



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ**

**«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ» (ΒΒΕ)**

**ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΓΕΝΕΤΙΚΗ - ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ  
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)**

**«Φάσμα αυτισμού και σύγχρονη γενετική διάγνωση»**

**ΙΩΑΝΝΑ ΑΓΓΕΛΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΣΥΡΡΟΥ ΜΑΡΙΚΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΓΕΝΙΚΗΣ  
ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ/ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2022**





**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ**

**«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ» (ΒΒΕ)**

**ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΓΕΝΕΤΙΚΗ - ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ**  
**ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)**

**«Φάσμα αυτισμού και σύγχρονη γενετική διάγνωση»**

**ΙΩΑΝΝΑ ΑΓΓΕΛΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΣΥΡΡΟΥ ΜΑΡΙΚΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΓΕΝΙΚΗΣ**  
**ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ/ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2022**

Δήλωση μη λογοκλοπής Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία είναι εξ ολοκλήρου αποτέλεσμα δικής μου ερευνητικής εργασίας, δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) για τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Η έγκριση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

**Όνομα :** Αγγέλη Ιωάννα

**Τίτλος :** Φάσμα αυτισμού και σύγχρονη γενετική διάγνωση

Ημερομηνία παρουσίασης: 08/07/2022

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή Αξιολόγησης:**

1. Επιβλέπουσα: Σύρρου Μαρίκα Καθηγήτρια Γενικής Βιολογίας/Ιατρικής Γενετικής
1. Μέλος επιτροπής: Αγγελίδης Χαράλαμπος Καθηγητής Βιολογίας
2. Μέλος επιτροπής: Βεζυράκη Πατρόνα, Διευθύντρια, Καθηγήτρια Φυσιολογίας, υπεύθυνη ΔΠΜΣ

## **Ευχαριστίες**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κα Σύρρου Μαρίκα για τη συνεχή καθοδήγηση, τις ουσιώδεις συμβουλές, καθώς επίσης και την αδιάκοπη συμπαράσταση και ενθάρρυνση που μου παρείχε σε κάθε στάδιο εκπόνησης αυτής της εργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά την οικογένεια και τον σύντροφό μου, για την κατανόηση και συμπαράσταση που έδειξαν ολόκληρη την περίοδο εκπόνησης της εργασίας αυτής.

[...]

*Βλέπεις, είπε, είναι οι Άλλοι*

*και δε γίνεται Αυτοί χωρίς Εσένα*

*και δε γίνεται μ' Αυτούς χωρίς, Εσύ*

*Βλέπεις, είπε, είναι οι Άλλοι*

*και ανάγκη πάσα να τους αντικρίσεις*

*ή μορφή σου αν θέλεις ανεξάλειπτη νά 'ναι*

*και να μείνει αυτή.*

Οδυσσέας Ελύτης

*ΑΕΙΟΝ ΕΣΤΙ- Η Γένεσις, 1959*





## Πρόλογος

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εκπονήθηκε κατά την θερινή περίοδο του Ακαδημαϊκού Έτους 2021 - 2022, στα πλαίσια του Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών "Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες" του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Η εργασία πραγματοποιήθηκε υπό την επίβλεψη της κα Σύρρου Μαρίκας, καθηγήτρια Γενικής Βιολογίας/Ιατρικής Γενετικής του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με συνεξεταστές την κα Βεζυράκη Πατρόνα, καθηγήτρια Φυσιολογίας και την κα Σιώμου Αικατερίνη, καθηγήτρια Παιδιατρικής επίσης του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Ο αυτισμός αποτελεί μία νευροαναπτυξιακή διαταραχή, που απασχολεί καθημερινά παιδιά, γονείς, παιδαγωγούς και φροντιστές υγείας. Η ανάγκη κατανόησης των μηχανισμών που τον προκαλούν, τόσο για την διάγνωση, όσο και για την έγκαιρη παρέμβαση είναι καθοριστικής σημασίας.

Σήμερα με την μεγάλη ανάπτυξη της γενετικής και της τεχνολογίας ανοίγονται νέοι ορίζοντες για την αποκρυπτογράφηση των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού.

Η εργασία αυτή αποσκοπεί στο να παρουσιάσει σύγχρονα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την γενετική διάγνωση του αυτισμού.

## Πίνακας Περιεχομένων

Ευχαριστίες.....	6
Πρόλογος.....	9
Πίνακας Περιεχομένων.....	10
Κατάλογος πινάκων.....	12
Εισαγωγή.....	13
Κεφάλαιο 1. Διαταραχές αυτιστικού φάσματος.....	19
1.1. Ιστορική αναδρομή.....	19
1.2. Ορισμός και χαρακτηριστικά.....	20
1.3. Επιδημιολογικά δεδομένα.....	24
1.4. Αιτιολογία του αυτισμού.....	26
1.4.1. Ιστορική αναδρομή.....	26
1.4.2. Προγεννητικά αίτια.....	29
1.5. Κλινική εικόνα του αυτισμού.....	31
Κεφάλαιο 2. Η γενετική διάγνωση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος.....	34
2.1. Η εξέλιξη της γενετικής και τα διαθέσιμα τεστ.....	34
2.2. Η γενετική / βιολογική βάση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος.....	39
2.3. Ο ρόλος των πολυμορφισμών πολλαπλών αντιγράφων/ποικιλομορφίας (CNV-cory number variation).....	47
2.4. Ο ρόλος των παραλλαγών μονονουκλεοτιδίου (SNV).....	54
2.5. Διαγνωστικές τεχνικές.....	57
2.5.1. Ανάλυση CNV.....	60
2.5.2. Γενετική ανάλυση.....	62

Συζήτηση – συμπεράσματα .....	69
Επίλογος .....	76
Περίληψη.....	78
Abstract .....	80
Βιβλιογραφία .....	82

**Κατάλογος πινάκων**

Πίνακας 5. Κλινικά σχετιζόμενα με διαταραχές αυτιστικού φάσματος CNV ..... 50

## Εισαγωγή

Η διάγνωση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος αποτελεί ένα πεδίο που έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για δεκαετίες, ενώ έως και σήμερα, παρά τις προόδους της επιστήμης, αυτή η ομάδα διαταραχών εξακολουθεί να μην είναι πλήρως αποσαφηνισμένη σε ό,τι αφορά τις διάφορες πτυχές της. Ασφαλώς, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος σε ό,τι αφορά την διαπίστωση των παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με τον αυτισμό και την διάγνωσή του, ωστόσο η επιστημονική κοινότητα δεν έχει ακόμη καταλήξει στην καταγραφή μιας βασικής σχέσης αιτίου – αποτελέσματος που να οδηγεί στην εκδήλωση της διαταραχής (Σερετόπουλος και συν., 2020).

Πρόκειται για μια νευροβιολογική διαταραχή με συχνότητα 2-4 / 10000 άτομα (Thapar et al , 2021) και πολύ μεγάλη κλινική και γενετική ετερογένεια και συμμετοχή γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Σύμφωνα με πρόσφατες γνώσεις βασική είναι η συνεισφορά γενετικών παραγόντων που σχετίζονται με αναπτυσσόμενο εγκέφαλο. Πρόκειται για διαταραχή με υψηλή κληρονομησιμότητα όπως φαίνεται από μελέτες οικογενειών και διδύμων. Η συνεχιζόμενη έρευνα συνεχίζει να εμπλουτίζει την κατανόηση για τους πιθανούς αιτιολογικούς μηχανισμούς στη διαταραχή αυτιστικού φάσματος, αλλά επί του παρόντος δεν έχουν διασαφηνιστεί πλήρως πολλές πτυχές της διαταραχής. Οι νευροπαθολογικές μελέτες είναι περιορισμένες, αλλά έχουν αποκαλύψει διαφορές στην δομή της παρεγκεφαλίδας και τη συνδεσιμότητα, ανωμαλίες του μεταιχμιακού συστήματος και αλλοιώσεις στον φλοιό του μετωπιαίου και κροταφικού λοβού, μαζί με άλλες ανεπαίσθητες δυσπλασίες (Johnson et al., 2007· Skefos et al., 2014· Stoodley et al., 2017).

Μια μικρή διερευνητική μελέτη του φλοιού σε μικρά παιδιά αποκάλυψε εστιακή διαταραχή της φλοιώδους αρχιτεκτονικής στην πλειονότητα των συμμετεχόντων, υποδηλώνοντας προβλήματα με το σχηματισμό φλοιώδους στιβάδας και τη νευρωνική διαφοροποίηση (De Rubeis et al., 2014). Η υπερανάπτυξη του εγκεφάλου τόσο ως προς το μέγεθος του φλοιού όσο και επιπλέον ως προς το αυξημένο εξωαξονικό εγκεφαλονωτιαίο υγρό έχει περιγραφεί σε παιδιά που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού και αποτελούν τομείς συνεχούς μελέτης τόσο ως προς την περαιτέρω κατανόηση της αιτιολογίας της, αλλά και ως δυνητικό βιοδείκτη (Hazlett et al., 2017· Shen et al., 2017).

Οι γενετικοί παράγοντες έχει αποδειχθεί ότι έχουν σημαντικό ρόλο στην ευαισθησία απέναντι στις διαταραχές αυτιστικού φάσματος, με τα αδέρφια ατόμων που βρίσκονται στο φάσμα να φέρουν αυξημένο κίνδυνο διάγνωσης σε σύγκριση με το σύνολο του γενικού πληθυσμού και πολύ υψηλότερη, αν και όχι απόλυτη, συμφωνία διάγνωσης αυτισμού σε μονοζυγωτικά δίδυμα (Kim et al., 2019). Ενδιαφέρον αποτελεί παρ' όλα αυτά ότι υπάρχουν μελέτες που δείχνουν μεγάλη μεταβλητότητα στην κλινική έκφραση του αυτισμού μεταξύ μονοζυγωτικών διδύμων που έχουν πανομοιότυπο DNA, δείχνοντας ότι στην έκφραση του αυτισμού εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες, όπως διάφοροι περιβαλλοντικοί (Thapar and Rutter 2021).

Μελέτες συσχέτισης σε ευρεία κλίμακα γονιδιώματος και μέθοδοι προσδιορισμού αλληλουχίας ολόκληρου του εξώματος (exomes) έχουν διευρύνει την κατανόηση της ερευνητικής κοινότητας για τα γονίδια ευαισθησίας στη συγκεκριμένη διαταραχή και τη γνώση σχετικά με τη λειτουργία αυτών των γονιδίων, ενώ φαίνεται να παίζουν ρόλο τόσο σπάνιες γενετικές παραλλαγές με μεγάλο αντίκτυπο, όσο και πιο κοινές παραλλαγές με μικρότερο αντίκτυπο στο φαινότυπο των ατόμων (Ghirardi, Kuja-Halkola et al. 2021). Πολλές από τις γενετικές αλλοιώσεις που σχετίζονται με το

φάσμα του αυτισμού εντοπίζονται σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη νευρωνική σύναψη ή που εμπλέκονται σε αλλαγές που εξαρτώνται από τη δραστηριότητα στους νευρώνες, (Kim et al, 2019). Τα πιθανά «δίκτυα» σύγκλισης γενετικού κινδύνου για ανάπτυξη της διαταραχής περιλαμβάνουν παραμέτρους που εμπλέκονται στη νευροδιαβίβαση και τη νευροφλεγμονή (Voineagu et al, 2011). Μια πρόσφατη μελέτη περιγράφει 16 πρόσφατα ταυτοποιημένα γονίδια που σχετίζονται με διαταραχές αυτιστικού φάσματος που δημιουργούν νέους πιθανούς μηχανισμούς, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής δομής και της μεταφοράς ιόντων. Πολλές μελέτες δείχνουν υψηλή συσχέτιση του αυτισμού με άλλα νευροαναπτυξιακά νοσήματα, όπως η Διαταραχή Ελλειμματικής Προσοχής και Υπερκινητικότητας (ΔΕΠΥ), αλλά και με σχιζοφρένεια και κατάθλιψη (Ghirardi and Kujala-Halkola 2021, Thapar and Rutter 2021). Τελικά, η διαταραχή του φάσματος του αυτισμού παραμένει μια από τις πιο γενετικά ετερογενείς νευροψυχιατρικές διαταραχές με πιο σπάνιες *de novo* και κληρονομικές παραλλαγές σε περισσότερα από 700 γονίδια (Ruzzo et al., 2019).

Ενώ η γενετική έχει σαφή ρόλο στην αιτιολογία της διαταραχής, η φαινοτυπική έκφραση της γενετικής ευαισθησίας παραμένει εξαιρετικά μεταβλητή εντός του πληθυσμού των ατόμων που βρίσκονται στο φάσμα (Veenstra-Vanderweele et al., 2004). Ο γενετικός κίνδυνος μπορεί να ρυθμίζεται από προγεννητικούς, περιγεννητικούς και μεταγεννητικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες σε ορισμένους ασθενείς (Wang et al., 2017). Η προγεννητική έκθεση στη θαλιδομίδη και το βαλπροϊκό οξύ έχει αναφερθεί ότι αυξάνει τον κίνδυνο, ενώ μελέτες δείχνουν ότι τα προγεννητικά συμπληρώματα φολικού οξέος σε ασθενείς που εκτίθενται σε αντιεπιληπτικά φάρμακα μπορεί να μειώσουν τον κίνδυνο (Bjørk et al., 2018).

Η προχωρημένη ηλικία των γονέων έχει συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο απόκτησης παιδιού με διαταραχή αυτιστικού φάσματος, αν και απαιτείται προσεκτική ανάλυση των δεδομένων για να διαπιστωθεί εάν, πράγματι, υπάρχει συσχετισμός (Croen et al., 2007· Min et al., 2021). Το μητρικό ιστορικό αυτοάνοσης νόσου, όπως ο διαβήτης, η νόσος του θυρεοειδούς ή η ψωρίαση, έχει συνδεθεί με την διαταραχή αυτιστικού φάσματος σε επιδημιολογικές μελέτες, αν και τα αποτελέσματα της μελέτης παραμένουν μικτά (Xiang et al., 2018· Han et al., 2021). Η μητρική μόλυνση ή η ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι ένας άλλος τομέας ενδιαφέροντος και μπορεί να είναι ένας πιθανός παράγοντας κινδύνου σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες (Choi et al., 2015· Croen et al., 2019). Τόσο η μικρότερη όσο και η μεγαλύτερη διάρκεια κύησης έχει επίσης αναφερθεί ότι αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης της διαταραχής (Schieve et al., 2018). Τα βρέφη που γεννήθηκαν πρόωρα έχουν αποδειχθεί ότι ενέχουν υψηλότερο κίνδυνο, όπως και για άλλες νευροαναπτυξιακές διαταραχές (Agrawal et al., 2018). Σε μια παλαιότερη ανασκόπηση, μαιευτικοί παράγοντες όπως η αιμορραγία της μήτρας, ο τοκετός με καισαρική τομή, το χαμηλό βάρος γέννησης, ο πρόωρος τοκετός και το χαμηλό Apgar score αναφέρθηκαν ως οι παράγοντες που ενδέχεται να σχετίζονται με τον αυτισμό (Newschaffer et al., 2007· Harutyunyan et al., 2021). Σε μία μετα-ανάλυση αναφέρονται αρκετοί προγεννητικοί, περιγεννητικοί και μεταγεννητικοί παράγοντες κινδύνου που οδήγησαν σε αυξημένο σχετικό κίνδυνο της διαταραχής (Wang et al., 2017), αλλά αποκάλυψε επίσης σημαντική ετερογένεια, με αποτέλεσμα την αδυναμία να γίνει ουσιαστικός προσδιορισμός σχετικά με τη σημασία αυτών των παραγόντων.

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να παρουσιάσει τα σύγχρονα δεδομένα που αφορούν στη γενετική διάγνωση των διαταραχών του αυτιστικού φάσματος. Πιο συγκεκριμένα, οι στόχοι της εργασίας είναι οι ακόλουθοι:



- Να καταγραφούν βασικές πτυχές της εξέλιξης της γνώσης σχετικά με τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος.
- Να μελετηθεί η πορεία της διαδικασίας και της γνώσης που αφορά στη διάγνωση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος.
- Να εξεταστούν τα αίτια που προκαλούν τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος με έμφαση στους γενετικούς παράγοντες.
- Να παρουσιαστούν τα δεδομένα της σύγχρονης έρευνας σε σχέση με τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος και, ειδικότερα, της γενετικής διάγνωσης.
- Να καταγραφεί η σημαντικότητα των συγκεκριμένων εξελίξεων για την ιατρική κοινότητα και, γενικότερα, την κοινωνία.
- Να διατυπωθούν προτάσεις για περαιτέρω έρευνα του συγκεκριμένου πεδίου.

Με δεδομένα τα παραπάνω, μετά την ολοκλήρωσή της η παρούσα μελέτη μπορεί να είναι χρήσιμη για την ερευνητική κοινότητα, καθώς συγκεντρώνει πληροφορίες αναφορικά με την εξέλιξη της γνώσης στο πεδίο των διαταραχών αυτιστικού φάσματος και της γενετικής διάγνωσής τους και σκιαγραφεί την πορεία που μπορεί να οδηγήσει σε ακόμη πιο ακριβή διάγνωση στο μέλλον.

Όσον αφορά τη δομή της εργασίας, αυτή διακρίνεται σε δύο κεφάλαια. Το πρώτο κεφάλαιο περιλαμβάνει την ιστορική αναδρομή και την παρουσίαση δεδομένων της βιβλιογραφίας που αφορούν στις διαταραχές αυτιστικού φάσματος, τον ορισμό και τα χαρακτηριστικά των ατόμων που βρίσκονται στο φάσμα, επιδημιολογικά δεδομένα, την αιτιολογία και την κλινική εικόνα των ατόμων με αυτισμό.

Έπειτα, στο δεύτερο κεφάλαιο γίνεται αναφορά στα δεδομένα που αφορούν στη γενετική διάγνωση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος και την αξία των διαγνωστικών τεχνικών και μεθόδων που ακολουθούνται. Η εργασία ολοκληρώνεται

με την συζήτηση και τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.

## Κεφάλαιο 1. Διαταραχές αυτιστικού φάσματος

### 1.1. Ιστορική αναδρομή

Η πρώτη αναφορά στον αυτισμό ως κλινική οντότητα έχει περιγραφεί από τον Ελβετό ψυχίατρο Eugen Bleuler το 1911. Ο Bleuler μελετούσε ασθενείς με σχιζοφρένεια και χρησιμοποίησε τον όρο αυτισμό για να περιγράψει μία κατάσταση απόσυρσης από την πραγματικότητα σε αυτούς τους ασθενείς. Η λέξη αυτισμός μάλιστα έχει τις ρίζες στην ελληνική λέξη «εαυτός», περιγράφοντας την κατάσταση απόσυρσης από το περιβάλλον προς τον εαυτό του ατόμου.

Ο όρος αυτισμός, όπως τον γνωρίζουμε σήμερα επαναπροσδιορίστηκε από τον Αυστριακό ψυχίατρο Leo Kanner το 1943. Ο Kanner (1968) διαχώρισε τον όρο αυτισμό από τους σχιζοφρενικούς ασθενείς, και εισάγει τον "πρώιμο βρεφικό αυτισμό", αφού περιγράφει τον αυτισμό όχι ως μία κατάσταση απόσυρσης, αλλά ως εξαιρετική μοναχικότητα αυτών των ατόμων από την βρεφική κιόλας ηλικία, προβάλλοντας για πρώτη φορά την συγγενή φύση του αυτισμού. Ο Kanner βάσισε την μελέτη του παρατηρώντας έντεκα περιπτώσεις παιδιατρικών ασθενών, οι οποίοι εμφάνιζαν από τα πρώτα χρόνια της ζωής συγκεκριμένες κοινές συμπεριφορές και παρεκκλίσεις. Ο Kanner περιγράφει ήδη από τότε βασικά κλινικά και διαγνωστικά χαρακτηριστικά του αυτισμού, όπως μη-λεκτική επικοινωνία, στερεοτυπικές κινήσεις, ηχολαλία κ.ά. (Kanner, 1968).

Ένα χρόνο αργότερα, το 1944, ο Γερμανός παιδίατρος Hans Asperger μελετά μία ομάδα αγοριών, με παρόμοια χαρακτηριστικά όσον αφορά την λεκτική επικοινωνία και την κοινωνική αλληλεπίδραση, όπως αυτά που περιέγραφε ο Kanner, όμως με υψηλή νοημοσύνη και εμμονές σε συγκεκριμένες δραστηριότητες. Παρόλο όμως που

και οι δύο επιστήμονες περιέγραφαν περιστατικά με παρόμοια χαρακτηριστικά και την ίδια χρονική περίοδο, το έργο του Asperger παρέμεινε στην αφάνεια για περίπου μισό αιώνα, αφού το έργο του “Die Autistischen Psychopathen im Kindesalter” μεταφράστηκε στην αγγλική γλώσσα και εκδόθηκε για πρώτη φορά το 1981 όπου το φέρνει στην επιφάνεια η ψυχίατρος Lorna Wing. Το 1977 αποτελεί μία ημερομηνία-σταθμό στην ιστορία του αυτισμού, αφού για πρώτη φορά οι Susan Folstein και Michael Rutter μετά από μελέτες σε 21 ζεύγη διδύμων μπορούν να συσχετίσουν τον αυτισμό με γενετικές και βιολογικές αλλαγές κατά την ανάπτυξη του εγκεφάλου (Folstein & Rutter, 1977).

Η Wing (1981) ήταν η πρώτη η οποία διαχώρισε το Asperger Syndrome (AS) ως ξεχωριστή κλινική οντότητα, βγάζοντας από την αφάνεια και το έργο του Hans Asperger, όπως προαναφέρθηκε (Gillberg, 2015). Η Wing μαζί με την Gould ήταν οι πρώτες που εισήγαγαν το 1979 τον όρο “αυτιστικό φάσμα” περιγράφοντας την “τριάδα” των χαρακτηριστικών παιδιών με αυτισμό: έλλειμμα στην κοινωνική επαφή, έλλειμμα στην κοινωνική επικοινωνία και έλλειμμα στην φαντασία (Wing & Gould, 1979). Πρόκειται για μία εξαιρετικά σημαντική εξέλιξη, ένα σημείο σταθμό στη μελέτη και την κατανόηση του φάσματος του αυτισμού (Evans, 2013).

## 1.2. Ορισμός και χαρακτηριστικά

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) ο αυτισμός είναι ένα ευρύ σύνολο καταστάσεων που χαρακτηρίζονται από ποικίλου βαθμού δυσκολία στην επικοινωνία και την κοινωνική αλληλεπίδραση. Στο Διαγνωστικό και Στατιστικό Εγχειρίδιο Ψυχικών Νόσων (DSM), το οποίο αποτελεί διαγνωστικό εργαλείο ψυχικών και αναπτυξιακών νοσημάτων, αναφέρθηκε για πρώτη φορά ο όρος

αυτισμός το 1952 για να περιγράψει νεαρούς ασθενείς με σχιζοφρενικές διαταραχές. Για πρώτη φορά το 1980 στην DSM-III περιγράφεται ο όρος σαν ξεχωριστή κλινική οντότητα, που διαχωρίζεται από την σχιζοφρένεια. Σύμφωνα με αυτό οι ασθενείς έπρεπε να πληρούν έξι (6) διαγνωστικά κριτήρια, όπως πρώτη εμφάνιση πριν την ηλικία των 30 μηνών, η περίεργη και επίμονη προσκόλληση σε αντικείμενα κα.

Το 1994 στο DSM-IV τα κριτήρια αυξάνονται από 6 σε 16, ενώ χρησιμοποιείται ο όρος «Διάχυτες Αναπτυξιακές Διαταραχές» και διακρίνεται σε 4 υποκατηγορίες: σύνδρομο Asperger (AS), Παιδική Αποδιοργανωτική Συμπεριφορά, σύνδρομο Rett και Διάχυτη Αναπτυξιακή Διαταραχή-Μη Αλλιώς Προσδιοριζόμενη.

Στο πρόσφατο Διαγνωστικό και Στατιστικό Εγχειρίδιο Ψυχικών Νόσων-5 (DSM-5), το οποίο εκδόθηκε το 2013, έχουν γίνει σημαντικές αλλαγές στα διαγνωστικά κριτήρια των Διαταραχών Αυτιστικού Φάσματος (ΔΑΦ), με αποτέλεσμα αυτά να διαμορφώνονται ως εξής (APA, 2013):

1. Προβλήματα στην κοινωνική επικοινωνία και αλληλεπίδραση, και
2. Στερεοτυπικές, επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές και δραστηριότητες.

