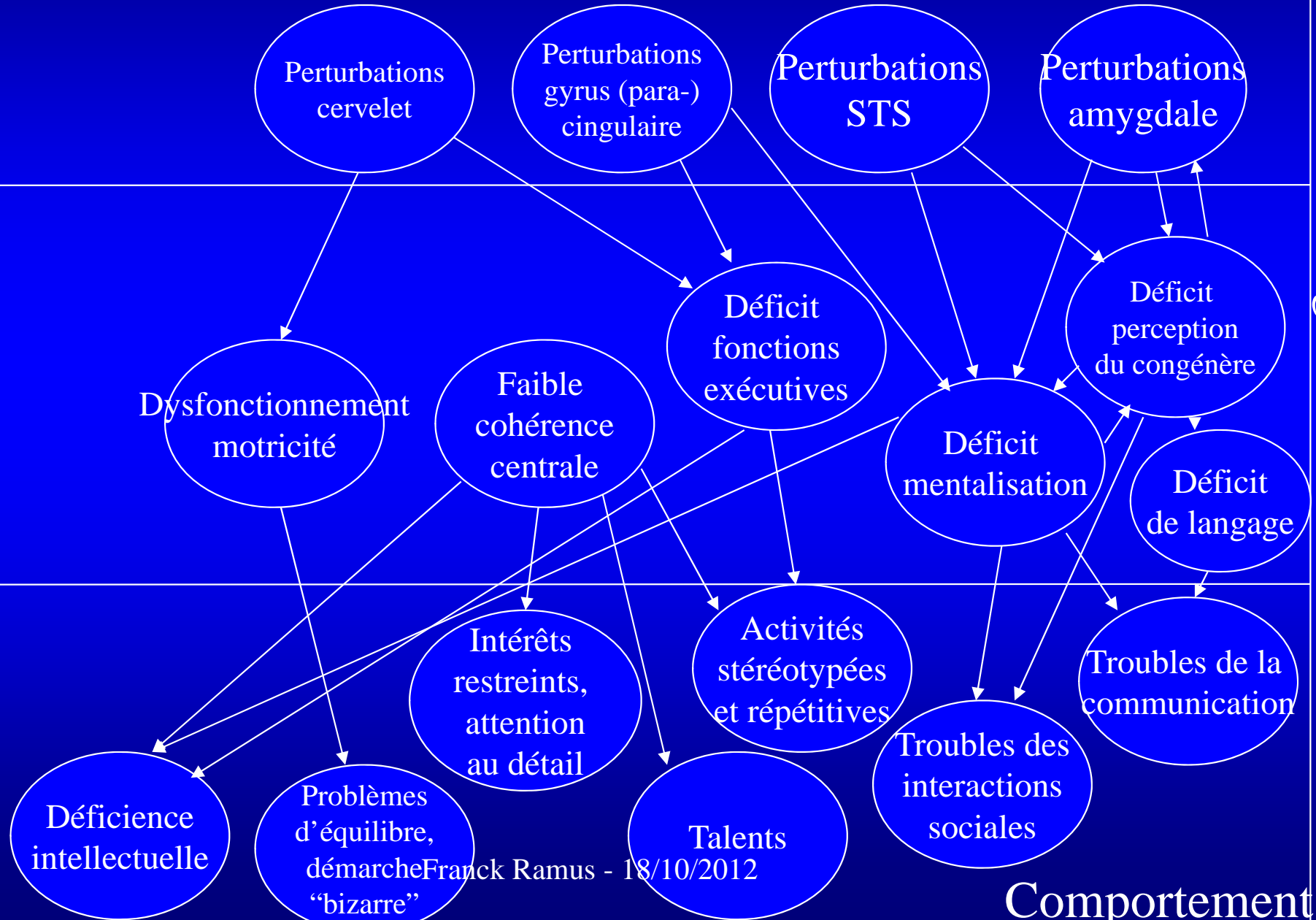
Less

Franck Ramus - 18/10/2012

VBM analysis of MRI scans (Abell et al.,1999, *Neuroreport*)

Summary of Observed Gray Matter Abnormalities (Standard Deviations from Normal) from Studies of Children and Adolescents with ASD (Courchesne et al. 2007)





Origine prénatale des différences cérébrales

Même les différences structurelles de matière grise peuvent être les effets d'une expérience et d'apprentissages différents. Pour en savoir plus, il faut remonter aux origines du développement cérébral.

Etudes neuropathologiques post-mortem

(Bailey et al. 1998 *Brain*;
Kemper & Bauman 2002 *Mol. Psychiatry*)

- Différences de nombres, de proportions et de tailles de neurones dans:
 - Système limbique (amygdale, hippocampe...)
 - Cortex préfrontal
 - Cervelet (cellules de Purkinje)
 - Tronc cérébral
- Perturbations de la migration neuronale:
 - Dysgénèse du cortex
 - Ectopies, gliose...
- Croissance cérébrale postnatale inhabituelle, certains cas de macrocéphalie.
- ...

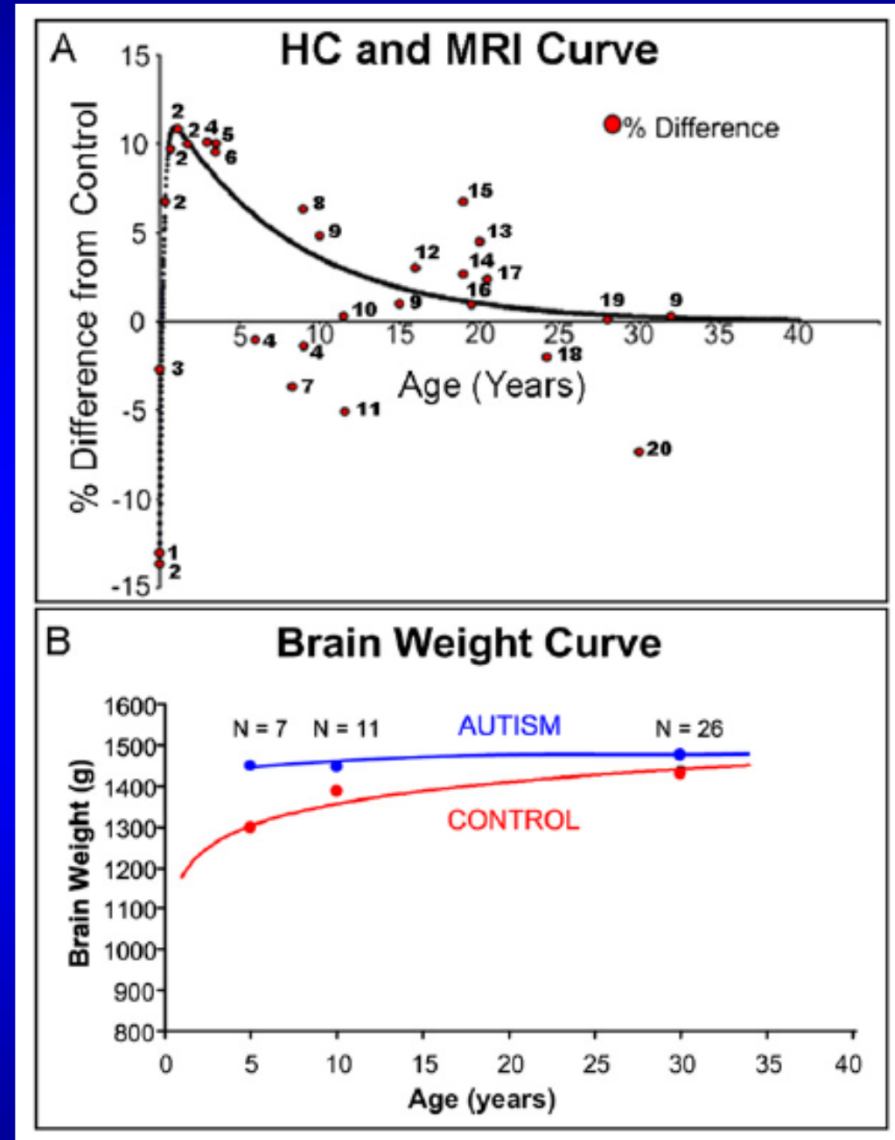
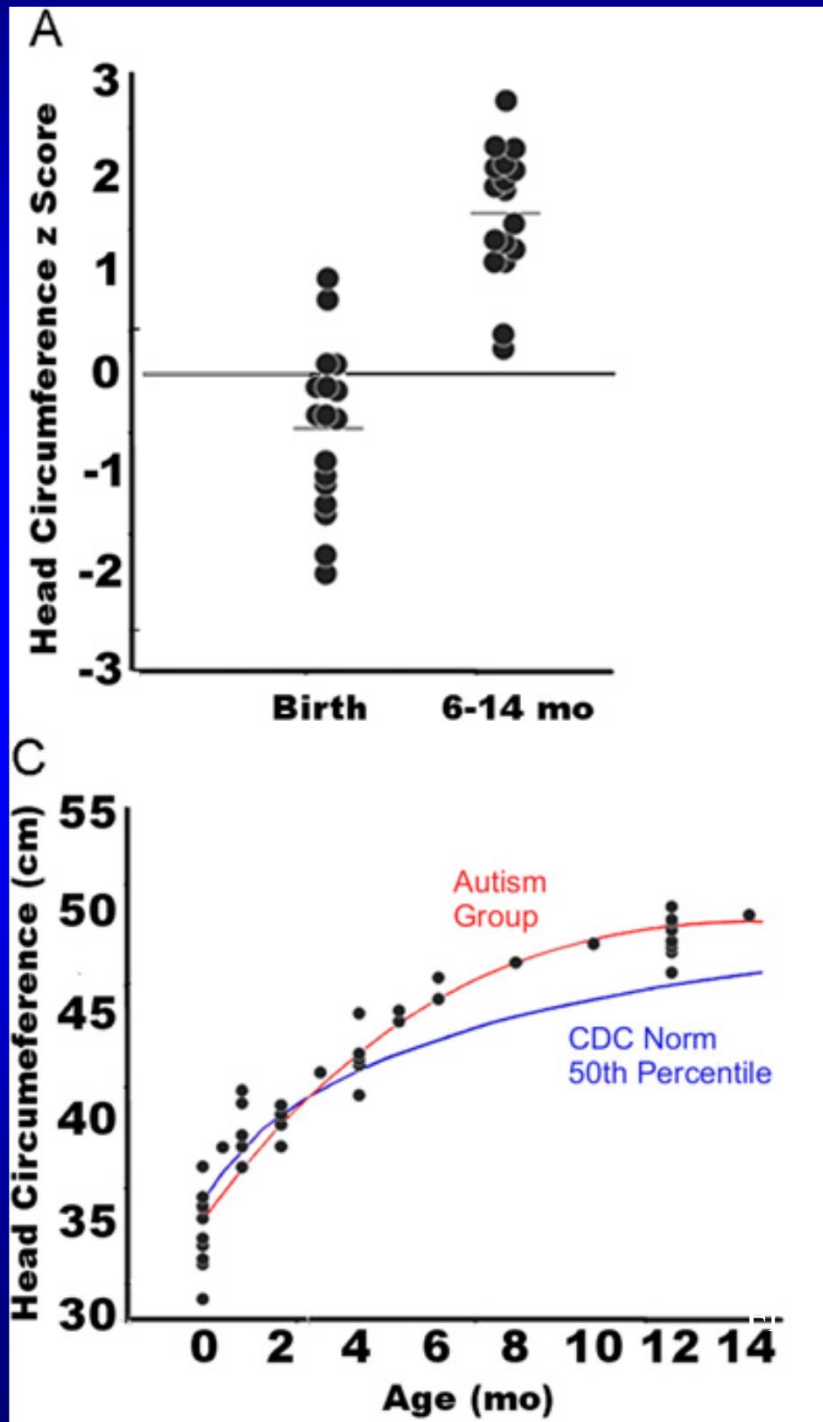
Etudes neuropathologiques post-mortem

