



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες»**

**Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)**

**«ΑΥΤΙΣΜΟΣ : ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΣΗΜΕΡΑ»**

**ΜΙΧΑΗΛΙΑ ΛΩΛΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ : ΣΥΡΡΟΥ ΜΑΡΙΚΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΓΕΝΙΚΗΣ**

**ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ/ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**2024**





**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες»**

**Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)**

**«ΑΥΤΙΣΜΟΣ : ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΣΗΜΕΡΑ»**

**ΜΙΧΑΗΛΙΑ ΛΩΛΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ : ΣΥΡΡΟΥ ΜΑΡΙΚΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΓΕΝΙΚΗΣ**

**ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ/ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**2024**

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).

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.

**Μιχαηλία Λώλη**

**«ΑΥΤΙΣΜΟΣ : ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΣΗΜΕΡΑ»**

**Ημερομηνία παρουσίασης : 31/01/2024**

**Εξεταστική επιτροπή:**

Σύρρου Μαρίκα, Καθηγήτρια Γενικής Βιολογίας/Ιατρικής Γενετικής (Επιβλέπουσα)

Γεωργίου Ιωάννης, Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής

Σιώμου Αικατερίνη, Καθηγήτρια Παιδιατρικής

**ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια κα Σύρρου Μαρίκα για τη βοήθεια και την καθοδήγησή της στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, τους φίλους μου και το σύντροφό μου για τη στήριξη τους.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος (ΔΑΦ) αποτελεί ένα ζήτημα που διεγείρει όλο και περισσότερο το ενδιαφέρον τόσο της επιστημονικής κοινότητας όσο και του ευρύτερου κοινωνικού συνόλου. Σήμερα ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό του πληθυσμού παγκοσμίως διαγιγνώσκεται με τη διαταραχή αυτή και ο αντίκτυπός που έχει τόσο σε επιστημονικό όσο και σε κοινωνικό επίπεδο είναι σημαντικός. Αποτελεί μία πολυπαραγοντική νόσο στην οποία εμπλέκονται γενετικοί, επιγενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Όπως έχει αποδειχθεί οι γενετικοί παράγοντες κατέχουν βασικό ρόλο στην αιτιολογία της ΔΑΦ. Με τη σημαντική ανάπτυξη στον τομέα της μοριακής διάγνωσης όπως η ευρεία χρήση των μικροσυστοιχιών και η αλληλουχία εξώματος ή γονιδιώματος έχει επιτευχθεί σημαντική πρόοδος στην μελέτη των γενετικών παραγόντων που συνεισφέρουν στην εκδήλωση της διαταραχής και έχουν βρεθεί χιλιάδες γενετικές παραλλαγές που συνδέονται με τη ΔΑΦ. Ωστόσο, η γενετική αρχιτεκτονική της διαταραχής αυτής είναι ιδιαίτερα σύνθετη και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να αποσαφηνιστεί πλήρως πως αυτές οι παραλλαγές συνεισφέρουν στην προδιάθεση εκδήλωσής της, ώστε να μπορούν να εφαρμοστούν τα γενετικά ευρήματα στην κλινική πράξη, για την διάγνωση ή την θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία αναλύονται διάφορα δεδομένα σχετικά με την γενετική διερεύνηση της Διαταραχής Αυτιστικού Φάσματος που προέκυψαν από ανασκόπηση της σύγχρονης βιβλιογραφίας.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΑΥΤΙΣΤΙΚΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣ .....	10
1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ.....	10
1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ .....	10
1.3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ .....	13
1.4 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ.....	16
1.4.1 Diagnostic and Statistical manual 5 (DSM-V) .....	16
1.4.2 International Classification of Diseases 11 (ICD 11 ) .....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΔΑΦ.....	20
2.1 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΝΘΕΤΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΑΦ.....	20
2.2 ΚΟΙΝΕΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ.....	22
2.3 ΣΠΑΝΙΕΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ.....	24
2.4 ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΔΑΦ .....	26
2.5 ΣΥΝΔΡΟΜΙΚΗ ΔΑΦ .....	37
2.5.1 Σύνδρομο Rett .....	38
2.5.2 Σύνδρομο Εύθραυστου Χ .....	39
2.5.3 Οζώδης Σκλήρυνση.....	40
2.5.4 Σύνδρομο αμαρτωμάτων όγκων PTEN.....	41
2.5.5 Νευροϊνωμάτωση τύπου 1.....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ .....	43
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΤΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΑΦ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΔΥΟ ΦΥΛΑ.....	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΔΑΦ.....	48



5.1 ΟΡΙΣΜΟΙ .....	48
5.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ.....	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΔΑΦ .....	60
6.1 ΜΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ .....	60
6.2 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ.....	61
6.3 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ .....	62
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	73
ABSTRACT .....	74
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	75

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΑΥΤΙΣΤΙΚΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣ

### 1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Ο όρος «Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος» χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια ομάδα νευροαναπτυξιακών διαταραχών που συνήθως εκδηλώνονται κατά την παιδική ηλικία(έως 3 ετών) και χαρακτηρίζονται από δυσκολίες στην κοινωνική αλληλεπίδραση, στη λεκτική και μη λεκτική επικοινωνία και από επαναλαμβανόμενη συμπεριφορά. Η εκδήλωση των δυσκολιών αυτών εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των διαφόρων ατόμων (Lord et al.,2018).

### 1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η λέξη «αυτισμός» προέρχεται από την αρχαία ελληνική λέξη «αὐτός» (εαυτός) και τη χρησιμοποίησε το 1911 από ο ψυχίατρος Eugen Bleuler για να περιγράψει την απόσυρση από την πραγματικότητα και την απομόνωση στον εαυτό τους σε άτομα με σχιζοφρένεια.

Η πρώτη συστηματική μελέτη ατόμων με αυτισμό δημοσιεύθηκε το 1943 από τον Leo Kenner. Ο Kenner περιγράφει αναλυτικά 11 περιπτώσεις παιδιών ηλικίας 2-8 ετών τα οποία παρουσιάζουν συγκεκριμένα γνωρίσματα που ορίζουν, όπως λέει, μια διαταραχή διαφορετική από την σχιζοφρένεια, την οποία αναφέρει ως «πρώιμο παιδικό αυτισμό», βασιζόμενος στο γεγονός ότι τα συμπτώματα εμφανίζονταν κατά την πρώιμη παιδική ηλικία. Η διαταραχή αυτή χαρακτηρίζεται σύμφωνα με τον Kanner από την «εγγενή ανικανότητα των ατόμων να συσχετίσουν με φυσιολογικό τρόπο τον εαυτό τους με άτομα και καταστάσεις» με αποτελέσματα να εκδηλώνουν «υπερβολική αυτιστική μοναχικότητα». Παράλληλα, υποστηρίζει μια ψυχογενή ερμηνεία του αυτισμού σύμφωνα με την οποία η συμπεριφορά των γονέων απέναντι στα παιδιά παίζει καταλυτικό ρόλο στην εμφάνιση του αυτισμού. Όπως

εξηγεί η απόμακρη, τυπική και ψυχρή στάση των γονέων εμποδίζει τη δημιουργία συναισθηματικών δεσμών με τα παιδιά και αυτό πιθανόν επηρεάζει τις σχέσεις με τους άλλους ανθρώπους από την αρχή της ζωής τους. Η θεωρία αυτή καταρρίφθηκε από πολυάριθμες μελέτες που ακολούθησαν τα επόμενα χρόνια. Κάποια από τα κοινά γνωρίσματα που παρατηρήθηκαν στα παιδιά που μελέτησε ο Kanner ήταν: η περιορισμένη γλωσσική επικοινωνία και η καθυστερημένη ηχολαλία, η επαναληπτικότητα στις κινήσεις και τις εκφράσεις, οι περιορισμένες αυθόρμητες αντιδράσεις, η ψυχαναγκαστική εμμονή στη διατήρηση της ομοιότητας, η καλή μνήμη τυχαίων γνώσεων και πληροφοριών, η αποφυγή συναναστροφής με άλλα άτομα και η ενόχληση από έντονους θορύβους και κινούμενα αντικείμενα. Υποστηρίζει επίσης πως άλλο ένα κοινό σημείο στα 11 παιδιά ήταν πως όλα προέρχονταν από οικογένειες που αποτελούνταν από κάποιο μέλος με υψηλή νοημοσύνη. Στις δημοσιεύσεις που έκανε τα επόμενα χρόνια ο Kanner καταλήγει σε δύο από τα προαναφερθέντα γνωρίσματα ως αναγκαία και πιθανόν επαρκή για τη διάγνωση του αυτισμού: την αυτιστική μοναχικότητα και την εμμονική επιθυμία για διατήρηση της ομοιότητας.

Ένας από τους μεγαλύτερους πρωτοπόρους στην μελέτη του αυτισμού ήταν και ο Hans Asperger που δημοσίευσε το 1944 (ένα χρόνο αργότερα από τον Kanner) τη μελέτη του «Αυτιστική ψυχοπάθεια στην παιδική ηλικία». Ο Αυστριακός παιδίατρος περιέγραψε την συμπεριφορά 4 αγοριών τα οποία παρουσίαζαν σημαντική δυσκολία στην κοινωνική ενσωμάτωση και κινητική αδεξιότητα. Τα παιδιά αυτά είχαν κοινά σημεία με τους ασθενείς του Kanner όσον αφορά τις κοινωνικές και επικοινωνιακές δυσκολίες αλλά παρουσίαζαν κανονική έως υψηλή νοημοσύνη και φυσιολογική γλωσσική ανάπτυξη. Όπως αναλύει μάλιστα ο Asperger όλα τα παιδιά που μελέτησε ανέπτυξαν ομιλία πριν την σχολική ηλικία και από την πρώιμη

παιδική ηλικία διακρίνονταν από πρωτοτυπία στην σκέψη τους και μεγάλη ευχέρεια λόγου. Ωστόσο έδειχναν χαρακτηριστική προσκόλληση σε συγκεκριμένα ενδιαφέροντα και δυσκολεύονταν να αναπτύξουν διάλογο με τον συνομιλητή τους καθώς έκαναν μακροσκελείς μονολόγους για αφηρημένα θέματα μικρής πρακτικής σημασίας (Wolff, 2004).

Τα επόμενα χρόνια αρκετές μελέτες αρχίζουν να διερευνούν τους βιολογικούς μηχανισμούς που συνδέονται με τον αυτισμό, ανατρέποντας την ψυχογενή ερμηνεία του Kanner και των υποστηρικτών του. Το 1964 ο Bernard Rimland στο βιβλίο του «Infantile autism: The syndrome and its implications for a neural theory of behaviour» αναπτύσσει την θεωρία ότι ο αυτισμός έχει βιολογική βάση και υπεύθυνοι είναι γενετικοί παράγοντες. Στην απόδειξη των γενετικών επιδράσεων του αυτισμού συνέβαλαν σημαντικά οι Folstein και Rutter οι οποίοι πραγματοποίησαν μια μελέτη διδύμων. Επίσης, Η Stella Chess με τη μελέτη της το 1971 έδειξε την σύνδεση του αυτισμού με νευρολογικές ασθένειες.

Το 1979 η Lorna Wing και Jenny Gould έδειξαν ότι οι δυσκολίες των ατόμων με αυτισμό εντοπίζονται σε τρεις τομείς: α) στην κοινωνική αλληλεπίδραση β) στη λεκτική και μη λεκτική επικοινωνία γ) στη φαντασία (Wing and Gould, 1979). Επίσης, η Wing ήταν η πρώτη που μίλησε για το «φάσμα του αυτισμού» αναδεικνύοντας τη συνθετότητα της νόσου και την ποικιλία και το εύρος του τύπου και της βαρύτητας των συμπτωμάτων της. Τέλος, από την Wing χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά ο όρος «σύνδρομο Asperger» για να χαρακτηρίσει την κατάσταση ενός συνόλου παιδιών που μελετούσε τα οποία εμφάνιζαν γνωρίσματα παρόμοια με εκείνα που είχε περιγράψει ο Hans Asperger (Wolff, 2004).

Το 1952 εκδόθηκε από την Αμερικανική Ψυχιατρική Εταιρία το Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM) προκειμένου να υιοθετηθεί μια «κοινή γλώσσα» όσον αφορά την περιγραφή και τη διάγνωση των ψυχικών διαταραχών. Στην πρώτη αυτή έκδοση(DSM I), και στη δεύτερη(DSM II) που εκδόθηκε το 1968 κατατάσσει τον αυτισμό ως μια μορφή παιδικής σχιζοφρένειας ( Rosen et al.,2021).

Στο DSMIII που εκδόθηκε το 1980 ο αυτισμός διαχωρίζεται από την σχιζοφρένεια και αναφέρεται ως «παιδικός αυτισμός». Στην αναθεωρημένη έκδοση του DSMIII (DSMIII-R) του 1987 ο όρος άλλαξε σε «αυτιστική διαταραχή» και τα διαγνωστικά κριτήρια έγιναν πιο συγκεκριμένα. Το 1994 εκδόθηκε το DSM-IV στο οποίο ο αυτισμός συγκαταλέγεται πλέον στις «Διάχυτες Αναπτυξιακές Διαταραχές» στις οποίες περιλαμβάνονται επίσης το Σύνδρομο Rett, η Διάχυτη αναπτυξιακή διαταραχή μη προσδιοριζόμενη αλλιώς, το Σύνδρομο Asperger και η Αποδιοργανωτική διαταραχή . Το DSM-V που εκδόθηκε το 2013 χρησιμοποιείται έως σήμερα για τη διάγνωση του αυτισμού. Στην έκδοση αυτή εισήχθη ο όρος «Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος» και οι προαναφερθείσες διαγνωστικές υποκατηγορίες όπως το σύνδρομο Asperger, απαλείφθηκαν (Rosen et al.,2021).