Μία άλλη σημαντική αλλαγή αποτελεί η κατάργηση διαφόρων υποομάδων, όπως για παράδειγμα το σύνδρομο Asperger ή ΔΑΦ – μη αλλιώς προσδιοριζόμενη. Οι παραπάνω έννοιες εντάσσονται πλέον στο όρο Διαταραχές Αυτιστικού Φάσματος (ΔΑΦ) και όχι στις «Διάχυτες Αναπτυξιακές Διαταραχές» (ΔΑΔ), ο οποίος περιλαμβάνει μία ευρεία κατηγορία νευροαναπτυξιακών εκδηλώσεων και συμπτωμάτων (APA, 2013). Η βαρύτητα των ΔΑΦ διακρίνεται σε τρία (3) επίπεδα (Σερετόπουλος και συν., 2020):

**Πίνακας 1. Επίπεδα σοβαρότητας των συμπτωμάτων της διαταραχής αυτιστικού φάσματος**

Επίπεδο	Κοινωνική επικοινωνία	Περιοριστική, επαναληπτική συμπεριφορά
3. Απαιτείται πολύ ουσιώδης υποστήριξη	Σοβαρό έλλειμμα λεκτικών και μη λεκτικών δεξιοτήτων κοινωνικής επικοινωνίας που προκαλεί σοβαρές δυσλειτουργίες, περιορισμένη πρωτοβουλία για κοινωνική αλληλεπίδραση και ελαχιστοποιημένη ανταπόκριση στα κοινωνικά μηνύματα των άλλων. Μικρό λεξιλόγιο καταληπτού λόγου, ασυνήθιστη προσέγγιση των άλλων, μόνο για κάλυψη αναγκών και ανταπόκριση μόνο σε πολύ άμεσες κοινωνικές προσεγγίσεις	Ανελαστική συμπεριφορά, εξαιρετική δυσκολία ανταπόκρισης σε αλλαγές. Επίμονες-περιοριστικές, επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές που παρεμβαίνουν σε όλες τις λειτουργίες. Υψηλή δυσφορία / δυσκολία αλλαγής στόχου ή δραστηριότητας

2. Απαιτείται ουσιώδης υποστήριξη	Αξιοσημείωτο έλλειμμα σε λεκτικές και μη λεκτικές κοινωνικές/επικοινωνιακές δεξιότητες. Εμφανείς κοινωνικές δυσλειτουργίες, ακόμη και όταν υπάρχει υποστήριξη. Περιορισμένη πρωτοβουλία στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις και μειωμένη ή ακατάλληλη ανταπόκριση σε κοινωνικά μηνύματα άλλων. Λεκτική επικοινωνία με απλές προτάσεις, περιορισμός σε στενά-ειδικά ενδιαφέροντα και αξιοσημείωτα ασυνήθιστη μη λεκτική επικοινωνία	Ανελαστική συμπεριφορά, δυσκολία ανταπόκρισης σε αλλαγές και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές, που έχουν αρκετή συχνότητα, ώστε να γίνεται αντιληπτό ότι παρεμβαίνουν σε ποικίλα επίπεδα. Δυσφορία αλλαγής στόχου ή δραστηριότητας
---	--	--

1. Απαιτείται υποστήριξη	Χωρίς υποστήριξη, το έλλειμμα κοινωνικής επικοινωνίας προκαλεί αξιοσημείωτη δυσλειτουργία. Δυσκολία λήψης πρωτοβουλίας για κοινωνική αλληλεπίδραση και σαφή παραδείγματα ασυνήθιστης ανταπόκρισης σε κοινωνικά μηνύματα. Ενδεχομένως μειωμένο ενδιαφέρον κοινωνικής αλληλεπίδρασης. Ικανότητα λόγου, με ολοκληρωμένες προτάσεις, αλλά	Η ανελαστική συμπεριφορά παρεμβαίνει σημαντικά στις λειτουργίες, σε ένα ή περισσότερα πλαίσια. Δυσκολία αλλαγής μεταξύ δραστηριοτήτων. Προβλήματα στην οργάνωση και στον προγραμματισμό εμποδίζουν την ανεξαρτησία
-----------------------------	---	--

αποτυχία σε συζητήσεις με άλλους και  
ασυνήθιστοι τρόποι σύναψης φιλικών  
σχέσεων

(Πηγή: Σερετόπουλος και συν., 2020)

Η διάγνωση της διαταραχής μπορεί να ξεκινήσει ήδη από την ηλικία 1 – 3 ετών, όταν παρουσιάζονται κάποιες πρώιμες εκδηλώσεις στο παιδί, αν και αυτό δεν είναι απόλυτο, καθώς υπάρχουν παιδιά που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού και, παρ' όλα αυτά, αναπτύσσονται χωρίς σημαντικές αποκλίσεις από το τυπικό έως και την νηπιακή ηλικία. Σε αυτές τις περιπτώσεις, παρατηρείται απώλεια δεξιοτήτων που το παιδί είχε ήδη κατακτήσει νωρίτερα ή διακοπή της εξέλιξής του (Baio et al., 2018).

### 1.3. Επιδημιολογικά δεδομένα

Σήμερα ο επιπολασμός του αυτισμού υπολογίζεται παγκοσμίως περίπου στο 0,62%, (δηλαδή 1/160 παιδιά) σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί μία σημαντική αύξηση στον επιπολασμό του αυτισμού και γι' αυτό υπάρχουν αρκετοί λόγοι. Αρχικά οι πάροχοι υγείας, συμπεριλαμβανομένων ιατρών, παιδαγωγών, ψυχιάτρων ακόμη και γονείς, είναι πλέον πιο ευαισθητοποιημένοι ως προς την διάγνωση του αυτισμού. Σ' αυτό έπαιξαν σημαντικό ρόλο τα διαγνωστικά κριτήρια των ΔΑΔ και κυρίως αυτά του DSM-IV, αφού τους παρείχαν τα κατάλληλα εργαλεία να αναγνωρίσουν και να κατηγοριοποιήσουν αυτούς τους ασθενείς, σε σχέση με το παρελθόν. Σήμερα με την εξέλιξη της επιστήμης και της τεχνολογίας υπάρχουν περισσότερα επιδημιολογικά εργαλεία,



αλλά και μελέτες και βάσεις δεδομένων παγκοσμίως, καθιστώντας την καταγραφή του επιπολασμού του αυτισμού πιο ακριβή (Hyman et al., 2020).

Ακόμη υπάρχουν μελέτες που προσπαθούν να εξηγήσουν αυτή την αύξηση μελετώντας προ- και περιγεννητικούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα η μεγαλύτερη ηλικία των γονιών ή ότι η πρόοδος στην περιγεννητική ιατρική επιτρέπει την επιβίωση εμβρύων και νεογνών με πολύ μικρότερη ηλικία κύησης, σε σχέση με παλαιότερα. Ωστόσο καμία από αυτές τις μελέτες δεν έχει καταφέρει ακόμη να αποδείξει κάποια ισχυρή συσχέτιση. Και φυσικά δεν έχει αποκλειστεί ακόμη το ενδεχόμενο μιας πραγματικής αύξησης των ασθενών με αυτισμό. Όλα αυτά μένει ακόμη να αποδειχθούν (Hertz-Picciotto & Delwiche, 2009).

Σύμφωνα με τον CDC ο επιπολασμός του αυτισμού έχει αυξηθεί τα τελευταία 16 χρόνια στις ΗΠΑ από 1/150 σε 1/56, μία αύξηση σχεδόν 37%. Στην παγκόσμια βιβλιογραφία η αναλογία άρρενος/θήλεος είναι περίπου 4:1, σύμφωνα όμως με μία πρόσφατη μετα-ανάλυση η πραγματική αναλογία είναι πιο κοντά στο 3:1, τονίζοντας μάλιστα πως τα θήλεα έχουν περισσότερες πιθανότητες τα συμπτώματα να παραβλεφθούν, να μην διαγνωστούν έγκαιρα ή και καθόλου. Αξίζει ίσως να αναφερθεί ότι μία πιθανή εξήγηση σ' αυτή την διαφορά είναι ότι τα κορίτσια έχουν την ικανότητα να 'καμουφλάρουν' τα συμπτώματα τους, σε μία προσπάθεια να κρύψουν τις δυσκολίες τους που προκύπτουν από τον αυτισμό (Loomes et al, 2017). Σε μία άλλη συστηματική ανασκόπηση του επιπολασμού του αυτισμού παγκοσμίως, με μελέτες από Αμερική, Ευρώπη, Ασία, Αυστραλία και Μέση Ανατολή, που δημοσιεύθηκε το 2020 περιγράφεται επίσης η αύξηση του επιπολασμού τα τελευταία 20 χρόνια, με κομβική αύξηση το 2010, με την Ευρώπη να εμφανίζει μικρότερο επιπολασμό σε σχέση με Αυστραλία και Ασία (Hyman et al., 2020).

Όσον αφορά την χώρα μας το ποσοστό βρίσκεται περίπου στο 1,15%, με αναλογία αρρένων/θηλέων να είναι 4:1 συμφωνώντας με τα δεδομένα της παγκόσμιας βιβλιογραφίας (Thomaidis et al 2020).

#### 1.4. Αιτιολογία του αυτισμού

##### 1.4.1. Ιστορική αναδρομή

Η αιτιολογία του αυτισμού αποτελεί ακόμη και σήμερα ένα μεγάλο και ενεργό πεδίο ερευνών. Από τις πρώτες αναφορές μέχρι και σήμερα έχουν υπάρξει πολλές θεωρίες που προσπαθούν να εξηγήσουν τα αίτια του αυτισμού. Ο Leo Kanner στο έργο του “Autistic Disturbances of Affecting Contact” περιέγραψε σε 11 περιπτώσεις παιδιατρικών ασθενών, εκτός από τα χαρακτηριστικά των ίδιων και τα χαρακτηριστικά των γονιών τους. Τότε περιγράφει κοινά χαρακτηριστικά και των γονιών αυτιστικών παιδιών, όπως ότι όλοι ήταν υψηλού μορφωτικού επιπέδου, που ασχολούνται με την επιστήμη και τις τέχνες, όπως επίσης ότι όλοι ήταν απόμακροι και ψυχροί προς τα παιδιά τους. Τότε αρχίζει να σχηματίζεται για πρώτη φορά η θεωρία της “ψυχρής μητέρας” (“Refrigerator Mother theory”), η οποία υποστηρίζει ότι η εκδήλωση του αυτισμού οφείλεται σε ψυχρές και μη στοργικές μητέρες. Φυσικά ο Kanner περιέγραψε παρόμοια συμπεριφορά και στους δύο γονείς, και όχι μόνο στην μητέρα, λέγοντας χαρακτηριστικά πως “αυτοί οι άνθρωποι είναι σαν να ξεπάγωσαν λίγο για να αναπαραχθούν και στη συνέχεια επέστρεψαν στην πρότερη κατάσταση ψύχους” (Harris, 2018).

Το 1967 ο Bruno Bettellheim, καθηγητής στο Πανεπιστήμιο του Σικάγο που ασχολούνταν με την παιδοαναπτυξιολογία ενίσχυσε ακόμη περισσότερο αυτή την

άποψη. Ο ίδιος δημοσίευσε το “The Empty Fortress: Infantile Autism and the Birth of the Self” όπου παρομοιάζει τα παιδιά με αυτισμό σαν αυτά που έμεναν σε στρατόπεδο συγκέντρωσης, όπου τα παιδιά τρομοκρατούνται ή βιώνουν την απόρριψη και υποστηρίζει ότι δεν μπορούν να αναπτύξουν κατάλληλους κοινωνικο-συναισθηματικούς δεσμούς, λόγω απόμακρων και μη στοργικών μητέρων (van Rosmalen et al., 2020). Ο Bettellheim έκανε την θεωρία της ψυχρής μητέρας ευρέως γνωστή και την δεκαετία του '60 δημοσιεύθηκαν πολλά επιστημονικά άρθρα που υποστήριζαν αυτή την θεωρία.

Εδώ αξίζει να αναφερθεί ότι εκείνη την περίοδο η επιστήμη της ψυχολογίας άκμαζε και ιδιαίτερα ο κλάδος της ψυχανάλυσης, με αποτέλεσμα η επιστημονική κοινότητα να προσπαθεί να ερμηνεύσει και να αποδώσει διάφορες κλινικές οντότητες σε ψυχο-συμπεριφορικά αίτια. Προς υπεράσπιση του Kanner να αναφέρουμε ότι ο ίδιος περιέγραψε τα χαρακτηριστικά των “απόμακρων γονέων” ως πιθανό γενεσιουργό αίτιο, ωστόσο μεταγενέστερα δήλωσε ότι το αίτιο του αυτισμού είναι έμφυτο και διαχώρισε την θέση του από αυτή του Bettellheim, θέτοντας ίσως και την πρώτη υποψία για τα πραγματικά αίτια του αυτισμού (Sterwald & Baker, 2019).

Σήμερα είναι κοινά παραδεκτό ότι ο αυτισμός είναι μία πολυπαραγοντική διαταραχή που επηρεάζεται από γενετικούς, επιγενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Η νευροπαθολογία του αυτισμού αποτελεί ένα πεδίο έρευνας που παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Αν και ακόμη δεν υπάρχει σαφής παθοφυσιολογικός μηχανισμός που να οδηγεί στον αυτισμό, υπάρχουν αρκετές μελέτες που περιγράφουν αλλαγές στην ανατομία και την ηλεκτροφυσιολογία του εγκεφάλου. Από τα πιο συχνά ευρήματα που έχουν παρατηρηθεί σε αρκετές μελέτες είναι μία αύξηση του όγκου του εγκεφάλου περίπου στην ηλικία των 2-4 ετών, η οποία παρατηρήθηκε από μία αύξηση της περιμέτρου κεφαλής σε αυτά τα παιδιά (Ha et al., 2015· Minshe &

Williams, 2007). Η αύξηση αυτή αφορούσε τόσο τη λευκή, όσο και την φαιά ουσία του εγκεφάλου, ενώ η χρονική στιγμή αύξησης αυτών των ιστών φαίνεται να συμπίπτει με τις πρώτες εκδηλώσεις του αυτισμού, υποδηλώνοντας κάποια συσχέτιση στην παθοφυσιολογία (Minsheu & Williams, 2007). Έχουν επίσης παρατηρηθεί ανωμαλίες στις περιοχές Broca και Wernicke του εγκεφάλου, οι οποίες αμφότερες σχετίζονται με τον λόγο, την επεξεργασία και την κοινωνική προσοχή (Ha et al., 2015· Minsheu & Williams, 2007 (Lee, Park et al. 2017).

Σε πολλές μελέτες των τελευταίων ετών έχουν επιβεβαιωθεί τα παραπάνω ευρήματα, όσον αφορά τις διαταραχές της φαιάς κυρίως ουσίας του εγκεφάλου, αναδεικνύοντας κυρίως μείωση της φαιάς ουσίας στους κογχομετωπιαίους λοβούς και πάχυνση του εγκεφαλικού φλοιού σε διάφορες περιοχές, όπως στους μετωπιαίους λοβούς, ινιακά, κροταφικά κα (Hashem, Nisar et al. 2020). Ενδιαφέρον παρουσιάζουν επίσης μελέτες που συσχέτισαν διαταραχές στην ελίκωση (gyrification) του εγκεφάλου με τον αυτισμό (Mizuno, Kagitani-Shimono et al. 2019, Hashem, Nisar et al. 2020, Rafiee, Rezvani Habibabadi et al. 2022)

Μεγάλο ενδιαφέρον έχει δείξει η επιστημονική κοινότητα για ανωμαλίες στο μεσολόβιο, το οποίο είναι μία δομή της λευκής ουσίας που συνδέει τα δύο ημισφαίρια του εγκεφάλου με περισσότερες από 200 εκατομμύρια νευρικές ίνες. Πολλαπλές μελέτες αποδεικνύουν μικρότερο μεσολόβιο, κυρίως στο οπίσθιο τμήμα του (Eroğlu, Baykara et al. 2022) (Yeh, Tseng et al. 2022). Οι ανωμαλίες αυτές αφορούν τόσο στο μέγεθος του μεσολόβιου σε σχέση με αυτό των μαρτύρων, όσο και συνολικά σε σχέση με τις υπόλοιπες δομές του εγκεφάλου, ενώ σε μία πρόσφατη ανασκόπηση φάνηκαν και λειτουργικές διαταραχές του μεσολοβίου σε άτομα με αυτισμό (Frazier & Hardan, 2009· Waiter, 2015, (Valenti, Pino et al. 2020).

#### 1.4.2. Προγεννητικά αίτια

Είναι γνωστό από την έρευνα ότι υπάρχουν πολλοί προγεννητικοί παράγοντες που δρουν ευεργετικά ή βλαπτικά για την ανάπτυξη του εμβρύου και κατ' επέκταση για την μετέπειτα ζωή. Για την ανάπτυξη αυτισμού έχει φανεί ότι αυξάνει τον κίνδυνο η προγεννητική έκθεση της μητέρας σε θαλιδομίδη και αντιεπιληπτικά φάρμακα, όπως το βαλπροϊκό οξύ. Επίσης η προχωρημένη αναπαραγωγική ηλικία των δύο γονέων κατά την σύλληψη έχει συσχετισθεί με εμφάνιση αυτισμού (Masini et al., 2020· Hodges et al., 2020). Σε μία μετανάλυση φάνηκε αυξημένος κίνδυνος κατά 106% για ηλικία κύησης της μητέρας >40 ετών, σε σύγκριση με ηλικία κύησης μεταξύ 30 και 34 ετών όπου ο κίνδυνος υπολογίστηκε στο 27% (Gardener et al., 2009). Μία μελέτη έδειξε ότι η αυξημένη πατρική ηλικία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αυτισμού στους απογόνους μέσω επιγενετικών αλλαγών (μεθυλίωση του σπέρματος) (Atsem et al., 2016). Τα παραπάνω, ωστόσο, δεν αποτελούν παράγοντες που από μόνοι τους μπορούν να οδηγήσουν στην εκδήλωση της διαταραχής, παρά μόνο συσχετισμοί στους οποίους έχουν καταλήξει οι σχετικές έρευνες (Min et al., 2021.) Άλλοι παράγοντες που σχετίζονται είναι παθήσεις της μητέρας πριν και κατά την κύηση. Ο σακχαρώδης διαβήτης της μητέρας, αλλά και ο διαβήτης κύησης αποτελούν παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση αυτισμού στους απογόνους (Masini et al., 2020· Gardener et al., 2009). Αυτοάνοσες παθήσεις της μητέρας, όπως ψωρίαση, Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ), Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου (ΙΦΝΕ) κα, συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο αυτισμού (Amaral, 2017) έως και 50% μέχρι την ηλικία των 10 ετών (Keil et al., 2010). Γι' αυτό έχουν προταθεί αρκετοί μηχανισμοί, όπως το ότι τα αυτοαντισώματα δημιουργούν ένα

“εχθρικό” ενδομήτριο περιβάλλον για το έμβρυο ή ότι υπάρχουν IgG – επαγόμενες αλλαγές στην ανοσιακή απόκριση τα πρώτα χρόνια της ζωής (Keil et al., 2010).

Η Judy Van de Water στην μελέτη της υποστηρίζει ότι ένας πιθανός παθοφυσιολογικός μηχανισμός του αυτισμού είναι η επαγόμενη από μητρικά αυτοαντισώματα εμφάνιση αυτισμού (Maternal Autoantibody-related autism – MAR). Είναι γνωστό ότι IgG αντισώματα μεταφέρονται από το έμβρυο στην μητέρα διαπλακουντιακά, αλλά και μεταγεννητικά μέσω του θηλασμού. Τα αντισώματα αυτά μπορεί να είναι ευεργετικά, βοηθώντας στην ανοσιακή απόκριση του νεογνού στην πρώιμη νεογνική ηλικία, μπορεί όμως να είναι και παθολογικά, αφού η αλληλεπίδρασή τους με εμβρυικές πρωτεΐνες του εμβρύου έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο για αυτισμό (Braunschweig et al., 2008· Fox-Edmiston & Van de Water, 2015). Η ίδια μάλιστα προτείνει και θεραπευτικές στρατηγικές (όπως χορήγηση ενδοφλέβιας γ-σφαιρίνης - IVIG) για την πρόληψη μεταφοράς των μητρικών αυτό-αντισωμάτων, ανοίγοντας νέους δρόμους για την πρόληψη εμφάνισης αυτισμού (Fox-Edmiston & Van de Water, 2015).

Ένα άλλο πεδίο που έχει μελετηθεί αρκετά είναι οι λοιμώξεις της μητέρας κατά την προ- και περιγεννητική περίοδο. Σε μία πρόσφατη μετα-ανάλυση που δημοσιεύθηκε το 2021, που συμπεριέλαβε 39 μελέτες, φάνηκε μικρή αλλά σημαντική αύξηση του κινδύνου γέννησης παιδιών με αυτισμό σε μητέρες που εμφάνισαν οποιαδήποτε λοίμωξη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (Tioleco et al., 2021). Στην ίδια μετα-ανάλυση φάνηκε μικρή (σχεδόν μη-σημαντική) διαφορά στον κίνδυνο όταν η έκθεση είναι στο δεύτερο και τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, σε σχέση με το πρώτο, με το τελευταίο να σχετίζεται με μικρότερο κίνδυνο, ειδικά όσον αφορά τις ιογενείς λοιμώξεις. Σύμφωνα με μία μελέτη (Atladottir et al., 2012) πυρετικά επεισόδια διάρκειας μεγαλύτερης των 7 ημερών συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο για

εμφάνιση αυτισμού έως και 3 φορές, ενώ η λοίμωξη από γρίπη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης εμφανίζει διπλάσιο κίνδυνο.

### 1.5. Κλινική εικόνα του αυτισμού

Όπως προαναφέρθηκε ο αυτισμός είναι μία νευροαναπτυξιακή διαταραχή και εκδηλώνεται με ένα ευρύ φάσμα συμπτωμάτων. Είναι σημαντικό να γίνει αντιληπτό ότι οι άνθρωποι με αυτισμό μπορεί να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, όπως για παράδειγμα κάποιος να έχει ή όχι λεκτική επικοινωνία. Αναλόγως της βαρύτητας των συμπτωμάτων ποικίλλει και η ποιότητα ζωής αυτών των ανθρώπων, αφού υπάρχουν αυτιστικά άτομα που είναι αρκετά λειτουργικά κοινωνικά, έχουν δουλειά ή ακόμη κάνουν και οικογένεια, ενώ άλλα έχουν αναπτυξιακή καθυστέρηση και εξαρτώνται από τρίτα άτομα σε όλη τους τη ζωή. Γι' αυτό άλλωστε ονομάζεται φάσμα, αφού αντιπροσωπεύει μία ευρεία ποικιλία συμπτωμάτων, αλλά και σοβαρότητας αυτών.

Τα συμπτώματα του αυτισμού διακρίνονται σε δύο κατηγορίες (Nadeem et al., 2021):

#### 1. Διαταραχές στην κοινωνική αλληλεπίδραση και επικοινωνία

- Αποφεύγει ή δεν διατηρεί την βλεμματική επαφή
- Δεν αποκρίνεται στο όνομά του μέχρι την ηλικία των 9 μηνών
- Δεν δείχνει συναισθήματα με εκφράσεις προσώπου, πχ λύπη, χαρά κλπ
- Δεν παίζει απλά παιχνίδια αλληλεπίδρασης μέχρι την ηλικία των 12 μηνών
- Χρησιμοποιεί λίγες ή καθόλου χειρονομίες (πχ “φιλάκια” ή “κάνε γεια”)
- Δεν κοιτάει εκεί που δείχνουμε μέχρι την ηλικία των 18 μηνών

- Δεν έχει κοινά ενδιαφέροντα με άλλους
- Δεν προσποιείται στο παιχνίδι
- Δεν αντιλαμβάνεται ότι κάποιος στον περίγυρο μπορεί να είναι λυπημένος μέχρι την ηλικία των 24 μηνών
- Εμφανίζει δυσκολία στην αντίληψη συναισθημάτων άλλων ανθρώπων ή στην έκφραση ιδίων συναισθημάτων
- Άγχος, κατάθλιψη, έλλειψη συνέπειας, απρόσφορες φοβίες κα

## 2. Στερεοτυπικές, επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές και δραστηριότητες.

- Ηχολαλία (επανάληψη λέξεων και ήχων συνεχώς)
- Εμμονές με στοίχιση ή θέση των αντικειμένων
- Στεροτυπίες (τινάγματα χεριών, στροφή γύρω από τον εαυτό του, κίνηση σώματος σαν εκκρεμές κα)
- Ακολουθεί συγκεκριμένες ρουτίνες, που τον διαταράσσουν αν αλλάξουν
- Εμμονικά προσκολλημένος στα ενδιαφέροντά του
- Ασυνήθιστες αντιδράσεις με τον τρόπο που τα πράγματα φαίνονται, μυρίζουν, υφές κα

Σχεδόν το ¼ των παιδιών με αυτισμό εμφανίζουν παλινδρόμηση των ορόσημων ανάπτυξης που αφορούν την γλώσσα ή τις κοινωνικές δεξιότητες μεταξύ 18 και 24 μηνών (Hyman et al., 2020). Αυτό ήταν και ο βασικότερος λόγος ψευδούς συσχέτισης της εμφάνισης αυτισμού μετά από ανοσοποίηση με το εμβόλιο της ιλαράς-ερυθράς-παρωτίτιδας. Ο ακριβής λόγος δεν είναι ακόμη γνωστός, υπάρχουν ωστόσο θεωρίες σχετικά με την ανάπτυξη των συνάψεων του εγκεφάλου, οι οποίες ακόμη δεν έχουν αποδειχθεί.



Σε κάθε περίπτωση, η διάγνωση του αυτισμού είναι απαραίτητο να γίνεται από εξειδικευμένους επαγγελματίες, έπειτα από συστηματική παρακολούθηση του παιδιού και αξιολόγησή του σε ένα σύνολο τομέων και δεξιοτήτων. Για τη διαδικασία της διάγνωσης πραγματοποιούνται έλεγχοι οπτικοί, ακουστικοί, γενετικοί, νευρολογικοί και άλλοι (Σερετόπουλος και συν., 2020).

## Κεφάλαιο 2. Η γενετική διάγνωση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος

### 2.1. Η εξέλιξη της γενετικής και τα διαθέσιμα τεστ

Ένα φυσιολογικό ανθρώπινο κύτταρο περιέχει 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων, συμπεριλαμβανομένων 22 ζευγών αυτοσωματικών και ενός ζεύγους φυλετικών χρωμοσωμάτων (XX ή XY). Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες διακρίνονται σε αριθμητικές και δομικές. Η ανευπλοειδία περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα επιπλέον χρωμοσώματα (π.χ. 47 XX +21, 48 XXXY) ή έλλειμμα χρωμοσωμάτων (π.χ. 45 XO) και αποτελεί αριθμητική χρωμοσωμική ανωμαλία. Οι πιο συχνές ανευπλοειδίες είναι το σύνδρομο Down (τρισωμία 21), το σύνδρομο Edward (τρισωμία 18), το σύνδρομο Turner (μονοσωμία X) κ.λπ. Οι δομικές αφορούν τμήμα του χρωμοσώματος ποικίλου μεγέθους και διακρίνονται σε :

- Διπλασιασμός: Τμήμα ενός χρωμοσώματος διπλασιάζεται
- Έλλειμμα: Απώλεια τμήματος ενός χρωμοσώματος
- Μετάθεση: Ανταλλάσσεται υλικό μεταξύ δύο διαφορετικών χρωμοσωμάτων (αυτή η ανταλλαγή μπορεί να είναι ισοζυγισμένη ή μη ισοζυγισμένη)
- Αναστροφή: Μέρος του χρωμοσώματος είναι ανεστραμμένο μέσα στο χρωμόσωμα (Ozkan & Lacerda, 2021).