(Bailey et al. 1998 *Brain*;

Kemper & Bauman 2002 *Mol. Psychiatry*)

- Certaines de ces différences apparaissent tardivement au cours du développement.
- D'autres apparaissent très précocement:
 - Cellules de Purkinje (28 semaines de gestation)
 - Migration neuronale et structure du néocortex (12-24 semaines)
- « Taken together these observations provide evidence for an evolving pathological process in the autistic brain that extends from the fetal period of brain development to adulthood. »
(Kemper & Bauman 2002)

Bigger brains



Clark Ramus - 18/10/2012

Courchesne et al. 2007 *Neuron*

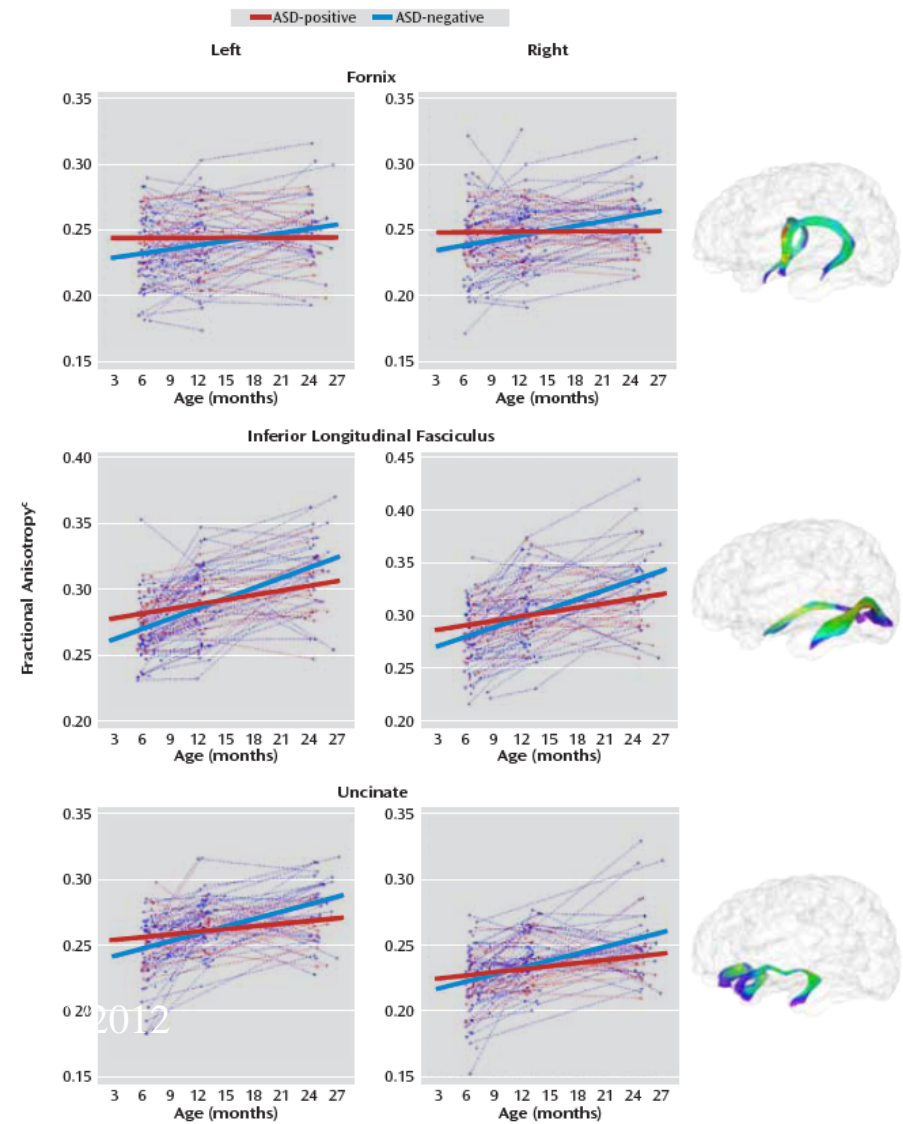
Connectivité des faisceaux de matière blanche (6-24 mois)

Wolff et al. (2012) *Am J. Psychiatry*

- Moindre croissance de la connectivité (FA) chez les enfants présentant des signes d'autisme à 24 mois.
- Faisceaux concernés: fornix, ILF, unciné, corps calleux, radiations thalamiques, capsule interne...

Franck Ramus

FIGURE 1. Trajectories of Fractional Anisotropy in Limbic and Association White Matter Fiber Tracts in 92 High-Risk Infants^a With and Without Evidence of Autism Spectrum Disorders (ASDs) at 24 Months of Age^b



Neuron Number and Size in Prefrontal Cortex of Children With Autism

Courchesne et al. (2011) *JAMA*

- Etude post-mortem de 7 enfants TSA (âge: 2-16 ans) et 7 enfants témoins appariés

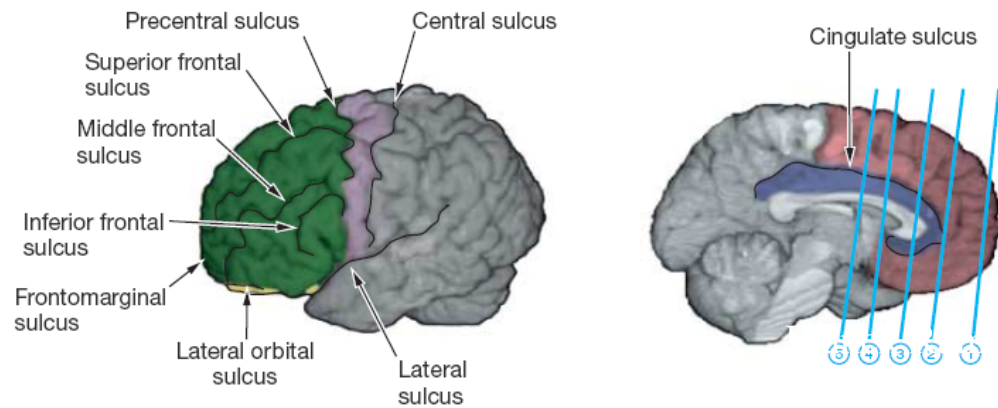
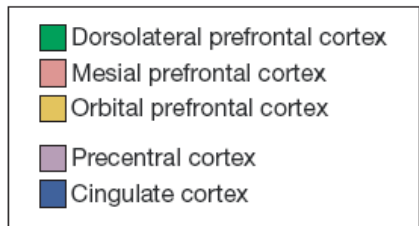
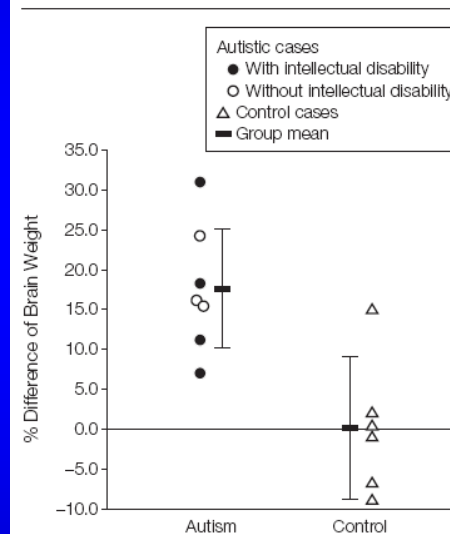
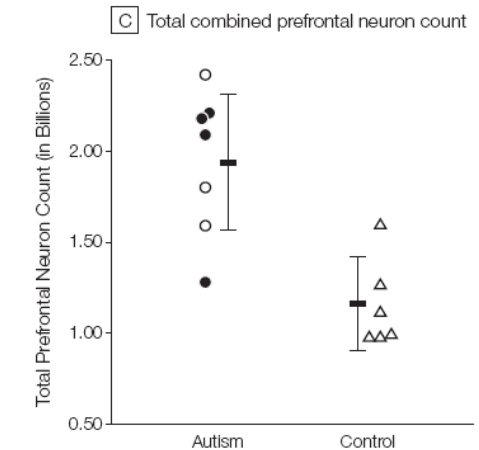


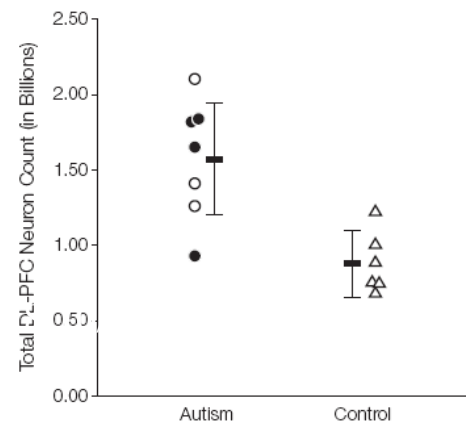
Figure 2. Difference in Brain Weight From Age-Based Norms in Autism vs Control Group