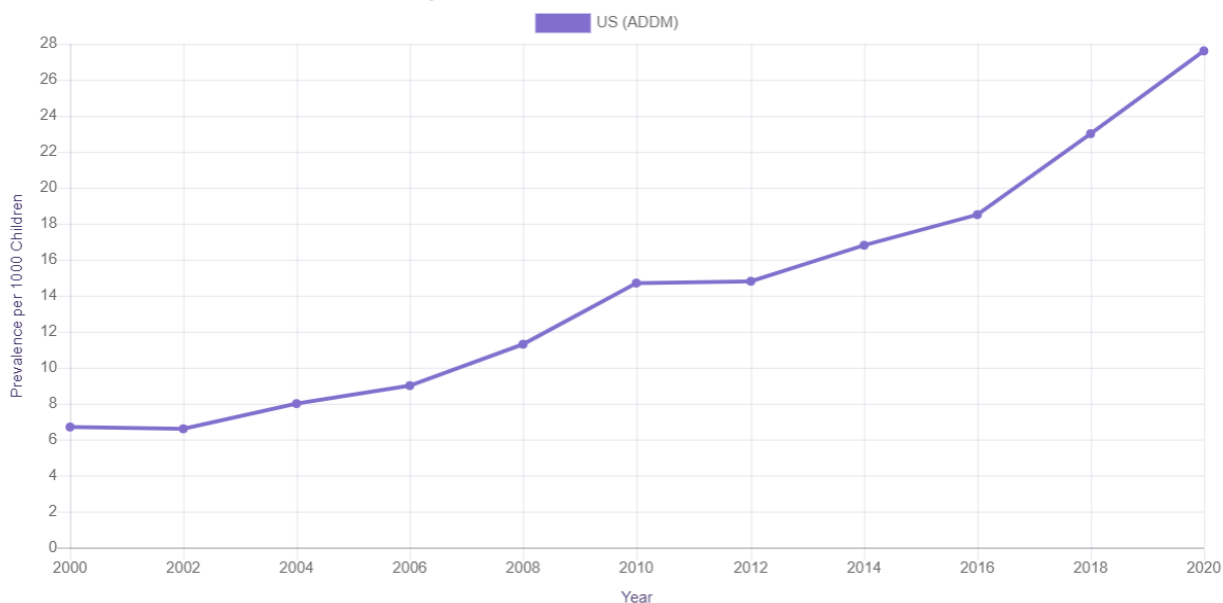
### 1.3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Περίπου ένα στα 100 παιδιά διαγιγνώσκεται με ΔΑΦ παγκοσμίως (Zeidan et al.,2022). Η εκδήλωση της ΔΑΦ είναι 4 φορές συχνότερη στα άρρενα από ότι στα θήλεα άτομα (Baio et al.,2018). Στην Ελλάδα ο επιπολασμός της ΔΑΦ είναι 1,15% (Thomaidis et al.,2020). Τα τελευταία χρόνια σημειώνεται ιδιαίτερα σημαντική αύξηση του επιπολασμού που φαίνεται να οφείλεται σε ένα συνδυασμό παραγόντων. Οι κυριότεροι παράγοντες είναι η καλύτερη ενημέρωση για τον αυτισμό καθώς και η βελτιωμένη πρόσβαση στις υπηρεσίες υγείας. Στην αύξηση

του επιπολασμού φαίνεται πως συνέβαλε σημαντικά και η διεύρυνση των διαγνωστικών κριτηρίων και η βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων, με αποτέλεσμα να διαγιγνώσκονται και οι ηπιότερες μορφές της νόσου (Zeidan et al.,2022). Υπάρχουν ωστόσο και εκείνοι που υποστηρίζουν ότι η τεράστια αύξηση στον επιπολασμό της ΔΑΦ δεν είναι πραγματική. Οι Mottron και Bzdok για παράδειγμα σε ένα πρόσφατο άρθρο τους υποστηρίζουν ότι ο «πραγματικός» αυτισμός δεν αφορά τόσο μεγάλο μέρος του πληθυσμού και ούτε χαρακτηρίζεται από τόσο μεγάλη ετερογένεια αλλά αυτό αποτελεί απλά μία «φαινομενική» εικόνα που προκύπτει εξαιτίας των μη ειδικών κριτηρίων που αναγνωρίζουν «υποτιθέμενα» αυτιστικά συμπτώματα σε οποιαδήποτε ψυχιατρική ή νευροαναπτυξιακή κατάσταση και σε άτομα μειωμένων ικανοτήτων σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Αναφέρουν επίσης ότι οι έρευνες που βασίζονται στον τρέχοντα ορισμό του αυτισμού αδυνατούν πλέον να παράγουν γνώση και νέα ευρήματα για τη βιολογική βάση της διαταραχής. Προτείνουν μάλιστα ως λύση τον περιορισμό της ετερογένειας σε μία κατάσταση στην οποία οι παραλλαγές του φαινοτύπου να έχουν μία ανιχνεύσιμη σχέση με τον «πρωτότυπο αυτισμό» που χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένα χαρακτηριστικά. Υποστηρίζουν ότι είναι σημαντικό η διάγνωση να στηρίζεται και στην εκτίμηση των ειδικών οι οποίοι μπορούν κατά την συνάντηση με το άτομο να αναγνωρίσουν λόγω εμπειρίας απευθείας τα αυτιστικά χαρακτηριστικά ώστε μπορούν να διαχωρίσουν τα άτομα με «πραγματικό» αυτισμό (Mottron and Bzdok, 2020). Πολλοί ερευνητές αντιτίθενται στους ισχυρισμούς των Mottron και Bzdok. Οι Chapman και Veit για παράδειγμα αναφέρουν ότι είναι εντελώς εσφαλμένο το να βασίζεται η διάγνωση μιας διαταραχής στην αναγνώριση μιας απλής ομοιότητας με κάποια «τυπικά αυτιστικά χαρακτηριστικά» και στη διαισθητική αναγνώριση των αυτιστικών

ατόμων από τους ειδικούς με βάση κάποια εξωτερικά γνωρίσματα τους. Υποστηρίζουν ότι ο αυτισμός είναι σίγουρα πραγματικός και αυτό το γνωρίζουν πολύ καλά τα ίδια τα αυτιστικά άτομα καθώς και άτομα που έχουν κοντά τους. Η ετερογένειά του είναι επίσης πραγματική και πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι μηχανισμοί που οδήγησαν στην ανάπτυξη του αυτισμού και στις τροποποιήσεις στην ταξινόμησή του επηρεάστηκαν περισσότερο από κοινωνικές, πολιτικές και ιδεολογικές αλλαγές παρά από επιστημονικές ανακαλύψεις. Η ετερογένειά του μάλιστα θεωρείται κάτι αρνητικό όταν υπάρχει η άποψη ότι ο αυτισμός είναι κάτι που πρέπει να ελεγχθεί, να διορθωθεί ή να θεραπευτεί. Υπάρχουν όμως και εκείνοι που βλέπουν τον αυτισμό σαν μια αναδυόμενη κουλτούρα και θεωρούν ότι η ετερογένεια συντελεί στην συντήρηση της ποικιλομορφίας αυτής της κουλτούρας.

ADDM Network estimates for overall ASD prevalence in US over time



**Διάγραμμα 1** Ο επιπολασμός της ΔΑΦ στις ΗΠΑ από το 2000 έως το 2020 (<https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/addm-community-report/index.html>)

#### 1.4 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Τα βασικά διαγνωστικά συστήματα που χρησιμοποιούνται σήμερα για την διάγνωση του αυτισμού είναι το Diagnostic and Statistical manual από την Αμερικανική Ψυχιατρική Ένωση (APA) και το International Classification of Diseases (ICD) από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO). Σήμερα χρησιμοποιείται η 5<sup>η</sup> έκδοση του DSM (DSM-V) που είναι σε ισχύ από το 2013 και η 11<sup>η</sup> έκδοση του ICD από τον Ιανουάριο του 2022.

##### 1.4.1 Diagnostic and Statistical manual 5 (DSM-V)

Σύμφωνα με το DSM-V η Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος αποτελεί πλέον μια ενιαία διαγνωστική κατηγορία. Χωρίζεται σε τρεις υποκατηγορίες (επίπεδα) με βάση τη βαρύτητα εκδήλωσης των συμπτωμάτων:

- 1)** Στο πρώτο επίπεδο απαιτείται κάποιου βαθμού υποστήριξη του ατόμου από άλλο άτομο καθώς όταν δεν υπάρχει υποστήριξη παρατηρείται σημαντική δυσκολία στην κοινωνική επικοινωνία και αλληλεπίδραση. Τα άτομα του επιπέδου αυτού αναπτύσσουν λόγο και χρησιμοποιούν ολόκληρες προτάσεις αλλά δεν έχουν την ικανότητα δημιουργίας συζήτησης με άλλους.
- 2)** Στο δεύτερο επίπεδο απαιτείται σημαντική υποστήριξη. Παρατηρείται δυσκολία στην κοινωνική αλληλεπίδραση και επικοινωνία ακόμα και παρουσία κάποιας υποστήριξης από άλλο άτομο. Τα άτομα αυτά εμφανίζουν έλλειμμα στη λεκτική επικοινωνία και μπορούν να σχηματίζουν μόνο κάποιες μικρές απλές προτάσεις.
- 3)** Στο τρίτο επίπεδο απαιτείται πολύ σημαντική υποστήριξη. Τα άτομα αυτά εμφανίζουν πολύ μικρή ικανότητα κοινωνικής επικοινωνίας και σημαντικά



προβλήματα κοινωνικής αλληλεπίδρασης και αναπτύσσουν πολύ περιορισμένο έως ελάχιστο λεξιλόγιο.

Τα κύρια διαγνωστικά κριτήρια με βάση DSM-V είναι τα ακόλουθα:

**A. Δυσκολίες στην κοινωνική αλληλεπίδραση και την επικοινωνία**

- 1) Δυσκολίες στην κοινωνικοσυναισθηματική αμοιβαιότητα
- 2) Δυσκολίες στη μη λεκτική επικοινωνία
- 3) Δυσκολίες στην ανάπτυξη, διατήρηση και κατανόηση σχέσεων

**B. Περιορισμένα και επαναλαμβανόμενα πρότυπα συμπεριφοράς, ενδιαφέροντα ή δραστηριότητες**

- 1) Στερεοτυπία και επανάληψη στις κινήσεις, στην χρήση αντικειμένων ή στην ομιλία
- 2) Επιμονή στην ομοιότητα και άκαμπτη προσήλωση στην ρουτίνα
- 3) Υπερβολικά περιορισμένα ενδιαφέροντα
- 4) Υπερευαισθησία ή υποευαισθησία σε ερεθίσματα (πχ. Θερμότητα, πόνος, ήχοι)

**Γ. Υπάρχουν εμφανή συμπτώματα στην πρώιμη αναπτυξιακή περίοδο**

**Δ. Ιδιαίτερα σημαντική δυσκολία σε διάφορες πτυχές της καθημερινότητας (πχ. επαγγελματικός τομέας)**

**E. Οι δυσκολίες δεν οφείλονται σε διανοητική καθυστέρηση. Συχνά συνυπάρχουν ΔΑΦ και διανοητική καθυστέρηση αλλά για να διαγνωστεί ένα άτομο ότι έχει και τα**

δύο μαζί πρέπει η κοινωνική επικοινωνία να είναι λιγότερο ανεπτυγμένη σε σχέση με το αναμενόμενο για το αναπτυξιακό στάδιο στο οποίο βρίσκεται.

Κάθε διάγνωση συνοδεύεται από κάποιους «δείκτες» (specifiers) που βοηθούν στην απόκτηση μιας πιο ολοκληρωμένης εικόνας για την κατάσταση του κάθε ατόμου. Κάποιοι δείκτες είναι η νοητική υστέρηση, οι γλωσσικές δυσκολίες, η κατατονία, καθώς επίσης και αν το άτομο έχει κάποια άλλη γενετική διαταραχή ή κάποια άλλη νευροαναπτυξιακή διαταραχή.

Στο DSM-5 επίσης εισάγεται ο όρος «Διαταραχή Κοινωνικής Επικοινωνίας» που αφορά τα άτομα που διαγιγνώσκονται με δυσκολίες στην κοινωνική επικοινωνία χωρίς στερεοτυπικές και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές ( American Psychiatric Association, 2013)

#### 1.4.2 International Classification of Diseases 11 (ICD 11 )

Στο ICD-11 η Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος περιλαμβάνεται στην κατηγορία « Ψυχικές, Συμπεριφορικές και Νευροαναπτυξιακές Διαταραχές» (**Κατηγορία 06**) που ορίζονται ως Σύνδρομα που χαρακτηρίζονται από κλινικά σημαντικές διαταραχές στη νοητική ή/και συναισθηματική λειτουργία ενός ατόμου ή στην συμπεριφορά του. Αυτές οι διαταραχές συνήθως συνδέονται με δυσκολίες στον προσωπικό, οικογενειακό , κοινωνικό, εκπαιδευτικό, επαγγελματικό τομέα ή σε άλλους σημαντικούς τομείς της ζωής ενός ατόμου.

Η Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος αποτελεί την υποκατηγορία **6A02** του ICD-11. Σύμφωνα με το ICD-11 τα άτομα με ΔΑΦ χαρακτηρίζονται από δυσκολίες στην κοινωνική επικοινωνία και αλληλεπίδραση και από περιορισμένα και επαναλαμβανόμενα ενδιαφέροντα και πρότυπα συμπεριφοράς. Η διαταραχή εμφανίζεται συνήθως στην πρώιμη παιδική ηλικία αλλά σε πολλές περιπτώσεις

κάποια συμπτώματα εμφανίζονται σε λίγο μεγαλύτερη ηλικία όταν οι κοινωνικές απαιτήσεις αρχίσουν να υπερβαίνουν τις περιορισμένες ικανότητες των ατόμων αυτών. Το ICD-11 σημειώνει επίσης ότι τα άτομα κατά μήκος του φάσματος παρουσιάζουν ένα μεγάλο εύρος διανοητικής λειτουργίας και γλωσσικών ικανοτήτων και υπάρχουν διάφοροι υπο-τύποι (**6A02.0-6A02.5**) της Διαταραχής Αυτιστικού Φάσματος ανάλογα το επίπεδο της διανοητικής λειτουργίας και της γλωσσικής ανάπτυξης.

