

Immunità ed Autismo: l'Enterocolite Infiammatoria

Dott. Federico Balzola
U:O.A.D.U. Gastro-Epatologia
ASO Molinette
C.so Bramante 86
10126 Torino
e-mail: federico.balzola@usa.net

L'autismo, e più in generale i Disturbi Pervasivi dello Sviluppo, hanno un impatto sociale e sanitario enorme per il drammatico aumento del numero di soggetti affetti nei paesi più industrializzati emerso negli ultimi anni. Si è passati infatti da una prevalenza di 1:5000 negli anni '80 fino all'allarmante stima americana di 1:120 di oggi, non riconducibile soltanto ad una migliore capacità diagnostica o di diagnosi precoce come sottolineato in numerosi studi epidemiologici. Sebbene venga riconosciuta all'autismo una genesi multi fattoriale con una rilevante componente genetica ed ambientale, la sua reale causa è ancora sconosciuta. Mentre da un punto di vista neurologico l'autismo è caratterizzato da disturbi qualitativi nelle interazioni sociali, difetti nella comunicazione verbale e non-verbale con particolari aspetti comportamentali ripetitivi e peculiari stereotipie, non ci sono dati concordanti al riguardo dei sintomi gastrointestinali associati sebbene un'aumentata permeabilità intestinale fosse già stata riportata da numerosi studi in letteratura. Questo è dovuto non soltanto alle difficoltà interpretative o di comunicazione da parte dei pazienti ma soprattutto perché per molti anni non essendo previsti non venivano ricercati o considerati o semplicemente, se notati, correlati a peculiari stereotipie od comportamenti propri dell'autismo. La prevalenza dei sintomi può infatti variare dalla normale frequenza rispetto alla popolazione generale fino alla quasi totalità dei pazienti se esaminati con maggiore attenzione. La presenza di una inaspettata malattia intestinale è stata descritta per la prima volta dal dr Wakefield quasi 10 anni fa proprio perché furono presi in considerazione dei sintomi gastrointestinali riportati dai famigliari purtroppo sottovalutati in precedenza. Questa nuova patologia infiammatoria cronica intestinale, denominata "enterocolite autistica" e diversa dal morbo di Crohn e dalla rettocolite ulcerosa, è caratterizzata da un punto di vista infiammatorio da una ileo-colite cronica con iperplasia nodulare linfoide dell'ileo e del colon di grado elevato associata ad un quadro sistemico di immunologico peculiare complicato da segni di immunodepressione ed autoimmunità importanti. I sintomi clinici gastrointestinali possono essere di entità e frequenza estremamente variabile senza una vera e propria correlazione con gli indici infiammatori o i marcatori ematici od istologici, così come già avviene anche per le altre malattie infiammatorie croniche dell'apparato digerente. Nello specifico, i più comuni sono: stipsi, diarrea con steatorrea e segni macroscopici di malassorbimento, alvo alternato con stipsi/diarrea, disbiosi intestinale per gli aerobi ed anaerobi, distensione addominale, insufficienza enzimatica digestiva, reflusso gastroesofageo, vomito alimentare, dolore addominale, megarecto, magrezza patologica con riduzione della massa magra, scarso accrescimento posturale. Vi sono inoltre alcune condizioni cliniche (posizioni antalgiche addominali peculiari, posizione evacuativa atipica con aumentato torchio addominale, disimmunità con particolare sensibilità alle infezioni gastrointestinali) od abitudini alimentari (anoressia/selezione cibi per consistenza, elevata introduzione di liquidi, autoriduzione latticini e/o carboidrati) peculiari e descritte nel passato come comuni stereotipie legate alla patologia neuropsichiatria di base. Sebbene esistano pochi studi in letteratura sui tentativi di trattamento farmacologico dell'eziologia dell'autismo, da molti anni è di