Πολυμορφισμός θεωρείται η κληρονομικότητα ενός χαρακτηριστικού που ελέγχεται από ένα συγκεκριμένο γονιδιακό τόπο με δύο αλληλία, το λιγότερο συχνό από τα δύο να έχει συχνότητα >1%, σε έναν συγκεκριμένο πληθυσμό. Με πιο απλά λόγια θα μπορούσαμε να πούμε ότι πολυμορφισμός είναι δύο ή και περισσότερες “δυνατότητες” ενός συγκεκριμένου χαρακτηριστικού σε ένα γονίδιο (Ismail and Essawi 2012). Στο πλαίσιο της μοριακής παθολογίας αποτελεί συνήθως παραλλαγή μη σχετιζόμενη με παθολογία (non pathogenic

variant) και είναι δυνατό να μεταβιβαστεί από τον γονέα προς το παιδί. Οι πολυμορφισμοί είναι συνήθως αποτέλεσμα μίας μακράς φυσικής διαδικασίας, η οποία είναι συνήθως ουδέτερη ή ωφέλιμη για τον οργανισμό.

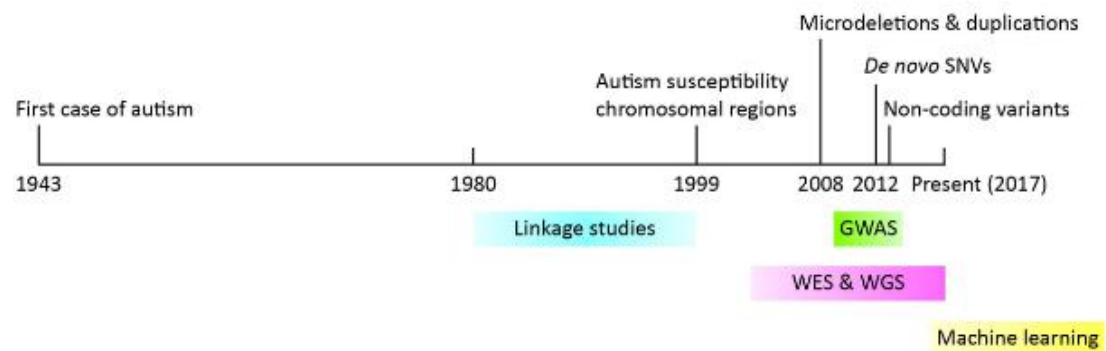
### **Είδη πολυμορφισμών:**

- SNPs-(SingleNucleotidePolymorphisms):Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί-αποτελούν τους συχνότερους στον ανθρώπινο πληθυσμό
- Del/ins (deletion/insertion ): Πολυμορφισμοί ελλείματος-ένθεσης (2-100bp)
- STRs: Μικροδορυφόρικοί πολυμορφισμοί ( 1-10 επαναλήψεις 2-4 βάσεων)
- CNVs-(Copy Number Variant): παραλλαγή αριθμού αντιγράφων
- Polymorphic repetitive elements: αλληλουχίες με ποικίλο αριθμό διαδοχικών επαναλήψεων (σε μικρή περιοχή του γονιδίου έως 300 ζεύγη βάσεων) (A, Banday et al. 2021)

Μετάλλαξη είναι οποιαδήποτε σπάνια και μη αναστρέψιμη αλλαγή της αλληλουχίας DNA. Η αλλαγή αυτή μπορεί να προκαλέσει ή όχι αλλαγές στον φαινότυπο. Οι μεταλλάξεις μπορεί να μεταβιβάζονται από τους γονείς (κληρονομικές) ή να είναι de novo. (Karki, Pandya et al. 2015, Sameer, Banday et al. 2021). Στις περισσότερες περιπτώσεις οι μεταλλάξεις, σε αντίθεση με τους πολυμορφισμούς, έχουν αρνητική επίδραση στο φαινότυπο ενός ατόμου.

Οι σύγχρονες εξελίξεις στις τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση του γονιδιώματος έχουν, αναμφισβήτητα, σημαντικό αντίκτυπο στην πρακτική της ιατρικής γενετικής, τόσο στο εργαστήριο όσο και στην κλινική πράξη. Η αυξανόμενη χρήση των εξετάσεων σε όλο το γονιδίωμα, όπως η ανάλυση χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών (Chromosomal Microarray Analysis-CMA) και η αλληλουχία όλου του γονιδιώματος (Whole genome sequencing) και εξώματος (Whole Exome

Sequencing-WES), έχουν οδηγήσει σε μια νέα κατεύθυνση. Πολλές από αυτές τις τεχνικές είναι πλέον διαθέσιμες για τη διάγνωση ενός συγκεκριμένου συνδρόμου ή κλινικού φαινοτύπου, και, ενώ οι παραδοσιακές τεχνικές εξακολουθούν να συνιστούν αποτελεσματικά εργαλεία σε ορισμένες περιπτώσεις, οι πλέον σύγχρονες προσεγγίσεις έχουν γίνει το βασικό εργαλείο για τη διάγνωση των περισσότερων καταστάσεων. Σε κάθε περίπτωση, πάντως, η επιλογή της σωστής ανάλυσης ή τεχνολογίας είναι μία πρόκληση και η λάθος επιλογή μπορεί να οδηγήσει σε καθυστέρηση της διάγνωσης ή ακόμα και σε μη διάγνωση (Lalonde et al., 2020).



Χρονοδιάγραμμα σημαντικών μεθόδων και εργαλείων για την ανακάλυψη γενετικών τόπων που σχετίζονται με τον αυτισμό

(Πηγή: Jiani Yin et al, 2018)

## ΚΑΡΥΟΤΥΠΟΣ

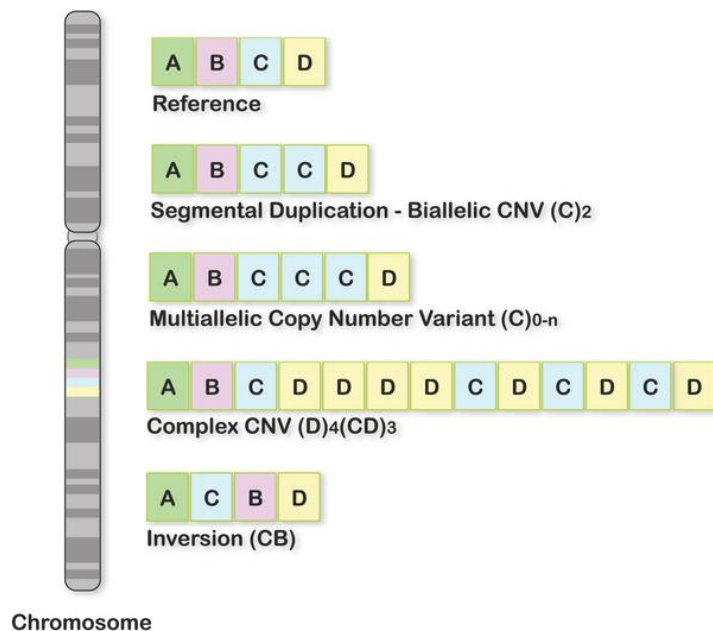
Πλέον, η χρωμοσωμική ανάλυση με χρήση συμβατικών κυτταρογενετικών τεχνικών, όπως ο απλός καρυότυπος χρησιμοποιείται κυρίως σε ασθενείς με υποψία συνδρόμων με χρωμοσωμικές ανωμαλίες ορατές στον συμβατικό καρυότυπο (>7Mb).

## ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ CNVs

Ένα ιδιαίτερα σημαντικό κομμάτι, σε αυτό το πεδίο, είναι αυτό της ανάλυσης παραλλαγών αριθμού αντιγράφων (CNV-copy number variation). Τα CNVs, αποτελούν παραλλαγές του αριθμού αντιγράφων τμήματος περιοχών DNA.

Πρόκειται για ποσοτική ανάλυση που γίνεται πάντα σε σύγκριση με ένα γονιδίωμα αναφοράς (Reference genome) και ανιχνεύει ελλείματα και διπλασιασμούς που μπορεί να αφορούν πολλά γονίδια.

Για αλλαγές, όπως ελλείματα ή διπλασιασμούς μικρού μεγέθους (<5-7Mb), μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις ή ακόμη και μωσαικισμούς η χρωμοσωμική ανάλυση με μικροσυστοιχίες (Chromosomal Microarray Analysis - CMA) έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να έχει αξιόπιστα αποτελέσματα σε ασθενείς με αναπτυξιακή καθυστέρηση, διανοητική αναπηρία, διαταραχή αυτιστικού φάσματος ή πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες άγνωστης αιτιολογίας (Harel & Lupski, 2018).



(Πηγή: Xavier Estivill, 2007)

Φαίνεται ότι κάποιες από τις παραλλαγές αυτές συνδέονται με τον κίνδυνο εμφάνισης αυτισμού.

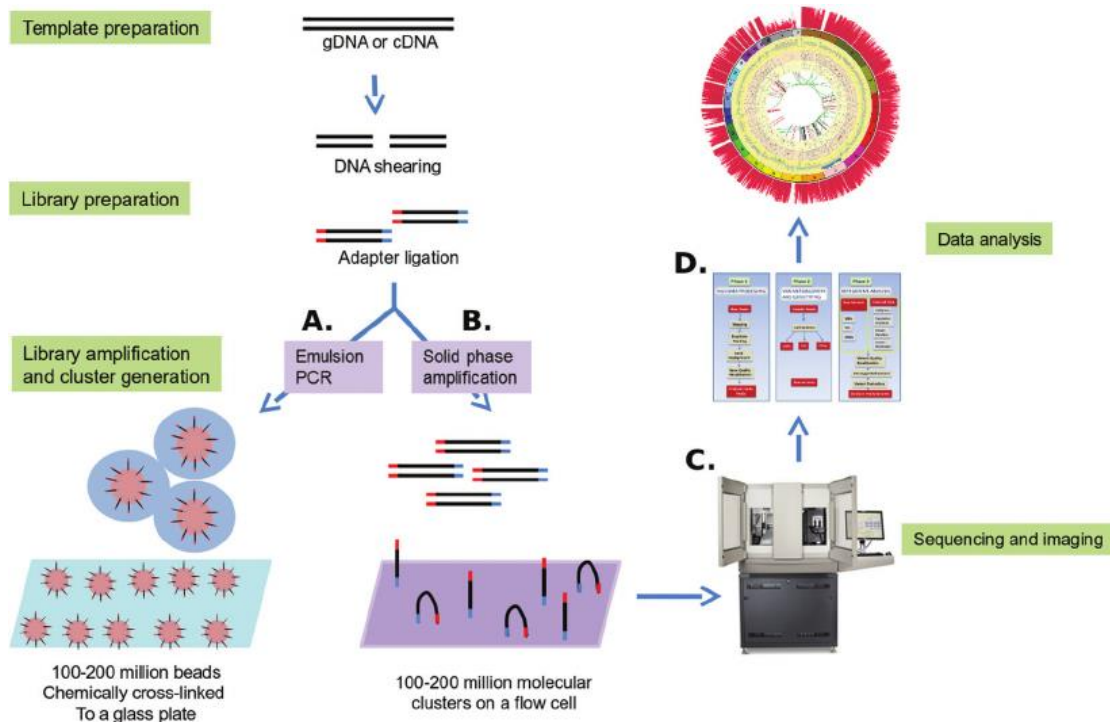
## NGS

Η ανάπτυξη της αλληλουχίας επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing - NGS) έχει παράσχει τη δυνατότητα ανίχνευσης χρωμοσωμικών ανευπλοειδιών, CNV και παραλλαγών αλληλουχίας με μία μόνο ανάλυση.

Με την τεχνολογία NGS έχουν ταυτοποιηθεί σπάνιες ή με μικρή συχνότητα γενετικές παραλλαγές που σχετίζονται με τον αυτισμό, οι οποίες δεν ήταν δυνατόν να ανιχνευθούν με προηγούμενες τεχνολογίες (Choi and An 2021).

Η τεχνολογία NGS μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πάνελ γονιδίων, για αλληλούχιση WES, αλλά και WGS.

Με τη χρήση της σύγχρονης τεχνολογίας και την αξιοποίηση των εξελίξεων στη γενετική, είναι δυνατός ο εντοπισμός γονιδίων που ενδέχεται να σχετίζονται με κάποια ασθένεια, που συνιστά μία από τις σημαντικότερες προκλήσεις της σύγχρονης γενετικής (Aouiche et al., 2018).



(Πηγή: El Mustapha Bahassi et al, 2014)

Τα τελευταία χρόνια η ανάπτυξη των μοριακών τεχνικών έχει οδηγήσει σε αυξημένη δυνατότητα αναγνώρισης αυτών των δομικών παραλλαγών (Lalonde et al., 2020), όπως αυτές που αναφέρθηκαν παραπάνω.

## 2.2. Η γενετική / βιολογική βάση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος

Στη σύγχρονη εποχή εξακολουθεί να υπάρχει συζήτηση αναφορικά με τα αίτια και τους τρόπους διάγνωσης των διαταραχών αυτιστικού φάσματος (Contractor et al., 2021). Αν και υπάρχουν συγκεκριμένοι γενετικοί παράγοντες που εμπλέκονται στην αιτιολογία του αυτισμού, η σημασία της γενετικής ανάλυσης παραμένει ασαφής (Ohashi et al., 2021).

Έχει διαπιστωθεί ότι η βασική αιτία εμφάνισης των διαταραχών αυτιστικού φάσματος είναι η νευροβιολογική λειτουργία που εμποδίζει την φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου του ατόμου και οδηγεί σε πληθώρα συμπτωμάτων σε διαφορετικές

περιοχές (Σερετόπουλος και συν., 2020). Κατά το παρελθόν, η βασική θεώρηση της επιστημονικής κοινότητας εστίαζε στη γενετική – βιολογική βάση του αυτισμού, παραδοχή που, έως και σήμερα δεν έχει εγκαταλειφθεί. Άλλα αίτια που είχαν κατά καιρούς προταθεί, όπως, για παράδειγμα, η ύπαρξη μη στοργικών γονέων, που σήμερα έχει διαπιστωθεί ότι δεν έχουν επιστημονική βάση, επισημαίνονταν ως συμπληρωματικοί παράγοντες (Fernandez & Scherer, 2017).

Η αιτιολογία των διαταραχών αυτιστικού φάσματος με βάση τα νευροβιολογικά ή νευροψυχολογικά ευρήματα σχετίζεται με τη σύνδεσή τους με συγκεκριμένες βλάβες που διαπιστώνονται στη δομή του εγκεφάλου του ατόμου και τον τρόπο με τον οποίο αυτές οδηγούν στην εκδήλωση της συγκεκριμένης συμπεριφοράς και της «τριάδας» των ελλειμμάτων που χαρακτηρίζουν τα άτομα που βρίσκονται στο φάσμα. Τα ελλείμματα αυτά έχουν συσχετιστεί με την ύπαρξη νευρολογικών βλαβών και έχει επιβεβαιωθεί η μη ομαλή λειτουργία του εγκεφάλου, αν και δεν είναι πάντοτε απολύτως ευκρινής η φύση της (Myers et al., 2020). Παρά, το γεγονός ότι στον αυτισμό υπάρχει γενετική βάση, το γενετικό υπόβαθρο στην πλειονότητα των περιπτώσεων διαταραχής αυτιστικού φάσματος δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητό.

Συγκεκριμένη ομάδα μονογονιδιακών διαταραχών, όπως το σύνδρομο ευθραύστου X και η οζώδης σκλήρυνση (Tuberous sclerosis) μπορεί να έχουν σαν συνοδά χαρακτηριστικά αυτισμό. (Thapar, 2021) Ο αυτισμός έχει συνδεθεί με μία μεγάλη ποικιλία συνδρόμων. Κλασικά παραδείγματα αποτελούν το σύνδρομο εύθραυστου X, η πολλαπλή σκλήρυνση και το σύνδρομο Rett. Με αυξανόμενους αριθμούς αναφορών για αυτισμό ως κλινικό χαρακτηριστικό διαφορετικών γενετικών συνδρόμων, ο κατάλογος των σχετικών συνδρόμων διαρκώς αυξάνεται. Ωστόσο, επειδή δεν έχουν διεξαχθεί συστηματικές μελέτες για τα περισσότερα από αυτά τα γενετικά σύνδρομα, αυτοί οι ισχυρισμοί μπορεί να οδηγήσουν σε ορισμένες



περιπτώσεις σε υπερεκτιμήσεις ή, σε άλλες, σε υποτίμησή τους. Ανεξάρτητα από αυτό όμως, η γνώση των και χαρακτηριστικών τους, που σχετίζονται με τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος, παρέχει ένα πλαίσιο διαφορικής διάγνωσης στην κλινική αξιολόγησή τους (Jiang et al., 2014).

Οι εξελίξεις στον γενετικό έλεγχο και την αξιολόγηση των αιτιών που σχετίζονται με περιπτώσεις ασθενών με διαταραχές αυτιστικού φάσματος, έχουν εντοπίσει μια αιτιολογία σε ποσοστό έως και 40%. (Genovese & Butler, 2020). Σ' αυτήν περιλαμβάνονται το σύνδρομο εύθραυστου X, το σύνδρομο Rett και άλλα γενετικά σύνδρομα, όπως η φυματώδης σκλήρυνση (10–20%), οι μεταλλάξεις γονιδίων PTEN (3%) και τα δομικά χρωμοσωμικά ελλείμματα ή διπλασιασμοί χρησιμοποιώντας πρώιμες εκδόσεις χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών (3%) και επιπλέον 10% ή υψηλότερο ποσοστό όταν χρησιμοποιείται τεχνολογία μικροσυστοιχίας υψηλής ανάλυσης.

Πολλά από τα γονίδια που εντοπίστηκαν συνδέονται με γνωστά σύνδρομα (Masini et al., 2020).

**Πίνακας 6. Συσχετισμός γονιδίων και συνδρόμων**

Κατηγορία	Γονίδιο	Σύνδρομα
Ρυθμιστές χρωματίνης	ANKRD11	Σύνδρομο KBG (#148050), Σύνδρομο Cornelia de Lange (#122470)
	ARID1B	Σύνδρομο Coffin-Siris (#135900)

ASXL3	Σύνδρομο Bainbridge-Ropes (#615485)
CHD2	Σύνδρομο Tourette (#137580)
CHD7	Σύνδρομο CHARGE (#214800)
CREBBP	Σύνδρομο Rubinstein-Taybi (#180849), Σύνδρομο Menke-Hennekam (#618332), Σύνδρομο Tourette (#137580)
EHMT1	Σύνδρομο Kleefstra (#610253)
MBD5	Σύνδρομο μικροελλειμμάτων 2q23.1 (#156200), Σύνδρομο Kleefstra (#610253)
MECP2	Σύνδρομο Rett (#312750), διανοητική αναπηρία συνδεδεμένη με το X, Σύνδρομο διπλασιασμού MECP2 (#300005)

Ρυθμιστές/ παράγοντες μεταγραφής	ADNP	Σύνδρομο Helsmoortel-van der Aa (#615873)
	FOXG1	Σύνδρομο Rett (#312750), Σύνδρομο FOXG1 (#164874), Σύνδρομο West (#613477)
	FOXP1, FOXP2	Διαταραχή γλώσσας και ομιλίας συνδεδεμένη με το FOXP2
	POGZ	Σύνδρομο White-Sutton (#616364)
	RAI1	Σύνδρομο Smith-Magenis (#182290), Σύνδρομο Potocki-Lupski (#610883)
	TFC4	Σύνδρομο Pitt-Hopkins (#610954)
	ZBTB20	Σύνδρομο μικροελλείμματος 3q13.31 (#615433), Σύνδρομο Primrose (#259050)
Ρυθμιστής σύνδεσης και διακίνησης mRNA	FMR1	Σύνδρομο εύθραυστου X (#300624), Σύνδρομο

		τρόπου, αταξίας σχετιζόμενη με το εύθραστο X
Αποικοδόμηση πρωτεϊνών	UBE3A	Σύνδρομο Angelman (#105830)
Κυτταρική ανάπτυξη/πολλαπλασιασμός	DYRK1A, NF1, PTEN, SYNGAP1, TSC1/TSC2	Σύνδρομο Cowden (#158350), Σύνδρομο μακροκεφαλίας/ αυτισμός (#608177)
Τροποποίηση πρωτεΐνης	CDKL5	Σύνδρομο Rett (#312750), Σύνδρομο Angelman (#105830)

(Πηγή: Masini et al., 2020)

Σε μία μελέτη των Fernandez και Scherer (2017), ένας αριθμός γονιδίων έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης διαταραχών αυτιστικού φάσματος.

Αυτά είναι τα γονίδια CHD8, ADNP, ARID1B, TBR1, NRXN1, SHANK3, SYNGAP1, ANK2, SCN2A, DYRK1A.

Μεταβολικές διαταραχές όπως οι μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες παρατηρούνται σε 10 έως 20% των ασθενών με διαταραχές αυτιστικού φάσματος (Rose et al., 2018).

Σε δημοσίευση των Shen et al. (2010) αναφέρεται ότι κατά τη διενέργεια της κλασικής ανάλυσης καρυότυπου, εξέτασης για εύθραστο X και μικροσυστοιχίες σε 933 ασθενείς με ΔΑΦ, βρέθηκαν μη φυσιολογικοί καρυότυποι στο 2,2% των περιπτώσεων, καθώς και μικροελλείμματα ή μικροδιπλασιασμοί στο 18,2% των

συμμετεχόντων, όπου περιλαμβάνονταν επαναλαμβανόμενα ελλείμματα ή διπλασιασμοί για το χρωμόσωμα 16p11.2 και για το χρωμόσωμα 15q13.2q-13.3.

Σε ασθενείς με διαταραχές αυτιστικού φάσματος αναφέρθηκαν μικροελλείμματα ή διπλασιασμοί που περιλαμβάνουν τις περιοχές χρωμοσωμάτων 1q24.2, 2q37.3, 3p26.2, 4q34.2, 6q24.3, 7q35, 13q13.2-q22, 15q11-q13, 116p. .2, 22q11, 2q13 και Xp22 (Genovese et al., 2020), ενώ πρόσθετες κυτταρογενετικές διαταραχές που σχετίζονται με το φάσμα του αυτισμού εντοπίζονται με τη νέα τεχνολογία μικροσυστοιχιών εξαιρετικά υψηλής ανάλυσης (π.χ. ελλείμματα 15q11.2 BP1-BP2) (Ho et al., 2016). Πρόσφατα ευρήματα από τον Καναδά και τις Ηνωμένες Πολιτείες έδειξαν επιπλέον χρωμοσωμικές περιοχές που σχετίζονται με τον αυτισμό συμπεριλαμβανομένων των 1p36.22, 2p13.1, 6q27, 8q24.22, 9p21.3, 9q.123. 16p13.2 και 18q21.1 (Woodbury-Smith et al., 2018).

Αυτές οι νεότερες μικροσυστοιχίες SNP μπορούν να εντοπίσουν ανωμαλίες με μέγεθος 100 φορές μικρότερο από αυτές που μπορούν να παρατηρηθούν με μεθόδους υψηλής ανάλυσης, συμπεριλαμβανομένων των υποψήφιων γονιδίων για τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος, ενώ σε νέες μελέτες βρέθηκαν στο χρωμόσωμα 7q11, το χρωμόσωμα 15q11.2 BP1-BP2 και το χρωμόσωμα 22q11.2 (Genovese et al., 2020).

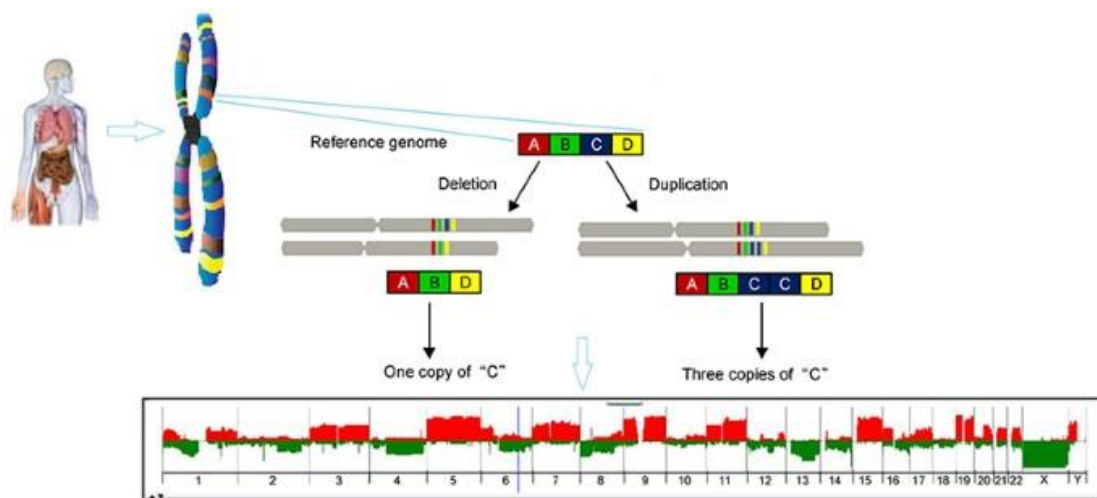
Η συντριπτική πλειονότητα των παραλλαγών γονιδίων είναι αβέβαιης κλινικής σημασίας (Rossi et al., 2017· Tammimies et al., 2015), εν μέρει λόγω της σπανιότητας που σχετίζεται με τα γονιδιωματικά σύνολα δεδομένων και τους περιορισμούς της βιοπληροφορικής, της εξελικτικής διατήρησης, των υπολογιστικών προβλέψεων και της συνάφειας σε σχέση με τον φυσιολογικό πληθυσμό. Πιθανές εξηγήσεις για την έλλειψη συνέπειας μεταξύ των αποτελεσμάτων των μοριακών

διαγνωστικών δοκιμών μπορεί να σχετίζονται με την πολυπαραγοντική αιτιολογία της διαταραχής, που επηρεάζεται από μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών επιγενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Παρά το μεγάλο ενδιαφέρον για τον εντοπισμό γονιδίων, ειδικά για τον αυτισμό, επιβλαβείς παραλλαγές έχουν ενοχοποιηθεί για πολλαπλές νευροαναπτυξιακές και ψυχιατρικές διαταραχές αλλά παραμένουν ανεπαρκείς μέχρι σήμερα για τον εντοπισμό αυτών των γονιδίων που, όταν μεταλλάσσονται, προσδίδουν σε μεγάλο βαθμό υψηλό κίνδυνο για τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος (Myers et al., 2020).