Ένα μικρό ποσοστό ατόμων με ΔΑΦ μπορεί να παρουσιάσει απώλεια κάποιων δεξιοτήτων που είχαν ήδη αποκτήσει. Αυτή η παλινδρόμηση εμφανίζεται συνήθως κατά το δεύτερο έτος της ζωής και τις περισσότερες φορές αφορά τη χρήση της γλώσσας και την κοινωνική συναναστροφή. Σπάνια παρατηρείται απώλεια δεξιοτήτων μετά την ηλικία των τριών ετών αλλά εάν εμφανιστεί μετά την ηλικία αυτή είναι πιθανό να περιλαμβάνει απώλεια γνωστικών ικανοτήτων και άλλων βασικών ικανοτήτων όπως ελέγχου του εντέρου και στις ουροδόχου κύστης καθώς και δυσκολίες στο ύπνο. Έτσι συχνά στο κλινικό ιστορικό χρησιμοποιείται ο κωδικός **6A02.X1** και **6A02.X0** όταν παρατηρείται ή δεν παρατηρείται αντίστοιχα απώλεια ικανοτήτων που έχουν ήδη αποκτηθεί ([ICD-11 \(who.int\)](#))

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΔΑΦ

### 2.1 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΝΘΕΤΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΑΦ

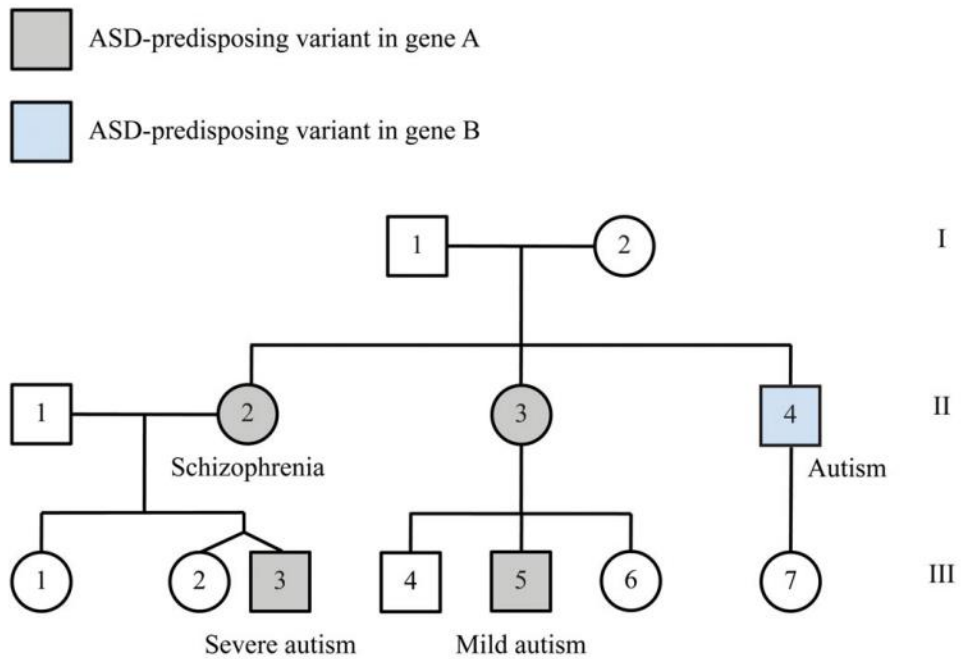
Η ΔΑΦ είναι μια νευροαναπτυξιακή διαταραχή με μεγάλη ετερογένεια τόσο στη γενετική της βάση όσο και στην κλινική της εκδήλωση . Η αιτιολογία της διαταραχής δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί, αλλά τα μέχρι τώρα δεδομένα των διαφόρων μελετών δείχνουν πως αποτελεί μία πολυπαραγοντική νόσο στην οποία εμπλέκονται πολυάριθμοι γενετικοί, επιγενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες.

Οι γενετικοί παράγοντες φαίνεται πως έχουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην αιτιολογία όπως αποδεικνύεται από μελέτες σε οικογένειες και διδύμους. Τα αδέρφια ατόμων με ΔΑΦ έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίζουν την νόσο και το ποσοστό συνεμφάνισης ΔΑΦ είναι πολύ μεγαλύτερο στα ομοζυγωτικά σε σχέση με τα διζυγωτικά δίδυμα. Γενικά η κληρονομησιμότητα της ΔΑΦ σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες είναι 80-90% ( Sandin et al., 2017; Bai et al.,2019). Η γενετική αιτιολογία της νόσου αποδεικνύεται επίσης από την παρατήρηση περιπτώσεων ΔΑΦ στις οποίες τα αυτιστικά χαρακτηριστικά αποτελούν μέρος της κλινικής εικόνας κάποιου γνωστού γενετικού συνδρόμου και αναφέρεται ως Συνδρομική ΔΑΦ (Τα σύνδρομα αναλύονται παρακάτω). Ωστόσο, στο μεγαλύτερο ποσοστό των περιπτώσεων (90%) η ΔΑΦ αποτελεί την κύρια διάγνωση και αναφέρεται ως Μη συνδρομική ΔΑΦ. Στην αιτιολογία του αυτισμού εμπλέκονται διαφόρων ειδών γενετικές αλλαγές όσον αφορά το μέγεθος αλλά και την κληρονόμηση. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να είναι μεγάλες κυτταρογενετικές αλλαγές (κυρίως στην περίπτωση συνδρόμων )παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (Copy Number Variations, CNVs) ή παραλλαγές ενός νουκλεοτιδίου (Single Nucleotide Variations, SNVs). Οι παραλλαγές αυτές είτε κληρονομούνται από τους γονείς είτε εμφανίζονται de novo. Οι μελέτες δείχνουν ότι η γενετική αρχιτεκτονική του αυτισμού είναι ιδιαίτερα

σύνθετη και δεν υπάρχει άμεση συσχέτιση ενός γονιδίου με την εκδήλωση της διαταραχής αλλά κίνδυνος προδιάθεσης του ατόμου για την συγκεκριμένη νόσο. Η προδιάθεση αυτή σε ορισμένα άτομα μπορεί να οφείλεται σε ταυτόχρονη ύπαρξη πολλών κοινών παραλλαγών (που εμφανίζονται με μεγαλύτερη συχνότητα στον πληθυσμό) οι οποίες μεμονωμένα έχουν μικρή επίδραση αλλά ο συνδυασμός τους οδηγεί στην εκδήλωση της νόσου. Σε άλλα άτομα μπορεί να οφείλεται σε λίγες σπάνιες παραλλαγές που η καθεμία έχει μεγαλύτερη επίδραση στον τελικό φαινότυπο ή σε άλλα η εκδήλωση της διαταραχής να οφείλεται σε συνδυασμό και των δύο μαζί (Groove et al., 2019; Lord et al., 2020).

Με την σημαντική ανάπτυξη στον τομέα της μοριακής διάγνωσης όπως οι μικροσυστοιχίες και η αλληλούχιση εξώματος (WES) και γονιδιώματος (WGS) έχουν βρεθεί χιλιάδες γενετικές παραλλαγές που συνδέονται με προδιάθεση εκδήλωσης ΔΑΦ. Ωστόσο, οι περισσότερες από αυτές τις παραλλαγές εμφανίζουν ατελή διεισδυτικότητα δηλαδή η νόσος δεν εκδηλώνεται σε όλα τα άτομα που φέρουν την παραλλαγή αλλά μόνο σε κάποια από αυτά ( πχ. II3 και III5 στο Διαγρ.2). Επίσης άτομα που φέρουν την ίδια ακριβώς παραλλαγή μπορεί να εκδηλώνουν διαφορετικής βαρύτητας συμπτώματα (ποικίλη εκφραστικότητα, πχ. III3 και III5 στο Διαγρ.2) ενώ άτομα που εμφανίζουν τα ίδια κλινικά χαρακτηριστικά μπορεί να φέρουν παραλλαγές σε διαφορετικά γονίδια ( ετερογένεια γενετικού τύπου, πχ. II4 και III5 στο Διαγρ.2 ). Τέλος, κάποιες γενετικές αλλαγές που έχουν συνδεθεί με προδιάθεση για ΔΑΦ έχει βρεθεί να συνδέονται και με άλλες νευρολογικές ή συμπεριφορικές διαταραχές λόγω του φαινομένου της πλειοτροπίας ( πχ. II2 και III3 ή III5 στο Διαγρ.2). Όλα τα παραπάνω καθιστούν λοιπόν ιδιαίτερα δύσκολη την πρόβλεψη του φαινοτύπου που προκύπτει από ένα συγκεκριμένο γονότυπο, δυσχεραίνοντας τη διάγνωση του αυτισμού σε κλινικό επίπεδο αλλά και γενικότερα

την γενετική διερεύνηση της νόσου σε επιστημονικό επίπεδο. (Yin and Schaaf, 2017).



**Διάγραμμα 2** Γενεολογικό δέντρο μιας οικογένειας με γενετικές παραλλαγές που προκαλούν αυτισμό. (Yin and Schaaf, 2017)

## 2.2 ΚΟΙΝΕΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ

Το μεγαλύτερο ποσοστό της συνολικής αιτιολογίας της ΔΑΦ στον γενικό πληθυσμό αποδίδεται στις κοινές παραλλαγές. Σύμφωνα με τα στοιχεία κάποιων μελετών οι κοινές παραλλαγές αποτελούν το 20-60% της συνολικής αιτιολογίας της ΔΑΦ στον πληθυσμό ενώ τα de novo σπάνια SNVs ή CNVs εξηγούν <10% της συνολικής αιτιολογίας (Klein et al., 2012; Gaugler et al., 2014; Bulik-Sullivan et al., 2015). Ωστόσο τα δεδομένα όσον αφορά την εύρεση κοινών παραλλαγών που να

συνεισφέρουν στον κίνδυνο εκδήλωσης ΔΑΦ είναι πολύ περιορισμένα σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των μελετών για τις σπάνιες παραλλαγές. Η πιο πρόσφατη GWAS μελέτη σε 18.381 άτομα με αυτισμό και 27.969 μάρτυρες βρήκε πέντε γενετικούς τόπους που συνδέονταν με τη ΔΑΦ σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα (Grove et al., 2019). Τα αποτελέσματα των GWAS μελετών αντιπροσωπεύουν μόνο το πρώτο βήμα και δεν μπορούν απευθείας να βρουν γονίδια και μηχανισμούς που να ευθύνονται για τη νόσο αλλά απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση και ανάλυση για να «μεταφραστούν» σωστά τα αποτελέσματα και να βρεθεί πως μια κοινή παραλλαγή μπορεί να οδηγεί στην διαταραχή, και προς το παρόν η ανίχνευση κοινών παραλλαγών δεν έχει κάποια προγνωστική αξία σε κλινικό επίπεδο. Ωστόσο, αν προκύψουν περισσότερα δεδομένα GWAS μελετών με μεγαλύτερα δείγματα, θα μπορούσαν τα δεδομένα αυτά να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση πολυγονιδιακού κινδύνου (Polygenic Risk Score). Τα PRS για διάφορες πολυγονιδιακές νόσους χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές μεταβλητές για την πρόγνωση των ασθενειών αυτών (Thapar and Rutter, 2021). Δύο μεγάλης κλίμακας μελέτες υποστηρίζουν ότι οι κοινές παραλλαγές έχουν σημαντική συνεισφορά στον κίνδυνο εκδήλωσης της ΔΑΦ ακόμα και σε περιπτώσεις που υπάρχει κάποια σπάνια επιβλαβής παραλλαγή. Στη μία μελέτη αναλύθηκαν 6.454 οικογένειες και βρέθηκε ότι κάποιες κοινές παραλλαγές συνδέονταν με τον κίνδυνο εκδήλωσης της ΔΑΦ ακόμα και σε άτομα που έφεραν και κάποια σπάνια de novo επιβλαβή παραλλαγή (Weiner et al., 2017) . Στην άλλη μελέτη διερευνήθηκαν άτομα με σοβαρές νευροαναπτυξιακές διαταραχές συμπεριλαμβανομένης και της ΔΑΦ και βρέθηκε ότι ακόμη και στις περιπτώσεις με βαριά μορφή αυτισμό που υπήρχε υποψία για μονογονιδιακή αιτιολογία, μέρος του κινδύνου εκδήλωσης της διαταραχής θα μπορούσε να αποδοθεί σε κάποιες κοινές παραλλαγές (Niemi et al.,

2019). Ένα αξιοσημείωτο εύρημα που προέκυψε από τα αποτελέσματα διαφόρων GWAS μελετών ήταν η αλληλεπικάλυψη της ΔΑΦ με τη σχιζοφρένεια, την κατάθλιψη και την ADHD καθώς κάποιες παραλλαγές που φαίνεται να συνδέονται με τη ΔΑΦ συνδέονται και με αυτές τις νόσους . Επίσης βρέθηκε ότι οι κοινές παραλλαγές που συνδέονται με τη ΔΑΦ έχουν θετική συσχέτιση με το μορφωτικό επίπεδο και με το IQ, παρά την γενική εντύπωση που υπάρχει ότι ο αυτισμός συνδέεται με χαμηλά επίπεδα IQ (Nakanishi et al., 2020 ).

### 2.3 ΣΠΑΝΙΕΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ

Οι σπάνιες παραλλαγές έχουν μελετηθεί ευρέως και τα περισσότερα ευρήματα των γενετικών μελετών για την ΔΑΦ αφορούν αυτού του είδους τις παραλλαγές. Οι σπάνιες παραλλαγές τείνουν γενικά να δείχνουν μεγαλύτερη επίδραση στο φαινότυπο σε σχέση με τις κοινές παραλλαγές . Σε ορισμένα άτομα με ΔΑΦ οι σπάνιες παραλλαγές συνδέονται με γνωστά γενετικά σύνδρομα τα οποία αναλύονται παρακάτω. Οι πρώτες μελέτες διερεύνησης σπάνιων παραλλαγών εστίαζαν κυρίως στα CNVs (Copy Number Variants) αλλά αρκετές πιο πρόσφατες μελέτες αφορούν σπάνια SNVs (Single Nucleotide Variants) ή indels (insertion or deletion). Σε μία μελέτη στην οποία διερευνήθηκε η επίδραση των σπάνιων CNVs σε 996 άτομα με ΔΑΦ και τους συγγενείς τους (876 trios) και σε 1287 νευροτυπικά άτομα, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα σπάνια CNVs ήταν συχνότερα στα άτομα με τη διαταραχή σε σχέση με τους μάρτυρες (7,6% και 4,5% αντίστοιχα) ( Pinto et al., 2010). Οι ίδιοι ερευνητές σε μια επόμενη μελέτη στην οποία πρόσθεσαν 1604 οικογένειες στο αρχικό τους δείγμα, έδειξαν ότι το 16p11.2 και το 2p16.3 ( NRXN1) ήταν τα πιο συχνά ελλείμματα και το 15q11-q13 ήταν ο πιο συχνός διπλασιασμός σε άτομα με αυτισμό (Pinto et al., 2014). Οι Satterstrom et al. σε μία μεγάλης κλίμακας μελέτη αλληλούχισης εξώματος εξέτασαν σπάνιες παραλλαγές σε 35.584

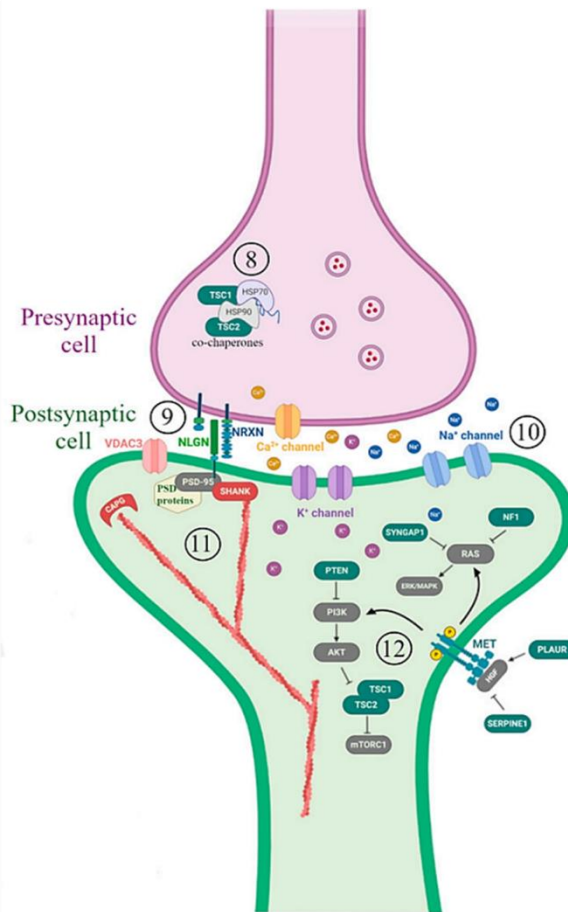
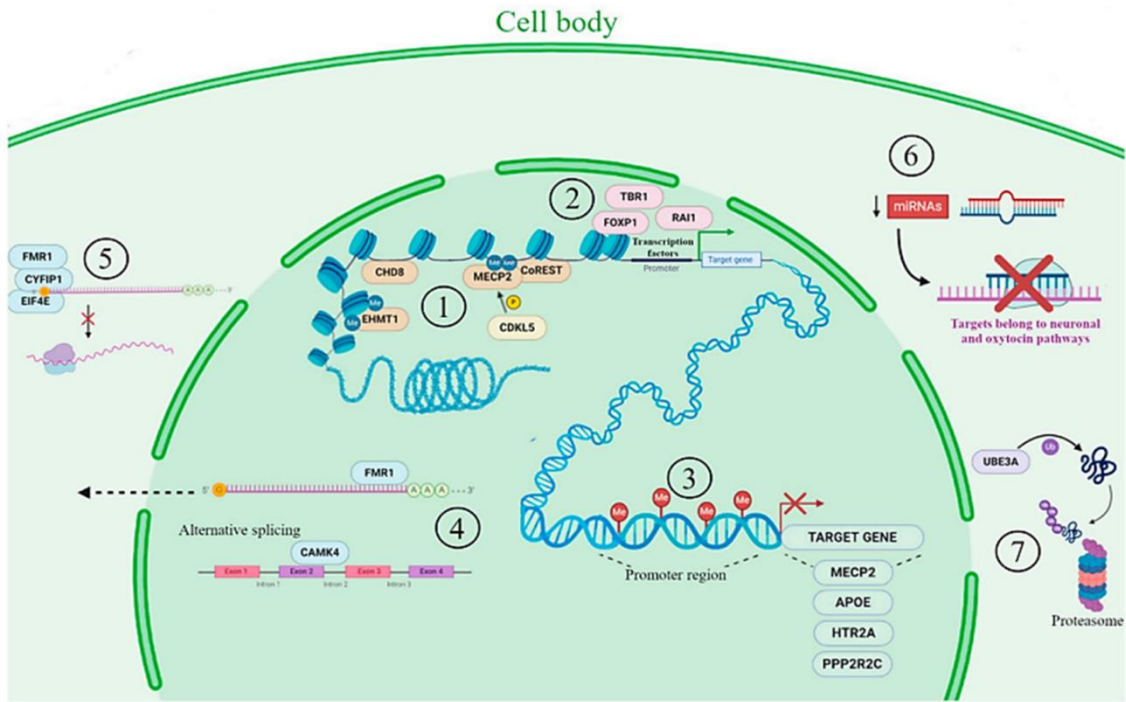


άτομα συμπεριλαμβανομένων 11.986 ατόμων με ΔΑΦ, και βρήκαν 102 γονίδια που με βάση τα δεδομένα τους αποτελούν γονίδια κινδύνου εμφάνισης ΔΑΦ ( Satterstrom et al., 2020) . Μία σημαντική παρατήρηση είναι ότι κάποια σπάνια CNVs σε γονίδια κινδύνου που φέρουν ασθενείς με ΔΑΦ έχουν κληρονομηθεί σε πολλές περιπτώσεις από υγιείς γονείς. Οι παραλλαγές αυτές έχουν ατελή διεισδυτικότητα και ενώ ο γονέας και το παιδί φέρουν την ίδια παραλλαγή, ο γονέας δεν εκδηλώνει τον φαινότυπο της ΔΑΦ. Ο φαινότυπος λοιπόν σε αυτή την περίπτωση δεν καθορίζεται μόνο από την ύπαρξη της σπάνιας παραλλαγής αλλά μία δεύτερη παραλλαγή ( second “hit”) ή περισσότερες (multiple “hits”) επηρεάζουν την κλινική εικόνα ( Thapar and Rutter, 2020 ). Όσον αφορά τα σπάνια SNVs, μελέτες σε οικογένειες με ένα παιδί που νοσεί (simplex families) δείχνουν ότι τα ποσοστά κάποιων σπάνιων de novo και κληρονομούμενων SNVs που φαίνεται να είναι παθολογικά είναι υψηλότερα στα αυτιστικά άτομα σε σύγκριση με τα υγιή αδέρφια τους ( Sanders et al., 2012; O’Roak et al., 2014). Σε μία μελέτη των Yuen et al. στην οποία πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση γονιδιώματος (WGS) σε 85 οικογένειες σε τετράδες (γονείς και δύο παιδιά με ΔΑΦ) βρέθηκε ότι κάποια αδέρφια που νοσούσαν και τα δύο δεν έφεραν το ίδιο σπάνιο SNV αλλά διαφορετικά SNVs που συνδέονταν με την διαταραχή. Παρατηρήθηκε λοιπόν γενετική ετερογένεια όχι μόνο μεταξύ των διαφορετικών οικογενειών αλλά και μέσα στην ίδια οικογένεια (Yuen et al., 2015).

#### 2.4 ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΔΑΦ

Μέχρι το Μάρτιο του 2023 στις βάσεις δεδομένων SFARI GENE και AutDB έχουν καταγραφεί πάνω από 1000 γονίδια που συνδέονται με τη ΔΑΦ. Τα κυρία γονίδια που εμπλέκονται στο μεγαλύτερο ποσοστό των περιπτώσεων ΔΑΦ κωδικοποιούν μόρια που συμμετέχουν σε βασικές κυτταρικές διαδικασίες όπως είναι :

1. Αναδιαμόρφωση της χρωματίνης
2. Μεταγραφή
3. Μεθυλίωση DNA
4. Εναλλακτικό μάτισμα και εξαγωγή mRNA στο κυτταρόπλασμα
5. Ρύθμιση της μετάφρασης
6. Μετα-μεταγραφική ρύθμιση από miRNA
7. Ουβικουιτίνωση και αποικοδόμηση στο πρωτεάσωμα. Κάποια μόρια που κωδικοποιούνται από τα γονίδια αυτά είναι :
8. Πρωτεΐνες TSC και πρωτεΐνες μοριακοί συν-συνοδοί
9. Η νευρεξίνη και η νευρολιγίνη
10. Τασεοελεγχόμενοι δίαυλοι ιόντων
11. Πρωτεΐνες κάλυψης ακτίνης και πρωτεΐνες ικρώματος
12. Μόρια των μονοπατιών PI3K/AKT, Ras/MAPK και MET υποδοχέα κινάσης τυροσίνης. (Εικόνα 1) (Masini et al. 2020)



**Εικόνα 1** Γενετικοί και επιγενετικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην αιτιοπαθγένεια της ΔΑΦ και τα μόρια που συμμετέχουν. Πάνω απεικονίζεται το κυτταρικό σώμα ενός νευρώνα με τους πυρηνικούς και κυτταροπλασματικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στη ΔΑΦ και κάτω η σύναψη μεταξύ δύο νευρώνων και οι αντίστοιχοι μηχανισμοί. ( Masini et al. 2020)

**Πίνακας 3.** Γονίδια που έχουν συνδεθεί με τη ΔΑΦ (Masini et al.,2020)

<b>ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ</b>	<b>ΓΟΝΙΔΙΑ</b>
<b>Ρυθμιστές χρωματίνης</b>	ANKRD11, ARID1B, ASXL3, AUTS2, CHD2, CHD7, CHD8, CREBBP, EHMT1, MBD5, MECP2, SETD5
<b>Παράγοντες/ ρυθμιστές μεταγραφής</b>	FOXP1, FOXP2, ZBTB20, ADNP, POGZ, TBR1, TFC4
<b>Ρυθμιστές σύνδεσης και διακίνησης mRNA</b>	FMR1
<b>Αποικοδόμηση πρωτεϊνών</b>	UBE3A
<b>Ανάπτυξη και πολλαπλασιασμός του κυττάρου</b>	DYRK1A, NF1A, PTEN, SYNGAP1, TSC1/TSC2
<b>Τροποποίηση πρωτεϊνών</b>	CDKL5

**SHANK1,SHANK2,SHANK3**

Τα γονίδια SHANK (SHANK1,SHANK2,SHANK3) κωδικοποιούν μετασυναπτικές πρωτεΐνες κριώματος που εντοπίζονται στις διεγερτικές συνάψεις και παίζουν σημαντικό ρόλο στη σύνδεση υποδοχέων νευροδιαβιβαστών, καναλιών ιόντων και άλλων μεμβρανικών πρωτεϊνών με τον κυτταροσκελετό ακτίνης .

Οι μεταλλάξεις στο SHANK3 ήταν από τις πρώτες που βρέθηκαν ότι μπορούν να προκαλέσουν αυτισμό. Εντοπίζεται στη χρωμοσωμική περιοχή 22q13.3. Έλλειμμα στην περιοχή αυτή οδηγεί στο σύνδρομο Phelan-McDermid (PMS) στο οποίο οι ασθενείς εμφανίζουν αυτιστική συμπεριφορά και άλλες διαταραχές όπως νοητική υστέρηση, υποτονία, καθυστερημένη ανάπτυξη, μειωμένες γλωσσικές ικανότητες κα. Οι διάφορες μελέτες δείχνουν ότι σχεδόν σε όλους τους ασθενείς με PMS η αιτία της διαταραχής είναι ένα έλλειμμα στο γονίδιο SHANK3. Το γεγονός ότι τα κλινικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου οφείλονται στην απλοανεπάρκεια SHANK3 υποστηρίζονται και από μελέτες που δείχνουν ότι άτομα που φέρουν ένα

δαχτυλοειδές χρωμόσωμα 22 στο οποίο το SHANK είναι ανέπαφο εμφανίζουν φυσιολογικό φαινότυπο. Εκτός από τις περιπτώσεις συνδρομικού αυτισμού διάφορες μεταλλάξεις στο SHANK3 έχουν εντοπιστεί και σε άτομα με μη συνδρομικό αυτισμού (Monteneiro et al. 2017).