uso comune, da parte di molti genitori con aneddoto ma importante beneficio, l'esclusione del glutine e della caseina dalla dieta dei loro figli sulla base di segnalazioni in letteratura riguardanti l'eccessiva presenza di sostanze di origine digestiva in grado di interagire a livello del sistema nervoso centrale di questi soggetti. Tale trattamento consiste nell'esclusione dei cibi da cui originerebbero la β -caseomorfinina e β -gliadomorfinina sostanze ad azione oppioide in grado di passare la barriera ematoencefalica ed interagire con il sistema di neurotrasmissione centrale. La presenza di una inaspettata patologia infiammatoria cronica intestinale insieme ad un'alterata permeabilità intestinale precedentemente descritta, confermerebbero da un punto di vista patogenetico l'efficacia della terapia dietetica segnalata in questi soggetti. D'altra parte non sono ancora disponibili in letteratura studi controllati sull'efficacia della terapia farmacologica e dietetica dell'Enterocolite Autistica e di conseguenza sull'autismo. Da un punto di vista immunitario con l'utilizzo della citofluorometria di flusso e della metodica di microarray è stato infatti possibile identificare e caratterizzare un modello di attivazione genica e di espressione proteica citochinica nei campioni di tessuto intestinale di pazienti affetti da Enterocolite Autistica, peculiare e distinto da quello delle altre IBD. Pazienti con Enterocolite Autistica presentavano infatti elevata attivazione di IL-2, IL-8 e l'M-CSF (mononuclear phagocyte colony stimulating factor) rispetto ai controlli sani. In particolare l'espressione di IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α e LT- β (lymphotoxin- β) era 5 volte superiore nei pazienti con Enterocolite Artistica rispetto ai controlli sani e comunque maggiore rispetto ai controlli con IBD. E' stato inoltre osservato che mentre nelle biopsie intestinali l'espressione citochinica di m-RNA e proteica era elevata questo non avveniva nel sangue periferico e non differiva comunque da quello dei controlli sani, nonostante la presenza di un' aumentata quota infiammatoria circolante. Ciò ha suggerito come il segnale di espressione genica delle citochine avvenga solo nel sistema immune proprio della mucosa gastrointestinale e come in questa patologia l'intestino costituisca la fonte principale di iniziazione della cascata immunitaria. Vi sono ormai conferme di come la patologia intestinale possa rappresentare una fonte tossica o immunologia di danno sul cervello in fase evolutiva. Il riconoscimento di questa interazione fra intestino e cervello nei soggetti con autismo è molto importante: molti studiosi hanno riportato come il trattamento della malattia intestinale portasse frequentemente ad un miglioramento dei sintomi neuropsichiatrici e comportamentale di questi soggetti. E' stato inoltre evidenziata da Vargas e collaboratori la presenza di una risposta immune innata (non antigene specifica) nei riguardi del sistema nervoso centrale in alcuni pazienti autistici. Di particolare interesse è l'osservazione che il profilo citochinico era qualitativamente e quantitativamente differente quando si paragonavano i campioni estratti dal tessuto cerebrale e quelli estratti dal liquido cerebrospinale. Le ragioni per le quali vi siano quote relativamente elevate di queste citochine nel liquido cerebrospinale con un pattern distinto da quello parenchimale sono ancora sconosciute. Al contrario del tessuto cerebrale, il liquido cerebrospinale presentava almeno una citochina (INF- γ) di origine prevalentemente linfocitaria. Inoltre, l'assenza di un infiltrato infiammatorio proprio del tessuto cerebrale ha orientato i ricercatori verso una origine della cascata infiammatoria non primariamente neurologica. Per questi motivi, la reazione infiammatoria cerebrale potrebbe rappresentare un'attivazione secondaria del sistema immune innato che segue una stimolazione citochimica avvenuta altrove come la leptomeninge e il plesso coroideo. Tuttavia Vargas e collaboratori non hanno considerato la possibilità di uno stimolo infiammatorio situato al di fuori del sistema nervoso centrale. Nelle biopsie della mucosa e in campioni di linfociti periferici di soggetti con enteropatia autistica, la proporzione di cellule CD3 che esprimono citochine pro-infiammatorie come il TNF- α e l'interferone-gamma è stato dimostrato essere paragonabile a quella già evidenziata nelle malattie infiammatorie intestinali come il morbo di Crohn. Wakefield e collaboratori hanno dimostrato utilizzando tecniche di biologia molecolare come nei controlli sani le citochine pro-infiammatorie fossero elevate nelle biopsie intestinali ma non nei linfociti periferici. L'intestino potrebbe costituire la fonte principale dell'attivazione genica del sistema immune il cui effetto potrebbe includere l'attivazione a distanza dei meccanismi del sistema immune innato cerebrale. Una situazione simile era stata precedentemente descritta nel morbo celiaco, nel quale un meccanismo immunopatologico della mucosa dovuto all'allergia al glutine, è stato dimostrato