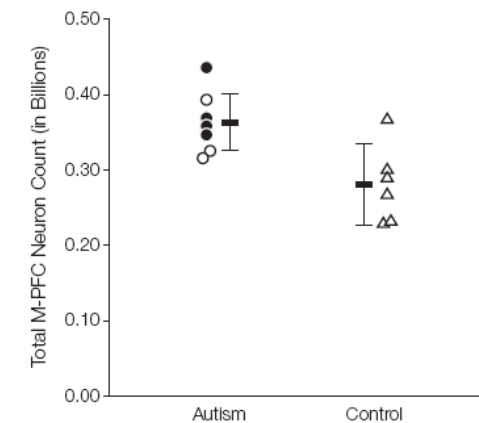
Autistic cases
● With intellectual disability
○ Without intellectual disability
△ Control cases
■ Group mean



A Dorsolateral prefrontal cortex neuron count



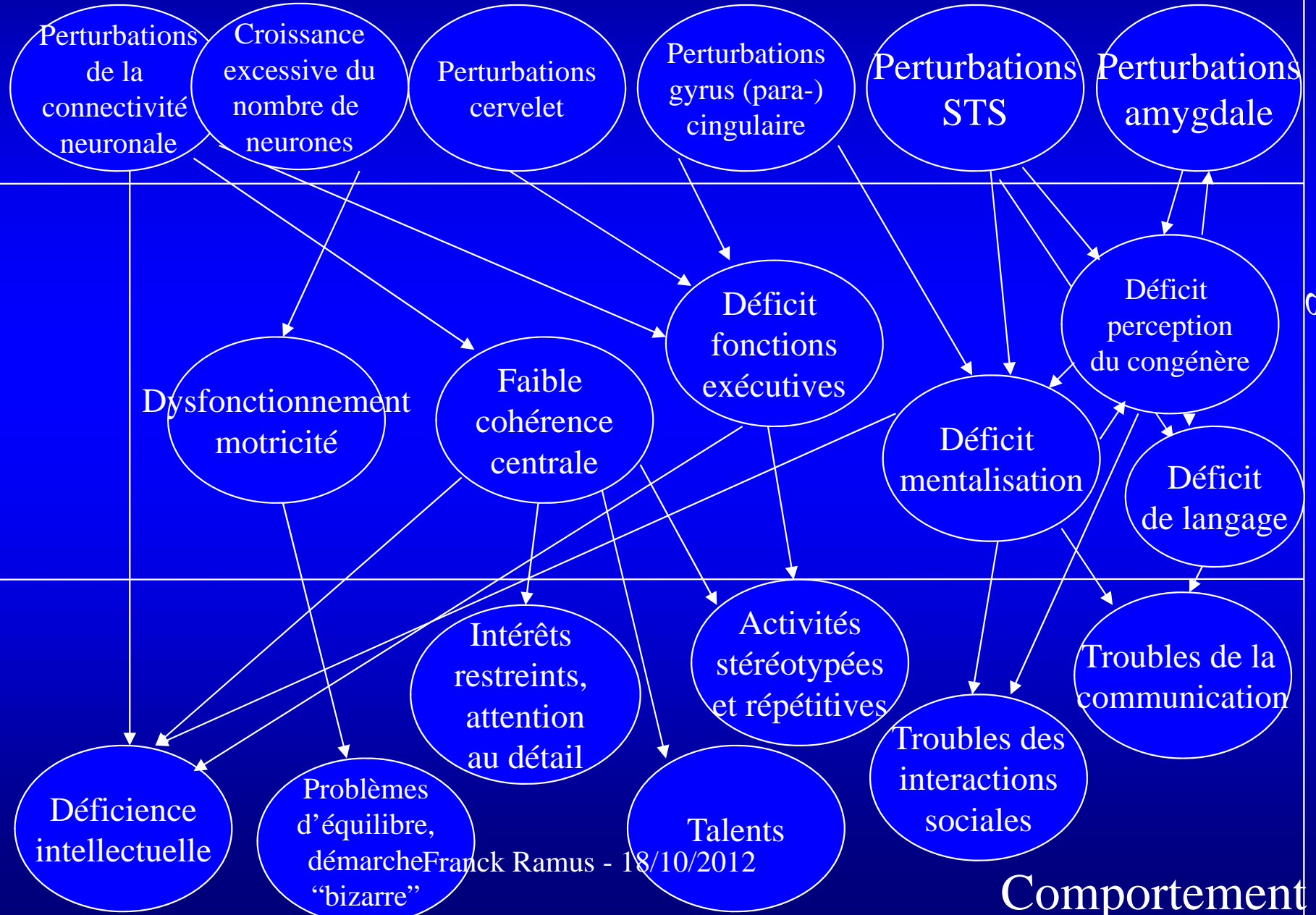
B Mesial prefrontal cortex neuron count



Conclusion

- Les études post-mortem, le suivi du périmètre crânien et les études d'imagerie cérébrale chez le bébé mettent en évidence des différences cérébrales très précoces:
 - Dès 0-6 mois pour la trajectoire anormale de la croissance du cerveau.
 - Dès la naissance pour le nombre de neurones.
 - Dès le milieu de la gestation pour certains phénomènes neuropathologiques.

Biologie



Cognition

Environnement

Comportement

Origines génétiques des différences cérébrales

Pourquoi suspecter des influences génétiques?

- Augmentation du risque chez les frères/soeurs: x 10
- Augmentation du risque chez les jumeaux dizygotes: x 100
- Augmentation du risque chez les jumeaux monozygotes: x 150
- Concordance des TSA chez les jumeaux monozygotes: 87%
- Estimation de l'héritabilité: 70% (Lundström et al. 2012, *Arch. Gen. Psychiatry*, basée sur 11535 jumeaux)

Génétique moléculaire de l'autisme

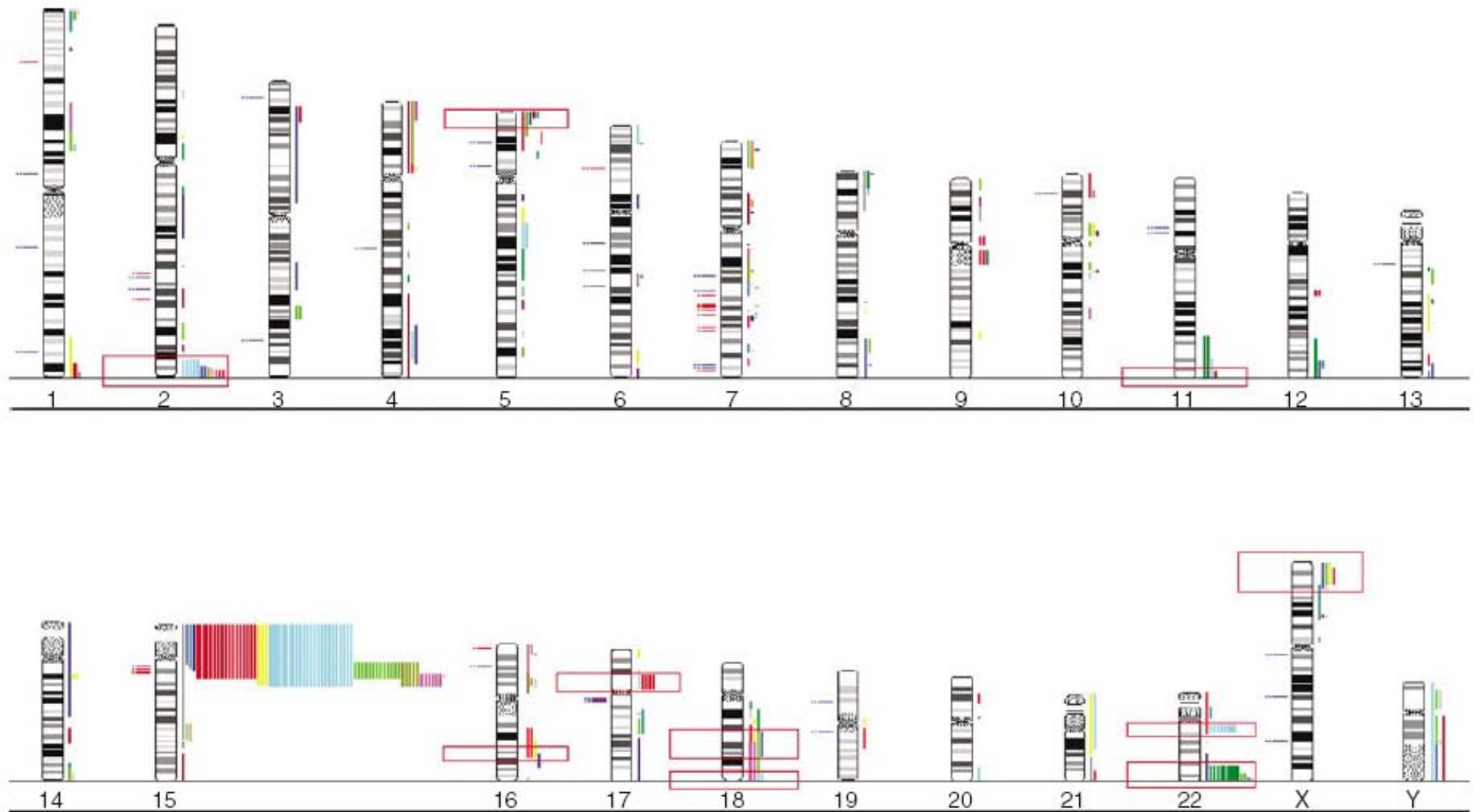


Figure 1 Overview of all Cytogenetic Regions Of Interest (CROIs) associated with the autism phenotype across the human genome. At the left side of each chromosome, linkage findings ($LOD > 2.0$) are indicated by blue two-dotted lines and significant association findings ($P < 0.05$) by red one-dotted lines. At the right side, the CROIs are represented by colored bars. Bars with the same color next to each other indicate the same CROI reported in more than one case report, and thicker bars represent more than two cases in the same case report. Red boxes indicate potential novel regions where more than four case reports overlap at the same locus, without previous linkage and/or association findings. Detailed information on the boundaries of the CROIs, as well as a systematic rating of the phenotype quality is provided in a Supplementary Table online.