Μεταλλάξεις στο SHANK1 και SHANK2 έχουν επίσης συσχετιστεί με ΔΑΦ. Σε μία μεταανάλυση των Leblond et al. βρέθηκε ότι το περίπου 1% των ασθενών με ΔΑΦ έφερε μετάλλαξη σε κάποιο από τα γονίδια SHANK1-3. Στο μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών εντοπίστηκαν μεταλλάξεις στο SHANK3. Παρατηρήθηκε επίσης μία συσχέτιση μεταξύ των μεταλλάξεων στο SHANK1-3 και του βαθμού της γνωστικής δυσλειτουργίας: οι ασθενείς με μεταλλάξεις στο SHANK3 εμφάνιζαν πιο σοβαρές γνωστικές δυσκολίες σε σχέση με εκείνους που έφεραν μετάλλαξη στο SHANK1 ή στο SHANK2 (Leblond et al., 2014).

### **NRXN1,NRXN2,NRXN3**

Οι νευρεξίνες είναι προσυναπτικά μόρια κυτταρικής προσκόλλησης που αλληλεπιδρούν με μια ποικιλία μετασυναπτικών μορίων όπως οι νευρολιγίνες, οι δυστρογλυκάνες και οι LSTMs (Leukine-rich-repeat-transmembrane neuronal proteins), σχηματίζοντας σύμπλοκα που είναι απαραίτητα για την λειτουργία των συνάψεων. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα υπάρχουν 3 γονίδια νευρεξίνης (NRXN1,NRXN2,NRXN3). Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει την σύνδεση καθενός από αυτά τα γονίδια με τη ΔΑΦ (Wang et al.,2018; Ishizuka et al., 2020). Έχουν βρεθεί 1.756 μεταλλάξεις στο NRXN1 εκ των οποίων το 0,5% σε άτομα με ΔΑΦ, 120 μεταλλάξεις στο NRXN2 το 5% των οποίων σε άτομα με ΔΑΦ και 39 στο NRXN3 από τις οποίες το 5% σε άτομα με ΔΑΦ (Khoja et al., 2023). Μελέτες σε ζωικά ΚΟ (knock

out) μοντέλα έδειξαν ότι η απενεργοποίηση των γονιδίων NRXN οδηγούσε σε εκδήλωση συμπτωμάτων αντίστοιχων της ΔΑΦ (Dachtler et al.,2015; Amstrong et al.,2020).

### **NLGN1,2,3,4X,4Y**

Οι νευρολιγίνες αποτελούν μόρια κυτταρικής προσκόλλησης που αγκυροβολούνται στη μετασυναπτική μεμβράνη και παίζουν σημαντικό ρόλο στην οργάνωση των συνάψεων. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα έχουν βρεθεί 5 γονίδια τα NLGN1,2,3,4X και 4Y ή 5 (Trobiani et al. 2020).

Έχουν βρεθεί μέχρι σήμερα 5 σπάνιες παραλλαγές στο NLGN1 που σχετίζονται με τη ΔΑΦ και αντιστοιχούν στις υποκαταστάσεις P89L,T90I,L269P,G297E και H795Y. Σύμφωνα με την *in silico* πρόβλεψη των συνεπειών των αλλαγών αυτών διακρίνονται σε αλληλόμορφα υψηλού κινδύνου (P89L,L269P,G297E) και αλληλόμορφα χαμηλού κινδύνου (T90I,H795Y). Ποντίκια Knock in(KI) για το P89L NLGN1 εμφανίζουν μη φυσιολογική κοινωνική συμπεριφορά και εξασθενημένη χωρική μνήμη (Nakanishi et al.,2017). Παρομοίως NLGN1 KO ποντίκια παρουσιάζουν δυσκολίες στην μνήμη και αυξημένη επαναλαμβανόμενη συμπεριφορά (Jedlicka et al., 2015).

Το NLGN2 συνδέεται με την ανασταλτική GABAεργική σηματοδότηση και τα επίπεδα έκφρασής του επηρεάζουν την ισορροπία μεταξύ διεγερτικών (E) και ανασταλτικών (I) σημάτων στον εγκέφαλο. Η απορρύθμιση της ισορροπίας E/I οδηγεί σε νευροσυμπεριφορικές διαταραχές συμπεριλαμβανομένης της ΔΑΦ (Parente et al., 2017; Tabiani et al., 2020). Διάφορες μελέτες σε ζωικά μοντέλα έδειξαν ότι μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας του γονιδίου NLGN2 σχετίζονται με ελαττωματική λειτουργία των ανασταλτικών συνάψεων και με εμφάνιση

συμπεριφορών παρόμοιων με εκείνες των αυτιστικών ατόμων όπως δυσκολίες στην συνεργασία και την επικοινωνία, καθυστέρηση στην ανάπτυξη, άγχος κ.α ( Wohr et al., 2013; Liang et al., 2015; Babaev et al., 2016).

Οι πρώτες μεταλλάξεις της νευρολιγίνης που συνδέθηκαν με τη ΔΑΦ ήταν στο NLGN3. Συγκεκριμένα, στη μελέτη των Jamain et al. σε μία οικογένεια από την Σουηδία με δύο αδέρφια με ΔΑΦ βρέθηκε μία παρανοηματική μετάλλαξη η οποία είχε κληρονομηθεί από την μητέρα και οδηγούσε στην υποκατάσταση P451C (Jamain et al., 2003). Μελέτες ανάλυσης συμπεριφοράς σε NLGN3 R451C KI ποντίκια έδειξαν δυσκολίες στην κοινωνική αλληλεπίδραση και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές (Jaramillo et al., 2014; Burrows et al., 2015). Μία παρανοηματική μετάλλαξη (p.G426S) η οποία διαταράσσει την συναπτική ομοιόσταση καθώς και την πρόσδεση με την νευρεξίνη βρέθηκε ότι οδηγεί σε προδιάθεση για ΔΑΦ (Xu et al., 2014). Σε μία πιο πρόσφατη μελέτη βρέθηκαν δύο de novo αλλαγές στο NLGN3 σε άτομα με νοητική υστέρηση και ΔΑΦ. Η R597W εντοπίστηκε σε 3 πάσχοντα ξαδέρφια και η P514S σε δύο πάσχοντα αδέρφια μιας άλλης οικογένειας (Quartier et al., 2019).

Ο μεγαλύτερος αριθμός μεταλλάξεων στις νευρολιγίνες που συνδέεται με ΔΑΦ εντοπίζεται στο NLGN4X. Έχουν βρεθεί πολλές μεταλλάξεις που οδηγούν στην εισαγωγή ενός πρώιμου κωδικονίου λήξης με αποτέλεσμα την παραγωγή μη φυσιολογικής πρωτεΐνης. Τέτοιες είναι οι: L211X, Q274X, Q329X, D429X. Επίσης έχουν εντοπιστεί διάφορες παρανοηματικές μεταλλάξεις που κληρονομούνται από τη μητέρα όπως οι Q15K, G996, R704C, G84R (Trobiani et al., 2020).

Το NLGN4Y εδράζεται στο Yq11.221. Ενώ το NLGN4X και το NLG4Y έχουν 97% ίδια αλληλουχία και θεωρούνταν αρχικά ότι λειτουργούν ως ζεύγος γονιδίων X-Y, η

μελέτη των Nguyen et al. έδειξε ότι υπάρχουν λειτουργικές διαφορές στις πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα γονίδια αυτά. Η πρωτεΐνη NLGN4Y είναι λιγότερο ικανή να μετακινηθεί στην κυτταρική επιφάνεια και η διαφορά αυτή μεταξύ των δύο πρωτεϊνών οφείλεται σε ένα μόνο αμινοξύ. Στην περιοχή που περιβάλλει αυτό το κρίσιμο αμινοξύ στο γονίδιο NLGN4X εντοπίζονται πολλές από τις μεταλλάξεις που έχουν συνδεθεί με τη ΔΑΦ. Οι ερευνητές έδειξαν επίσης ότι το NLGN4Y δεν μπορεί να αντισταθμίσει τα λειτουργικά προβλήματα που προκύπτουν από μεταλλάξεις στο NLGN4X που σχετίζονται με τη ΔΑΦ. Έτσι σε ορισμένες περιπτώσεις ενώ σε θηλυκά άτομα φορείς μιας αλλαγής στο NLGN4X αυτή μπορεί να αντισταθμιστεί από το άλλο φυσιολογικό αλληλόμορφο, στα αρσενικά άτομα φορείς αυτό δεν μπορεί να συμβεί με αποτέλεσμα να εκφράζουν παθολογικό φαινότυπο ΔΑΦ. Υποστηρίζουν ότι αυτή μπορεί να είναι μία πιθανή εξήγηση για το γεγονός ότι το μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών με αλλαγές στο NLGNX είναι αρσενικά άτομα (Nguyen et al., 2020). Σε αντίθεση με το NLGN4X στο NLGN4Y δεν έχουν βρεθεί πολλές αλλαγές που να συνδέονται με τη ΔΑΦ. Σε μια μελέτη 335 ατόμων με αυτισμό και νοητική υστέρηση βρέθηκε η παρανοηματική μετάλλαξη p.Ile679Val σε έναν ασθενή με αυτισμό καθώς και στον πατέρα του που είχε μαθησιακές δυσκολίες (Yan et al., 2008).

## **CNTNAP2**

Η Contactin-associated protein-like 2 (CNTNAP2) είναι μέλος της οικογένειας των νευρεξινών. Σε αντίθεση με τις άλλες νευρεξίνες δεν βρίσκεται στις συνάψεις αλλά αποτελεί μόριο κυτταρικής προσκόλλησης κυρίως μεταξύ των νευρικών και των νευρογλοιακών κυττάρων. Συμμετέχει στη σταθεροποίηση των δενδριτών, στη



μετανάστευση των νευρώνων καθώς και στη συνδεσιμότητα συγκεκριμένων νευρωνικών δικτυων. Το γονίδιο CNTNAP2 ήταν από τα πρώτα που συνδέθηκαν με τη ΔΑΦ και έχουν βρεθεί και κοινά και σπάνια αλληλόμορφα του γονιδίου που σχετίζονται με τη διαταραχή (Alarcon et.al, 2008; Bakkaoglu et.al, 2008). CNTNAP2 knock-out νευρώνες εμφανίζουν μη φυσιολογική ανάπτυξη των αξόνων και ανωμαλίες στις συνάψεις (Varea et al., 2015; Canali et al., 2018). Παλαιότερες μελέτες δείχνουν ότι η CNTNAP2 παίζει σημαντικό ρόλο στην γλωσσική λειτουργία και ασθενείς με ΔΑΦ στους οποίους εντοπίζονται αλλαγές στο γονίδιο CNTNAP2 παρουσιάζουν καθυστερημένη γλωσσική ανάπτυξη και γλωσσικές δυσκολίες (Alarcon et al., 2008; Scott-Van Zeeland et al., 2010). Δύο μελέτες μετα-ανάλυσης δείχνουν συσχέτιση των πολυμορφισμών rs7794745 και rs2710102 με τη ΔΑΦ (Uddin et al., 2021; Qiu et al., 2022).

### **SCN1A, SCN2A**

Τα SCN1A και SCN2A κωδικοποιούν τασσο-εξαρτώμενα κανάλια νατρίου. Εκφράζονται στους νευρώνες και στα γλοιακά κύτταρα και είναι απαραίτητα για τη δημιουργία και τη διάδοση των δυναμικών δράσης. Μεταλλάξεις στο SCN1A είναι υπεύθυνες για το σύνδρομο Dravet, στο οποίο οι ασθενείς εκτός από επιληψία που είναι το κύριο σύμπτωμα του συνδρόμου συχνά παρουσιάζουν και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ΔΑΦ. Σε δύο μελέτες αλληλούχισης ολόκληρου γονιδιώματος και αλληλούχισης εξώματος των Yuen et. al και των Satterstrom et al. αντίστοιχα βρέθηκαν de novo αλλαγές στο SCN1A που σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτών των μελετών σχετίζονται με την προδιάθεση για ΔΑΦ (Yuen et al., 2017 ; Satterstrom et al., 2020). Η μελέτη των Zhou et al. σε 42.607 ασθενείς με ΔΑΦ δείχνει ότι το

SCN2A αποτελεί ένα από τα γονίδια που εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με τη ΔΑΦ (Zhou et al., 2022).

### **GABRB3, GABRA5, GARG3**

Το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) αποτελεί ένα βασικό ανασταλτικό νευροδιαβιβαστή στον εγκέφαλο. Τα γονίδια GABRB3, GABRA5, GARG3 κωδικοποιούν τις υπομονάδες β3, α5 και γ3 αντίστοιχα του GABA<sub>A</sub> υποδοχέα και εδράζονται στην περιοχή 15q12. Σε μία μελέτη σε 356 ασθενείς με ΔΑΦ βρέθηκαν στο γονίδιο GABRB3 22 σπάνιες παραλλαγές που σχετίζονταν με τη ΔΑΦ. Η μελέτη των οικογενειών έδειξε οι περισσότερες από αυτές τις παραλλαγές κληρονομούνταν από τους γονείς και ότι κάποιοι από τους φορείς δεν διαγιγνώσκονταν με ΔΑΦ, γεγονός που υποστηρίζει την υπόθεση ότι οι παραλλαγές αυτές δεν σχετίζονται άμεσα με την εκδήλωση ΔΑΦ αλλά με την προδιάθεση για εκδήλωση ΔΑΦ (Chen et al., 2014). Οι Sesarini et. al βρήκαν ότι η αλληλεπίδραση διαφόρων αλλαγών μεταξύ των GABRB3 (χρωμόσωμα 15) και GABRD (χρωμόσωμα 1) αυξάνει τον κίνδυνο εκδήλωσης αυτισμού και υποστηρίζουν ότι τα διαφορετικά γονίδια GABAR πιθανώς εμπλέκονται στον αυτισμό μέσω σύνθετων αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους (Sesarini et. al., 2014). Αντίθετα, σε μια παλαιότερη μελέτη, οι Asley-Koch μελετώντας την αλληλεπίδραση μεταξύ των GABRB3, GABRA5 και GABRG3 δεν βρήκαν κάποια θετική συσχέτιση της αλληλεπίδρασης αυτής με τον κίνδυνο εμφάνισης αυτισμού (Asley-Koch et al., 2006). Παρόμοια είναι και τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μετα-ανάλυσης στην οποία αναλύθηκαν μελέτες από πληθυσμούς διαφορετικών εθνοκοιτητων. Οι ερευνητές μελετώντας διάφορα

SNPs στα γονίδια GABRB3, GABRA5, GARG3 δεν βρήκαν κάποια συσχέτιση με την εκδήλωση ΔΑΦ για κανένα από αυτά (Mahdavi et al., 2018).