indurre un danno neurologico secondario (infiammazione cerebrale, atassia cerebellare, epilessia e calcificazioni cerebrali eterotopiche e anticorpi serici diretti contro le cellule cerebrali del Purkinjie). L'infiammazione intestinale potrebbe pertanto essere associata al comportamento autistico, all'eziologia dell'autismo ed all'aumentata permeabilità della barriera ematoencefalica. Vojdani ha recentemente esaminato le basi del cross-talk immunologico tra infiammazione intestinale e cerebrale. In soggetti con autismo vi era un'elevata prevalenza di anticorpi serici contro la gliadina e contemporaneamente contro alcuni peptidi cerebrali o cellule cerebellari del Purkinjie rispetto ai controlli. Osservazioni simili erano già state riportate nel morbo celiaco nel quale questa cross-reattività immunologica era stata indicata come causa di comorbidità neurologica. Vi sono pertanto evidenze di come una patologia gastrointestinale immunomediata possa condurre ad una attivazione immunitaria secondaria a livello del sistema nervoso centrale e come ciò possa a sua volta contribuire alle caratteristiche sintomatologiche psichiatriche di questa patologia. Vi sono inoltre evidenze della presenza di una componente tossica alla base del quadro encefalopatico di questi pazienti, per molti versi molto simile all'encefalopatia epatica o all'acidosi lattica. Quadri sintomatologici che presentano considerevoli miglioramenti comportamentali con il trattamento della disbiosi intestinale o con la dieta di esclusione per il glutine e la caseina (substrati dei peptidi esogeni con azione simil-oppioide). Da tutto questo se ne deduce come vi possano essere importanti implicazioni terapeutiche se in presenza di una maggiore conoscenza della patologia gastrointestinale e del suo coinvolgimento immunopatologico cerebrale nei sintomi comportamentali di questi pazienti con autismo.

Bibliografia essenziale

1. Blaxill M. What's Going On? The Question of Time Trends in Autism Wakefield AJ, Murch SH, Anthony A, Linnell J, Casson DM, Malik M, Berelowitz M, Dhillon AP, Thomson MA, Harvey P, Valentine A, Davies SE, Walker-Smith JA. Ileal lymphoid nodular hyperplasia, non-specific colitis and pervasive developmental disorder in children. *Lancet* 1998;351:637-641
2. Wakefield AJ, Anthony A., Murch SH., Thomson M., Montgomery SM., Davis S., et al. Enterocolitis in children with developmental disorders. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:2285-2295
3. Furlano R., Anthony A., Day R., Brown A., McGaverty L., Thomson M., et al. Quantitative immunohistochemistry shows colonic epithelial pathology and α -T cell infiltration in autistic enterocolitis. *J Pediatrics* 2001;138:366-372
4. Torrente F, Machado N, Ashwood P, et al. Enteropathy with T cell infiltration and epithelial IgG deposition in autism. *Molecular Psychiatry.* 2002;7:375-382
5. Torrente F., Anthony A., Herushkel RB., M Thomson., Ashwood P., Murch SH. Focal-enhanced gastritis in regressive autism with features distinct from Crohn's and helicobacter pylori gastritis. *American Journal of Gastroenterology.*2004;598-605
6. Ashwood P, Murch SH, Anthony A, Pellicer AA, Torrente F, Thomson M, Walker-Smith JA, Wakefield AJ. Intestinal lymphocyte populations in children with regressive autism: Evidence for extensive mucosal immunopathology. *Journal of Clinical Immunology,* 2003;23:504-517
7. Ashwood P, Murch SH, Anthony A, Hayes C, Machado MP, Torrente F, Thomson MA, Heuschkel R, Wakefield AJ., Mucosal and peripheral blood lymphocyte cytokine profiles in children with regressive autism and gastrointestinal symptoms: Mucosal immune activation and reduced counter regulatory interleukin-10. *Gastroenterol.* 2002;122 (Suppl):A617
8. Wakefield AJ., Puleston J. Montgomery SM., Anthony A., O'Leary JJ., Murch SH Enterocolonic encephalopathy, autism and opioid receptor ligands. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* 2002;16:663-674
9. Wakefield AJ. The Gut-Brain Axis in Childhood developmental Disorders. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 2002;34:S14-S17
10. Uhlmann V, Martin CM, Sheils O, Pilkington L, Silva I, Killalea A, Murch SH, Wakefield AJ, O'Leary JJ., Potential viral pathogenic mechanism for new variant inflammatory bowel disease. *Molecular Pathology* 2002;55:84-90