Συνολικά, πάνω από 100 γενετικοί τόποι έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται με τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος (Genovese et al., 2020), που περιλαμβάνουν γονίδια που εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, στη συναπτική λειτουργία, στη νευρωνική σηματοδότηση και στη νευροανάπτυξη (C Yuen et al., 2017).

Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχουν περίπου 800 γονίδια που ενοχοποιούνται ως κλινικά σχετικά, ευαίσθητα ή γνωστά στη διαταραχή (Genovese et al., 2020). Αυτά τα πολλαπλά γονίδια περιλαμβάνουν αρκετά μέλη των οικογενειών γονιδίων νευρολιγίνης, νευρεξίνης, υποδοχέα GABA, καντερίνης και SHANK. Άλλα γονίδια διαπιστώθηκε ότι κωδικοποιούν νευροδιαβιβαστές και τους υποδοχείς τους, μεταφορείς, ογκογονίδια και ορμόνες που προέρχονται από τον εγκέφαλο (Chatterjee et al., 2019).

### 2.3. Ο ρόλος των πολυμορφισμών πολλαπλών αντιγράφων/ποικιλομορφίας (CNV-copy number variation)



Ο αντίκτυπος δομικών ανωμαλιών των χρωμοσωμάτων, δηλαδή ελλείμματα ή διπλασιασμοί χρωμοσωμικών περιοχών, σε διαταραχές αυτιστικού φάσματος και άλλες νευροαναπτυξιακές διαταραχές έχει αναγνωριστεί εδώ και πολλές δεκαετίες. Δεδομένων των δυσκολιών στον εντοπισμό των κοινών παραγόντων κινδύνου, οι περισσότερες από τις τρέχουσες γνώσεις στη γενετική διάγνωση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος προέρχονται από την ανάλυση σπάνιων παραλλαγών, οι οποίες συνήθως προσδίδουν πολύ υψηλότερο κίνδυνο σε ένα μεμονωμένο άτομο. Μεγάλης κλίμακας γονιδιωματικές μελέτες έχουν τεκμηριώσει τον ρόλο των de novo και των σπάνιων κληρονομικών παραλλαγών αριθμού αντιγράφων (CNVs) και παραλλαγών μονονουκλεοτιδίου (SNVs) που διαταράσσουν την πρωτεΐνη στην παθογένεση της διαταραχής. Συγκεκριμένα, τα σπάνια διεισδυτικά γονιδιακά CNV, δηλαδή αυτά των ατόμων-φορέων που εμφανίζουν την νόσο, πιστεύεται ότι αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης διαταραχής αυτιστικού φάσματος στο 5-10% των ατόμων, ανάλογα με την κορόρτη που εξετάζεται. Αρκετά από αυτά τα σπάνια CNV σχετίζονται και με άλλες νευροψυχιατρικές παθήσεις, μερικά κληρονομημένα από προφανώς μη προσβεβλημένους γονείς και κανένα δεν αντιπροσωπεύει μεμονωμένα περισσότερο

από το 1% των περιπτώσεων διαταραχής αυτιστικού φάσματος, οδηγώντας στον εντοπισμό εκατοντάδων υποψηφίων γονιδίων. Ιδιαίτερα σημαντικός είναι ο ρόλος των de novo CNVs, που θεωρείται ότι έχουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο (Bacchelli et al., 2020).

Τα αποτελέσματα από ερευνητικές μελέτες όχι μόνο έχουν επιβεβαιώσει τις προηγούμενες παρατηρήσεις από μεμονωμένες αναφορές περιπτώσεων, αλλά έχουν επίσης παγιώσει αρκετά σημαντικά ευρήματα που σχετίζονται με τον ρόλο των CNV στις διαταραχές αυτιστικού φάσματος ως εξής (Jiang et al, 2014):

- (1) ένας αριθμός νέων CNVs εμπλέκονται έντονα στις διαταραχές αυτιστικού φάσματος, αλλά επίσης παρουσιάζουν τόσο μεταβλητή εκφραστικότητα όσο και πλειοτροπικά αποτελέσματα.
- (2) μεταξύ 5 και 10% των περιπτώσεων ιδιοπαθούς διαταραχής αυτιστικού φάσματος φέρουν σπάνια CNV.
- (3) τόσο τα de novo όσο και τα κληρονομικά CNV ενέχουν κίνδυνο εμφάνισης διαταραχών αυτιστικού φάσματος.
- (4) υπάρχει τριπλάσια αύξηση στα μεγάλα και σπάνια de novo CNV σε ανήλικους σε σύγκριση με τα αδέρφια τους.

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω σημεία, ο ρόλος των CNV στην ανάπτυξη διαταραχών αυτιστικού φάσματος είναι σημαντικός, αν και αρκετά διαφοροποιούμενος μεταξύ των περιπτώσεων. Σίγουρα, δεν μπορεί να υπάρξει σαφής συσχετισμός συγκεκριμένου γονιδίου με την πρόκληση της διαταραχής, αλλά μάλλον μπορεί να καταδείξει την προδιάθεση του ατόμου. Αυτό ισχύει τόσο για τα de novo όσο και για τα κληρονομικά CNV.



Οι μικροσυστοιχίες υψηλής ανάλυσης χρησιμοποιούν τώρα εκατομμύρια μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) ως ανιχνευτές για τον έλεγχο του DNA ασθενών που παρουσιάζουν νευροαναπτυξιακές διαταραχές, διανοητικές αναπηρίες και διαταραχές αυτιστικού φάσματος. Αυτές οι μικροσυστοιχίες SNP χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό μικροελλειμμάτων ή διπλασιασμών με δυνατότητα αναγνώρισης δεκάδων συνδρόμων ελλειμμάτων ή διπλασιασμών που δεν είχαν ανιχνευθεί προηγουμένως. Για παράδειγμα, μια μελέτη μικροσυστοιχιών εξαιρετικά υψηλής ανάλυσης (Ho et al. (2016) βελτιστοποιήθηκε για την ανίχνευση νευροαναπτυξιακών διαταραχών σε 10.351 ασθενείς που προσήλθαν για γενετικές υπηρεσίες για νευροαναπτυξιακές διαταραχές, διαταραχές αυτιστικού φάσματος, νοητική αναπηρία, προβλήματα συμπεριφοράς, με ή χωρίς πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες σε διάστημα τεσσάρων ετών. Το δείγμα τους είχε αναλογία ανδρών προς γυναίκες 2,5:1 με μέση ηλικία τα 7 έτη. CNVs ανιχνεύτηκαν στο 28,1% των ασθενών, στο 24,4% με διαταραχή αυτιστικού φάσματος και στο 33% των ατόμων με νοητική υστέρηση. Το ποσοστό των παθολογικών ευρημάτων ήταν σημαντικά χαμηλότερο (4,4%) όταν η διαγνωστική ένδειξη ήταν μόνο διαταραχή αυτιστικού φάσματος σε σύγκριση με τις υπόλοιπες διαγνωστικές ενδείξεις χωρίς αναφερόμενη διάγνωση στο φάσμα του αυτισμού (12,5%).

Οι συμπεριφορές που σχετίζονται με το φάσμα του αυτισμού έχουν περιγραφεί σε αρκετά καλά χαρακτηρισμένα σύνδρομα μικροελλειμμάτων ή/και μικροδιπλασιασμών, όπως τα σύνδρομα Angelman και Prader–Willi, Smith–Magenis, Potoki–Lupski, το υπερωιο-καρδιο-προσωπικό σύνδρομο (VCFS) και τα σύνδρομα Phelan–McDermid (PMS) (Myers et al., 2020).

Στον Πίνακα που ακολουθεί (Jiang et al, 2014, Fiddes et al., 2018, Zhang et al., 2021, Zinkstok et al., 2019) παρατίθεται ένα σύνολο από παραλλαγές αριθμού αντιγράφων

(CNVs) που σχετίζονται με τη διαταραχή αυτιστικού φάσματος που εντοπίστηκαν μέσω ερευνητικών μελετών που διενεργήθηκαν με βάση αναλύσεις CNV σε όλο το γονιδίωμα σε ένα μεγάλο σύνολο περιπτώσεων ατόμων που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού.

**Πίνακας 1. Κλινικά σχετιζόμενα με διαταραχές αυτιστικού φάσματος CNV**

Θέση	Υποψήφιο γονίδιο	Άλλες σχετιζόμενες διαταραχές
1q21.1	NOTCH2NL	Νοητική αναπηρία, σχιζοφρένεια, διπολική διαταραχή, μακροκεφαλία, αυτισμός
2p16.3	NRXN1	Νοητική αναπηρία, σχιζοφρένεια
2q23.1	MBD5	Νοητική αναπηρία, επιληπτική διαταραχή
3q29	DLG1/PAK2?	Νοητική αναπηρία, σχιζοφρένεια
7q11.23	LIMK	Νοητική αναπηρία
11q13.3	SHNAK2	Νοητική αναπηρία, επιληπτική διαταραχή
15q11.2	UBE3A	Νοητική αναπηρία, επιληπτική διαταραχή

15q13.3	CHRNA7	Νοητική αναπηρία, σχιζοφρένεια
16p11.2	KCD13?	Νοητική αναπηρία, διπολική διαταραχή, σχιζοφρένεια
22q11.2	LCR22	Νοητική υστέρηση, σχιζοφρένεια, ΔΕΠΥ, διαταραχές αυτιστικού φάσματος
22q13.3	SHANK3	Νοητική υστέρηση, επιληπτική διαταραχή, διπολική διαταραχή
Xp22.1	PTCHD1	Νοητική υστέρηση, επιληπτική διαταραχή
Xp22.3	NLGN3	Νοητική υστέρηση
Xq13.1	NLGN4X	Νοητική υστέρηση

(Πηγή: Jiang et al, 2014, Fiddes et al., 2018, Zhang et al., 2021, Zinkstok et al., 2019)

Αυτά τα ευρήματα, συνολικά, υποστηρίζουν την κλινική εφαρμογή της ανάλυσης μοριακού καρυότυπου σε άτομα με διαταραχή αυτιστικού φάσματος ως το συνιστώμενο μοριακό τεστ πρώτης βαθμίδας στην κλινική γενετική αξιολόγησή τους. Ωστόσο, η μετάφραση αυτών των ευρημάτων στην κλινική πρακτική παραμένει μια πρόκληση, καθώς ο αιτιώδης ρόλος αυτών των CNV δεν μπορεί πάντα να καθοριστεί (Zinkstok et al., 2019).

Η πρόσφατη μελέτη των Li et al. (2020) αφορά 1905 γονίδια που σχετίζονται με τον αυτισμό. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι γονίδια που σχετίζονται με

τον αυτισμό εμπλέκονται σε περισσότερες από 1700 μοριακές λειτουργίες, κυτταρικό εντοπισμό και βιολογικές διεργασίες. Τα περισσότερα από αυτά τα γονίδια συσχετίστηκαν σε μεγάλο βαθμό με τη συναπτική μετάδοση και ρύθμιση, την ανατομική δομική ανάπτυξη και την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος. Τα γονίδια που σχετίζονται με διαταραχές στο φάσμα του αυτισμού συσχετίστηκαν, επίσης, ανά περιπτώσεις, με ελλειμματική προσοχή, υπερκινητικότητα, βουλιμία, νεφρική νόσο, ομοκυστεϊναιμία και άλλες ασθένειες, ακόμη και μεταβολικές νόσους.

Ακόμη, στην έρευνα των Mahjani et al (2020), Από τα 808 άτομα που αξιολογήθηκαν με αλληλούχιση, τα 69 (9%) είχαν παραλλαγή μονονουκλεοτιδίου που πιθανόν σχετίζεται με παθολογία (potentially damaging single nucleotide variation (pdSNV) σε 102 γονίδια που σχετίζονται με τον αυτισμό και τα 144 (18%) είχαν pdSNV στα 102 γονίδια ή σε ένα μεγαλύτερο σύνολο νευροαναπτυξιακών γονιδίων. Τρία ή περισσότερα άτομα είχαν pdSNV σε GRIN2B, POGZ, SATB1, DYNC1H1, SCN8A ή CREBBP. Συγκριτικά, από τα 996 άτομα, τα 105 (11%) έφεραν ένα ή περισσότερα pdCNV και είχαν περισσότερες πιθανότητες να έχουν νοητική αναπηρία και επιληψία, αυξημένα ποσοστά συγγενών ανωμαλιών και άλλων διαταραχών.

Τέλος, οι Bacchelli et al. (2020) επισημαίνουν ότι η ανίχνευση CNV με χρήση συστοιχιών SNP ποικίλλει ευρέως σε διαφορετικές πλατφόρμες συστοιχιών. Ως εκ τούτου, τα πλεονεκτήματα και οι περιορισμοί κάθε πλατφόρμας θα πρέπει να σταθμιστούν προσεκτικά, για μια κατάλληλη επιλογή. Οι ερευνητές έλαβαν υπόψη μεμονωμένα CNV, προκειμένου να διερευνήσουν τη πιθανή τους σχέση με τον φαινότυπο της διαταραχής αυτιστικού φάσματος. Έτσι, 9 επικαλυπτόμενα γονίδια CNV VPS13B, WWOX, CNTNAP2, RBFOX1, MACROD2, APBA2 και PARK2 φάνηκε ότι έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Οι μεταλλάξεις στο VPS13B έχουν συσχετιστεί με το σύνδρομο Cohen, μια σπάνια αυτοσωματική υπολειπόμενη

νευροαναπτυξιακή διαταραχή, και υπολειπόμενες παραλλαγές έχουν αναφερθεί σε περιπτώσεις διαταραχής αυτιστικού φάσματος ή νοητικής αναπηρίας με αυτιστικά χαρακτηριστικά. Κατέληξαν, επίσης, στο συμπέρασμα ότι το κληρονομικό έλλειμμα που εντοπίστηκε στην περίπτωση του AB151 προκαλεί σημαντική μειωμένη έκφραση των ισομορφών πλήρους μήκους VPS13B που εμπλέκονται στο σύνδρομο Cohen, υποστηρίζοντας την υπόθεση ότι γονίδια που είναι γνωστό ότι προκαλούν σοβαρά σύνδρομα, όταν εξαλειφθούν πλήρως, ενδέχεται να καθορίσουν ηπιότερους φαινοτύπους διαταραχής αυτιστικού φάσματος (Bacchelli et al., 2020).

Ένα ακόμη γονίδιο που σχετίζεται με σύνδρομο που επηρεάζεται από ένα έλλειμμα είναι το CNTNAP2. Ομόζυγες ή σύνθετες ετερόζυγες μεταλλάξεις στο NTNAP2 είναι η αιτία του συνδρόμου φλοιώδους δυσπλασίας-εστιακής επιληψίας (CDFES, OMIM 610042) και αυτό το γονίδιο έχει εμπλακεί σε πολλαπλές νευροαναπτυξιακές διαταραχές, συμπεριλαμβανομένου του αυτισμού και της νοητικής αναπηρίας. Το κληρονομικό έλλειμμα εντοπίστηκε στους χάρτες AB87 proband στο εσώνιο 1 του CNTNAP2. Μια πρόσφατη ολοκληρωμένη ανάλυση διαταραχών του ρόλου του CNTNAP2 στις ψυχιατρικές διαταραχές έδειξε ότι το CNTNAP2 είναι απίθανο να αποτελεί πρωταρχικό γονίδιο κινδύνου για ψυχιατρικές διαταραχές, ωστόσο μπορεί να συμβάλλει στον κίνδυνο ανάπτυξης διαταραχής αυτιστικού φάσματος που αλληλεπιδρά με άλλες σπάνιες ή κοινές παραλλαγές.

Το RBFOX1 έχει εμπλακεί έντονα στην αιτιοπαθογένεση ενός ευρέος φάσματος νευροαναπτυξιακών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένης της διαταραχής αυτιστικού φάσματος. Ειδικότερα, οι CNVs RBFOX1 έχουν επισημανθεί σε άτομα που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού και άλλες νευροψυχιατρικές διαταραχές, καθώς έχουν εντοπιστεί μητρικά κληρονομούμενα ελλείμματα RBFOX1 (Bacchelli et al., 2020). Ένα παρόμοιο έλλειμμα RBFOX1 αναφέρθηκε σε μια οικογένεια στο φάσμα

του αυτισμού με αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος σε συνδυασμό με ένα σπάνιο έλλειμμα NTM που κληρονομήθηκε από τον άλλο γονέα. Το γονίδιο MACROD2 έχει θεωρηθεί ότι σχετίζεται με την διαταραχή αυτιστικού φάσματος τόσο από μελέτες CNVs όσο και από μελέτες GWAS. Επιπλέον, ένα SNP στο MACROD2 συσχετίστηκε σημαντικά με χαρακτηριστικά που μοιάζουν με αυτά των διαταραχών αυτιστικού φάσματος στο γενικό πληθυσμό (Bacchelli et al., 2020).

#### 2.4. Ο ρόλος των παραλλαγών μονονουκλεοτιδίου (SNV)

Η αναγνώριση των γονιδίων που εμπλέκονται σε σύνδρομα σχετικά με τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος δείχνει ότι μια αλλαγή αλληλουχίας ενός μεμονωμένου νουκλεοτιδίου σε ένα μόνο γονίδιο μπορεί να δημιουργήσει σημαντικό γενετικό κίνδυνο για ανάπτυξη του συγκεκριμένου συνδρόμου. Αυτή η αρχή έχει επικυρωθεί σε ιδιοπαθείς διαταραχές αυτιστικού φάσματος χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση προσδιορισμού αλληλουχίας υποψηφίων γονιδίων. Η αλληλούχιση όλων των εξωνίων του γονιδιώματος (Whole Exome Sequencing - WES) και η αλληλούχιση όλου του γονιδιώματος (Whole Genome Sequencing - WGS) με NGS-next generation sequencing έχουν προσφέρει νέες δυνατότητες για την αποκάλυψη σπάνιων παραλλαγών σε όλο το γονιδίωμα στα άτομα που βρίσκονται στο φάσμα (Rylaarsdam & Guemez-Gamboa, 2019).

Μέχρι σήμερα, υπάρχουν πολλαπλές μεγάλης κλίμακας και αρκετές μικρής κλίμακας μελέτες που έχουν διεξαχθεί στο συγκεκριμένο πεδίο. Η πρόοδος στην τεχνολογία γονιδιωματικής που χρησιμοποιεί αλληλουχιστική επόμενη γενιά (NGS) έχουν οδηγήσει στην ανακάλυψη πολλών γονιδίων που σχετίζονται/ συνδέονται με ασθένειες χρησιμοποιώντας προσεγγίσεις υποψηφίων γονιδίων, πάνελ γονιδίων

ειδικών για την ασθένεια ή αλληλούχιση ολόκληρου του εξώματος ασθενών που παρουσιάζουν νευροαναπτυξιακές διαταραχές, νοητικές αναπηρίες ή διαταραχές αυτιστικού φάσματος. Η εφαρμογή της γονιδιωματικής στη μελέτη της νευροανάπτυξης έχει ταυτοποιήσει περισσότερα από 5000 εμπλεκόμενα γονίδια χρησιμοποιώντας προσεγγίσεις αλληλουχίας κλινικών εξωμάτων σε άτομα που έχουν διαγνωστεί με αυτές τις διαταραχές. Επιπλέον, ειδικά για την περίπτωση αυτή, πάνελ δοκιμών γονιδίων NGS έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιούνται σε εργαστηριακό περιβάλλον, συμπεριλαμβανομένων περίπου 600 γονιδίων για διανοητικές αναπηρίες και πάνω από 100 γονιδίων που είναι διαθέσιμα για έλεγχο των διαταραχών αυτιστικού φάσματος (Genovese et al., 2020).

Σύγχρονες έρευνες έχουν καταλήξει σε μεγαλύτερο αριθμό σπάνιων, γονιδιακών CNV σε άτομα με αυτισμό και έχουν καταδείξει συσχέτιση αυτών των παραλλαγών με τη διαταραχή (Pizzo et al., 2019). Οι Escamilla et al. (2017) υπέθεσαν επίσης ότι τα ελλείμματα KCTD13 από μόνα τους δεν είναι πιθανό να επαρκούν για την εμφάνιση της διαταραχής, όπως είχε υποτεθεί στο παρελθόν. Αντίθετα, προτείνουν ένα άλλο γονίδιο στην περιοχή 16p11.2 ως συσχετιζόμενο με τον αυτισμό, που ενεργοποιείται από την μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση 3 (MAP3) - με ελλείμματα που οδηγούν σε αλλοιωμένη αρχιτεκτονική του φλοιού και μειωμένο μέγεθος εγκεφάλου (Pucilowska et al., 2015). Κατά πάσα πιθανότητα, ο πραγματικός συσχετισμός με τη διαταραχή δεν εντοπίζεται απλώς σε διπλασιασμούς ή ελλείμματα μόνο σε ένα γονίδιο, αλλά μια σε αλληλεπίδραση και των 25 που σχετίζεται με τη διαταραχή αυτιστικού φάσματος.

Οι Iyer et al. (2018) ερεύνησαν συστηματικά την αλληλεπίδραση μεταξύ γονιδίων στην περιοχή 16p11.2. Εκτός από τις 24 τροποποιητικές αλληλεπιδράσεις που ανακαλύφθηκαν μεταξύ ζευγών γονιδίων στην περιοχή αυτή, βρέθηκαν, επίσης, 46

αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων και άλλων περιοχών που εμπλέκονται στη νευροανάπτυξη (Iyer et al., 2018). Αυτό υποδηλώνει έντονα ότι η τροποποίηση των αλληλεπιδράσεων εντός των CNV έχει ως αποτέλεσμα τους σύνθετους φαινοτύπους που παρατηρούνται και μπορεί να μην αποσαφηνιστεί από μελέτες σε μεμονωμένα γονίδια, ένα φαινόμενο που είναι πιθανό να ισχύει για άλλες περιοχές CNV εκτός από το 16p11.2.

Αλλαγές στο μιτοχondριακό DNA ανιχνεύθηκαν σε άτομα με διαταραχή αυτιστικού φάσματος (Varga et al., 2018). Οι παθογόνες και πιθανά παθογόνες μεταλλάξεις μελετήθηκαν και επιβεβαιώθηκαν με αλληλουχία Sanger. Ελλείμματα εντοπίστηκαν στο 16,6% των ασθενών με διαταραχή αυτιστικού φάσματος. Εννέα από τις δέκα περιπτώσεις με ελλείμματα mtDNA έφεραν σπάνια SNVs σε γονίδια που σχετίζονται με τη διαταραχή, ενώ ένα από αυτά σχετιζόταν με παθολογία. Σύμφωνα με τη μελέτη, τα ελλείμματα mtDNA είναι πιο συχνά στην περίπτωση του φάσματος του αυτισμού, αλλά συνυπάρχουν είτε με άλλους γενετικούς παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την διαταραχή είτε με αλλαγές στα γονίδια που είναι υπεύθυνα για τη διαγονιδιακή επικοινωνία (Citrigno et al., 2020).

Οι Liu et al. (2021) εξέτασαν συνολικά 567 εξωνικά SNVs. Αυτά τα SNVs μοιράζονταν το ίδιο μοτίβο και «υπογραφή» μετάλλαξης με τις προηγουμένως αναφερθείσες μεταλλάξεις που σχετίζονται με τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος. Δεδομένου ότι η διαταραχή αυτιστικού φάσματος επηρεάζεται τόσο από γενετικούς όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, είναι ενδιαφέρον να μελετηθεί το μικροβίωμα στο πλαίσιο της γενετικής παραλλαγής του ξενιστή. Αναλύθηκε το προφίλ SNV και η σύνθεση του μικροβιώματος των κοπράνων καθώς και των μεταβολιτών του, και επιπλέον, οι κυτοκίνες του ξενιστή στις διαταραχές αυτιστικού φάσματος και βρέθηκε ότι η σύνθεση του μικροβιώματος συσχετίζεται με



λειτουργικά SNV. Τα λειτουργικά SNV που βρίσκονται σε γονίδια που εμπλέκονται στη διαδικασία γλυκοζυλίωσης, στην έμφυτη ανοσοαπόκριση και στη μεταβολική διαδικασία ρετινοειδών εμπλουτίστηκαν σημαντικά παρουσία διαταραχών αυτιστικού φάσματος, υποδεικνύοντας ότι η μη φυσιολογική λειτουργία των πρωτεϊνών που συμμετείχαν σε αυτές τις βιολογικές διεργασίες μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεση της διαταραχής.

## 2.5. Διαγνωστικές τεχνικές

Σε κάθε περίπτωση, η γενετική διάγνωση του αυτισμού αποτελεί μία πρόκληση για τη σύγχρονη ερευνητική κοινότητα, γι' αυτό και έχει δοθεί έμφαση στην αξιοποίηση των διαθέσιμων στοιχείων, αλλά και των σύγχρονων πρακτικών (Zhang et al., 2021), καθώς εξακολουθεί να υπάρχει διάλογος αναφορικά με τα αίτια και τους τρόπους διάγνωσης των διαταραχών αυτιστικού φάσματος (Contractor et al., 2021). Σίγουρα, οι σύγχρονες εξελίξεις έχουν οδηγήσει στην ικανότητα αναγνώρισης ενός σημαντικού αριθμού γονιδίων που σχετίζονται με το φάσμα του αυτισμού (Hanly et al., 2021).