Génétique moléculaire de l'autisme

Persico & Bourgeron 2006 TINS

Table 1. Genes involved in ASD^{a,b}

| Genes | Chr | Function | Evidence | Disorder | Observation | Refs |
|---|------------|-----------------------------|----------|---------------|---|------------|
| Chromatin remodeling and gene regulation | | | | | | |
| MECP2 | Xq28 | Methyl-binding protein | M | MR, Rett, ASD | Girls with autistic features, one male with ASD | [14] |
| FMRP | Xq28 | RNA-binding protein | M | MR, FXS, ASD | 20–40% of boys with FXS have ASD | [15,16,18] |
| <i>EN2</i> | 7q36 | Transcription factor | L, A | ASD | | [21–23] |
| <i>HOXA1</i> | 7p15 | Transcription factor | A | ASD | | [25–27] |
| <i>WNT2</i> | 7q31 | Transcription factor | L, A | ASD | | [24] |
| Actin cytoskeleton dynamics | | | | | | |
| TSC1/TSC2 | 9q34/16p13 | Inactivation of GTPase | M | TCS | ASD in 43–86% of TS patients | [6] |
| NF1 | 17q11 | Inactivation of GTPase | M | NF1 | Learning disabilities in 30–45% of NF1 patients | [30] |
| cAMP-GEF | 2q31 | Activation of GTPase | L, A | ASD | Rare variants observed in ASD | [31] |
| Synaptic scaffolding proteins | | | | | | |
| SHANK3 | 22q13 | Dendrite induction | CR | MR, ASD | Binding partner of NLGN | [32] |
| Receptors and transporters | | | | | | |
| <i>GRIN2A</i> | 16p13 | NMDA receptor subunit | L, A | ASD | Highly significant association | [46] |
| <i>GRIK2</i> | 6q16–21 | Kainate receptor subunit | L, A | ASD | Two independent studies | [47] |
| <i>GABAR</i> | 15q12 | GABA receptor subunit | CR | ASD | Duplication of 15q is the major CR in ASD | [45] |
| <i>SLC6A4</i> | 17p11 | Serotonin transporter | L, A, M | ASD | Evidence for allelic heterogeneity in ASD | [41] |
| <i>SLC25A13</i> | 2q31 | Aspartate–glutamate carrier | L, A | ASD | Two positive and one negative association | [48] |
| <i>OXTR</i> | 3p25–26 | Oxytocin receptor | L, A | ASD | | [49] |
| <i>AVPR1</i> | 12q14 | Vasopressin receptor | L, A | ASD | | [50] |
| Second-messenger systems | | | | | | |
| <i>PRKCB1</i> | 16p11.2 | Protein kinase | L, A | ASD | | [52] |
| CACNA1C | 12p13.3 | Ca ²⁺ channel | M | TS, ASD | Multiorgan dysfunction | [55] |
| <i>NBEA</i> | 13q13 | PKA anchor protein | L, CR | ASD | | [51] |
| Cell adhesion molecules | | | | | | |
| NLGN4 | Xp22.3 | Synapse formation | L, CR, M | MR, ASD | Typical autism, Asp | [61–65] |
| NLGN3 | Xq13.1 | Synapse formation | L, M | MR, ASD | Typical autism, Asp | [61–65] |
| <i>NrCAM</i> | 7q31 | Neuronal migration | L, A | ASD | | [70] |
| Secreted proteins | | | | | | |
| <i>RELN</i> | 7q22 | Neuronal migration | L, A | ASD | | [77] |
| <i>LAMB1</i> | 7q31 | Cell migration | L, A | ASD | | [70] |

^aGenes carrying causal mutations are indicated in bold; the remaining genes are strong candidates found within a linkage region and/or associated with ASD, but no mutation or other disease-causing alteration has yet been reported.

^bAbbreviations: A, association; ASD, autism spectrum disorder; Asp, Asperger syndrome; Chr, chromosome; CR, chromosomal rearrangement; FXS, fragile X syndrome; L, linkage; M, mutation; MR, mental retardation; NF1, neurofibromatosis type 1; TCS, tuberous sclerosis; TS, Timothy syndrome.

Screening des NLGN3 et NLGN4 dans 158 familles avec autisme

Jamain, S., Quach, H., Betancur, C., Råstam, M., Colineaux, C., Gillberg, I. C., et al. (2003). *Nat Genet*, 34(1), 27-29.

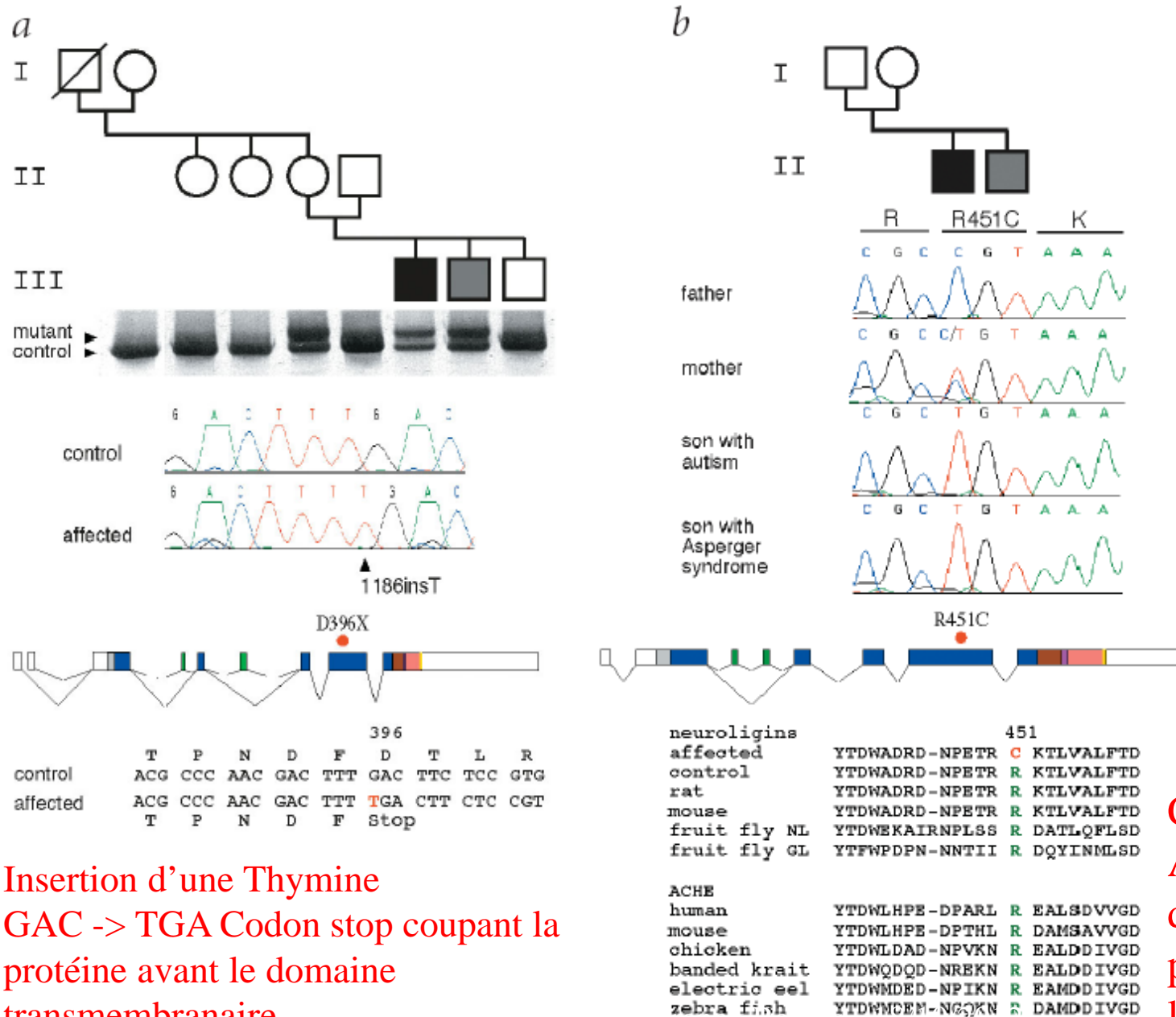


Fig. 2 Screening for mutations in *NLGN3* and *NLGN4* in autistic individuals. **a**, Identification of the frameshift *NLGN4* mutation in two individuals with autism and Asperger syndrome. Pedigree structure and the abnormal single-strand conformation polymorphism are shown. Using *NLGN4*-specific primers, sequence of the PCR product identified a 1-bp insertion (1186insT) in the mother and her two affected sons, which was absent in the father and the unaffected son. This insertion occurs in exon 5 of *NLGN4* and causes a frameshift that leads to the premature termination of *NLGN4*, which thus lacks 421 amino acids (51% of the protein), including the transmembrane domain. **b**, Identification of the mutation in *NLGN3*. The family includes a son with autism and his younger brother with Asperger syndrome. The R451C mutation is localized in the esterase domain of the protein and modifies a highly conserved arginine residue present in neuroligins and acetylcholine esterase (ACHE). Affected individuals are indicated by filled symbols (black for autism and gray for Asperger syndrome). Squares represent males, circles represent females and a line

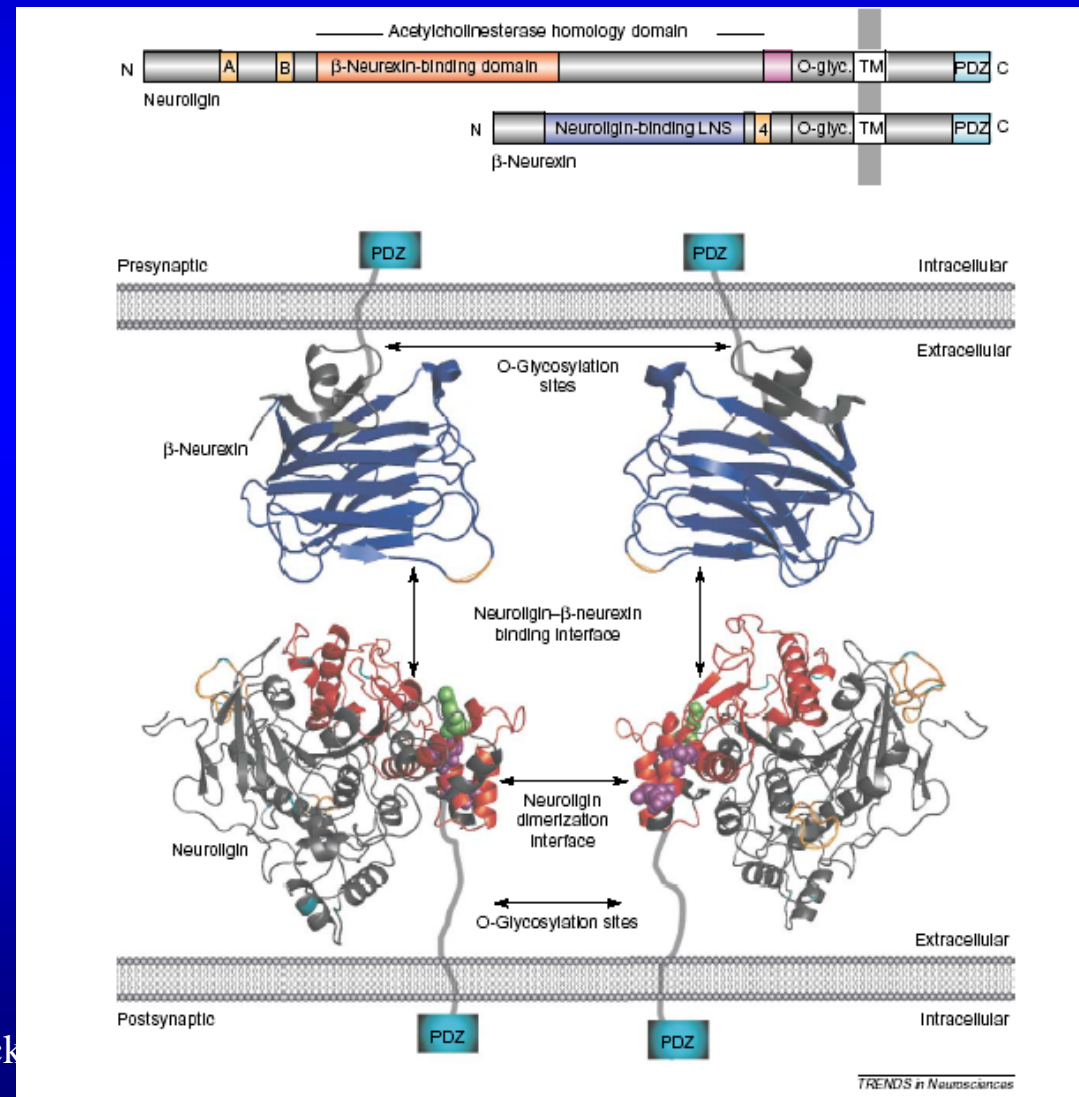
Insertion d'une Thymine
GAC -> TGA Codon stop coupant la
protéine avant le domaine
transmembranaire