11. Krigsman A et al. International Meeting for Autism Research (IMFAR), UC Davis, Ca. 2004.
12. Sabra A, Bellanti JA, Colon AR, Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis and pervasive developmental disorder in children, *Lancet,* 1998;352:234-235
13. Sabra A, Hartman D, Zeligs BJ et al., Linkage of ileal-lymphoid-nodular hyperplasia (ILNH), food allergy and CNS developmental: evidence for a non-IgE association, *Ann Allergy Asthma Immunol,* 1999;82:8
14. Krigsman A et al. International Meeting for Autism Research (IMFAR), UC Davis, Ca. 2004.
15. Horvath K, Papadimitriou JC, Rabsztyrn A, Drachenberg C, Tildon JT. Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder, *J Pediatr.* 1999;135:559-63.

16. F. Balzola, D. Clauser, A. Repici, V. Barbon, A. Sapino, C. Barbera, P.L. Calvo, M. Gandione, R. Rigardetto, M. Rizzetto. Autistic enterocolitis: confirmation of a new inflammatory bowel disease in an Italian cohort of patients. *Digestive and Liver Disease* PO2.87, S137. Vol 37. Supplement N.1 March 2005
17. Balzola F, Clauser D, Repici A, Barbon V, Sapino A, Barbera C, Calvo PL, Gandione M, Rigardetto R, Rizzetto M. Autistic enterocolitis: confirmation of a new inflammatory bowel disease in an Italian cohort of patients. *Gastroenterology* 2005 Vol 128(4), supplement 2. M1074 A-303
18. Federico Balzola, Daniela Clauser, Alessandra Repici, Marina Caldognetto, Claudio Barletti, Anna Sapino, Cristiana Barbera, Pier Luigi Calvo, Dario Reggio, Fabrizio Gennari, Antonello Nonnato, Marco Forni, Morra Isabella, Marina Gandione, Roberto Rigardetto, Mario Rizzetto. Beneficial behavioural effects of IBD therapy and gluten/casein-free diet in an Italian cohort of patients with autistic enterocolitis followed over one year. *Gastroenterology* 2006 Vol 130(4), supplement 2. S1364 A-211
19. Federico Balzola, Daniela Clauser, Francesca Curri, Marina Caldognetto, Alessandro Repici, Claudio Barletti, Alessandro Musso, Mauro Bruno, Giorgio Saracco, Anna Sapino, Isabella Castellano, Dario Reggio, Teresa Cammarota, Pietro Lerro, Pierluigi Calvo, Marco Forni, Morra Isabella, Marina Gandione, Roberto Rigardetto, Mario Rizzetto. Autistic Enterocolitis in childhood: the early evidence of the later Crohn's disease in autistic adulthood? *Gastroenterology* 2007 in press
20. Marina Caldognetto, Daniela Clauser, Francesca Curri, Alessandro Repici, Claudio Barletti, Anna Sapino, Isabella Castellano, Cristiana Barbera, Pier Luigi Calvo, Dario Reggio, Antonello Nonnato, Marco Forni, Morra Isabella, Cammarota Teresa, Laura Brossa, Augusta Palmo, Marina Gandione, Roberto Rigardetto, Mario Rizzetto and Federico Balzola. Behavioural effects of IBD therapy and gluten/casein-free diet in an Italian cohort of autistic patients with autistic enterocolitis followed over 12 months. To be submitted to *JADD* 2007
21. Horvath K and Perman JA, Autistic disorder and gastrointestinal disease, *Current Opinion in Pediatrics* 2002;14:583–587.