Δεδομένης της διαγνωστικής απόδοσης των γενετικών εξετάσεων και της δυνατότητας κλινικής και προσωπικής χρησιμότητας, έχει διατυπωθεί η θέση ότι ο γενετικός έλεγχος πρέπει να προσφέρεται σε όλους τους ασθενείς με σημαντική αναπτυξιακή καθυστέρηση, διανοητική αναπηρία ή/και διαταραχή του φάσματος του αυτισμού. Παρά τη σύσταση αυτή, τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι μια μειοψηφία παιδιών με διαταραχή του φάσματος του αυτισμού και διανοητική αναπηρία έχουν υποβληθεί σε γενετικό έλεγχο (Savatt & Myers, 2021).

Η έρευνα των Moreno-de-Luca et al. (2020) κατέδειξε ότι μόλις το 3% των συμμετεχόντων υποβλήθηκε στον συνιστώμενο κλινικό γενετικό έλεγχο για

διαταραχή αυτιστικού φάσματος, υπογραμμίζοντας μια ασυμφωνία μεταξύ των επαγγελματικών συστάσεων και της κλινικής πρακτικής. Υπάρχουν πολλοί πιθανοί λόγοι για αυτό το χάσμα, συμπεριλαμβανομένων (1) των προτιμήσεων των συμμετεχόντων, αν και τα τρέχοντα στοιχεία δείχνουν ότι οι περισσότεροι γονείς ατόμων με αυτισμό έχουν ευνοϊκή στάση απέναντι στον γενετικό έλεγχο και (2) περιορισμούς στην ασφαλιστική κάλυψη.

Επί του παρόντος, στις ΗΠΑ, συνιστάται κλινική γενετική αξιολόγηση για όλα τα παιδιά με επιβεβαιωμένη διάγνωση διαταραχών αυτιστικού φάσματος (Zwaigenbaum et al., 2009· Schaefer et al., 2013). Σε άλλες χώρες, όπως χαρακτηριστικά στο Ηνωμένο Βασίλειο δεν συστήνεται γενετικός έλεγχος ρουτίνας σε παιδιά με αυτισμό, εκτός αν συνοδεύεται από νοητική υστέρηση (Thapar and Rutter 2021). Λόγω της αυξημένης ζήτησης για διαγνωστικές αξιολογήσεις και των της επακόλουθης αύξησης των χρόνων αναμονής, απαιτείται ο τυποποιημένος έλεγχος να εφαρμόζεται ως μέρος της τακτικής κλινικής πρακτικής. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχει σημαντική ανάγκη για την ανάπτυξη ενός περισσότερο βελτιωμένου εργαλείου προσυμπτωματικού ελέγχου σε ένα υπάρχον σύστημα αξιολόγησης για τον εντοπισμό εκείνων των ατόμων που διατρέχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο να βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού. Η έρευνα των Stewart et al. (2021) χρησιμοποίησε δεδομένα από περίπου 17.000 αξιολογήσεις που ελήφθησαν στην επαρχία του Οντάριο, με βάση το interRAI Child and Youth Mental Health (ChYMH) και το Child and Youth Mental Health and Developmental Disability (ChYMH-DD), για την ανάπτυξη μιας κλίμακας για την αναγνώριση των παιδιών που έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να διαγνωστούν με τη διαταραχή.

Εκτιμάται ότι μια συγκεκριμένη γενετική αιτιολογία μπορεί να προσδιοριστεί σε περίπου 15-20% των ατόμων με που βρίσκονται στο φάσμα (Schaefer et al., 2013).

Σε γενικές γραμμές, αναγνωρίζεται ότι η ανάλυση SNV μπορεί να παρουσιάσει δεδομένα που καταδεικνύουν αυξημένο κίνδυνο για διαταραχές αυτιστικού φάσματος ή/ και νοητική αναπηρία (Howes et al., 2018· Griesi-Oliveira & Sertié, 2017). Οι Griesi-Oliveira & Sertie (2017) προτείνουν όλοι οι ασθενείς με διαταραχές αυτιστικού φάσματος να ελέγχονται μέσω ανάλυσης χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών, αφού υπολογίζεται ότι περίπου το 10% των ασθενών εμφανίζει κλινικά σημαντικά CNVs. Ειδικότερα, σε ασθενείς που παρουσιάζουν μικρο/μακροκεφαλία , επιληπτικές κρίσεις, δυσμορφικά χαρακτηριστικά, συγγενείς δυσμορφίες και οικογενειακό ιστορικό άλλων ψυχιατρικών και νευροαναπτυξιακών διαταραχών ανιχνεύονται υψηλότερα ποσοστά σημαντικών κλινικά CNV. Δεδομένου ότι ο καρύοτυπος έχει χαμηλότερη ανάλυση από την ανάλυση χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών, σήμερα αυτή η κυτταρογενετική εξέταση ενδείκνυται μόνο όταν υπάρχει υποψία ανευπλοειδίας ή ιστορικό επαναλαμβανόμενων αποβολών που υποδηλώνουν χρωμοσωμικές αναδιατάξεις.

Τα δεδομένα της έρευνας των Barton et al. (2018) υποδηλώνουν ότι οι αποφάσεις για τη γενετική εξέταση του αυτισμού επηρεάζονται κυρίως από τους παρόχους και δευτερευόντως από τους ασφαλιστικούς φορείς, ενώ φαίνεται ότι η έλλειψη ασφαλιστικής κάλυψης μπορεί να αποθαρρύνει τους παρόχους από τη διενέργεια των σχετικών τεστ.

Σε κάθε περίπτωση, η σχετική εξέταση έχει σημασία, στην περίπτωση πιθανών συνδρόμων, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικές διαπιστώσεις. Από την άλλη πλευρά, με δεδομένο ότι δεν υπάρχει κάποια εξέταση με εντελώς αξιόπιστα αποτελέσματα για την περίπτωση διαταραχών αυτιστικού φάσματος, δεν έχει νόημα η σχετική διαδικασία να αποκτήσει ευρύτερη χρήση. Για τον παραπάνω λόγο, η σημασία της γενετικής ανάλυσης του αυτισμού και του εντοπισμού των παραγόντων

που έχει διαπιστωθεί ότι εμπλέκονται στην αιτιολογία του είναι απαραίτητη στις περιπτώσεις που υπάρχει κίνδυνος για συγκεκριμένα σύνδρομα (Ohashi et al., 2021· Trambacz-Oleszak & Nosulia, 2021).

Τέλος, αν και η διαταραχή αυτιστικού φάσματος συνιστά μια νευροαναπτυξιακή διαταραχή που χαρακτηρίζεται από εξασθενημένη κοινωνική επικοινωνία και περιορισμένα ενδιαφέροντα, έχει τόσο γενετικά όσο και περιβαλλοντικά αίτια και, έτσι, η γενετική εξέταση μπορεί να δώσει στους κλινικούς γιατρούς χρήσιμες πληροφορίες και να βοηθήσει τους ίδιους τους ασθενείς, αλλά και τις οικογένειές τους να διασφαλίσουν την πρόσβαση σε σημαντικές πληροφορίες για την υγεία των πασχόντων, αλλά και των μελλοντικών γενεών (Little & Gunter, 2021).

Ακολούθως, παρουσιάζονται ορισμένες από τις πλέον συχνά χρησιμοποιούμενες και καλά τεκμηριωμένες διαγνωστικές τεχνικές.

### 2.5.1. Ανάλυση CNV

Η ανίχνευση των CNV επιτυγχάνεται συνήθως μέσω της τεχνολογίας μικροσυστοιχιών (arrays), η οποία είναι πλέον η συνιστώμενη γενετική διαγνωστική μέθοδος πρώτης βαθμίδας για την αξιολόγηση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος, CNV και SNP-arrays (Miller et al., 2010· Schaefer et al., 2013). Το επίπεδο γονιδιωματικής ανάλυσης που επιτυγχάνεται με ανάλυση συστοιχίας εξαρτάται από τον αριθμό, το μέγεθος και την απόσταση μεταξύ των ανιχνευτών. Η συστοιχία CGH χρησιμοποιεί ολιγονουκλεοτίδια (60-85 mers) ενώ τα SNPs (25-50 mers) είναι οι ανιχνευτές για τις συστοιχίες SNP.

Υπάρχουν επίσης προσαρμοσμένες συστοιχίες που μπορούν να ανιχνεύσουν CNV ενός εξονίου που περιλαμβάνουν μόνο μερικές εκατοντάδες ζεύγη βάσεων (Boone et al., 2010). Ωστόσο, επειδή τα SNP κυριαρχούν σε συγκεκριμένες περιοχές, είναι πιθανό ορισμένες περιοχές του γονιδιώματος, όπως μεμονωμένα εξόνια, να μην αντιπροσωπεύονται σε συστοιχίες SNP. Επιπλέον, οι συστοιχίες SNP επιδεικνύουν χαμηλότερο λόγο σήματος προς θόρυβο ανά ανιχνευτή από το CMA, γεγονός που μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μικρότερη ευαισθησία για την ανίχνευση CNV. Ως εκ τούτου, με μέγιστη κλινική ευαισθησία, οι πλατφόρμες που συνδυάζουν γονότυπο συστοιχίας CGH και SNP αποτελούν τον βασικό τύπο συστοιχίας που χρησιμοποιείται κλινικά (Wiszniewska et al., 2014).

Ένα πλεονέκτημα των συστοιχιών SNP είναι ότι μπορούν να αποκαλύψουν περιοχές εντός του γονιδιώματος που στερούνται ετεροζυγωτίας, δηλαδή Absence of Heterozygosity (AOH). Η αναγνώριση αυτών των περιοχών είναι χρήσιμη κλινικά για την ανίχνευση πολυπλοειδίας, μονογονικής δισωμίας, συγγένειας και υπολειπόμενων ασθενειών, αν και αυτές πιστεύεται ότι είναι σπάνιες αιτίες διαταραχών του αυτιστικού φάσματος (Alkan et al., 2011). Ωστόσο, μια πρόσφατη μελέτη ανέφερε ότι τα άτομα που βρίσκονται στο φάσμα και έχουν διαγνωστεί και με διανοητική αναπηρία έχουν περισσότερες περιοχές AOH σε σύγκριση με τα μη επηρεασμένα αδέρφια τους. Επιπλέον, ανάλυση συγκεκριμένων περιοχών AOH βοήθησε στην ανακάλυψη υποψήφιων για αυτισμό γονιδίων, εντοπίζοντας μεμονωμένα γονίδια εντός ενός διαστήματος AOH που είτε είναι υποτροπιάζοντα στη διαταραχή αυτιστικού φάσματος είτε φιλοξενούν μια ομόζυγη, σπάνια επιβλαβή μετάλλαξη, που παρατηρείται κατά την ανάλυση των δεδομένων εξωαλληλουχίας (Gamsiz et al., 2013).

Η αξία των συστοιχιών συνδυασμού CGH/SNP συνίσταται στην ανίχνευση τόσο του CNV όσο και του ουδέτερου ως προς την αντιγραφή AOH σε μία μόνο ανάλυση. Ένα ενδογονιδιακό έλλειμμα του 8q που περιλαμβάνει εξόνια στο γονίδιο VPS13B για το σύνδρομο Cohen ανιχνεύθηκε με ανάλυση CNV, ενώ η γραφική παράσταση δεδομένων SNP αποκάλυψε ένα μπλοκ AOH που αντιστοιχεί στην περιοχή στο 8q που περιλαμβάνει το γονίδιο VPS13B. Συνδυαστικά, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ένα ομόζυγο ενδογονιδιακό έλλειμμα στο VPS13B (Jiang et al, 2014).

Η αυξημένη ανάλυση των συστοιχιών που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος στη διάγνωση των διαταραχών του αυτιστικού φάσματος υπόσχεται την ανακάλυψη περισσότερων CNV που σχετίζονται με το φάσμα ή μεμονωμένων υποψηφίων γονιδίων. Για παράδειγμα, οι συνδυασμένες αναλύσεις των CNV σε εξωνικές περιοχές και η αλληλουχία των κωδικοποιητικών εξονίων οδήγησαν στη διάγνωση μιας αυτοσωματικής γενετικής διαταραχής. Σε αυτή την περίπτωση ένα έλλειμμα των εξονίων 22-25 στο γονίδιο VPS13B, το οποίο σχετίζεται με το σύνδρομο Cohen, ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά με ανάλυση CNV χρησιμοποιώντας μια συστοιχία στόχευσης εξονίων (BCM V8). Η επακόλουθη ανάλυση αλληλουχίας του γονιδίου VPS13B εντόπισε μια εσφαλμένη μετάλλαξη στο άλλο αλληλόμορφο (Wiszniewska et al., 2014).

Αυτά τα παραδείγματα υπογραμμίζουν ότι, για να ανακαλυφθεί η ακριβής μοριακή αιτιολογία, μπορεί να είναι απαραίτητος ο συνδυασμός διαφορετικών τεχνολογιών σε μία δοκιμή (συστοιχία CGH + SNP) ή η χρήση συνδυασμού μοριακών διαγνωστικών δοκιμών (ανάλυση CNV συν ιατρική επανάληψη αλληλουχίας υποψηφίων γονιδίων ή WES).

### 2.5.2. Γενετική ανάλυση

Στην περίπτωση που η κλινική εικόνα του ασθενούς υποδηλώνει την ύπαρξη διαταραχών του αυτιστικού φάσματος σχετιζόμενη με γνωστό σύνδρομο, η πιο αποτελεσματική προσέγγιση είναι να επιδιωχθεί η συγκεκριμένη γενετική ανάλυση για το ύποπτο σύνδρομο. Υπάρχουν πολυάριθμες μοριακές διαγνωστικές δοκιμές που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση ενός μόνο γονιδίου. Οι μεθοδολογίες περιλαμβάνουν ανάλυση αλληλουχίας (σημειακές μεταλλάξεις), FISH (μικροελλείμματα / διπλασιασμούς), αποτύπωση κατά Southern, (μεγάλες επαναλαμβανόμενες επεκτάσεις) και τη μέθοδο Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA) (μικροελλείμματα / διπλασιασμούς). Σύμφωνα με τις πρακτικές οδηγίες του American College of Medical Genetics (ACMG) και της American Academy of Pediatrics, η εξέταση DNA για εύθραστο X συνίσταται για όλα τα παιδιά που είναι ύποπτα για διαταραχές αυτιστικού φάσματος (Devlin & Scherer, 2012· Myers et al, 2007· Monaghan et al., 2013). Αν και η συγκεκριμένη οδηγία είναι παλαιότερη, δεν έχει εκδοθεί νέα από τον φορέα.

Με την εφαρμογή του CMA, η ανάλυση FISH έχει καταργηθεί σταδιακά στην κλινική διαγνωστική πρακτική. Ωστόσο, για ένα καθορισμένο σύνδρομο μικροελλειμμάτων με χαρακτηριστικά κλινικά χαρακτηριστικά, εξακολουθεί να έχει αξία λόγω του σχετικά χαμηλού κόστους του σε σύγκριση με το CMA.

Επειδή υπάρχει σημαντική γενετική ετερογένεια στη διαταραχή αυτιστικού φάσματος, υπάρχει ανάγκη για περαιτέρω έρευνα στο συγκεκριμένο πεδίο (Gill et al., 2021), καθώς οι σχετικές εξετάσεις εντοπίζουν μεταλλάξεις και παραλλαγές που έχουν συσχετιστεί με τη διαταραχή, αλλά δεν υπάρχει μία και μόνο εξέταση που μπορεί με σαφήνεια να οδηγήσει στη διάγνωση .

✓ **Αλληλούχιση επιλεγμένων γονιδίων (πάνελ)**

Η μέθοδος αυτή (Targeted Gene Panels - TGP) με χρήση τεχνολογίας NGS είναι μια δημοφιλής προσέγγιση στην πρακτική της μοριακής διάγνωσης (Rehm et al., 2013). Η TGP επιτρέπει μεγαλύτερο βάθος κάλυψης σε σύγκριση με μια ανάλυση μεμονωμένου γονιδίου και καλύτερη αναλυτική ευαισθησία και εξειδίκευση σε σύγκριση με το WES που παρουσιάζεται στη συνέχεια. Ο βασικός σχεδιασμός περιλαμβάνει την ομαδοποίηση των γονιδίων που εμπλέκονται σε μια διαταραχή με σημαντική γενετική ετερογένεια ή σχετίζονται με έναν συγκεκριμένο κλινικό φαινότυπο που μοιράζεται την ίδια μοριακή παθοφυσιολογία. Το TGP είναι ιδιαίτερα ελκυστικό για μια διαταραχή με σημαντική ετερογένεια γενετικού τύπου, που είναι δύσκολο να διαφοροποιηθεί με βάση την κλινική εικόνα. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα περιλαμβάνουν τη μελαγχρωστική αμφιβληστροειδίτιδα, το σύνδρομο Bardet–Biedl, την απώλεια ακοής και το σύνδρομο Noonan. Στην περίπτωση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος, υπάρχει γενετική ετερογένεια και η μοριακή βάση για την πλειονότητα των περιπτώσεων δεν είναι ακόμη γνωστή. Επομένως, το TGP είναι μια ελκυστική διαγνωστική στρατηγική. Αρκετά πάνελ γονιδίων που σχετίζονται με την διαταραχή προσφέρονται από κλινικά μοριακά διαγνωστικά εργαστήρια και περιλαμβάνουν γονίδια που εμπλέκονται σε σύνδρομα που σχετίζονται με το φάσμα ή πιθανά συσχετιζόμενα γονίδια (Jiang et al., 2014).

Τα αποτελέσματα των WES και WGS δεν έχουν ακόμη ενσωματωθεί σε αυτά τα διαγνωστικά πάνελ. Αν και η κλινική εγκυρότητα των πάνελ δεν έχει αξιολογηθεί πλήρως, αναμένεται ότι θα γίνουν πολύτιμο εργαλείο στο κλινικό περιβάλλον. Η ανάπτυξη ενός TGP που ενσωματώνει γονίδια που πιθανόν σχετίζονται με τις



διαταραχές αυτιστικού φάσματος από πρόσφατες μελέτες WES και WGS αναμένεται να αποτελέσουν το επόμενο λογικό βήμα. Αν και πολλά υποψήφια γονίδια που προτείνονται από ερευνητικές μελέτες WES ή WGS δεν έχουν ακόμη επιβεβαιωθεί πλήρως, είναι πιθανώς λογικό να συμπεριλαμβάνονται στον έλεγχο. Αυτός ο σχεδιασμός αποτελεί μια σημαντική μεταβατική στρατηγική μέχρι να επικυρωθεί πλήρως η χρήση των τεχνικών WES ή WGS για τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος. Τα ευρήματα από τη χρήση της TGP μπορεί να επιταχύνουν την επικύρωση των ερευνητικών ευρημάτων εάν τα κλινικά εργαστήρια μοιράζονται τα αποτελέσματα και τους κλινικούς φαινότυπους (Jiang et al., 2014). Μάλιστα, σύγχρονες έρευνες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι η μελέτη των γενετικών παραγόντων που σχετίζονται με την αιτιολογία του αυτισμού μπορεί να οδηγήσει στο μέλλον ακόμη και στην ικανότητα της επιστημονικής κοινότητας να αντιστρέψει ορισμένα από τα ελλείμματα στους ενήλικους με διαταραχή αυτιστικού φάσματος (Trambacz-Oleszak & Nosulia, 2021).

#### ✓ **Δοκιμασία WES**

Η αλληλούχιση όλων των εξωνίων του γονιδιώματος (Whole Exome Sequencing - WES) στην κλινική γενετική πρακτική έχει αποκτήσει δυναμική (Gahl et al., 2012). Μια μελέτη που χρησιμοποιεί WES σε κλινική εφαρμογή δημοσιεύτηκε για πρώτη φορά το 2009 (Ng et al., 2009). Μια μετάλλαξη που προκαλεί βλάβη σε ασθενή με γνωστό γενετικό σύνδρομο αναγνωρίστηκε με επιτυχία από το WES στα πλαίσια ερευνητικού πρωτοκόλλου. Στη συνέχεια, η επιτυχία της χρήσης του WES για την ανακάλυψη νέων γονιδίων που προκαλούν ασθένειες αναφέρθηκε το 2010 (Hoischen et al., 2011· Gahl et al., 2010· Ng et al., 2009). Το 2011, τα κλινικά μοριακά

διαγνωστικά εργαστήρια άρχισαν να προσφέρουν το WES ως κλινική δοκιμή χρησιμοποιώντας διαφορετικές μεθόδους λήψης συστοιχιών και αναλυτικά παραδείγματα.

Επί του παρόντος, οι ενδείξεις για τη χρήση του WES ως κλινικής εξέτασης έχουν σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ κλινικών γενετιστών ή ιατρών άλλων ειδικοτήτων. Ασθενείς με σημαντική διανοητική αναπηρία, επιληπτικές διαταραχές, πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες και άλλες ασυνήθιστες κλινικές εκδηλώσεις είναι συνήθως καλοί υποψήφιοι για WES. Επειδή ένα σημαντικό υποσύνολο ατόμων με διαταραχές αυτιστικού φάσματος, ιδιαίτερα σοβαρές περιπτώσεις, παρουσιάζουν συνήθως συννοσηρότητα με βαριάς μορφής διανοητική αναπηρία, επιληπτικές διαταραχές και άλλες μικρές συγγενείς ανωμαλίες, είναι λογικό να υποστηριχθεί ότι η κλινική WES ενδείκνυται, εάν η δοκιμή πρώτης γραμμής είναι αρνητική. Η ακριβής ευαισθησία του WES σε κλινικές εφαρμογές δεν μπορεί να επιτευχθεί εύκολα. Ωστόσο, συσσωρευμένα στοιχεία σε ένα κλινικό εργαστήριο στις ΗΠΑ ανέφεραν ποσοστό επιτυχίας περίπου 25% στον προσδιορισμό της αιτίας για 250 περιπτώσεις ατόμων με ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις. Μια άλλη ομάδα ερευνητών στη Μέση Ανατολή ανέφερε ότι βρήκε 37 πιθανές παραλλαγές σε 100 ασθενείς για γνωστές μενδελιανές ασθένειες (37%) (Rodriguez-Flores et al., 2014). Τα αποτελέσματα από πρόσφατες ερευνητικές μελέτες WES/WGS σε άτομα που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού δεν μπόρεσαν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της θετικής προγνωστικής αξίας για το WES σε κλινικό περιβάλλον, καθώς τα υποκείμενα της μελέτης δεν επιλέχθηκαν προσεκτικά και η εστίαση ήταν στον εντοπισμό de novo μεταλλάξεων (Jiang et al., 2014· Ruzzo et al., 2019).

### ✓ Δοκιμασία WGS

Σε σύγκριση με το WES, το WGS προσφέρει πλεονεκτήματα εκτός από το κόστος και την πολυπλοκότητα της ανάλυσης δεδομένων. Το WGS έχει καλύτερη κάλυψη γονιδιώματος για τις κωδικοποιητικές αλληλουχίες βάσει του σχεδιασμού (Jiang et al., 2013). Επιπλέον, οι μη κωδικοποιητικές περιοχές που δεν καλύπτονται από το WES περιλαμβάνονται στο WGS. Το WGS επιτρέπει επίσης την ανίχνευση CNV σε υψηλή ανάλυση που οι τρέχουσες πλατφόρμες CGH συστοιχιών δεν μπορούν να ανιχνεύσουν. Για αυτούς τους λόγους, είναι λογικό να αναμένεται ότι το WGS θα αντικαταστήσει τελικά το WES και το CMA για δοκιμές ρουτίνας, εφόσον το κόστος μειωθεί και η διαχείριση και η ανάλυση δεδομένων εξορθολογιστούν. Τα δεδομένα έρευνας που διενεργήθηκε από τους Artech-Lopez et al. (2021) αποδεικνύουν την υψηλότερη διαγνωστική ισχύ του WES σε σύγκριση με το CMA στη μελέτη της διαταραχής αυτιστικού φάσματος και υποστηρίζουν την εφαρμογή του WES ως τεστ πρώτης επιλογής για τη γενετική διάγνωση αυτής της διαταραχής, όταν δεν υπάρχει υποψία για το σύνδρομο εύθραυστου X.

### ✓ Μεταβολικός έλεγχος

Έως σήμερα δε έχουν πραγματοποιηθεί συστηματικές μελέτες που να εξετάζουν τη διαγνωστική απόδοση του μεταβολικού ελέγχου σε περιπτώσεις ασθενών με διαταραχές αυτιστικού φάσματος. Η γενική άποψη που εκφράζεται για τις μεταβολικές διαταραχές στα άτομα αυτά είναι ότι είναι χαμηλής συχνότητας, αλλά υψηλού αντίκτυπου, επειδή ορισμένες είναι θεραπεύσιμες. Αν και δεν έχει επιτευχθεί ομοφωνία σχετικά με το επίπεδο δοκιμών που πρέπει να συνιστάται, πιθανώς ενδείκνυται μια βασική βιοχημική εξέταση ως αξιολόγηση πρώτης βαθμίδας,

ιδιαίτερα σε χώρες ή περιοχές όπου ο έλεγχος νεογνών για εγγενείς ανωμαλίες του μεταβολισμού δεν είναι υποχρεωτική στην ιατρική πρακτική. Για κλινικά περιβάλλοντα με καλή κλινική εξειδίκευση στις μεταβολικές διαταραχές, μια στοχευμένη βιοχημική εξέταση μετά την κλινική αξιολόγηση είναι πιθανώς πιο αποδοτική (Jiang et al., 2014).