Cytosine->Thymine
Arginine -> cysteine
dans un domaine de la
protéine important pour
la liaison avec les partenaires
pré-synaptiques

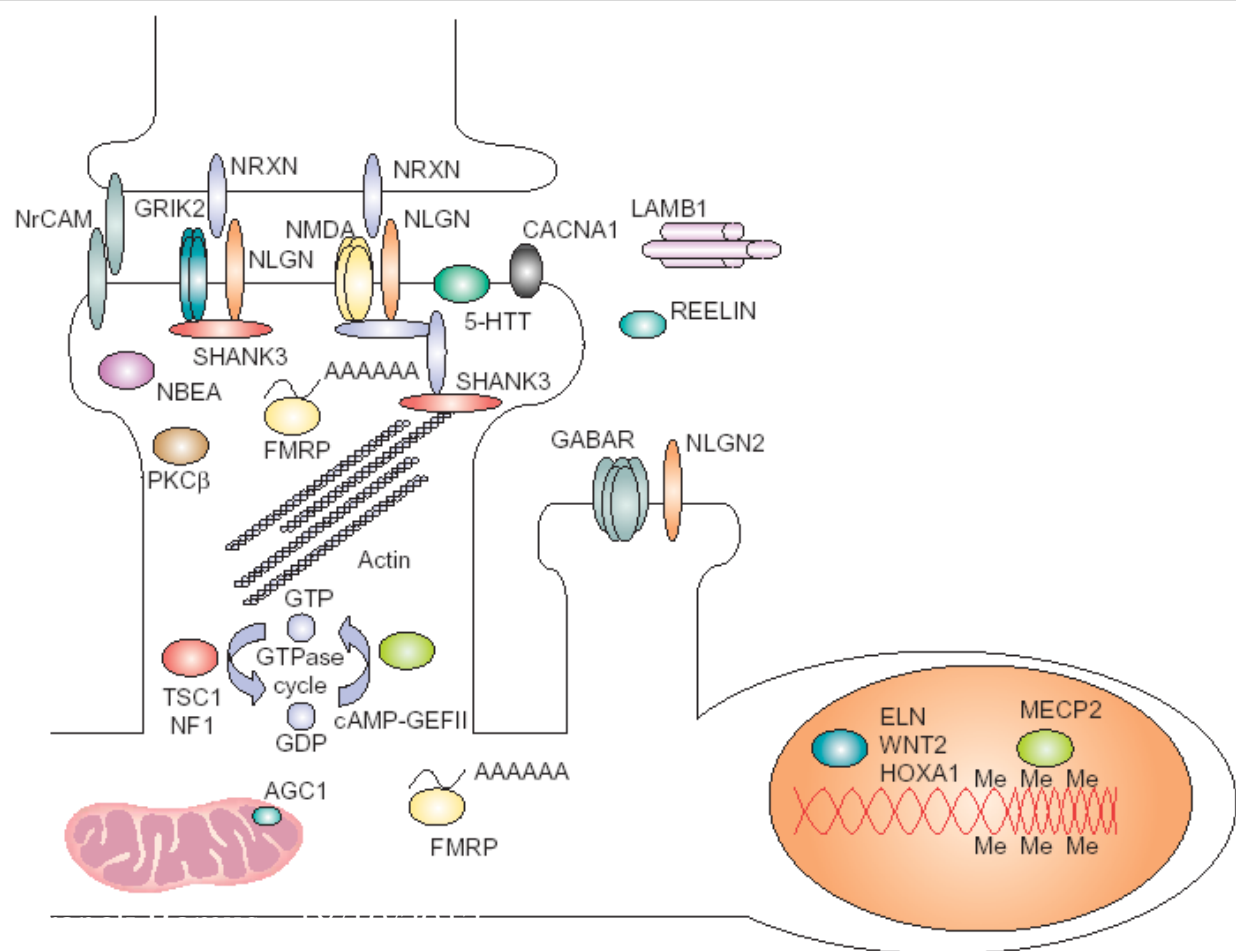
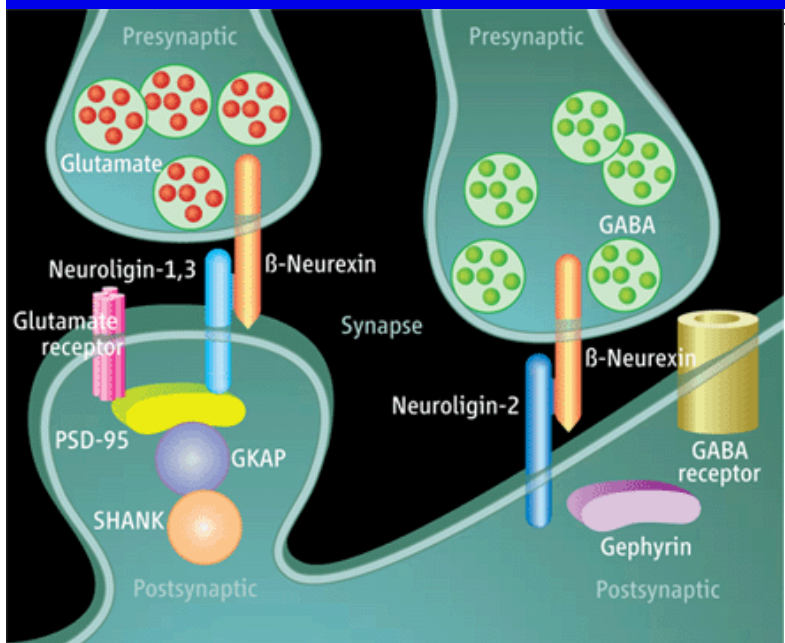
Rôle des neuroligines et des neurexines dans la synaptogénèse

Dean & Dresbach 2006 TINS

La neurexine, partenaire présynaptique des neuroligines, est également associée à certains cas d'autisme.



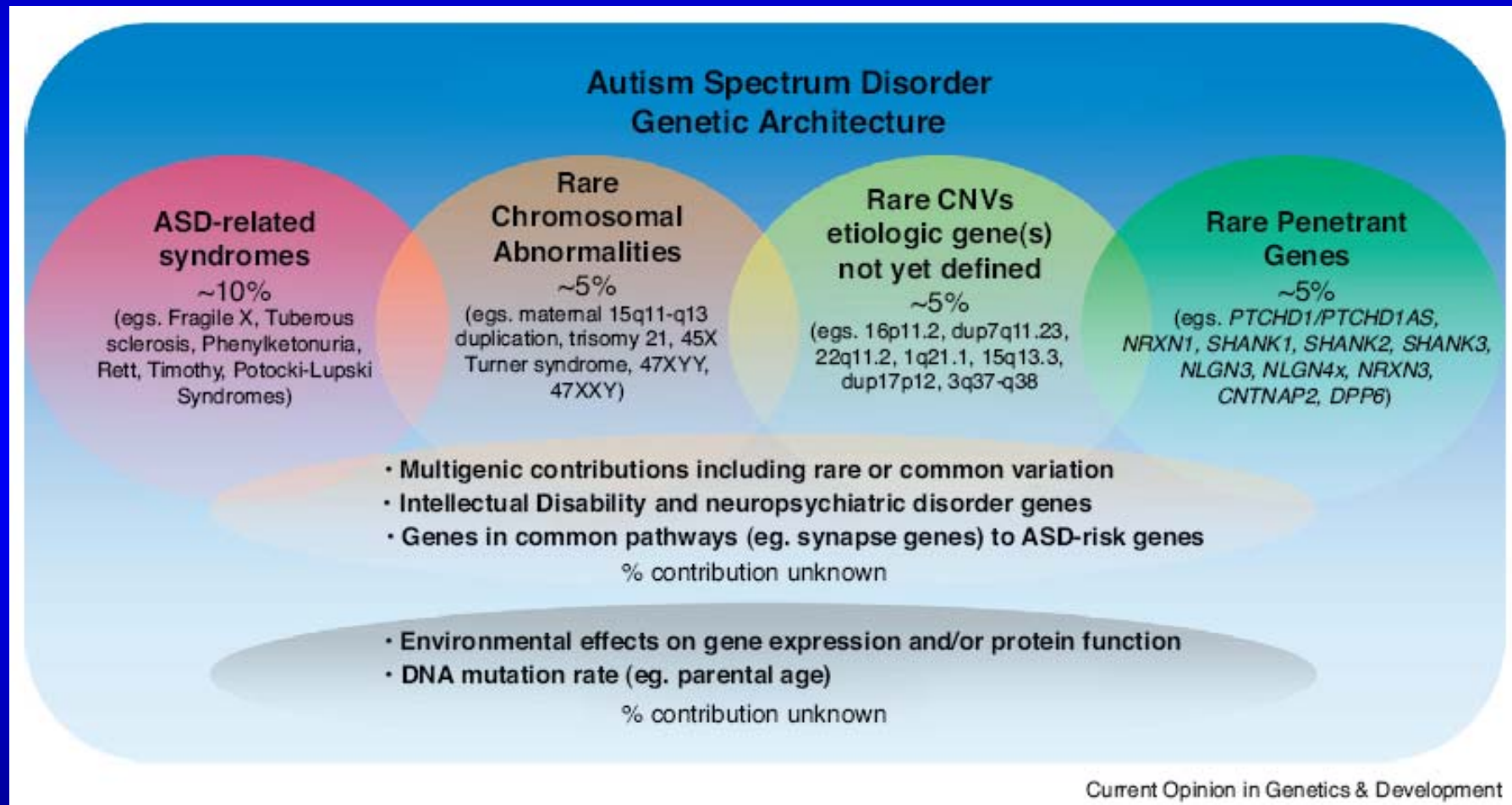
Persico, A. M., & Bourgeron, T. (2006). Searching for ways out of the autism maze: genetic, epigenetic and environmental clues. *Trends in Neurosciences*, 29(7), 349-358.