### **MTHFR**

Το MTHFR είναι ένα από τα περισσότερο μελετημένα γονίδια που σχετίζονται με τη ΔΑΦ. Κωδικοποιεί την αναγωγή ή ρεδοκτάση του 5,10 μεθυλο-τετραϋδροφολικού οξέος και παίζει ρόλο στην μετατροπή του φολικού οξέος και της ομοκυστεΐνης καθώς και στην μεθυλίωση του DNA (Froese et al., 2016). Έχουν βρεθεί 17 κοινά και σπάνια SNPs στο MTHFR που συνδέονται με την ΔΑΦ εκ των οποίων τα κυριότερα είναι το A1298C και το C667T (Sadeghiyeh et al., 2019; Li et al., 2020; Qiu et al., 2022 ). Οι αλλαγές αυτές οδηγούν σε μειωμένη ενεργότητα του ενζύμου με αποτέλεσμα να παρατηρούνται στους ασθενείς προβλήματα στην μεθυλίωση, έλλειμα φολικού οξέος και αύξηση της ομοκυστεΐνης (Zhang et al., 2021). Τα υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης φαίνεται πως συνδέονται σημαντικά με την παθοφυσιολογία του αυτισμού ( Pasca et al., 2006).

### **FOXP1, FOXP2**

Το γονίδια FOXP1 και FOXP2 (Forkhead box P1,P2) κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες που ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων στον εγκέφαλο. Σχηματίζουν ετεροδιμερή και συνεκφράζονται σε πολλές περιοχές του εγκεφάλου και φαίνεται πως λειτουργούν συνεργατικά σε κοινά σηματοδοτικά μονοπάτια που συνδέονται με τη γλωσσική ανάπτυξη και τη γνωστική λειτουργία (Li et al., 2004; Bacon et al., 2015).

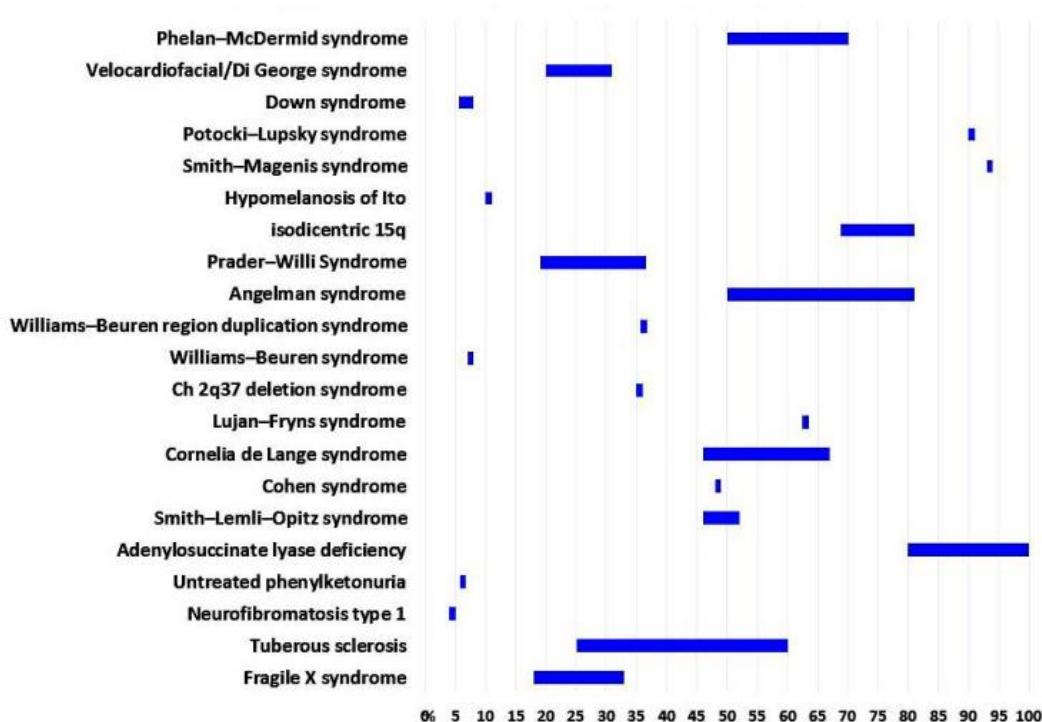
Όπως δείχνει ένα σύνολο μελετών υπάρχει σημαντική συσχέτιση του FOXP1 με την Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος. Στη μεγάλης κλίμακας μελέτη αλληλούχισης εξώματος των Satterstrom et. al, όπως επίσης και στην μελέτη των Feliciano et al.,

βρέθηκαν *de novo* LGD (likely gene disruptive) παραλλαγές και PTVS (protein truncating variants) στο γονίδιο FOXP1 σε άτομα με ΔΑΦ (Feliciano et al., 2019; Satterstrom et al., 2020). Επίσης τα αποτελέσματα της πρόσφατης μελέτης των Zhou et al. έδειξαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση του FOXP1 με τη διαταραχή (Zhou et al., 2022).

Το FOXP2 συνδέεται με την γλωσσική ικανότητα στον άνθρωπο και μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό προκαλούν μία σπάνια νευροαναπτυξιακή διαταραχή, την CAS (Childhood apraxia of speech) που χαρακτηρίζεται από σοβαρές γλωσσικές δυσκολίες. Σε μία πρόσφατη μελέτη των Haghigatfard et al. παρατηρήθηκε μειωμένη έκφραση του FOXP2 σε παιδιά με Διαταραχή Αυτιστικού φάσματος (Haghigatfard et al., 2022). Σε μελέτες που προσπαθούσαν να διερευνήσουν το ρόλο του γονιδίου FOXP2 στον αυτισμό ανακαλύφθηκε η πρωτεΐνη CNTNAP2 η οποία έχει πλέον αποδειχθεί ότι έχει σημαντική συσχέτιση με τον αυτισμό, όπως αναλύεται παραπάνω. Η έκφραση της CNTNAP2 ρυθμίζεται από τον μεταγραφικό παράγοντα FOXP2 και έχει προταθεί ότι υπάρχουν κοινοί μηχανισμοί που συνδέονται με τη ΔΑΦ και τις διαταραχές της γλώσσας που καθορίζονται από το CNTNAP2 και τη ρύθμιση της έκφρασής του από την FOXP2 (Vernes et al., 2008; Li et al., 2010). Απαιτείται λοιπόν περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών για να κατανοηθεί η συσχέτιση των γλωσσικών διαταραχών με τον αυτισμό.

## 2.5 ΣΥΝΔΡΟΜΙΚΗ ΔΑΦ

Σε κάποιες περιπτώσεις τα αυτιστικά χαρακτηριστικά αποτελούν μέρος ενός γνωστού γενετικού συνδρόμου και αναφέρονται ως Συνδρομική ΔΑΦ. Στο μεγαλύτερο όμως ποσοστό των περιπτώσεων (90%) η ΔΑΦ είναι Μη Συνδρομική. Είναι δηλαδή η κύρια διάγνωση και όχι τμήμα των κλινικών χαρακτηριστικών ενός συνδρόμου. Τα άτομα με Συνδρομική ΔΑΦ εμφανίζουν συνήθως δυσμορφίες και περισσότερες εγκεφαλικές ανωμαλίες σε σχέση με εκείνα με Μη Συνδρομική ΔΑΦ. Η ΔΑΦ συνδέεται με ένα σημαντικό αριθμό συνδρόμων. (Διάγραμμα 2) (Persico and Napolioni, 2013 ; Styles et al., 2020). Κάποια από τα κύρια σύνδρομα που σχετίζονται με ΔΑΦ αναλύονται παρακάτω.



**Διάγραμμα 3.** Συχνότητα εμφάνισης ΔΑΦ στα άτομα με γνωστά γενετικά Σύνδρομα. (Styles et al. 2020)

### 2.5.1 Σύνδρομο Rett

Το σύνδρομο Rett είναι μία νευροαναπτυξιακή διαταραχή με φυλοσύνδετο στο X επικρατή τύπο κληρονόμησης. Η συχνότητα του συνδρόμου είναι 1 στα 10000 κορίτσια ενώ στα αγόρια στις περισσότερες περιπτώσεις οδηγεί σε θάνατο πριν την γέννηση. Σύμφωνα με μία μεταανάλυση του 2015 το 61% των κοριτσιών με σύνδρομο Rett εμφανίζει ΔΑΦ (Richards et al.,2015). Στο 90-95% των περιπτώσεων το σύνδρομο οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο MECP2 που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη δέσμευσης μεθυλίου CpG2 (MECP2). Συμμετέχει στην ρύθμιση της διαμόρφωσης της χρωματίνης. Η πρωτεΐνη αυτή δεσμεύεται σε μεθυλιωμένο DNA και ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που συνδέονται με το σχηματισμό και την λειτουργία των νευρικών συνάψεων όπως είναι τα γονίδια FXR1, BDNF, FKBP5 και GATM τα οποία υπερεκφράζονται απουσία της λειτουργικής πρωτεΐνης MECP2 καθώς και τα γονίδια UBE3A και GRID1 τα οποία υποεκφράζονται απουσία της λειτουργικής MECP2. Έτσι οι αλλαγές στην πρωτεΐνη MECP2 στους ασθενείς με Rett φαίνεται να οδηγεί σε προβλήματα στην διαφοροποίηση και την ωρίμανση των νευρώνων καθώς και στην εγκαθίδρυση και διατήρηση των νευρικών συνάψεων. Σε πολλές περιπτώσεις επηρεάζεται επίσης η δομή και η λειτουργία των αστροκυττάρων, των μικρογλοιακών κυττάρων και των ολιγοδενδροκυττάρων με συνέπεια διάφορες διαταραχές στο νευρικό δίκτυο που οδηγούν στο φαινότυπο του συνδρόμου (Ehrhart et al. 2016; Ip et al., 2018; Lu et al.,2022).

Στα άτομα με Rett παρατηρείται φυσιολογική ανάπτυξη κατά την βρεφική ηλικία η οποία όμως ακολουθείται από μια περίοδο παλινδρόμησης κατά την ηλικία των 9 έως 30 μηνών κατά την οποία τα άτομα χάνουν τις αποκτηθείσες λεκτικές και κινητικές δεξιότητες. Αρχίζουν να μειώνονται οι φυσιολογικές κινήσεις των χεριών

και να αναπτύσσονται οι χαρακτηριστικές επαναληπτικές κινήσεις. Επιβραδύνεται η ανάπτυξη του κρανίου και παρατηρείται δυσκαμψία στη στάση του σώματος. Αλλά συμπτώματα που μπορούν να παρατηρηθούν είναι : επιληψία, άστατη βάδιση, σπασμοί, δύσπνοια (Ip et al.,2018).

### 2.5.2 Σύνδρομο Εύθραυστου Χ

Αποτελεί ένα από τα πιο συχνά μονογονιδιακά σύνδρομα στα άτομα με ΔΑΦ. Περίπου το 60% των αγοριών και το 16% των κοριτσιών με Σύνδρομο Εύθραυστου Χ εμφανίζει ΔΑΦ (Marlborough et al., 2021). Στο σύνδρομο αυτό οφείλεται το 2-6% των περιπτώσεων ΔΑΦ (Farzin et al., 2014). Οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου FMR1 (Fragile X Mental Retardation Gene) το οποίο εδράζεται στην περιοχή Χq27.3. Στο 99% των περιπτώσεων το σύνδρομο οφείλεται σε επέκταση πολυμορφικών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών (CGG) στο 5' άκρο η οποία οδηγεί σε υπερμεθυλίωση και αναστολή της έκφρασης του γονιδίου με αποτέλεσμα να μην παράγεται η πρωτεΐνη FMRP. Στη μειοψηφία των περιπτώσεων η εκδήλωση του συνδρόμου μπορεί να οφείλεται σε κάποιες παραλλαγές όπως κάποια SNPs ή κάποια μεγάλα CNVs. Η πρωτεΐνη FMRP προσδένεται επιλεκτικά σε συγκεκριμένα μόρια mRNA και επηρεάζει την μετάφραση τους. Η απουσία της FMRP φαίνεται να επηρεάζει κυρίως τους δενδρίτες των νευρώνων και έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία μη φυσιολογικών δενδριτικών διακλαδώσεων με επακόλουθες ανωμαλίες στο σχηματισμό και τη λειτουργία των νευρικών συνάψεων στον εγκέφαλο ασθενών με FXS.

Η συχνότητα είναι στα αγόρια περίπου 1:7000 και στα κορίτσια 1:11000 περίπου . Οι ασθενείς παρουσιάζουν νοητική υστέρηση και μπορεί επίσης να παρουσιάζουν υπερκινητικότητα, καθυστερημένη ομιλία και κάποια διακριτά στοιχεία στην

εξωτερική τους εμφάνιση όπως μεγάλο μέτωπο και αυτιά και μεγάλους όρχεις στους έφηβους και ενήλικους άντρες (Hunter et al., 2014).