Οι εξετάσεις που συνίσταται να γίνονται είναι οι ακόλουθες:

- (1) Προφίλ αμινοξέων στο πλάσμα
- (2) Ομοκυστίνη πλάσματος
- (3) Οργανικά οξέα ούρων
- (4) Προφίλ ακυλκαρνιτίνης
- (5) Πίνακας βιοσύνθεσης καρνιτίνης ούρων
- (6) Πίνακας βιοσύνθεσης καρνιτίνης πλάσματος
- (7) Ανάλυση κρεατίνης/γουανιδινοοξικής ούρων
- (8) Προφίλ ακυλκαρνιτίνης πλάσματος
- (9) Ανάλυση πουρίνης ούρων
- (10) Ανάλυση πυριμιδίνης ούρων
- (11) Γαλακτικό οξύ

## Συζήτηση – συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, στη διάρκεια των τελευταίων ετών έχει γίνει σημαντική πρόοδος σε ό,τι αφορά την γενετική διάγνωση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή συνολικά περιλαμβάνει συγκεκριμένες προκλήσεις. Μια σημαντική πρόκληση της χρήσης μιας προσέγγισης της ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος για κλινική εφαρμογή είναι ο προσδιορισμός του αιτιακού ρόλου των γενετικών μεταλλάξεων που προσδιορίζονται από αυτές τις δοκιμές. Τα πρότυπα και οι οδηγίες του American College of Medical Genetics αποτελούν έναν καλό οδηγό, αν και δεν είναι προσφάτως ανανεωμένα (Patel et al., 2013), ενώ η ανάγκη για περαιτέρω εξέταση του πεδίου είναι επιτακτική (Kim et al., 2022).

Γενικά, είναι απαραίτητο να δίνεται έμφαση στο μέγεθος του CNV, τη γονιδιωματική θέση, τα γονίδια που εμπλέκονται και τον αναφερόμενο φαινότυπο του ασθενούς. Εάν η εμπλεκόμενη περιοχή περιέχει γονίδιο ή γονίδια με λειτουργίες συμβατές με τα μη φυσιολογικά κλινικά ευρήματα ή ασθενείς που περιγράφηκαν προηγουμένως με παρόμοια ανισορροπία και φαινότυπο, το CNV θα πρέπει να θεωρείται ως πιθανό παθογόνο. Εάν η κλινική σημασία εξακολουθεί να είναι ασαφής, ενδέχεται να απαιτείται διερεύνηση των γονέων και άλλων μελών της οικογένειας με ανάλυση FISH ή CMA (ανάλογα με το μέγεθος του CNV) για την ερμηνεία και την αποσαφήνιση των αποτελεσμάτων. Η ανασκόπηση του οικογενειακού ιστορικού μπορεί συχνά να παρέχει ενδείξεις για την ερμηνεία αυτών των παραλλαγών. Αν και η παρουσία του CNV σε υγιή μέλη της οικογένειας υποδηλώνει ότι είναι καλοήθης, η χαμηλή διεισδυτικότητα και η μεταβλητή εκφραστικότητα του φαινοτύπου μπορεί να περιπλέξουν την ερμηνεία. Ένας μεγαλύτερος, σπάνιος CNV που έχει προσδιοριστεί ως *de novo* προέλευσης είναι πιο πιθανό να είναι παθογόνος. Ωστόσο, η *de novo*

εμφάνιση ενός CNV δεν αποτελεί απόλυτη απόδειξη της παθογένειάς του και πρέπει να δίνεται προσοχή στην συγκεκριμένη περίπτωση.

Η ερμηνεία της κλινικής σημασίας των CNV παραμένει μια πρόκληση και απαιτεί χρονοβόρες εκτεταμένες αναζητήσεις στις βάσεις δεδομένων καθώς και στη βιβλιογραφία, και συνεργασία μεταξύ του εργαστηρίου και του παραπέμποντος κλινικού ιατρού (Stankiewicz et al., 2010). Ακόμη και σε περιπτώσεις όπου ο ρόλος του CNV είναι γνωστό ότι ενέχει σημαντικό κίνδυνο για μια διαταραχή σχετιζόμενη με το φάσμα του αυτισμού, εξακολουθεί να είναι δύσκολο να εντοπιστεί το ακριβές αιτιολογικό γονίδιο ή γονίδια επειδή συνήθως υπάρχουν περισσότερα από 10 γονίδια ενσωματωμένα σε ένα μόνο CNV. Σε ορισμένες περιπτώσεις, γονίδια δίπλα ή έξω από τα διαγραμμένα ή διπλά διαστήματα μπορεί επίσης να επηρεαστούν λόγω επίδρασης θέσης ή διακοπής ενός στοιχείου ρυθμιστικής αλληλουχίας. Η δυσκολία είναι να προσδιοριστεί ποιο γονίδιο ή γονίδια εντός του CNV είναι υπεύθυνα για βασικά χαρακτηριστικά που παρατηρούνται σε αυτές τις περιπτώσεις. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η ένδειξη μπορεί να προέρχεται από τη λειτουργία ενός γνωστού γονιδίου ή και περισσότερων στο διάστημα που έχει αποσαφηνιστεί από μελέτη *in vitro* ή με άλλον τρόπο.

Οι προκλήσεις ερμηνείας είναι παρόμοιες για τα SNV που προσδιορίζονται από στοχευμένα γονιδιακά πάνελ, WES ή WGS. Για τις μεταλλάξεις που διαταράσσουν την πρωτεΐνη σε ομοζυγώτες ή σύνθετους ετεροζυγώτες, υπάρχει μεγαλύτερη σιγουριά σε ό,τι αφορά την ερμηνεία, αν και η σπανιότητα αυτών εξακολουθεί να προκαλεί ανησυχία. Για άλλες μεταλλάξεις δεν είναι πάντοτε δυνατός ο προσδιορισμός της αιτιότητας με βάση μόνο την ανάγνωση των πληροφοριών της ακολουθίας. Στοιχεία από λειτουργικές μελέτες σε κυτταρικά και *in vivo* μοντέλα

αναφέρονται συχνά στην ερευνητική βιβλιογραφία για να υποστηρίξουν τον αιτιολογικό ρόλο αυτών των παραλλαγών (Jiang et al., 2014).

Μια άλλη κοινή επιπλοκή για την ερμηνεία των SNV που προσδιορίζονται από τα TGP, WES ή WGS είναι ότι μπορεί να εντοπιστούν πολλαπλές παραλλαγές άγνωστης σημασίας (Variants of Unknown Significance - VUS) σε ένα άτομο. Στις περισσότερες περιπτώσεις, είναι δύσκολο να προσδιοριστεί η αιτιολογία με βάση τις δεδομένες πληροφορίες. Το πρόσφατα αναπτυγμένο σύστημα επεξεργασίας γονιδιώματος του CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat) έχει αποδειχθεί πολλά υποσχόμενο σε ό,τι αφορά τον γρήγορο χειρισμό του ανθρώπινου γονιδιώματος εισάγοντας SNV ή μικρά inDels (Cong et al., 2013; Mali et al., 2013). Μία απαραίτητη εξέλιξη είναι, σε κάθε περίπτωση, η ανάπτυξη των κατάλληλων βάσεων δεδομένων για τον καταλογισμό σχολιασμών παραλλαγών για την τυπική ονοματολογία μεταλλάξεων και μια ολοκληρωμένη βάση δεδομένων αναφοράς ιατρικά σημαντικών μεταλλάξεων που θα βοηθά στην εύκολη διασταύρωση των δεδομένων.

Συνολικά, ένας αυξανόμενος όγκος στοιχείων υποδηλώνει ότι πολλαπλές γενετικές αλλοιώσεις οδηγούν στην ανάπτυξη διαταραχών στο φάσμα του αυτισμού (Leblond et al., 2012). Αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την πρόταση ότι αυτή η ομάδα διαταραχών είναι μια σύνθετη γενετική διαταραχή που προκύπτει από την ταυτόχρονη γενετική παραλλαγή σε λίγα, πολλά ή και πολλαπλά γονίδια (El-Fishawy et al., 2010). Σε αυτή την περίπτωση, ο όρος *clan genomics* εισάγεται για να υπενθυμίσει ότι δεν είναι σκόπιμο η έρευνα να επικεντρώνεται δυσανάλογα σε συγκεκριμένες παραλλαγές αλλά μάλλον να πρέπει να ενσωματώνει εξέταση σε όλες τις κατηγορίες παραλλαγών που σχετίζονται με τον συγκεκριμένο κίνδυνο. Σε ορισμένα άτομα, ο κίνδυνος αυτός μπορεί να προκαλείται από έναν ασυνήθιστο

συνδυασμό κοινών παραλλαγών, ενώ σε άλλα μπορεί να οφείλεται σε μικρότερο αριθμό σπάνιων παραλλαγών μεγάλης επίδρασης (Lupski et al., 2011). Επιπλέον, όπως έχει επισημανθεί, η επιγενετική απορρύθμιση των συναπτικών γονιδίων σε μεταγραφικό επίπεδο μπορεί επίσης να συμβάλει στην ευαισθησία ανάπτυξης διαταραχών στο φάσμα του αυτισμού (Zhu et al., 2014).

Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι είναι πιθανό να υπάρξουν τυχαία, ακούσια ευρήματα κατά την κλινική πράξη. Μία από τις τρέχουσες, επίμαχες συζητήσεις αφορά το πώς θα πρέπει να γίνεται ο χειρισμός αυτών των τυχαίων ευρημάτων που προκύπτουν από την αλληλουχία WES/WGS. Ο όρος τυχαία ευρήματα αναφέρεται σε αποτελέσματα μιας σκόπιμης αναζήτησης για παθογόνες ή πιθανώς παθογόνες αλλοιώσεις σε γονίδια που δεν σχετίζονται προφανώς με τη διαγνωστική ένδειξη για την οποία έγινε εξ αρχής η δοκιμασία προσδιορισμού αλληλουχίας. Το συγκεκριμένο εύρημα μπορεί να ισχύει για τους ίδιους τους ασθενείς ή για τους γονείς. Είναι σημαντικό να λαμβάνονται υπόψη όλες οι παράμετροι κατά τον σχεδιασμό της εκάστοτε παρέμβασης.

Η παρατηρούμενη μεταβλητή εκφραστικότητα, το πλειοτροπικό αποτέλεσμα και η ατελής διεισδυση που σχετίζονται με τα CNV και τα SNV θέτουν προκλήσεις για τη γενετική συμβουλευτική και τον προσδιορισμό των σχετικών κινδύνων. Η παρουσία του ίδιου CNV σε μη προσβεβλημένα μέλη της οικογένειας θέτει ξεκάθαρα ένα δίλημμα στην παροχή συμβουλών σε οικογένειες που ενδιαφέρονται να χρησιμοποιήσουν αυτές τις πληροφορίες για προγεννητική διάγνωση. Η εξαιρετικά μεταβλητή εκφραστικότητα και διεισδυτικότητα δεν είναι εντελώς απροσδόκητη. Ωστόσο, σε πολλά άλλα σύνδρομα μικροελλειμμάτων, όπως τα σύνδρομα Angelman και Prader–Willi, William, 1p36, 22q11.2 και Phelan–McDermid, οι συγκεκριμένες μεταλλάξεις δεν έχουν ποτέ αναφερθεί σε υγιή άτομα. Ακόμη και στην περίπτωση



του συνδρόμου ελλειμμάτων 22q11.2 στο οποίο το πλειοτροπικό αποτέλεσμα έχει τεκμηριωθεί καλά και το 10% είναι κληρονομικό, η διείσδυση είναι πλήρης. Το ενδιαφέρον ερώτημα είναι εάν τα CNV που σχετίζονται με τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος λειτουργούν κάτω από μοριακούς μηχανισμούς που είναι πιο επιδεκτικοί σε γενετικούς τροποποιητές ή περιβαλλοντικούς παράγοντες κατά τη διάρκεια της εξέλιξης (Jiang et al., 2014).

Στην κλινική πρακτική, η ταυτοποίηση νέων, de novo ή κληρονομικών CNV και SNV έχει συναντηθεί συχνά. Συνήθως είναι μοναδικά και δεν υπάρχουν σε βάσεις δεδομένων αναφοράς και δεν έχουν αναφερθεί από ερευνητικές μελέτες. Επομένως, η παθογένεια αυτών των παραλλαγών σε σχέση με τη τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος δεν μπορεί να προσδιοριστεί εύκολα.

Δεδομένων των ενδεχόμενων επιπλοκών με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και την παροχή συμβουλών, ο έλεγχος σε όλο το γονιδίωμα θα πρέπει να πραγματοποιηθεί σε συνδυασμό με μια ολοκληρωμένη ιατρική γενετική αξιολόγηση που περιλαμβάνει λεπτομερές οικογενειακό ιστορικό και εξέταση των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών του ασθενούς και των υπόλοιπων μελών της οικογένειας. Επιπλέον, με το ταχέως μεταβαλλόμενο γονιδιωματικό τοπίο, είναι σημαντικό για τις οικογένειες να επιστρέφουν για επανεκτίμηση σε συνιστώμενα χρονικά διαστήματα, τόσο να επανεξετάζεται η τρέχουσα ερμηνεία προηγουμένως αναγνωρισμένων μεταλλάξεων ασαφούς κλινικής σημασίας όσο και να καθορίζεται εάν υπάρχουν νέες, κατάλληλες διαγνωστικές δοκιμασίες που θα μπορούσαν να ενισχύσουν την υπάρχουσα γνώση.

Η προγεννητική διάγνωση του αυτισμού είναι μία διαδικασία που δεν έχει εισαχθεί ακόμη στην συνήθη πρακτική, κυρίως γιατί σπάνια μόνο μπορεί να είναι γνωστή η

γενετική αιτιολογία της βλάβης. Με την πιο διαδεδομένη χρήση γενετικών εξετάσεων για την περίπτωση ατόμων που βρίσκονται στο φάσμα και την ανακάλυψη νέων γενετικών παραγόντων, αναμένεται ότι η συγκεκριμένη διαδικασία μπορεί να επεκταθεί. Επιπλέον, τεχνολογίες όπως η CMA χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο σε προγεννητικά δείγματα (Warner et al, 2012) και έχουν τη δυνατότητα να αποκαλύψουν μεταλλάξεις που σχετίζονται με το φάσμα του αυτισμού σε έμβρυα χωρίς προηγούμενο κίνδυνο. Ωστόσο, υπήρξαν μόνο λίγες μελέτες σε εγκύους γυναίκες που τεκμηριώνουν την προγεννητική αναγνώριση των ελλειμμάτων 16p13.11 και 15q26, οι οποίες έχει επισημανθεί ότι σχετίζονται με φαινότυπο των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού (Law et al., 2009).

Χωρίς μακροχρόνια παρακολούθηση, ωστόσο, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για χρήση στη συμβουλευτική όταν τέτοια ευρήματα εντοπίζονται απροσδόκητα κατά τον προγεννητικό έλεγχο. Εξάλλου, ο προγεννητικός έλεγχος για τις διαταραχές στο φάσμα του αυτισμού είναι τεχνικά εφικτός για εγκυμοσύνες υψηλού κινδύνου, εάν έχει προηγουμένως εντοπιστεί η επικίνδυνη μετάλλαξη. Ωστόσο, δεν είναι πάντα δυνατό να προβλεφθεί με αξιοπιστία ο φαινότυπος ακόμα κι αν η μεταβολή είναι παρούσα στο έμβρυο. Επιπλέον, το προγεννητικό υπερηχογράφημα είναι περιορισμένης χρήσης στην προσπάθεια να διαπιστωθεί εάν το έμβρυο επηρεάζεται επειδή δεν υπάρχουν εμφανή σημεία για τη διάγνωση της διαταραχής. Για παράδειγμα, το μικροέλλειμμα 16p11.2 είναι συχνά *de novo*. Με βάση τις τρέχουσες βιβλιογραφικές αναφορές, ενώ η διαταραχή αυτιστικού φάσματος δεν διαγιγνώσκεται στα περισσότερα άτομα με μικροέλλειμμα 16p11.2, εξακολουθεί να εμφανίζεται πολύ πιο συχνά μεταξύ των ατόμων με αυτό το μικροέλλειμμα παρά στον γενικό πληθυσμό.

Σε αυτό το πλαίσιο, ένα σημαντικό ζήτημα που προκαλεί δυσκολίες στην προγεννητική διάγνωση της διαταραχής είναι ότι (i) οι περισσότερες παθογόνες παραλλαγές δεν εντοπίζονται αποκλειστικά σε άτομα με διαταραχή αυτιστικού φάσματος, αλλά εμφανίζονται επίσης και στον γενικό πληθυσμό, αν και με πολύ χαμηλότερη συχνότητα ή (ii) κληρονομούνται από έναν γονέα με ή χωρίς διάγνωση της διαταραχής (Sanders et al., 2011).

Συνοπτικά, σε πολλές περιπτώσεις, η καταλληλότητα της προγεννητικής διάγνωσης για τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος είναι αβέβαιη λόγω της εγγενούς δυσκολίας στην ακριβή ανίχνευση και πρόβλεψη του φαινοτύπου που σχετίζεται με έναν δεδομένο γονότυπο. Η ατελής διείσδυση και η μεταβλητή εκφραστικότητα αντιπροσωπεύουν τις μεγαλύτερες προκλήσεις στον προγεννητικό έλεγχο για την συγκεκριμένη διαταραχή (Jiang et al., 2014).

## Επίλογος

Συνοψίζοντας, ένα σύνολο γενετικών μελετών για τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος έχει παράγει στοιχεία που υποστηρίζουν ένα σημαντικό συμπέρασμα: ότι σπάνιες γενετικές παραλλαγές συμπεριλαμβανομένων των CNV και των SNV εμπλέκονται έντονα στην αιτιολογία της διαταραχής. Η ανάπτυξη νέων μοριακών διαγνωστικών τεχνολογιών όπως η συστοιχία CGH/CMA και το NGS έχει προσφέρει μια άνευ προηγουμένου ευκαιρία για την αποκάλυψη σπάνιων γενετικών παραλλαγών που σχετίζονται με το φάσμα του αυτισμού. Αν και αυτές οι μελέτες δεν έχουν ακόμη οδηγήσει σε απόλυτη κατανόηση της μοριακής βάσης στην πλειονότητα των περιπτώσεων διαταραχών αυτιστικού φάσματος, αυτά τα ευρήματα παρέχουν πράγματι μια ευκαιρία για κλινική εφαρμογή.

Εξακολουθούν να υπάρχουν ακόμη, πάντως, πολλές προκλήσεις στην ανάπτυξη ενός ισχυρού συνόλου γενετικών δοκιμών για τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος στην κλινική πράξη και για την παροχή συμβουλών στις οικογένειες σχετικά με γενετικά ευρήματα. Πρέπει, ωστόσο, να γίνουν αρκετά ακόμη σημαντικά βήματα προς αυτή την κατεύθυνση. Υπάρχει επείγουσα ανάγκη για την ανάπτυξη μιας αξιόπιστης λειτουργικής ανάλυσης που θα βοηθά στην ερμηνεία της κλινικής συνάφειας των γενετικών παραλλαγών που προσδιορίζονται από κλινικές δοκιμές. Για να διευκολυνθεί αυτή η διαδικασία, θα ήταν εξαιρετικά πολύτιμο για διαφορετικά εργαστήρια να μοιράζονται τη βάση δεδομένων της κλινικής ακολουθίας WES και τα δεδομένα κλινικού φαινοτύπου. Για να καθιερωθεί η πρακτική που βασίζεται σε στοιχεία, είναι σημαντικό να υπάρξουν δεδομένα σχετικά με την εγκυρότητα ή την απόδοση κάθε μεθόδου έπειτα από μια συστηματικά σχεδιασμένη μελέτη ή από συσσωρευμένη κλινική εμπειρία. Επιπλέον, θα πρέπει επίσης να διεξαχθεί ανάλυση κόστους και αποτελέσματος για να καθιερωθεί σταθερά ένα πρότυπο φροντίδας για

την κλινική γενετική αξιολόγηση των διαταραχών στο φάσμα του αυτισμού. Παρά αυτές τις πολλές και σημαντικές προκλήσεις, πάντως, υπάρχουν καλοί λόγοι να πιστεύουμε ότι η κλινική γενετική αξιολόγηση των συγκεκριμένων διαταραχών αποτελεί σημαντικό μέρος της κλινικής φροντίδας για τα παιδιά που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού και τις οικογένειές τους.

## Περίληψη

Η γενετική αιτιολογία για τις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού προτάθηκε για πρώτη φορά από μελέτες που διενεργήθηκαν κατά τη δεκαετία του 1970. Ο εντοπισμός γονιδιακών μεταλλάξεων άτομα με διαταραχές αυτιστικού φάσματος παρείχε στοιχεία που υποστηρίζουν μια γενετική της συγκεκριμένης ομάδας διαταραχών. Πιο πρόσφατα, οι αναλύσεις παραλλαγής αριθμού αντιγράφων και αλληλουχίας σε όλο το γονιδίωμα του ατόμου αποκάλυψαν μια λίστα σπάνιων και εξαιρετικά διεισδυτικών πολλαπλών αντιγράφων γονιδίων (CNV) ή παραλλαγών μονονουκλεοτιδίου (SNV) που σχετίζονται με το φάσμα του αυτισμού, γεγονός που ενίσχυσε τον ισχυρισμό για γενετική αιτιολογία της διαταραχής.

Τα ευρήματα από ερευνητικές μελέτες στο πεδίο των γενετικών παραγόντων που σχετίζονται με τις διαταραχές αυτιστικού φάσματος οδηγούν στην ανάδειξη του σημαντικού τους ρόλου για τη διάγνωση και την γενετική αξιολόγησή τους. Διάφορες μοριακές διαγνωστικές δοκιμασίες, συμπεριλαμβανομένων δοκιμών μεμονωμένων γονιδίων, στοχευμένων πολλαπλών γονιδιακών πλαισίων και ανάλυσης αριθμού αντιγράφων θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στην κλινική γενετική αξιολόγηση των διαταραχών αυτιστικού φάσματος. Η αλληλουχία ολόκληρου του εξώματος θα μπορούσε επίσης να ληφθεί υπόψη σε συγκεκριμένες κλινικές περιπτώσεις. Ωστόσο, η πρόκληση που παραμένει είναι να προσδιοριστεί ο αιτιολογικός ρόλος των γενετικών παραλλαγών που προσδιορίζονται μέσω μοριακών δοκιμών. Η μεταβλητή εκφραστικότητα, τα πλειοτροπικά αποτελέσματα και η ατελής διείσδυση που σχετίζονται με τα CNV και τα SNV παρουσιάζουν επίσης σημαντικές προκλήσεις για τη συμβουλευτική και την προγεννητική διάγνωση.

Με βάση τα παραπάνω, καθίσταται σαφής η αξία της γενετικής διάγνωσης των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού και η σημαντική συμβολή της επιστημονικής κοινότητας στη διαδικασία εξέτασης και ανάδειξης των παραγόντων που οδηγούν στην εκδήλωσή τους. Με αυτόν τον τρόπο, είναι δυνατό να καταστεί ακόμη πιο σαφής η φύση της διαταραχής και να διασαφηνιστούν πτυχές της που έως και σήμερα, πολλές δεκαετίες μετά από την πρώτη παρατήρησή της, δεν είναι απολύτως κατανοητές. Τα οφέλη αυτής της εξέλιξης θα είναι σημαντικά για την επιστήμη, αλλά και για την κοινωνία, τα άτομα που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού και τους φροντιστές τους, τα εκπαιδευτικά συστήματα, τα συστήματα υγείας και πρόνοιας.

Ως εκ τούτου, θα ήταν απαραίτητο να εξεταστούν περαιτέρω οι γενετικές πτυχές των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού και να αναπτυχθούν πιο ακριβείς μέθοδοι διάγνωσης, ιδανικά μέθοδοι που μπορούν να οδηγήσουν σε έγκαιρη διάγνωση, που είναι πιο ωφέλιμη για τα παιδιά που διαγιγνώσκονται ότι βρίσκονται στο φάσμα.

Λέξεις – κλειδιά: φάσμα του αυτισμού, διαταραχές αυτιστικού φάσματος, αίτια, διάγνωση, γενετική

**Abstract**

The genetic etiology of spectrum disorders was first proposed by studies in the 1970s. More recently, genome-wide copy number variant and sequence analyses across the individual gene have revealed a list of rare and highly invasive variations of the copy number variants (CNVs) or single nucleotide variants (SNVs) associated with the autism spectrum, which is claimed. for genetic etiology of the disorder.

Findings from research studies in the field of genetic factors associated with autism spectrum disorders lead to the emergence of their important role in their diagnosis and genetic evaluation. Various molecular diagnostic tests, including single gene tests, targeted multiple gene frames, and copy number analyzes to be considered in the clinical genetic evaluation of autism spectrum disorders. The whole exome sequencing could also be considered in specific clinical cases. However, the challenge that remains is not determining the causal role of genetic variants identified through molecular testing. The variable expression, pleiotropic effects, and incomplete penetration associated with CNVs and SNVs also present significant challenges for counseling and prenatal diagnosis.

Based on the above, the value of the genetic diagnosis of autism spectrum disorders becomes clear and so does the important contribution of the scientific community to the process of examining and highlighting the factors that lead to their manifestation. In this way, it is possible to highlight the nature of the disorder and to clarify aspects of it that to this day, many decades after its first observation, are not fully understood. The aspects of this development will be important for science, but also for society, people on the autism spectrum and their caregivers, education systems, health and welfare systems.



Therefore, it would be necessary to further examine the genetic aspects of autism spectrum disorders and to develop more accurate diagnosis methods, ideally methods that can lead to early diagnosis, that is more beneficial for the children that are diagnosed to be in the spectrum.

Keywords: autism spectrum, autism spectrum disorders, causes, diagnosis, genetics

## Βιβλιογραφία

A, S., M. Banday and S. Nissar (2021). Mutations and Polymorphisms: What Is The Difference?: 1-21.

Agrawal, S., Rao, S. C., Bulsara, M. K., & Patole, S. K. (2018). Prevalence of Autism Spectrum Disorder in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics*, *142*(3), e20180134. <https://doi.org/10.1542/peds.2018-0134>.