De nombreux gènes impliqués dans la synaptogénèse et le fonctionnement synaptique sont associés à l'autisme.

Différents types de contributions génétiques

(Devlin & Scherer, 2012)

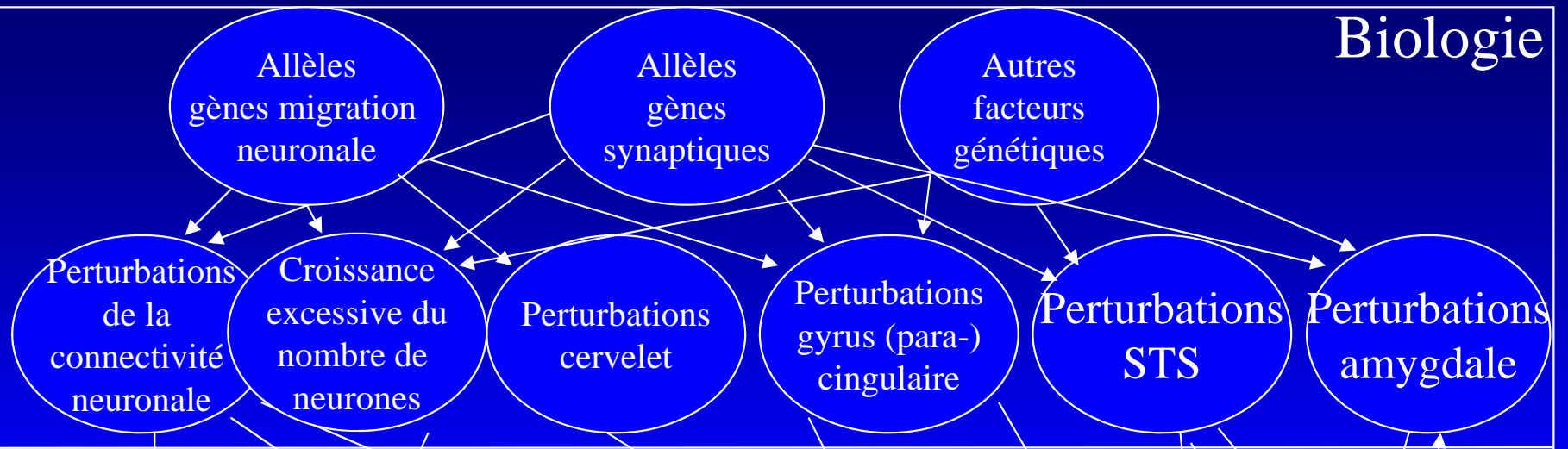


La proportion de cas expliqués par des mutations rares est constamment réévaluée à la hausse.

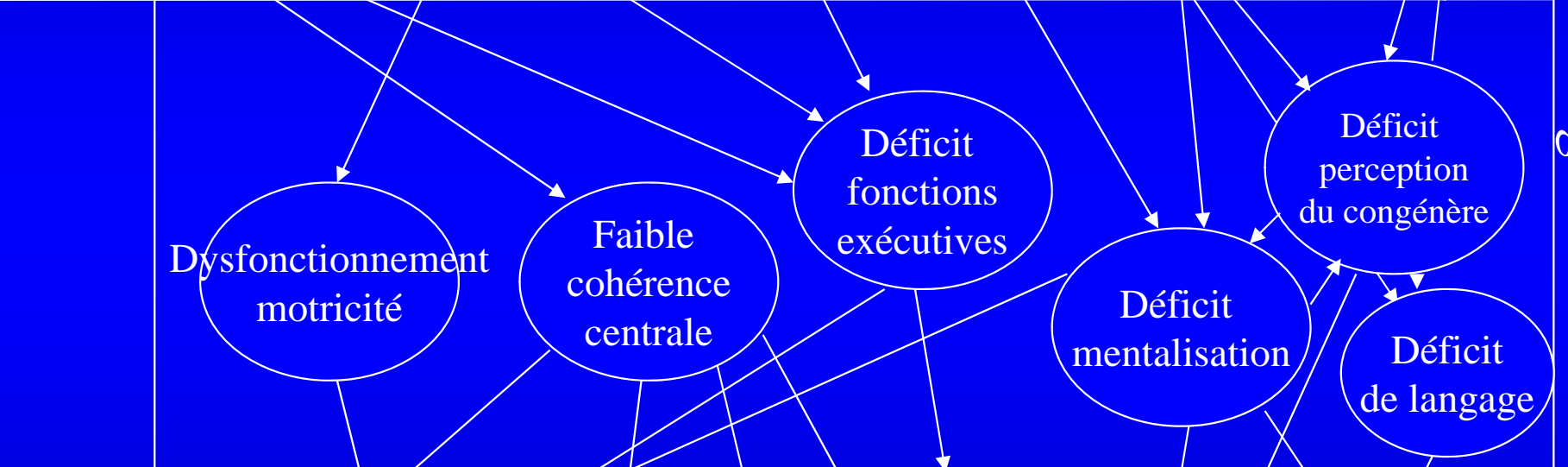
Franck Ramus - 18/10/2012

Actuellement: au moins 25%.

Biologie



Cognition



Environnement



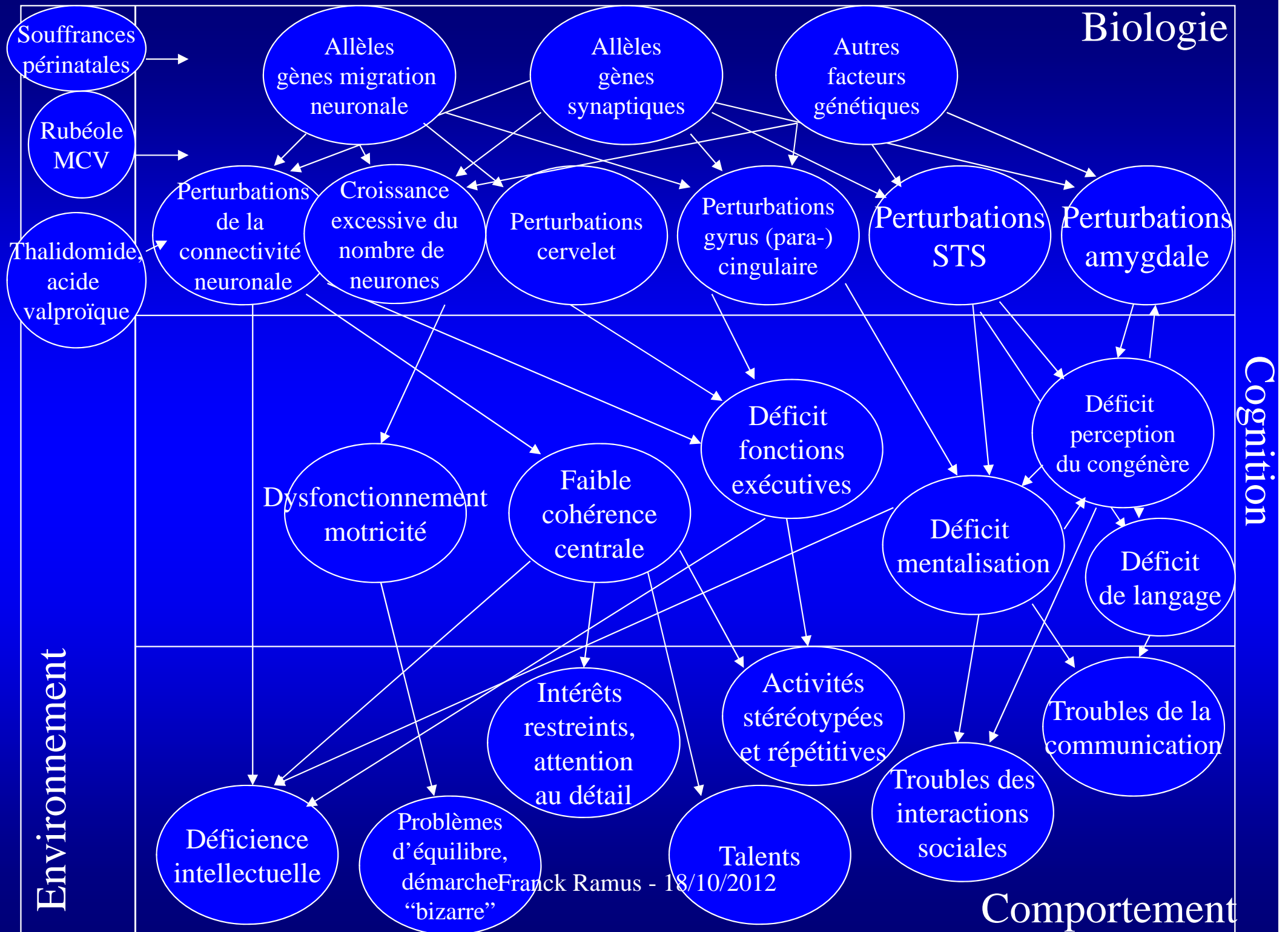
Comportement

Origines environnementales des différences cérébrales

La prédominance statistique de facteurs génétiques n'exclut en rien l'influence de facteurs environnementaux.