### 2.5.3 Οζώδης Σκλήρυνση

Είναι μία γενετική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό πολλαπλών καλοήθων όγκων (όζων) στον εγκέφαλο και σε άλλα όργανα όπως στα νεφρά, στους πνεύμονες, στα μάτια και στο δέρμα. Σύμφωνα με μία μεταάναλυση των Richards et al. περίπου το 36% των ασθενών με Οζώδη Σκλήρυνση εμφανίζει ΔΑΦ (Richards et al., 2015). Υπεύθυνες για τη νόσο αυτή είναι αλλαγές σε ένα από τα ογκοκατασταλτικά γονίδια TSC1 ή TSC2 που εδράζονται στα 9q34 και 16p13.3 αντίστοιχα. Οι αλλαγές στο γονίδιο TSC2 φαίνεται να συνδέονται με την εκδήλωση βαρύτερων συμπτωμάτων. Το TSC1 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη αμαρτίνη και το TSC2 την τουμπερίνη. Αυτές οι δύο πρωτεΐνες μαζί ελέγχουν ανασταλτικά το MTORC1 που αποτελεί το κεντρικό σύμπλοκο του σηματοδοτικού μονοπατιού mTOR το οποίο ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των κυττάρων.

Η επίπτωση της νόσου εκτιμάται ότι είναι περίπου 1: 5800 γεννήσεις. Η κλινική εικόνα μπορεί να διαφέρει αρκετά μεταξύ των ασθενών καθώς η νόσος συνδέεται με διάφορα συμπτώματα ποικίλης βαρύτητας . Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται κάποια διαγνωστικά κριτήρια που διακρίνονται σε μείζονα και σε Ελάσσονα. Στα Μείζονα περιλαμβάνονται: 1) οι υπομελανωτικές κηλίδες ( $\geq 3$ ,  $\geq 5$  mm σε διάμετρο), τα 2) αγγειοϊνώματα ( $\geq 3$ ) 3) Ινώματα ουλίτιδας ( $\geq 2$ ) 4) το επίθεμα Shagreen 5) τα πολλαπλά αμφιβληστροειδικά αμαρτώματα 6) η φλοιώδης δυσπλασία 7) οι υποεπενδυματικοί όζοι 8) το υποεπενδυματικό γιγαντοκυτταρικό αστροκύτωμα 9) το καρδιακό ραβδοκύτωμα 10) η λεμφαγγειολεϊομυωμάτωση 11) τα αγγειομυολιπώματα ( $\geq 2$ ). Στα Ελάσσονα περιλαμβάνονται : 1) οι δερματικές



βλάβες «Κομφετί» 2) οι κοκκίδες οδοντικής αδαμαντίνης (> 3) 3) τα ενδοστοματικά ινώματα ( $\geq 2$ ) 4) το αχρωμικό έμπλαστρο αμφιβληστροειδούς 5) οι πολλαπλές νεφρικές κύστες 6) τα μη νεφρικά αμαρτώματα ( Portocarrero et al., 2018, Feliciano 2020, Specchio et al., 2020).

#### 2.5.4 Σύνδρομο αμαρτωμάτων όγκων PTEN

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο PTEN εδράζεται στο χρωμόσωμα 10 στη θέση 10q23.31. Κωδικοποιεί μία φωσφατάση που έχει ρόλο αρνητικού ρυθμιστή στο μονοπάτι σηματοδότησης PI3K-Akt το οποίο ρυθμίζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Αλλαγές στο PTEN διαγιγνώσκονται περίπου στο 7% των ατόμων με ΔΑΦ και στο 20% των ατόμων με ΔΑΦ και μακροκεφαλία. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο PTEN ευθύνονται για ένα σύνολο συνδρόμων που ονομάζονται Σύνδρομο αμαρτωμάτων όγκων PTEN (PHTS) και χαρακτηρίζονται από την ανάπτυξη καλοήθων ή κακοήθων όγκων. Σε αυτά περιλαμβάνονται το σύνδρομο Cowden, το σύνδρομο Bannayan-Ruvalcaba-Riley και το σύνδρομο Proteus. Τα σύνδρομα αυτά κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο και οι ασθενείς έχουν αυξημένες πιθανότητες να εμφανίσουν κάποιους τύπους καρκίνου (μαστού, μήτρας, παχέος εντέρου, θυροειδούς κ.α) (Busch et al., 2019; Haddadi et al., 2020; Al-Dewik et al., 2020; Frazier et al., 2021; ).

#### 2.5.5 Νευροϊνωμάτωση τύπου 1

Η νευροϊνωμάτωση τύπου 1 κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή και οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο NF1 που κωδικοποιεί την νευροϊνωμίνη. Η πρωτεΐνη αυτή ρυθμίζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Μεταλλάξεις στο NF1 οδηγούν σε απορρύθμιση του μονοπατιού Ras-MAPK όπως και της mTOR σηματοδότησης, που

και τα δύο έχουν συνδεθεί με τη ΔΑΦ (Pinto et al., 2014; Sato et al., 2016). Περίπου στο 50% των περιπτώσεων οι μεταλλάξεις εμφανίζονται de novo και οι περισσότερες από αυτές προέρχονται από τον πατέρα (Dubon et al., 2016). Το ποσοστό των παιδιών με νευροϊνωμάτωση τύπου 1 που εμφανίζουν ΔΑΦ είναι περίπου 11% (Eilk et al., 2018).

Η NF1 είναι μια διαταραχή που επηρεάζει πολλά συστήματα. Οι ασθενείς μπορεί να εμφανίζουν νευρολογικά, μυοσκελετικά, οφθαλμολογικά και δερματολογικά προβλήματα καθώς και προδιάθεση για νεοπλασία. Κάποια από το ποια συνήθη συμπτώματα τα οποία χρησιμοποιούνται και ως κριτήρια για να γίνει η διάγνωση είναι : α) οι café au lait κηλίδες στο δέρμα β) οι εφηλίδες στην μασχालαία ή βουβωνική χώρα γ) τα νευροινώματα δ) το γλοιώμα οπτικού νεύρου ε) τα οζίδια του Lisch στ) χαρακτηριστικός οστικός φαινότυπος ζ) η ύπαρξη ενός συγγενή πρώτου βαθμού με νευροϊνωμάτωση (Bikowska-Oralach & Jackowska, 2013). Η επίπτωση της NF1 είναι περίπου 1/2000 γεννήσεις (Pezzani and Milani, 2020).

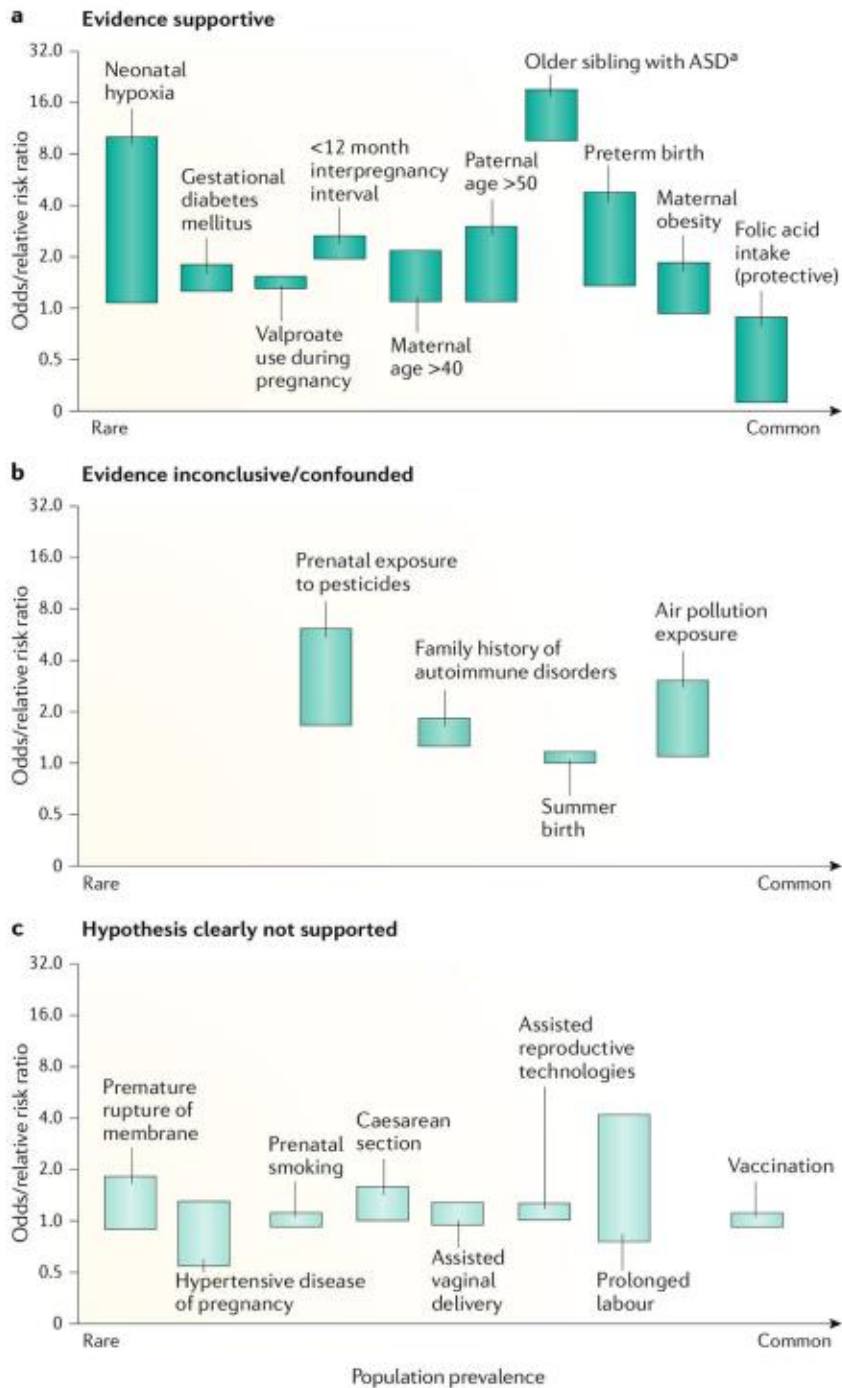
### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ

#### ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Όπως προαναφέρθηκε η αιτιολογία της ΔΑΦ δεν μπορεί να εξηγηθεί εξ'ολοκλήρου με βάση τους γενετικούς παράγοντες αλλά φαίνεται πως κάποιοι περιβαλλοντικοί παράγοντες συνεισφέρουν επίσης. Διάφοροι παράγοντες έχουν προταθεί ότι μπορεί να συνδέονται με τον κίνδυνο εμφάνισης ΔΑΦ. Σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη των Modabbernia et al., πραγματοποιήθηκε μια συστηματική ανασκόπηση μετα-αναλύσεων και συστηματικών ανασκοπήσεων σχετικών με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για τον αυτισμό. Με βάση τα στοιχεία 32 μελετών που περιλαμβάνονται στην ανασκόπηση οι συγγραφείς διακρίνουν τους περιβαλλοντικούς παράγοντες σε τρεις κατηγορίες : α) αυτούς για τους οποίους υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν τη συσχέτιση με τη ΔΑΦ β) αυτούς με ασαφή αποδεικτικά στοιχεία γ) αυτούς χωρίς αποδεικτικά στοιχεία που να αποδεικνύουν συσχέτιση (Διάγραμμα 3) (Modabbernia et al., 2017; Lord et al., 2022) . Οι διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τους γενετικούς παράγοντες σε διάφορα επίπεδα. Κάποιες μελέτες συνδέουν την έκθεση της μητέρας κατά την εγκυμοσύνη σε οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα με την εμφάνιση αυτισμού στους απογόνους (Shelton et al., 2014; von Ehrenstein et al., 2019). Η παραοξονάση 1 (PON1) καταλύει την υδρόλυση οργανοφωσφορικών. Τα αποτελέσματα μιας συστηματικής ανασκόπησης των Rossignol et al. έδειξαν ότι κάποια SNVs στο γονίδιο PON που σχετίζονταν με μειωμένη δραστηριότητα της PON1 και άρα αυξημένη ευαισθησία στα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα, εντοπιζόνταν με μεγαλύτερη συχνότητα στα άτομα με ΔΑΦ σε σύγκριση με τους μάρτυρες (Rossignol et al., 2014). Άλλος ένας παράγοντας που έχει βρεθεί να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΔΑΦ στους απογόνους είναι ο

σακχαρώδης διαβήτης τόσο στην περίπτωση που η μητέρα πάσχει από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 ή 2 πριν την εγκυμοσύνη όσο και στην περίπτωση που εμφανίζει διαβήτη κύησης. Τα αποτελέσματα μιας μεγάλης επιδημιολογικής μελέτης έδειξαν θετική συσχέτιση του σακχαρώδη διαβήτη στις εγκυμονούσες και της εκδήλωσης ΔΑΦ στους απογόνους (Nahum Sacks et al., 2016). Ακόμη, μία πρόσφατη μελέτη μεταανάλυσης έδειξε ότι οι μητέρες που είχαν διαβήτη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είχαν 62% μεγαλύτερο κίνδυνο απόκτησης απογόνων με ΔΑΦ σε σχέση με τις μη διαβητικές μητέρες (Wan et al., 2018). Τα αποτελέσματα της μελέτης των Wang et al. που προέκυψαν από ένα σύνολο πειραμάτων σε νευρικά κύτταρα *in vitro* και σε ζωικά μοντέλα αρουραίους *in vivo* έδειξαν ότι ένας πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου ο διαβήτης οδηγεί στην εκδήλωση ΔΑΦ στους απογόνους είναι η καταστολή της έκφρασης της δισμουτάσης του υπεροξειδίου 2 (SOD2) στους απογόνους με αποτέλεσμα τη διατήρηση κατάστασης οξειδωτικού στρες. Η SOD2 καταλύει τη μετατροπή της δραστηκής ρίζας του οξυγόνου ( $O_2^-$ ) προς υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ). Η υπεργλυκαιμία λόγω του διαβήτη στη μητέρα οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ROS και σε μία κατάσταση οξειδωτικού stress στο μικροπεριβάλλον του εμβρύου. Οι Wang et al. παρατήρησαν ότι το οξειδωτικό στρες επάγει επιγενετικές αλλαγές και συγκεκριμένα μεθυλίωση ιστονών που επηρεάζει την ικανότητα πρόσδεσης του μεταγραφικού παράγοντα Erg1 (Early growth response 1) στον υποκινητή του SOD2 με αποτέλεσμα την καταστολή της έκφρασης του. Έτσι διατηρούνται τα υψηλά επίπεδα ROS και τελικά το οξειδωτικό στρες μπορεί να οδηγήσει στην καταστροφή των νευρώνων (Wang et al., 2019). Ακόμη, ένα μεγάλο πλήθος επιδημιολογικών μελετών δείχνει ότι η μεγαλύτερη ηλικία του πατέρα σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΔΑΦ στους απογόνους. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης των Buizer-Voskamp et al. οι μεγαλύτερης ηλικίας άνδρες