Alkan, C., Coe, B. P., & Eichler, E. E. (2011). Genome structural variation discovery and genotyping. *Nature reviews. Genetics*, *12*(5), 363–376. <https://doi.org/10.1038/nrg2958>.

Amaral D. G. (2017). Examining the Causes of Autism. *Cerebrum: the Dana forum on brain science*, *2017*, cer-01-17.

Aouiche, C., Shang, X. & Chen, B. Copy number variation related disease genes. *Quant Biol* *6*, 99–112 (2018). <https://doi.org/10.1007/s40484-018-0137-6>.

APA (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. Fifth ed. Washington, DC: American Psychiatric Association.

Arteche-López, A., Gómez Rodríguez, M. J., Sánchez Calvin, M. T., Quesada-Espinosa, J. F., Lezana Rosales, J. M., Palma Milla, C., Gómez-Manjón, I., Hidalgo Mayoral, I., Pérez de la Fuente, R., Díaz de Bustamante, A., Darnaude, M. T., Gil-Fournier, B., Ramiro León, S., Ramos Gómez, P., Sierra Tomillo, O., Juárez Rufián, A., Arranz Cano, M. I., Villares Alonso, R., Morales-Pérez, P., Segura-Tudela, A., ... Alvarez-Mora, M. I. (2021). Towards a Change in the Diagnostic Algorithm of Autism Spectrum Disorders: Evidence Supporting Whole Exome Sequencing as a First-Tier Test. *Genes*, *12*(4), 560. <https://doi.org/10.3390/genes12040560>.

Atladóttir, H. Ó., Henriksen, T. B., Schendel, D. E., & Parner, E. T. (2012). Autism after infection, febrile episodes, and antibiotic use during pregnancy: an exploratory study. *Pediatrics*, *130*(6), e1447–e1454. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1107>.

Atsem, S., Reichenbach, J., Potabattula, R., Dittrich, M., Nava, C., Depienne, C., Böhm, L., Rost, S., Hahn, T., Schorsch, M., Haaf, T., & El Hajj, N. (2016). Paternal age effects on sperm FO XK1 and KCNA7 methylation and transmission into the next generation. *Human molecular genetics*, *25*(22), 4996–5005. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw328>.

Bacchelli, E., Cameli, C., Viggiano, M., Iglizzo, R., Mancini, A., Tancredi, R., Battaglia, A., & Maestrini, E. (2020). An integrated analysis of rare CNV and exome variation in Autism Spectrum Disorder using the Infinium PsychArray: Scientific reports. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59922-3>.

Bailey, A., Luthert, P., Dean, A., Harding, B., Janota, I., Montgomery, M., Rutter, M., & Lantos, P. (1998). A clinicopathological study of autism. *Brain: a journal of neurology*, *121* (5), 889–905. <https://doi.org/10.1093/brain/121.5.889>.

Baio, J., Wiggins, L., Christensen, D. L., Maenner, M. J., Daniels, J., Warren, Z., Kurzius-Spencer, M., Zahorodny, W., Robinson Rosenberg, C., White, T., Durkin, M. S., Imm, P., Nikolaou, L., Yeargin-Allsopp, M., Lee, L. C., Harrington, R., Lopez, M., Fitzgerald, R. T., Hewitt, A., Pettygrove, S., ... Dowling, N. F. (2018).

Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. *Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries* (Washington, D.C.: 2002), 67(6), 1–23. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6706a1>.

Barton, K. S., Tabor, H. K., Starks, H., Garrison, N. A., Laurino, M., & Burke, W. (2018). Pathways from autism spectrum disorder diagnosis to genetic testing. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 20(7), 737–744. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.166>.

Bauman, M., & Kemper, T. L. (1985). Histoanatomic observations of the brain in early infantile autism. *Neurology*, 35(6), 866–874. <https://doi.org/10.1212/wnl.35.6.866>.

Beunders, G., Voorhoeve, E., Golzio, C., Pardo, L. M., Rosenfeld, J. A., Talkowski, M. E., Simonic, I., Lionel, A. C., Vergult, S., Pyatt, R. E., van de Kamp, J., Nieuwint, A., Weiss, M. M., Rizzu, P., Verwer, L. E., van Spaendonk, R. M., Shen, Y., Wu, B. L., Yu, T., Yu, Y., ... Sistermans, E. A. (2013). Exonic deletions in AUTS2 cause a syndromic form of intellectual disability and suggest a critical role for the C terminus. *American journal of human genetics*, 92(2), 210–220. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.12.011>.

Bjørk, M., Riedel, B., Spigset, O., Veiby, G., Kolstad, E., Daltveit, A. K., & Gilhus, N. E. (2018). Association of Folic Acid Supplementation During Pregnancy With the Risk of Autistic Traits in Children Exposed to Antiepileptic Drugs In Utero. *JAMA neurology*, 75(2), 160–168. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.3897>.

Boone, P. M., Bacino, C. A., Shaw, C. A., Eng, P. A., Hixson, P. M., Pursley, A. N., Kang, S. H., Yang, Y., Wiszniewska, J., Nowakowska, B. A., del Gaudio, D., Xia, Z., Simpson-Patel, G., Immken, L. L., Gibson, J. B., Tsai, A. C., Bowers, J. A., Reimschisel, T. E., Schaaf, C. P., Potocki, L., ... Stankiewicz, P. (2010). Detection of clinically relevant exonic copy-number changes by array CGH. *Human mutation*, 31(12), 1326–1342. <https://doi.org/10.1002/humu.21360>.

Braunschweig, D., Ashwood, P., Krakowiak, P., Hertz-Picciotto, I., Hansen, R., Croen, L. A., Pessah, I. N., & Van de Water, J. (2008). Autism: maternally derived antibodies specific for fetal brain proteins. *Neurotoxicology*, 29(2), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2007.10.010>.

C Yuen, R. K., Merico, D., Bookman, M., L Howe, J., Thiruvahindrapuram, B., Patel, R. V., Whitney, J., Deflaux, N., Bingham, J., Wang, Z., Pellecchia, G., Buchanan, J. A., Walker, S., Marshall, C. R., Uddin, M., Zarrei, M., Deneault, E., D'Abate, L., Chan, A. J., Koyanagi, S., ... Scherer, S. W. (2017). Whole genome sequencing resource identifies 18 new candidate genes for autism spectrum disorder. *Nature neuroscience*, 20(4), 602–611. <https://doi.org/10.1038/nn.4524>.

Celestino-Soper, P. B., Shaw, C. A., Sanders, S. J., Li, J., Murtha, M. T., Ercan-Sencicek, A. G., Davis, L., Thomson, S., Gambin, T., Chinault, A. C., Ou, Z.,

- German, J. R., Milosavljevic, A., Sutcliffe, J. S., Cook, E. H., Jr, Stankiewicz, P., State, M. W., & Beaudet, A. L. (2011). Use of array CGH to detect exonic copy number variants throughout the genome in autism families detects a novel deletion in TMLHE. *Human molecular genetics*, *20*(22), 4360–4370. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr363>.
- Chatterjee, M., Schild, D., & Teunissen, C. E. (2019). Contactins in the central nervous system: role in health and disease. *Neural regeneration research*, *14*(2), 206–216. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.244776>.
- Chiu, P. H., Kayali, M. A., Kishida, K. T., Tomlin, D., Klinger, L. G., Klinger, M. R., & Montague, P. R. (2008). Self responses along cingulate cortex reveal quantitative neural phenotype for high-functioning autism. *Neuron*, *57*(3), 463–473. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.12.020>.
- Choi, L., & An, J. Y. (2021). Genetic architecture of autism spectrum disorder: Lessons from large-scale genomic studies. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *128*, 244–257. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.028>.
- Choi, G. B., Yim, Y. S., Wong, H., Kim, S., Kim, H., Kim, S. V., Hoeffler, C. A., Littman, D. R., & Huh, J. R. (2016). The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science (New York, N.Y.)*, *351*(6276), 933–939. <https://doi.org/10.1126/science.aad0314>.
- Choi, L. and J.-Y. An (2021). "Genetic architecture of autism spectrum disorder: Lessons from large-scale genomic studies." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* *128*: 244-257.  
*Journal of Child Psychology and Psychiatry* *62*(11): 1274-1284.
- Contractor, A., Ethell, I. M., & Portera-Cailliau, C. (2021). Cortical interneurons in autism. *Nature neuroscience*, *24*(12), 1648–1659. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00967-6>.
- Citrigno, L., Muglia, M., Quattieri, A., Spadafora, P., Cavalcanti, F., Pioggia, G., & Cerasa, A. (2020). The Mitochondrial Dysfunction Hypothesis in Autism Spectrum Disorders: Current Status and Future Perspectives. *International journal of molecular sciences*, *21*(16), 5785. <https://doi.org/10.3390/ijms21165785>.
- Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., Hsu, P. D., Wu, X., Jiang, W., Marraffini, L. A., & Zhang, F. (2013). Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science (New York, N.Y.)*, *339*(6121), 819–823. <https://doi.org/10.1126/science.1231143>.
- Cook, E. H., Jr, Lindgren, V., Leventhal, B. L., Courchesne, R., Lincoln, A., Shulman, C., Lord, C., & Courchesne, E. (1997). Autism or atypical autism in maternally but not paternally derived proximal 15q duplication. *American journal of human genetics*, *60*(4), 928–934.
- Croen, L. A., Najjar, D. V., Fireman, B., & Grether, J. K. (2007). Maternal and paternal age and risk of autism spectrum disorders. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, *161*(4), 334–340. <https://doi.org/10.1001/archpedi.161.4.334>.

Croen, L. A., Qian, Y., Ashwood, P., Zerbo, O., Schendel, D., Pinto-Martin, J., Daniele Fallin, M., Levy, S., Schieve, L. A., Yeargin-Allsopp, M., Sabourin, K. R., & Ames, J. L. (2019). Infection and Fever in Pregnancy and Autism Spectrum Disorders: Findings from the Study to Explore Early Development. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, *12*(10), 1551–1561. <https://doi.org/10.1002/aur.2175>.

De Rubeis, S., He, X., Goldberg, A. P., Poultney, C. S., Samocha, K., Cicek, A. E., Kou, Y., Liu, L., Fromer, M., Walker, S., Singh, T., Klei, L., Kosmicki, J., Shih-Chen, F., Aleksic, B., Biscaldi, M., Bolton, P. F., Brownfeld, J. M., Cai, J., Campbell, N. G., ... Buxbaum, J. D. (2014). Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, *515*(7526), 209–215. <https://doi.org/10.1038/nature13772>.

Depienne, C., Moreno-De-Luca, D., Heron, D., Bouteiller, D., Gennetier, A., Delorme, R., Chaste, P., Siffroi, J. P., Chantot-Bastarud, S., Benyahia, B., Trouillard, O., Nygren, G., Kopp, S., Johansson, M., Rastam, M., Burglen, L., Leguern, E., Verloes, A., Leboyer, M., Brice, A., ... Betancur, C. (2009). Screening for genomic rearrangements and methylation abnormalities of the 15q11-q13 region in autism spectrum disorders. *Biological psychiatry*, *66*(4), 349–359. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.01.025>.

Devlin, B., & Scherer, S. W. (2012). Genetic architecture in autism spectrum disorder. *Current opinion in genetics & development*, *22*(3), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.03.002>.

El-Fishawy, P., & State, M. W. (2010). The genetics of autism: key issues, recent findings, and clinical implications. *The Psychiatric clinics of North America*, *33*(1), 83–105. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2009.12.002>.

Eroğlu, Y., M. Baykara, İ. Perçinel Yazıcı, K. Utku Yazıcı and A. Kürşad Poyraz (2022). "Evaluation of the corpus callosum using magnetic resonance imaging histogram analysis in autism spectrum disorder." *The Neuroradiology Journal*: 19714009221097507.

Escamilla, C. O., Filonova, I., Walker, A. K., Xuan, Z. X., Holehonnur, R., Espinosa, F., Liu, S., Thyme, S. B., López-García, I. A., Mendoza, D. B., Usui, N., Ellegood, J., Eisch, A. J., Konopka, G., Lerch, J. P., Schier, A. F., Speed, H. E., & Powell, C. M. (2017). Kctd13 deletion reduces synaptic transmission via increased RhoA. *Nature*, *551*(7679), 227–231. <https://doi.org/10.1038/nature24470>.

Evans B. (2013). How autism became autism: The radical transformation of a central concept of child development in Britain. *History of the human sciences*, *26*(3), 3–31. <https://doi.org/10.1177/0952695113484320>.

Faroy, M., Meiri, G., & Arbelle, S. (2016). *Harefuah*, *155*(5), 291–322.

Fernandez, B. A., & Scherer, S. W. (2017). Syndromic autism spectrum disorders: moving from a clinically defined to a molecularly defined approach. *Dialogues in clinical neuroscience*, *19*(4), 353–371. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.4/sscherer>.

- Fiddes, I. T., Lodewijk, G. A., Mooring, M., Bosworth, C. M., Ewing, A. D., Mantalas, G. L., Novak, A. M., van den Bout, A., Bishara, A., Rosenkrantz, J. L., Lorig-Roach, R., Field, A. R., Haeussler, M., Russo, L., Bhaduri, A., Nowakowski, T. J., Pollen, A. A., Dougherty, M. L., Nuttle, X., Addor, M. C., ... Haussler, D. (2018). Human-Specific NOTCH2NL Genes Affect Notch Signaling and Cortical Neurogenesis. *Cell*, 173(6), 1356–1369.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.051>.
- Folstein, S., & Rutter, M. (1977). Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 18(4), 297–321. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1977.tb00443.x>.
- Fox-Edmiston, E., & Van de Water, J. (2015). Maternal Anti-Fetal Brain IgG Autoantibodies and Autism Spectrum Disorder: Current Knowledge and its Implications for Potential Therapeutics. *CNS drugs*, 29(9), 715–724. <https://doi.org/10.1007/s40263-015-0279-2>.
- Frazier, T. W., & Hardan, A. Y. (2009). A meta-analysis of the corpus callosum in autism. *Biological psychiatry*, 66(10), 935–941. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.07.022>.
- Gahl, W. A., Markello, T. C., Toro, C., Fajardo, K. F., Sincan, M., Gill, F., Carlson-Donohoe, H., Gropman, A., Pierson, T. M., Golas, G., Wolfe, L., Groden, C., Godfrey, R., Nehrebecky, M., Wahl, C., Landis, D. M., Yang, S., Madeo, A., Mullikin, J. C., Boerkoel, C. F., ... Adams, D. (2012). The National Institutes of Health Undiagnosed Diseases Program: insights into rare diseases. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 14(1), 51–59. <https://doi.org/10.1038/gim.0b013e318232a005>.
- Gamsiz, E. D., Viscidi, E. W., Frederick, A. M., Nagpal, S., Sanders, S. J., Murtha, M. T., Schmidt, M., Simons Simplex Collection Genetics Consortium, Triche, E. W., Geschwind, D. H., State, M. W., Istrail, S., Cook, E. H., Jr, Devlin, B., & Morrow, E. M. (2013). Intellectual disability is associated with increased runs of homozygosity in simplex autism. *American journal of human genetics*, 93(1), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.06.004>.
- Gardener, H., Spiegelman, D., & Buka, S. L. (2009). Prenatal risk factors for autism: comprehensive meta-analysis. *The British journal of psychiatry: the journal of mental science*, 195(1), 7–14. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.108.051672>.
- Genovese, A., & Butler, M. G. (2020). Clinical Assessment, Genetics, and Treatment Approaches in Autism Spectrum Disorder (ASD). *International journal of molecular sciences*, 21(13), 4726. <https://doi.org/10.3390/ijms21134726>.
- Ghirardi, L. and R. Kuja-Halkola (2021). "Familial and genetic associations between autism spectrum disorder and other neurodevelopmental and psychiatric disorders." 62(11): 1274-1284.
- Gill, P. S., Clothier, J. L., Veerapandiyam, A., Dweep, H., Porter-Gill, P. A., & Schaefer, G. B. (2021). Molecular Dysregulation in Autism Spectrum Disorder. *Journal of personalized medicine*, 11(9), 848. <https://doi.org/10.3390/jpm11090848>.

- Gillberg C. (2015). Lorna Wing OBE, MD, FRCPsych Formerly psychiatrist and physician, Social Psychiatry Unit, Institute of Psychiatry, King's College London, co-founder of the UK National Autistic Society. *BJPsych Bulletin*, 39(1), 52–53. <https://doi.org/10.1192/pb.bp.114.048900>.
- Griesi-Oliveira, K., & Sertié, A. L. (2017). Autism spectrum disorders: an updated guide for genetic counseling. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*, 15(2), 233–238. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082017RB4020>.
- Ha, S., Sohn, I. J., Kim, N., Sim, H. J., & Cheon, K. A. (2015). Characteristics of Brains in Autism Spectrum Disorder: Structure, Function and Connectivity across the Lifespan. *Experimental neurobiology*, 24(4), 273–284. <https://doi.org/10.5607/en.2015.24.4.273>.
- Han, V. X., Patel, S., Jones, H. F., & Dale, R. C. (2021). Maternal immune activation and neuroinflammation in human neurodevelopmental disorders. *Nature reviews. Neurology*, 17(9), 564–579. <https://doi.org/10.1038/s41582-021-00530-8>.
- Hanly, C., Shah, H., Au, P., & Murias, K. (2021). Description of neurodevelopmental phenotypes associated with 10 genetic neurodevelopmental disorders: A scoping review. *Clinical genetics*, 99(3), 335–346. <https://doi.org/10.1111/cge.13882>.
- Happe, F. (2003). Αυτισμός: σύγχρονη ψυχολογική θεώρηση. Αθήνα: Gutenberg.
- Harel, T., & Lupski, J. R. (2018). Genomic disorders 20 years on—mechanisms for clinical manifestations. *Clinical genetics*, 93(3), 439–449. <https://doi.org/10.1111/cge.13146>.
- Harris J. (2018). Leo Kanner and autism: a 75-year perspective. *International review of psychiatry (Abingdon, England)*, 30(1), 3–17. <https://doi.org/10.1080/09540261.2018.1455646>.
- Harutyunyan, A. A., Harutyunyan, H. A., & Yenkovyan, K. B. (2021). Novel Probable Glance at Inflammatory Scenario Development in Autistic Pathology. *Frontiers in psychiatry*, 12, 788779. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.788779>.
- Hashem, S., S. Nisar, A. A. Bhat, S. K. Yadav, M. W. Azeem, P. Bagga, K. Fakhro, R. Reddy, M. P. Frenneaux and M. Haris (2020). "Genetics of structural and functional brain changes in autism spectrum disorder." *Translational Psychiatry* 10(1): 229.
- Hazlett, H. C., Gu, H., Munsell, B. C., Kim, S. H., Styner, M., Wolff, J. J., Elison, J. T., Swanson, M. R., Zhu, H., Botteron, K. N., Collins, D. L., Constantino, J. N., Dager, S. R., Estes, A. M., Evans, A. C., Fonov, V. S., Gerig, G., Kostopoulos, P., McKinstry, R. C., Pandey, J., ... Statistical Analysis (2017). Early brain development in infants at high risk for autism spectrum disorder. *Nature*, 542(7641), 348–351. <https://doi.org/10.1038/nature21369>.
- Hertz-Picciotto, I., & Delwiche, L. (2009). The rise in autism and the role of age at diagnosis. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 20(1), 84–90. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181902d15>.

Ho, K. S., Wassman, E. R., Baxter, A. L., Hensel, C. H., Martin, M. M., Prasad, A., Twede, H., Vanzo, R. J., & Butler, M. G. (2016). Chromosomal Microarray Analysis of Consecutive Individuals with Autism Spectrum Disorders Using an Ultra-High Resolution Chromosomal Microarray Optimized for Neurodevelopmental Disorders. *International journal of molecular sciences*, *17*(12), 2070. <https://doi.org/10.3390/ijms17122070>.

Hoischen, A., van Bon, B. W., Rodríguez-Santiago, B., Gilissen, C., Vissers, L. E., de Vries, P., Janssen, I., van Lier, B., Hastings, R., Smithson, S. F., Newbury-Ecob, R., Kjaergaard, S., Goodship, J., McGowan, R., Bartholdi, D., Rauch, A., Peippo, M., Cobben, J. M., Wiczorek, D., Gillissen-Kaesbach, G., ... de Vries, B. B. (2011). De novo nonsense mutations in ASXL1 cause Bohring-Opitz syndrome. *Nature genetics*, *43*(8), 729–731. <https://doi.org/10.1038/ng.868>.

Hodges, H., Fealko, C., & Soares, N. (2020). Autism spectrum disorder: definition, epidemiology, causes, and clinical evaluation. *Translational pediatrics*, *9*(Suppl 1), S55–S65. <https://doi.org/10.21037/tp.2019.09.09>.

Howes, O. D., Rogdaki, M., Findon, J. L., Wichers, R. H., Charman, T., King, B. H., Loth, E., McAlonan, G. M., McCracken, J. T., Parr, J. R., Povey, C., Santosh, P., Wallace, S., Simonoff, E., & Murphy, D. G. (2018). Autism spectrum disorder: Consensus guidelines on assessment, treatment and research from the British Association for Psychopharmacology. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, *32*(1), 3–29. <https://doi.org/10.1177/0269881117741766>.

Hyman, S. L., Levy, S. E., Myers, S. M., & Council On Children With Disabilities, Section On Developmental And Behavioral Pediatrics (2020). *Identification, Evaluation, and Management of Children with Autism Spectrum Disorder*. *Pediatrics*, *145*(1), e20193447. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-3447>.

Ingason, A., Kirov, G., Giegling, I., Hansen, T., Isles, A. R., Jakobsen, K. D., Kristinsson, K. T., le Roux, L., Gustafsson, O., Craddock, N., Möller, H. J., McQuillin, A., Muglia, P., Cichon, S., Rietschel, M., Ophoff, R. A., Djurovic, S., Andreassen, O. A., Pietiläinen, O. P., Peltonen, L., ... Werge, T. (2011). Maternally derived microduplications at 15q11-q13: implication of imprinted genes in psychotic illness. *The American journal of psychiatry*, *168*(4), 408–417. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.09111660>.

Ismail, S. and M. Essawi (2012). "Genetic polymorphism studies in humans." *Middle East Journal of Medical Genetics* *1*(2): 57-63.

Iyer, J., Singh, M.D., Jensen, M. *et al.* (2018). Pervasive genetic interactions modulate neurodevelopmental defects of the autism-associated 16p11.2 deletion in *Drosophila melanogaster*. *Nature Communications*, *9*, 2548. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04882-6>.

Jiang, Y. H., Wang, Y., Xiu, X., Choy, K. W., Pursley, A. N., & Cheung, S. W. (2014). Genetic diagnosis of autism spectrum disorders: the opportunity and challenge in the genomics era. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, *51*(5), 249–262. <https://doi.org/10.3109/10408363.2014.910747>.



- Johnson, C. P., Myers, S. M., & American Academy of Pediatrics Council on Children With Disabilities (2007). Identification and evaluation of children with autism spectrum disorders. *Pediatrics*, *120*(5), 1183–1215. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2361>.
- Karki, R., D. Pandya, R. C. Elston and C. Ferlini (2015). "Defining "mutation" and "polymorphism" in the era of personal genomics." *BMC medical genomics* 8: 37-37.
- Sameer, A. S., M. Z. Banday and S. Nissar (2021). Mutations and Polymorphisms: What Is The Difference? *Genetic Polymorphism and cancer susceptibility*. A. S.
- Karki, R., D. Pandya, R. C. Elston and C. Ferlini (2015). "Defining "mutation" and "polymorphism" in the era of personal genomics." *BMC medical genomics* 8: 37-37.
- Keil, A., Daniels, J. L., Forssen, U., Hultman, C., Cnattingius, S., Söderberg, K. C., Feychting, M., & Sparen, P. (2010). Parental autoimmune diseases associated with autism spectrum disorders in offspring. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, *21*(6), 805–808. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181f26e3f>.
- Kim, H., Keifer, C., Rodriguez-Seijas, C., Eaton, N., Lerner, M., & Gadov, K. (2019). Quantifying the Optimal Structure of the Autism Phenotype: A Comprehensive Comparison of Dimensional, Categorical, and Hybrid Models. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, *58*(9), 876–886.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2018.09.431>.
- Kim, D. H., Krakowiak, P., Meltzer, A., Hertz-Picciotto, I., & Van de Water, J. (2022). Neonatal chemokine markers predict subsequent diagnosis of autism spectrum disorder and delayed development. *Brain, behavior, and immunity*, *100*, 121–133. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.11.009>.
- Laje, G., Morse, R., Richter, W., Ball, J., Pao, M., & Smith, A. C. (2010). Autism spectrum features in Smith-Magenis syndrome. *American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics*, *154C*(4), 456–462. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30275>.
- Lalonde, E., Rentas, S., Lin, F., Dulik, M. C., Skraban, C. M., & Spinner, N. B. (2020). Genomic Diagnosis for Pediatric Disorders: Revolution and Evolution. *Frontiers in pediatrics*, *8*, 373. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00373>.
- Law, L. W., Lau, T. K., Fung, T. Y., Leung, T. Y., Wang, C. C., & Choy, K. W. (2009). De novo 16p13.11 microdeletion identified by high-resolution array CGH in a fetus with increased nuchal translucency. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology*, *116*(2), 339–343. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2008.01948.x>.
- Leblond, C. S., Heinrich, J., Delorme, R., Proepper, C., Betancur, C., Huguet, G., Konyukh, M., Chaste, P., Ey, E., Rastam, M., Anckarsäter, H., Nygren, G., Gillberg, I. C., Melke, J., Toro, R., Regnault, B., Fauchereau, F., Mercati, O., Lemièrre, N., Skuse, D., ... Bourgeron, T. (2012). Genetic and functional analyses of SHANK2 mutations suggest a multiple hit model of autism spectrum disorders. *PLoS genetics*, *8*(2), e1002521. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002521>.