Facteurs non génétiques

- Prouvés:
 - Agents viraux: rubéole, cytomégalovirus...
 - Agents toxiques: thalidomide, acide valproïque...
 - Facteurs périnataux: prématurité, souffrance...
- Possibles:
 - Traitement prénatal aux antidépresseurs (SSRI)
 - organophosphates (pesticides); interaction GxE.
- Non prouvés ou réfutés:
 - Mercure, thimerosal (vaccin ROR).
 - Attitude des parents
 - Dépression maternelle



L'hétérogénéité des troubles du spectre autistique

- La plupart des études ci-dessus donnent des résultats moyens.
- Mais de plus en plus donnent des données individuelles permettant de mesurer la prévalence de ces résultats au sein des TSA.
- Chaque individu est unique:
 - Possède une combinaison unique de facteurs génétiques et environnementaux.
 - Possède un ensemble spécifique de différences cérébrales.
 - Possède un profil cognitif spécifique.

Avec de
grandes
tendances
générales

Y a-t-il une différence qualitative
entre autisme de Kanner et TSA?

Aux niveaux cognitif et cérébral

- Les TSA présentent les mêmes phénotypes que les autistes typiques, éventuellement dans une forme atténuée.
- Aucune donnée pouvant suggérer que les TED-NOS forment une entité distincte.

Etude de Schultz et al. (2000)

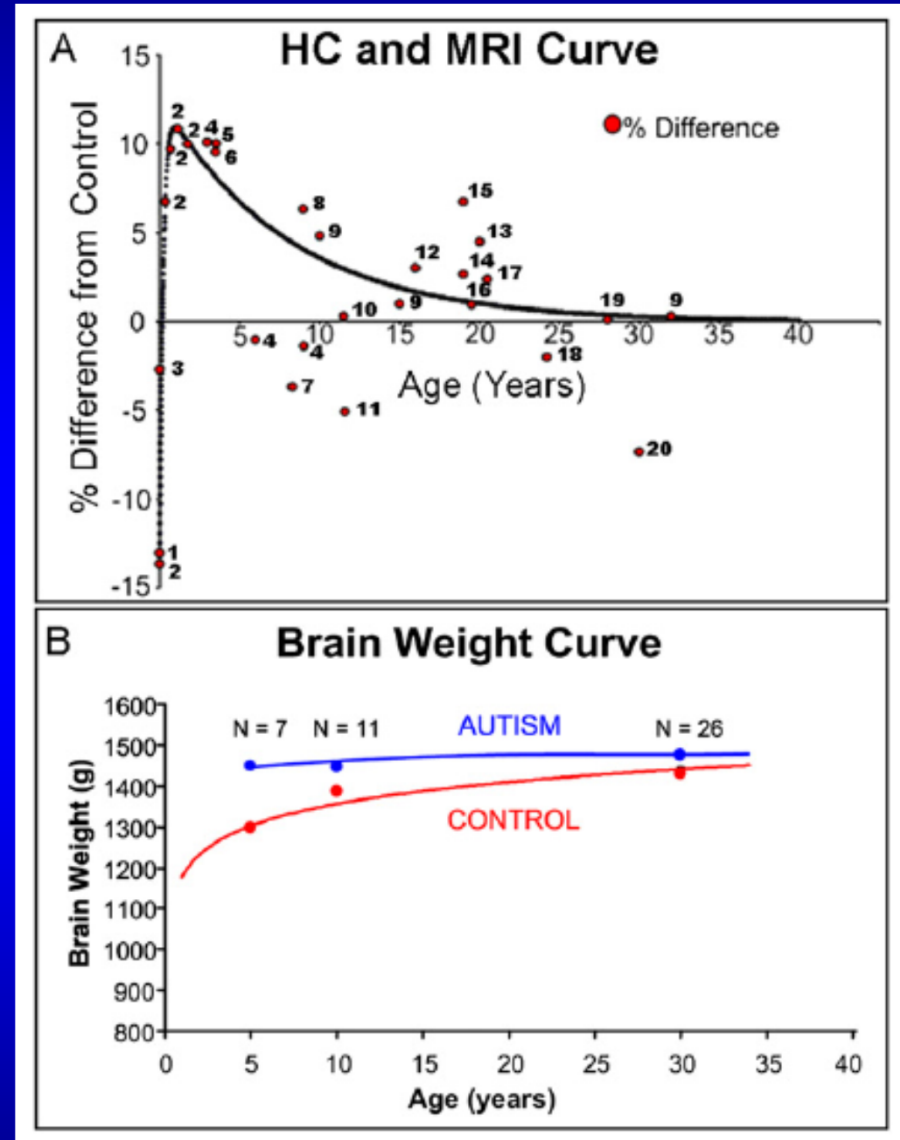
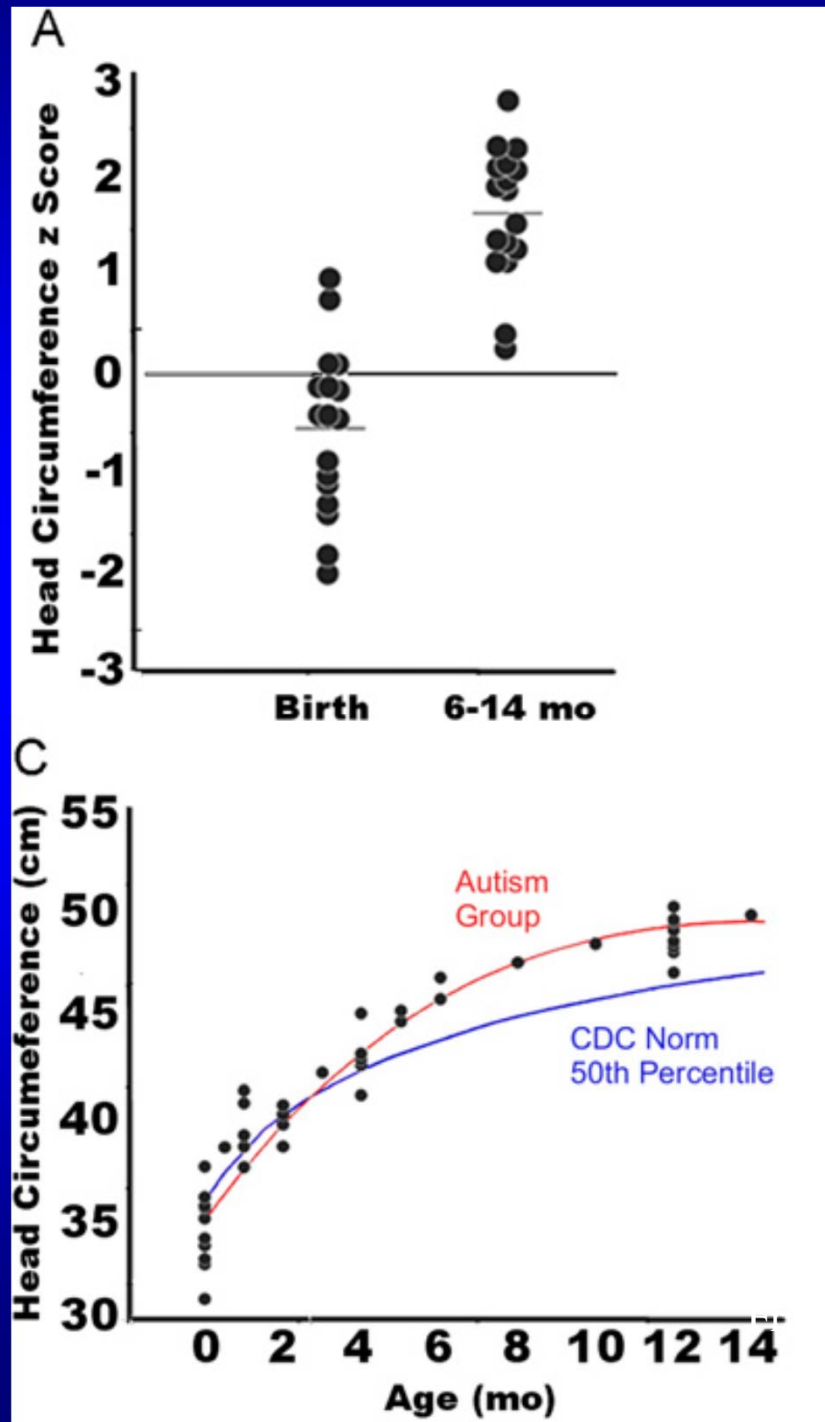
Table 1. Scores for the ADI-R and the Vineland Adaptive Behavior Scale

| | Autism Spectrum Groups, Mean (SD) [Range] | | |
|--|---|-----------------------|----------------------------------|
| | Combined Group (n=14) | Autism Subgroup (n=8) | Asperger Syndrome Subgroup (n=6) |
| ADI-R Social Domain (cutoff for diagnosis of autism, 10) | 17.7 (4.7) [11-25] | 19.0 (4.0) [11-22] | 15.6 (5.6) [11-25] |
| ADI-R Communication Domain (cutoff for autism, 8) | 12.9 (4.4) [6-21] | 13.9 (3.8) [10-21] | 11.4 (5.3) [6-17] |
| ADI-R Stereotypy Domain (cutoff for autism, 3) | 6.7 (2.6) [3-11] | 7.3 (2.6) [3-11] | 5.8 (2.6) [3-10] |
| ADI-R Onset (cutoff for autism, 1) | 1.8 (1.8) [0-5] | 2.9 (1.4) [1-5] | 0 |
| Vineland Composite SS | 62.9 (17.2) [25-100] | 64.9 (9.0) [48-76] | 60.3 (25.3) [25-100] |
| Vineland Communication SS | 81.1 (20.5) [38-109] | 82.0 (17.0) [55-104] | 80.0 (26.1) [38-109] |
| Vineland Daily Living Skills SS | 73.7 (12.1) [20-106] | 79.6 (19.2) [54-106] | 65.8 (32.6) [20-74] |
| Vineland Motor SS | 100.1 (18.9) [52-113] | 108.6 (5.7) [97-113] | 85.3 (25.8) [52-108] |
| Vineland Social SS | 48.8 (25.7) [27-119] | 49.6 (3.9) [46-58] | 47.7 (19.0) [27-119] |

*ADI-R indicates Autism Diagnostic Interview-Revised; SS, standard score.

Initial analyses of fMRI data employed both subgroups, but because there were no significant subgroup differences on any fMRI measure ($P > .50$ for all comparisons) subjects were collapsed into 1 patient group for all subsequent analyses (hereafter referred to as the autism group).

Croissance cérébrale anormale pour tous les TSA



Héritabilité

- Héritabilité pour l'autisme typique (prévalence 0.4%): 59%
- Héritabilité pour le TSA au sens large: 88%
- Conclusion: les facteurs génétiques sous-jacents expliquent mieux la transmission du TSA que de l'autisme typique.