22. Melmed RD, Schneider C, Fabes RA, et al.: Metabolic markers and gastrointestinal symptoms in children with autism and related disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:S31–S32
23. Lord C et al. International Meeting for Autism Research (IMFAR), UC Davis, Ca. 2004
24. Horvath K, Papadimitriou JC, Rabsztyrn A, Drachenberg C, Tildon JT. Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder, *J Pediatr*. 1999;135:559-63.
25. Sandler RH., Finegold SM., Bolte ER., Buchanan CP., Maxwell AP., Vaisanen M-L, Nelson MN, Wexler HM., Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J. Child Neurol.* 2000;15:429-435
26. Uhlmann V, Martin CM, Sheils O, Pilkington L, Silva I, Killalea A, Murch SH, Wakefield AJ, O'Leary JJ., Potential viral pathogenic mechanism for new variant inflammatory bowel disease. *Molecular Pathology* 2002;55:84-90
27. Singh VK, Lin SX, Yang VC. Serological association of measles virus and human herpesvirus-6 with brain autoantibodies in autism. *Clin Immunol Immunopathol.* 1998;89:105-8.
28. Singh VK, Jensen RL, Elevated levels of measles antibodies in children with autism, *Pediatric Neurology*, 2003;28:292-294.
29. Jyonouchi H, Sun S, Le H. Proinflammatory and regulatory cytokine production associated with innate and adaptive immune responses in children with autism spectrum disorders and developmental regression. *J. Neuroimmunol* 2001;120:170–179.
30. Singh VK. Plasma increase of interleukin-12 and interferon-gamma. Pathological significance in autism. *J Neuroimmunol* 1996;66:143–5.
31. Gupta S, Aggarwal S, Rathanavaran B and Lee T. Th1- and Th2-like cytokines in CD4+ and CD8+ T cells in autism. *J Neuroimmunol* 1998;85:106–109
- Knivsberg AM, Reichelt KL, Høien T and Nodland M. A Randomised, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. *Nutritional Neuroscience* 2002;5:251–261.
32. Knivsberg A-M., Wiig K., Lind G., Nodland M., Reichelt K-L., Dietary intervention in autistic children. *Brain Dysfunction* 1990;3:315-317
33. Vargas DL., Nascimbene C., Krishnan C., Zimmerman AW., Pardo CA. Neuroglial Activation and Neuroinflammation in the Brain of Patients with Autism. *Ann Neurol* 2005;57
34. Ashwood P, Anthony A, Torrente F, Wakefield AJ., Spontaneous mucosal lymphocyte cytokine profiles in children with regressive autism and gastrointestinal symptoms: Mucosal immune activation and reduced counter regulatory interleukin-10. *Journal of Clinical Immunology.* 2004;24:664-673
35. Hadjivassiliou M., Gibson A., Davies-Jones GAB., Lobo AJ., Stephenson TJ., Milford-Ward A. Does cryptic gluten sensitivity play a part in neurological illness? *Lancet* 1996;347:369-371
36. Gobbi G., Bouquet F., Greco L., Lambertini A., Tassinari CA., Ventura A., Zaniboni MG. Coeliac disease, epilepsy and cerebral calcifications. *Lancet* 1992;340:439-443
37. Wakefield AJ., Puleston J. Montgomery SM., Anthony A., O'Leary J.J., Murch SH. Entero-colonic encephalopathy, autism and opioid receptor ligands. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* 2002;16:663-674
38. Vojdani A, O'Bryan T, Green JA, Mccandless J, Woeller KN, Vojdani E, Nourian AA, Cooper EL *Nutr Neurosci.* 2004 Jun;7(3):151-61. Immune response to dietary proteins, gliadin and cerebellar peptides in children with autism.
39. Hadjivassiliou M., Gibson A., Davies-Jones GAB., Lobo AJ., Stephenson TJ., Milford-Ward A. Does cryptic gluten sensitivity play a part in neurological illness? *Lancet* 1996;347:369-371
40. Wakefield AJ., Puleston J. Montgomery SM., Anthony A., O'Leary J.J., Murch SH. Entero-colonic encephalopathy, autism and opioid receptor ligands. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* 2002;