- Lee, Y., B. Y. Park, O. James, S. G. Kim and H. Park (2017). "Autism Spectrum Disorder Related Functional Connectivity Changes in the Language Network in Children, Adolescents and Adults." *Front Hum Neurosci* 11: 418.
- Li, J., Lin, X., Wang, M., Hu, Y., Xue, K., Gu, S., Lv, L., Huang, S., & Xie, W. (2020). Potential role of genomic imprinted genes and brain developmental related genes in autism. *BMC medical genomics*, 13(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s12920-020-0693-2>.
- Little, I. D., & Gunter, C. (2021). Mini-Review: Genetic Literacy and Engagement With Genetic Testing for Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in genetics*, 12, 693158. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.693158>.
- Liu, Z., Mao, X., Dan, Z., Pei, Y., Xu, R., Guo, M., Liu, K., Zhang, F., Chen, J., Su, C., Zhuang, Y., Tang, J., Xia, Y., Qin, L., Hu, Z., & Liu, X. (2021). Gene variations in autism spectrum disorder are associated with alteration of gut microbiota, metabolites and cytokines. *Gut microbes*, 13(1), 1–16. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1854967>.
- Loomes, R., Hull, L., & Mandy, W. (2017). What Is the Male-to-Female Ratio in Autism Spectrum Disorder? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 56(6), 466–474. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2017.03.013>.
- Lupski, J. R., Belmont, J. W., Boerwinkle, E., & Gibbs, R. A. (2011). Clan genomics and the complex architecture of human disease. *Cell*, 147(1), 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.008>.
- Mahjani, B., De Rubeis, S., Gustavsson Mahjani, C., Mulhern, M., Xu, X., Klei, L., Satterstrom, F. K., Fu, J., Talkowski, M. E., Reichenberg, A., Sandin, S., Hultman, C. M., Grice, D. E., Roeder, K., Devlin, B., & Buxbaum, J. D. (2021). Prevalence and phenotypic impact of rare potentially damaging variants in autism spectrum disorder. *Molecular autism*, 12(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s13229-021-00465-3>.
- Mali, P., Yang, L., Esvelt, K. M., Aach, J., Guell, M., DiCarlo, J. E., Norville, J. E., & Church, G. M. (2013). RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science (New York, N.Y.)*, 339(6121), 823–826. <https://doi.org/10.1126/science.1232033>.
- Martínez-Pedraza, F., & Carter, A. S. (2009). Autism spectrum disorders in young children. *Child and adolescent psychiatric clinics of North America*, 18(3), 645–663. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2009.02.002>.
- Masini, E., Loi, E., Vega-Benedetti, A. F., Carta, M., Doneddu, G., Fadda, R., & Zavattari, P. (2020). An Overview of the Main Genetic, Epigenetic and Environmental Factors Involved in Autism Spectrum Disorder Focusing on Synaptic Activity. *International journal of molecular sciences*, 21(21), 8290. <https://doi.org/10.3390/ijms21218290>.
- McDougle, C. J., Erickson, C. A., Stigler, K. A., & Posey, D. J. (2005). Neurochemistry in the pathophysiology of autism. *The Journal of clinical psychiatry*, 66 Suppl 10, 9–18..

Miller, D. T., Adam, M. P., Aradhya, S., Biesecker, L. G., Brothman, A. R., Carter, N. P., Church, D. M., Crolla, J. A., Eichler, E. E., Epstein, C. J., Faucett, W. A., Feuk, L., Friedman, J. M., Hamosh, A., Jackson, L., Kaminsky, E. B., Kok, K., Krantz, I. D., Kuhn, R. M., Lee, C., ... Ledbetter, D. H. (2010). Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *American journal of human genetics*, *86*(5), 749–764. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.04.006>.

Min, X., Li, C., & Yan, Y. (2021). Parental Age and the Risk of ADHD in Offspring: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International journal of environmental research and public health*, *18*(9), 4939. <https://doi.org/10.3390/ijerph18094939>.

Minschew, N. J., & Williams, D. L. (2007). The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization. *Archives of neurology*, *64*(7), 945–950. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.7.945>.

Mizuno, Y., K. Kagitani-Shimono, M. Jung, K. Makita, S. Takiguchi, T. X. Fujisawa, M. Tachibana, M. Nakanishi, I. Mohri, M. Taniike and A. Tomoda (2019). "Structural brain abnormalities in children and adolescents with comorbid autism spectrum disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder." *Translational Psychiatry* *9*(1): 332.

Monaghan, K. G., Lyon, E., Spector, E. B., & erican College of Medical Genetics and Genomics (2013). ACMG Standards and Guidelines for fragile X testing: a revision to the disease-specific supplements to the Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*, *15*(7), 575–586. <https://doi.org/10.1038/gim.2013.61>.

Moreno-De-Luca, D., Kavanaugh, B. C., Best, C. R., Sheinkopf, S. J., Phornphutkul, C., & Morrow, E. M. (2020). Clinical Genetic Testing in Autism Spectrum Disorder in a Large Community-Based Population Sample. *JAMA psychiatry*, *77*(9), 979–981. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2020.0950>.

Myers, S. M., Challman, T. D., Bernier, R., Bourgeron, T., Chung, W. K., Constantino, J. N., Eichler, E. E., Jacquemont, S., Miller, D. T., Mitchell, K. J., Zoghbi, H. Y., Martin, C. L., & Ledbetter, D. H. (2020). Insufficient Evidence for "Autism-Specific" Genes. *American journal of human genetics*, *106*(5), 587–595. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.04.004>.

Myers, S. M., Johnson, C. P., & American Academy of Pediatrics Council on Children With Disabilities (2007). Management of children with autism spectrum disorders. *Pediatrics*, *120*(5), 1162–1182. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2362>.

Nadeem, M. S., Murtaza, B. N., Al-Ghamdi, M. A., Ali, A., Zamzami, M. A., Khan, J. A., Ahmad, A., Rehman, M. U., & Kazmi, I. (2021). Autism - A Comprehensive Array of Prominent Signs and Symptoms. *Current pharmaceutical design*, *27*(11), 1418–1433. <https://doi.org/10.2174/1381612827666210120095829>.

Newschaffer, C. J., Croen, L. A., Daniels, J., Giarelli, E., Grether, J. K., Levy, S. E., Mandell, D. S., Miller, L. A., Pinto-Martin, J., Reaven, J., Reynolds, A. M., Rice, C. E., Schendel, D., & Windham, G. C. (2007). The epidemiology of autism spectrum

disorders. *Annual review of public health*, 28, 235–258.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.28.021406.144007>.

Ng, S. B., Turner, E. H., Robertson, P. D., Flygare, S. D., Bigham, A. W., Lee, C., Shaffer, T., Wong, M., Bhattacharjee, A., Eichler, E. E., Bamshad, M., Nickerson, D. A., & Shendure, J. (2009). Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature*, 461(7261), 272–276. <https://doi.org/10.1038/nature08250>.

Ohashi, K., Fukuhara, S., Miyachi, T., Asai, T., Imaeda, M., Goto, M., Kurokawa, Y., Anzai, T., Tsurusaki, Y., Miyake, N., Matsumoto, N., Yamagata, T., & Saitoh, S. (2021). Comprehensive Genetic Analysis of Non-syndromic Autism Spectrum Disorder in Clinical Settings. *Journal of autism and developmental disorders*, 51(12), 4655–4662. <https://doi.org/10.1007/s10803-021-04910-3>.

Ou, Z., Kang, S. H., Shaw, C. A., Carmack, C. E., White, L. D., Patel, A., Beaudet, A. L., Cheung, S. W., & Chinault, A. C. (2008). Bacterial artificial chromosome-emulation oligonucleotide arrays for targeted clinical array-comparative genomic hybridization analyses. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*, 10(4), 278–289.  
<https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e31816b4420>.

Ozkan, E., & Lacerda, M. P. (2021). Genetics, Cytogenetic Testing And Conventional Karyotype. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Patel, A. B., Hays, S. A., Bureau, I., Huber, K. M., & Gibson, J. R. (2013). A target cell-specific role for presynaptic Fmr1 in regulating glutamate release onto neocortical fast-spiking inhibitory neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(6), 2593–2604.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2447-12.2013>.

Pinto, D., Pagnamenta, A. T., Klei, L., Anney, R., Merico, D., Regan, R., Conroy, J., Magalhaes, T. R., Correia, C., Abrahams, B. S., Almeida, J., Bacchelli, E., Bader, G. D., Bailey, A. J., Baird, G., Battaglia, A., Berney, T., Bolshakova, N., Bölte, S., Bolton, P. F., ... Betancur, C. (2010). Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature*, 466(7304), 368–372.  
<https://doi.org/10.1038/nature09146>.

Pizzo, L., Jensen, M., Polyak, A., Rosenfeld, J. A., Mannik, K., Krishnan, A., McCready, E., Pichon, O., Le Caignec, C., Van Dijck, A., Pope, K., Voorhoeve, E., Yoon, J., Stankiewicz, P., Cheung, S. W., Pazuchanics, D., Huber, E., Kumar, V., Kember, R. L., Mari, F., ... Girirajan, S. (2019). Rare variants in the genetic background modulate cognitive and developmental phenotypes in individuals carrying disease-associated variants. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*, 21(4), 816–825. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0266-3>.

Pucilowska, J., Vithayathil, J., Tavares, E. J., Kelly, C., Karlo, J. C., & Landreth, G. E. (2015). The 16p11.2 deletion mouse model of autism exhibits altered cortical progenitor proliferation and brain cytoarchitecture linked to the ERK MAPK pathway. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(7), 3190–3200. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4864-13.2015>

- Rafiee, F., R. Rezvani Habibabadi, M. Motaghi, D. M. Yousem and I. J. Yousem (2022). "Brain MRI in Autism Spectrum Disorder: Narrative Review and Recent Advances." *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 55(6): 1613-1624.
- Rehm, H. L., Bale, S. J., Bayrak-Toydemir, P., Berg, J. S., Brown, K. K., Deignan, J. L., Friez, M. J., Funke, B. H., Hegde, M. R., Lyon, E., & Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee (2013). ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*, 15(9), 733–747. <https://doi.org/10.1038/gim.2013.92>.
- Rodriguez-Flores, J. L., Fakhro, K., Hackett, N. R., Salit, J., Fuller, J., Agosto-Perez, F., Gharbiah, M., Malek, J. A., Zirie, M., Jayyousi, A., Badii, R., Al-Nabet Al-Marri, A., Chouchane, L., Stadler, D. J., Mezey, J. G., & Crystal, R. G. (2014). Exome sequencing identifies potential risk variants for Mendelian disorders at high prevalence in Qatar. *Human mutation*, 35(1), 105–116. <https://doi.org/10.1002/humu.22460>.
- Rose, S., Niyazov, D. M., Rossignol, D. A., Goldenthal, M., Kahler, S. G., & Frye, R. E. (2018). Clinical and Molecular Characteristics of Mitochondrial Dysfunction in Autism Spectrum Disorder. *Molecular diagnosis & therapy*, 22(5), 571–593. <https://doi.org/10.1007/s40291-018-0352-x>.
- Rossi, M., El-Khechen, D., Black, M. H., Farwell Hagman, K. D., Tang, S., & Powis, Z. (2017). Outcomes of Diagnostic Exome Sequencing in Patients With Diagnosed or Suspected Autism Spectrum Disorders. *Pediatric neurology*, 70, 34–43.e2. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2017.01.033>.
- Ruzzo, E. K., Pérez-Cano, L., Jung, J. Y., Wang, L. K., Kashef-Haghighi, D., Hartl, C., Singh, C., Xu, J., Hoekstra, J. N., Leventhal, O., Leppä, V. M., Gandal, M. J., Paskov, K., Stockham, N., Polioudakis, D., Lowe, J. K., Prober, D. A., Geschwind, D. H., & Wall, D. P. (2019). Inherited and De Novo Genetic Risk for Autism Impacts Shared Networks. *Cell*, 178(4), 850–866.e26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.07.015>.
- Rylaarsdam, L., & Guemez-Gamboa, A. (2019). Genetic Causes and Modifiers of Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 385. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00385>.
- Sameer, A. S., M. Z. Banday and S. Nissar (2021). Mutations and Polymorphisms: What Is The Difference? *Genetic Polymorphism and cancer susceptibility*. A. S. Sameer, M. Z. Banday and S. Nissar. Singapore, Springer Singapore: 1-21.
- Sanders, S. J., Ercan-Sencicek, A. G., Hus, V., Luo, R., Murtha, M. T., Moreno-De-Luca, D., Chu, S. H., Moreau, M. P., Gupta, A. R., Thomson, S. A., Mason, C. E., Bilguvar, K., Celestino-Soper, P. B., Choi, M., Crawford, E. L., Davis, L., Wright, N. R., Dhodapkar, R. M., DiCola, M., DiLullo, N. M., ... State, M. W. (2011). Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism. *Neuron*, 70(5), 863–885. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.002>.

- Savatt, J. M., & Myers, S. M. (2021). Genetic Testing in Neurodevelopmental Disorders. *Frontiers in pediatrics*, *9*, 526779. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.526779>.
- Schaaf, C. P., Boone, P. M., Sampath, S., Williams, C., Bader, P. I., Mueller, J. M., Shchelochkov, O. A., Brown, C. W., Crawford, H. P., Phalen, J. A., Tartaglia, N. R., Evans, P., Campbell, W. M., Tsai, A. C., Parsley, L., Grayson, S. W., Scheuerle, A., Luzzi, C. D., Thomas, S. K., Eng, P. A., ... Cheung, S. W. (2012). Phenotypic spectrum and genotype-phenotype correlations of NRXN1 exon deletions. *European journal of human genetics: EJHG*, *20*(12), 1240–1247. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.95>.
- Schaefer, G. B., Mendelsohn, N. J., & Professional Practice and Guidelines Committee (2013). Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders: 2013 guideline revisions. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*, *15*(5), 399–407. <https://doi.org/10.1038/gim.2013.32>.
- Schieve, L. A., Tian, L. H., Drews-Botsch, C., Windham, G. C., Newschaffer, C., Daniels, J. L., Lee, L. C., Croen, L. A., & Danielle Fallin, M. (2018). Autism spectrum disorder and birth spacing: Findings from the study to explore early development (SEED). *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, *11*(1), 81–94. <https://doi.org/10.1002/aur.1887>.
- Shen, M. D., Kim, S. H., McKinstry, R. C., Gu, H., Hazlett, H. C., Nordahl, C. W., Emerson, R. W., Shaw, D., Elison, J. T., Swanson, M. R., Fonov, V. S., Gerig, G., Dager, S. R., Botteron, K. N., Paterson, S., Schultz, R. T., Evans, A. C., Estes, A. M., Zwaigenbaum, L., Styner, M. A., ... Infant Brain Imaging Study Network (2017). Increased Extra-axial Cerebrospinal Fluid in High-Risk Infants Who Later Develop Autism. *Biological psychiatry*, *82*(3), 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.02.1095>.
- Shen, Y., Dies, K. A., Holm, I. A., Bridgemohan, C., Sobeih, M. M., Caronna, E. B., Miller, K. J., Frazier, J. A., Silverstein, I., Picker, J., Weissman, L., Raffalli, P., Jeste, S., Demmer, L. A., Peters, H. K., Brewster, S. J., Kowalczyk, S. J., Rosen-Sheidley, B., McGowan, C., Duda, A. W., 3rd, ... Autism Consortium Clinical Genetics/DNA Diagnostics Collaboration (2010). Clinical genetic testing for patients with autism spectrum disorders. *Pediatrics*, *125*(4), e727–e735. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-1684>.
- Skefos, J., Cummings, C., Enzer, K., Holiday, J., Weed, K., Levy, E., Yuce, T., Kemper, T., & Bauman, M. (2014). Regional alterations in purkinje cell density in patients with autism. *PloS one*, *9*(2), e81255. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081255>.
- Stankiewicz, P., Inoue, K., Bi, W., Walz, K., Park, S. S., Kurotaki, N., Shaw, C. J., Fonseca, P., Yan, J., Lee, J. A., Khajavi, M., & Lupski, J. R. (2003). Genomic disorders: genome architecture results in susceptibility to DNA rearrangements causing common human traits. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, *68*, 445–454. <https://doi.org/10.1101/sqb.2003.68.445>.

Stankiewicz, P., Pursley, A. N., & Cheung, S. W. (2010). Challenges in clinical interpretation of microduplications detected by array CGH analysis. *American journal of medical genetics. Part A*, *152A*(5), 1089–1100. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33216>.

Sterwald, C., & Baker, J. (2019). Frosted Intellectuals: How Dr. Leo Kanner Constructed the Autistic Family. *Perspectives in biology and medicine*, *62*(4), 690–709. <https://doi.org/10.1353/pbm.2019.0040>.

Stewart, S. L., Celebre, A., Iantosca, J. A., & Poss, J. W. (2021). Autism Spectrum Screening Checklist (ASSC): The Development of a Scale to Identify High-Risk Individuals Within the Children's Mental Health System. *Frontiers in psychiatry*, *12*, 709491. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.709491>.

Stoodley, C. J., D'Mello, A. M., Ellegood, J., Jakkamsetti, V., Liu, P., Nebel, M. B., Gibson, J. M., Kelly, E., Meng, F., Cano, C. A., Pascual, J. M., Mostofsky, S. H., Lerch, J. P., & Tsai, P. T. (2017). Altered cerebellar connectivity in autism and cerebellar-mediated rescue of autism-related behaviors in mice. *Nature neuroscience*, *20*(12), 1744–1751. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0004-1>.

Sundaram, S. K., Kumar, A., Makki, M. I., Behen, M. E., Chugani, H. T., & Chugani, D. C. (2008). Diffusion tensor imaging of frontal lobe in autism spectrum disorder. *Cerebral cortex*, *18*(11), 2659–2665. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn031>.

Σερετόπουλος, Κ., Λάμνισος, Δ., & Γιαννακού, Κ. (2020). Η επιδημιολογία των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού. *Αρχαία Ελληνικής Ιατρικής*, *37*(2), 169-180.

Tammimies, K., Marshall, C. R., Walker, S., Kaur, G., Thiruvahindrapuram, B., Lionel, A. C., Yuen, R. K., Uddin, M., Roberts, W., Weksberg, R., Woodbury-Smith, M., Zwaigenbaum, L., Anagnostou, E., Wang, Z., Wei, J., Howe, J. L., Gazzellone, M. J., Lau, L., Sung, W. W., Whitten, K., ... Fernandez, B. A. (2015). Molecular Diagnostic Yield of Chromosomal Microarray Analysis and Whole-Exome Sequencing in Children With Autism Spectrum Disorder. *JAMA*, *314*(9), 895–903. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.10078>.

Tioleco, N., Silberman, A. E., Stratigos, K., Banerjee-Basu, S., Spann, M. N., Whitaker, A. H., & Turner, J. B. (2021). Prenatal maternal infection and risk for autism in offspring: A meta-analysis. *Autism research: official journal of the International Society for Autism Research*, *14*(6), 1296–1316. <https://doi.org/10.1002/aur.2499>.

Thapar, A. and M. Rutter (2021). "Genetic Advances in Autism." *Journal of Autism and Developmental Disorders* *51*(12): 4321-4332.

Trambacz-Oleszak, S., & Nosulia, T. (2021). Genetyczne czynniki etiologiczne w zaburzeniach ze spektrum autyzmu (ASD) [Genetic factors in Autism Spectrum Disorders (ASD)]. *Postępy biochemii*, *67*(1), 28–33. [https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_377](https://doi.org/10.18388/pb.2021_377)

Valenti, M., M. C. Pino, M. Mazza, G. Panzarino, C. Di Paolantonio and A. Verrotti (2020). "Abnormal Structural and Functional Connectivity of the Corpus Callosum in Autism Spectrum Disorders: a Review." *Review Journal of Autism and Developmental Disorders* *7*(1): 46-62.

van Rosmalen, L., van der Veer, R., & van der Horst, F. C. (2020). The nature of love: Harlow, Bowlby and Bettelheim on affectionless mothers. *History of psychiatry*, *31*(2), 227–231. <https://doi.org/10.1177/0957154X19898997>.

Varga, N. Á., Pentelényi, K., Balicza, P., Gézsi, A., Reményi, V., Hársfalvi, V., Bencsik, R., Illés, A., Prekop, C., & Molnár, M. J. (2018). Mitochondrial dysfunction and autism: comprehensive genetic analyses of children with autism and mtDNA deletion. *Behavioral and brain functions: BBF*, *14*(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12993-018-0135-x>.

Veenstra-Vanderweele, J., Christian, S. L., & Cook, E. H., Jr (2004). Autism as a paradigmatic complex genetic disorder. *Annual review of genomics and human genetics*, *5*, 379–405. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.5.061903.180050>.

Voineagu, I., Wang, X., Johnston, P., Lowe, J. K., Tian, Y., Horvath, S., Mill, J., Cantor, R. M., Blencowe, B. J., & Geschwind, D. H. (2011). Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature*, *474*(7351), 380–384. <https://doi.org/10.1038/nature10110>.

Waiter, G. D., Williams, J. H., Murray, A. D., Gilchrist, A., Perrett, D. I., & Whiten, A. (2005). Structural white matter deficits in high-functioning individuals with autistic spectrum disorder: a voxel-based investigation. *NeuroImage*, *24*(2), 455–461. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.08.049>.

Walsh, C. A., Morrow, E. M., & Rubenstein, J. L. (2008). Autism and brain development. *Cell*, *135*(3), 396–400. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.10.015>.

Wang, C., Geng, H., Liu, W., & Zhang, G. (2017). Prenatal, perinatal, and postnatal factors associated with autism: A meta-analysis. *Medicine*, *96*(18), e6696. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006696>.

Wapner, R. J., Martin, C. L., Levy, B., Ballif, B. C., Eng, C. M., Zachary, J. M., Savage, M., Platt, L. D., Saltzman, D., Grobman, W. A., Klugman, S., Scholl, T., Simpson, J. L., McCall, K., Aggarwal, V. S., Bunke, B., Nahum, O., Patel, A., Lamb, A. N., Thom, E. A., ... Jackson, L. (2012). Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *The New England journal of medicine*, *367*(23), 2175–2184. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1203382>.

Williams, J. G., Higgins, J. P., & Brayne, C. E. (2006). Systematic review of prevalence studies of autism spectrum disorders. *Archives of disease in childhood*, *91*(1), 8–15. <https://doi.org/10.1136/adc.2004.062083>.

Wing L. (1981). Asperger's syndrome: a clinical account. *Psychological medicine*, *11*(1), 115–129. <https://doi.org/10.1017/s0033291700053332>.

Wing, L., & Gould, J. (1979). Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: epidemiology and classification. *Journal of autism and developmental disorders*, *9*(1), 11–29. <https://doi.org/10.1007/BF01531288>.

Wiszniewska, J., Bi, W., Shaw, C., Stankiewicz, P., Kang, S. H., Pursley, A. N., Lalani, S., Hixson, P., Gambin, T., Tsai, C. H., Bock, H. G., Descartes, M., Probst, F.



- J., Scaglia, F., Beaudet, A. L., Lupski, J. R., Eng, C., Cheung, S. W., Bacino, C., & Patel, A. (2014). Combined array CGH plus SNP genome analyses in a single assay for optimized clinical testing. *European journal of human genetics: EJHG*, 22(1), 79–87. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.77>.
- Woodbury-Smith, M., Paterson, A. D., O'Connor, I., Zarrei, M., Yuen, R., Howe, J. L., Thompson, A., Parlier, M., Fernandez, B., Piven, J., Scherer, S. W., Vieland, V., & Szatmari, P. (2018). A genome-wide linkage study of autism spectrum disorder and the broad autism phenotype in extended pedigrees. *Journal of neurodevelopmental disorders*, 10(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s11689-018-9238-9>.
- Wu, T. L. Chou, S. S. Gau and H. Y. Lin (2022). "White matter microstructural and morphometric alterations in autism: implications for intellectual capabilities." 13(1): 21.
- Xiang, A. H., Wang, X., Martinez, M. P., Page, K., Buchanan, T. A., & Feldman, R. K. (2018). Maternal Type 1 Diabetes and Risk of Autism in Offspring. *JAMA*, 320(1), 89–91. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.7614>.
- Yeh, C. H., R. Y. Tseng, H. C. Ni, L. Cocchi, J. C. Chang, M. Y. Hsu, E. N. Tu, Y. Y.
- Yirmiya, N. (2009). Clinical assessment and management of toddlers with suspected autism spectrum disorder: insights from studies of high-risk infants. *Pediatrics*, 123(5), 1383–1391. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-1606>.
- Zhang, Y., Liu, X., Guo, R., Xu, W., Guo, Q., Hao, C., Ni, X., & Li, W. (2021). Biological implications of genetic variations in autism spectrum disorders from genomics studies. *Bioscience reports*, 41(7), BSR20210593. <https://doi.org/10.1042/BSR20210593>.
- Zhang, H., Yue, F., Zhang, X., He, J., Jiang, Y., Liu, R., & Yu, Y. (2021). Prenatal detection of distal 1q21.1q21.2 microduplication with abnormal ultrasound findings: Two cases report and literature review. *Medicine*, 100(1), e24227. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000024227>.
- Zhu, L., Wang, X., Li, X. L., Towers, A., Cao, X., Wang, P., Bowman, R., Yang, H., Goldstein, J., Li, Y. J., & Jiang, Y. H. (2014). Epigenetic dysregulation of SHANK3 in brain tissues from individuals with autism spectrum disorders. *Human molecular genetics*, 23(6), 1563–1578. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt547>.
- Zinkstok, J. R., Boot, E., Bassett, A. S., Hiroi, N., Butcher, N. J., Vingerhoets, C., Vorstman, J., & van Amelsvoort, T. (2019). Neurobiological perspective of 22q11.2 deletion syndrome. *The lancet. Psychiatry*, 6(11), 951–960. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(19\)30076-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(19)30076-8).
- Zwaigenbaum, L., Bryson, S., Lord, C., Rogers, S., Carter, A., Carver, L., Chawarska, K., Constantino, J., Dawson, G., Dobkins, K., Fein, D., Iverson, J., Klin, A., Landa, R., Messinger, D., Ozonoff, S., Sigman, M., Stone, W., Tager-Flusberg, H., &