Screening des NLGN3 et NLGN4 dans 158 familles avec autisme

Jamain, S., Quach, H., Betancur, C., Råstam, M., Colineaux, C., Gillberg, I. C., et al. (2003). *Nat Genet*, 34(1), 27-29.

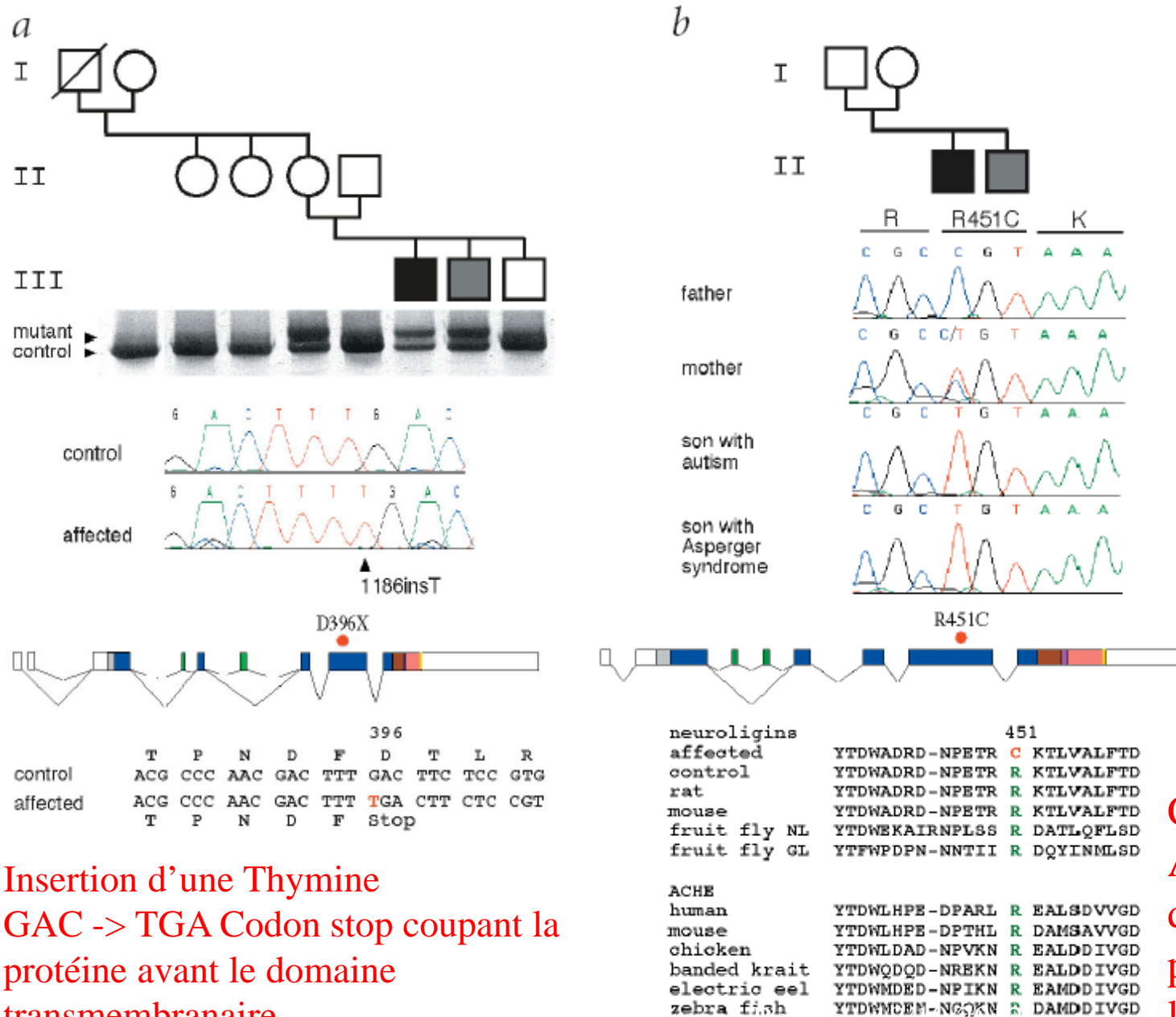


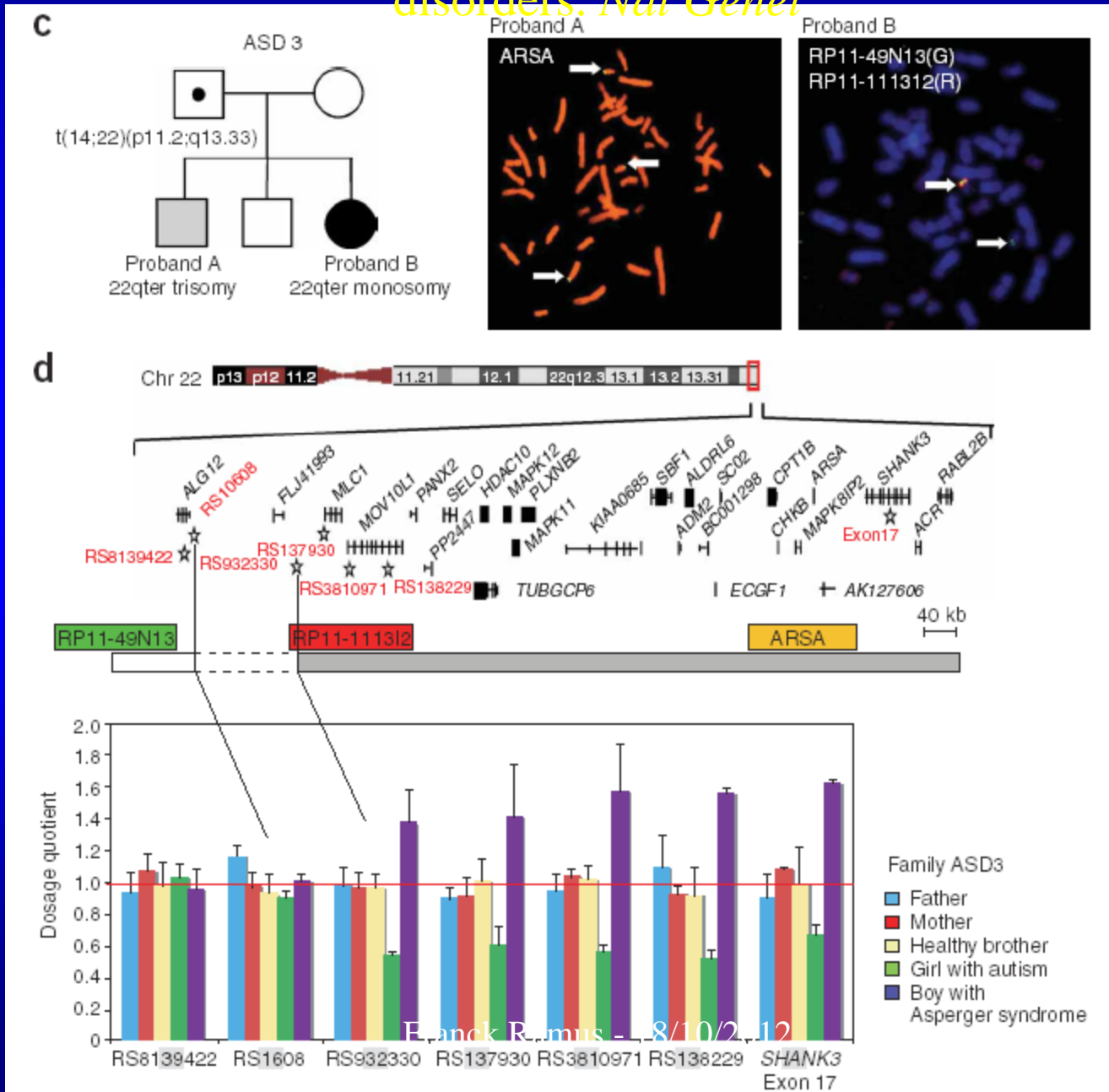
Fig. 2 Screening for mutations in *NLGN3* and *NLGN4* in autistic individuals. **a**, Identification of the frameshift *NLGN4* mutation in two individuals with autism and Asperger syndrome. Pedigree structure and the abnormal single-strand conformation polymorphism are shown. Using *NLGN4*-specific primers, sequence of the PCR product identified a 1-bp insertion (1186insT) in the mother and her two affected sons, which was absent in the father and the unaffected son. This insertion occurs in exon 5 of *NLGN4* and causes a frameshift that leads to the premature termination of *NLGN4*, which thus lacks 421 amino acids (51% of the protein), including the transmembrane domain. **b**, Identification of the mutation in *NLGN3*. The family includes a son with autism and his younger brother with Asperger syndrome. The R451C mutation is localized in the esterase domain of the protein and modifies a highly conserved arginine residue present in neuroligins and acetylcholine esterase (ACHE). Affected individuals are indicated by filled symbols (black for autism and gray for Asperger syndrome). Squares represent males, circles represent females and a line

Insertion d'une Thymine
GAC -> TGA Codon stop coupant la
protéine avant le domaine
transmembranaire

Cytosine->Thymine
Arginine -> cysteine
dans un domaine de la
protéine important pour
la liaison avec les partenaires
pré-synaptiques

Mutations identiques pour autisme typique et Asperger

Durand, C. M., Betancur, C., Boeckers, T. M., Bockmann, J., Chaste, P., Fauchereau, F., et al. (2007). Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet*



Franck R. Mus - 8/10/2012

Classifications internationales

- Le DSM-V tiendra compte de l'ensemble des données cognitives, cérébrales et génétiques connues à ce jour, suggérant un continuum sur l'ensemble du spectre autistique.
- Nouvelle catégorie diagnostique unique: Autism Spectrum Disorder (TSA)
- Il est probable que la CIM-11 fasse de même.

Conclusions

- Les personnes avec TSA sont caractérisées par:
 - Au niveau cognitif: des déficits, des particularités, des avantages.
 - Au niveau cérébral: des différences, certaines clairement de nature pathologique, d'autres pas nécessairement.
 - Les deux niveaux sont en lien très étroit.
- Certaines de ces différences cérébrales sont très précoces (prénatales).
- Elles sont dues à la fois
 - à des facteurs génétiques (70%)
 - à des facteurs environnementaux (30%; essentiellement biologiques et pré- ou périnataux).
- Malgré l'hétérogénéité des profils, les TSA forment une catégorie diagnostique cohérente.