(>45 ετών) έχουν 3,3 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκτήσουν παιδί με αυτισμό σε σχέση με τους νεότερους άνδρες (<20) (Buizer- Voskamp et al., 2011). Μία μεταανάλυση 27 μελετών έδειξε ότι αύξηση της ηλικίας του πατέρα κατά 10 χρόνια σχετίζεται με 21% υψηλότερο κίνδυνο αυτισμού στους απογόνους ( Wu et al., 2017). Η αύξηση των de-novo μεταλλάξεων στα σπερματοζωάρια με την αύξηση της ηλικίας είναι ένας από τους παράγοντες που μπορούν να εξηγήσουν την αύξηση της ΔΑΦ στους απογόνους των μεγαλύτερων ανδρών. Όπως προαναφέρθηκε σε πολλές περιπτώσεις η εκδήλωση της ΔΑΦ οφείλεται σε de novo μεταλλάξεις. Μάλιστα μία ανάλυση 2500 οικογένειες με ένα άτομο με ΔΑΦ (simplex families) έδειξε ότι η πλειοψηφία (3:1) των de novo μη νοηματικών μεταλλάξεων, μεταλλάξεων αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης και στις θέσεις ματίσματος ήταν πατρικής προέλευσης (Iossifon et al., 2014). Έχει υποστηριχθεί ότι στα άτομα με ΔΑΦ οι de novo μεταλλάξεις που εντοπίζονται και συνδέονται με την αυξημένη ηλικία του πατέρα είναι κυρίως SNVs (Lee et al., 2015). Τα σπερματογόνια από την εφηβεία και μετά διαιρούνται κάθε 16 μέρες. Έτσι υπολογίζεται ότι σε έναν άντρα ηλικίας 20 ετών τα χρωμοσώματα έχουν αντιγραφεί 120 φορές σε έναν άνδρα ηλικίας 50 ετών έχουν αντιγραφεί 840 φορές (Crow et al., 2000) . Έτσι με την αύξηση της ηλικίας αυξάνεται και η πιθανότητα να συμβεί κάποιο λάθος κατά τη αντιγραφή που θα οδηγήσει σε de novo μετάλλαξη. Η κατάσταση αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι με την αύξηση της ηλικίας επηρεάζονται οι μηχανισμοί αντιγραφής και επιδιόρθωσης του DNA (Lee et al., 2015).



**Διάγραμμα 4** Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για αυτισμό ( Lord et al., 2020)

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΤΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΑΦ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΔΥΟ ΦΥΛΑ

Η συχνότητα εμφάνισης της ΔΑΦ είναι υψηλότερη στα αρσενικά σε σχέση με τα θηλυκά άτομα (4 : 1) (Baio et al., 2018). Η διαφορά αυτή δεν έχει εξηγηθεί ακόμα πλήρως. Μερικές μελέτες υποστηρίζουν ότι η διαφορετική εκδήλωση των συμπτωμάτων ανάμεσα στα δύο φύλα ίσως οδηγεί σε υποδιάγνωση των θηλυκών ατόμων διότι τα θηλυκά μπορεί να εμφανίζουν περισσότερο εσωτερικευμένα προβλήματα (πχ. κατάθλιψη) σε αντίθεση με τα αρσενικά άτομα που συχνά εμφανίζουν πιο εξωτερικευμένα προβλήματα συμπεριφοράς (πχ. επιθετική συμπεριφορά) ( Werling and Geschwind, 2013) . Αν και ο παράγοντας αυτός μπορεί να παίζει ρόλο στα ποσοστά διάγνωσης πολλές μελέτες υποστηρίζουν ότι υπάρχει πραγματική διαφορά στην εκδήλωση της διαταραχής στα δύο φύλα και υπάρχουν και γενετικοί παράγοντες που φαίνεται πως παίζουν ρόλο. Τα θηλυκά άτομα που πληρούν το διαγνωστικό όριο της ΔΑΦ έχουν υψηλότερο φορτίο μεταλλάξεων σε σχέση με τα αρσενικά άτομα που πληρούν το διαγνωστικό όριο. Επίσης οι συγγενείς των θηλυκών ατόμων με ΔΑΦ έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εκδηλώσουν και αυτοί την διαταραχή σε σχέση με τους συγγενείς των αρσενικών ατόμων με ΔΑΦ. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται από μελέτες σε μεγάλα δείγματα ατόμων με ΔΑΦ , στις οποίες παρατηρήθηκαν μεγαλύτερα ποσοστά *de novo* ελλειμάτων στα θηλυκά σε σχέση με τα αρσενικά άτομα με ΔΑΦ. Επίσης στα CNVs που ανιχνεύθηκαν στα θηλυκά άτομα υπήρχαν περισσότερα γονίδια σε σχέση με τα CNVs που ανιχνεύθηκαν στα αρσενικά άτομα ( Sanders et al., 2011; Sanders et al., 2015). Στα θηλυκά άτομα με ΔΑΦ παρατηρούνται επίσης περισσότερα σε αριθμό CNVs και SNVs αλλά και μεγαλύτερα σε μέγεθος CNVs σε σύγκριση με τα αρσενικά (Jaquemont et al., 2014; Desachy et al., 2015). Παράλληλα τα δεδομένα κάποιων μελετών έδειξαν ότι ο κίνδυνος εκδήλωσης αυτισμού σε ένα άτομο ήταν

μεγαλύτερος όταν τουλάχιστον ένα από τα νοσούντα αδέρφια του ήταν θηλυκό. Επίσης οικογένειες με δύο ή περισσότερα κορίτσια με σοβαρή μορφή αυτισμού έχουν εξαιρετικά υψηλά ποσοστά επανεμφάνισης ΔΑΦ (Werling et al., 2015; Palmer et al., 2017).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΔΑΦ

### 5.1 ΟΡΙΣΜΟΙ

#### **Χρωμοσωμικές ατυπίες**

Οι χρωμοσωμικές ατυπίες είναι αποκλίσεις είτε από τον τυπικό αριθμό (αριθμητικές) είτε από την τυπική μορφή των χρωμοσωμάτων (δομικές). Οι αριθμητικές ατυπίες ή αλλιώς ανευπλοειδίες χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός ή περισσότερων επιπλέον χρωμοσωμάτων ή την απουσία ενός χρωμοσώματος. Στις δομικές χρωμοσωμικές ατυπίες, ένα τμήμα του χρωμοσώματος είτε διπλασιάζεται (διπλασιασμός), είτε απουσιάζει εντελώς (έλλειμμα), είτε ανταλλάσσεται με ένα άλλο τμήμα ενός διαφορετικού χρωμοσώματος (μετάθεση). Τέλος σε κάποιες περιπτώσεις ένα τμήμα του χρωμοσώματος αναστρέφεται μέσα στο ίδιο χρωμόσωμα (αναστροφή). Μελέτες σε άτομα με ΔΑΦ στα οποία εφαρμόστηκε κλασική καρυοτύπηση αποκάλυψαν χρωμοσωμικές ατυπίες σε 2-5% των ατόμων αυτών (Devlin and Scherer, 2012 ; Lin and Takumi, 2014). Η πιο συχνή χρωμοσωμική ατυπία που ανιχνεύεται στο 1-3% των ατόμων με ΔΑΦ είναι ο διπλασιασμός του 15q11q13 (Hogarts et al.,2010). Σε αυτή τη χρωμοσωμική περιοχή εδράζονται πολλά γονίδια που παίζουν ρόλο σε σημαντικές λειτουργίες του εγκεφάλου και έχουν συνδεθεί με τον αυτισμό όπως τα GABRA5 και GABRB3, το UBE3A, το HERC2 και το SNRPN ( Wiśniewiecka-Kowalnik and Nowakowska, 2018).



## Πολυμορφισμοί

Πολυμορφισμοί ή γενετικές παραλλαγές είναι οι διαφορετικοί γονότυποι σε ένα συγκεκριμένο γονιδιακό τόπο που έχει δύο ή περισσότερα αλληλόμορφα το λιγότερο συχνό από τα οποία έχει συχνότητα μεγαλύτερη από 1% στον πληθυσμό.

### Είδη πολυμορφισμών

Οι πολυμορφισμοί μπορούν να διακριθούν με βάση πολλές παραμέτρους όπως είναι το μέγεθος τους στο γονιδίωμα, η συχνότητα εμφάνισης τους στον πληθυσμό, η σύνδεση τους με κάποια παθολογία κ.α

Όσον αφορά το μέγεθος υπάρχουν οι εξής τύποι πολυμορφισμών :

**A) Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs /Single Nucleotide Variants, SNVs) :** Είναι αλλαγές σε ένα μόνο νουκλεοτίδιο και αποτελούν τον συχνότερο τύπο πολυμορφισμών

**B) Παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (Copy number variants, CNVs) :** Πρόκειται για τμήματα DNA που βρίσκονται σε συγκεκριμένο αριθμό αντιγράφων σε μια γονιδιακή περιοχή και ο αριθμός των αντιγράφων αυτών διαφέρει μεταξύ των ατόμων. Τα CNVs μπορεί να είναι είτε διπλασιασμοί είτε ελλείμματα των τμημάτων αυτών και έχουν μέγεθος από 50bp έως λίγα Mb (MacDonald et al., 2014; Pös et al., 2021).

**Γ) Πολυμορφισμοί ελλείματος-ένθεσης (Insertion/deletion, Indels) :** Είναι τμήματα DNA μικρότερα των 1Kb τα οποία είτε λείπουν είτε προστίθενται. (Sehn, 2015)

**Δ) Βραχείες διαδοχικές επαναλήψεις (Short tandem repeats, STRs) :** Είναι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες μήκους 2-6 bp και τα διάφορα άτομα έχουν διαφορετικό αριθμό των επαναλήψεων αυτών. (Wyner et al., 2020 )

**Ε) Ποικίλου αριθμού διαδοχικές επαναλήψεις ( Variable number tandem repeats, VNTRs) :** Είναι μικρές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες 10 έως 100 bp που επαναλαμβάνονται διαδοχικά από 2 μέχρι εκατοντάδες φορές.

Οι πολυμορφισμοί μπορούν να διακριθούν επίσης με βάση την συχνότητα εμφάνισης τους στο γενικό πληθυσμό. Έτσι μία γενετική παραλλαγή μπορεί να είναι πολύ συχνή έως και πολύ σπάνια. Κάποιες παραλλαγές μπορεί να ανιχνεύονται για πρώτη φορά σε ένα άτομο και να μην είναι καταγεγραμμένες σε κάποια βάση δεδομένων. Αυτές οι παραλλαγές αναφέρονται ως “novel” (Kreiman and Boles, 2020)

Άλλη μία παράμετρος που χρησιμοποιείται για την διάκριση των παραλλαγών είναι η σύνδεσή τους με κάποιο παθολογικό φαινότυπο. Σύμφωνα με την κλίμακα διάκρισης του American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) οι διάφορες παραλλαγές χαρακτηρίζονται ως «καλοήθεις» (benign) , «πιθανώς καλοήθεις» (likely benign) , «πιθανώς παθογόνες» (likely pathogenic), «παθογόνες» (pathogenic) και «Αβέβαιης Σημαντικότητας» (VUS, Variant of uncertain significance) (Kreiman and Boles, 2020).

## 5.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

Το American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) προτείνει ότι σε όλα τα άτομα με διαγνωσμένο αυτισμό θα πρέπει να γίνεται γενετικός έλεγχος και σε άτομα με συγκεκριμένες κλινικές ενδείξεις να εφαρμόζονται στοχευμένες τεχνικές γενετικής διάγνωσης. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του ACMG συνιστάται η εφαρμογή CMA σε όλους τους ασθενείς με ΔΑΦ και εξέταση για το σύνδρομο Εύθραυστου Χ σε όλα τα αρσενικά άτομα με ΔΑΦ. Επισημαίνεται

ωστόσο ότι κάθε ασθενής θα πρέπει να αξιολογείται προσεκτικά όσον αφορά την κλινική εικόνα καθώς και το οικογενειακό ιστορικό ώστε να επιλεγεί η κατάλληλη προσέγγιση για τη διάγνωση (Shaafer et al., 2013; Harris et al., 2020; Stafford et al., 2022). Με βάση τις διάφορες μελέτες, παθολογικό εύρημα εντοπίζεται στο 9-10% των ασθενών με ΔΑΦ που εφαρμόζεται CMA (Shaafer et al., 2013; Harris et al., 2020) , στο 16-27,2% των ασθενών που εφαρμόζεται WES ( Srivastava et al., 2019; Stefanski et al., 2021) και στο 11.2-21.1% των ασθενών που εφαρμόζεται WGS (Yuen et al., 2017; Guo et al., 2019). Ωστόσο, παρά τη διαγνωστική απόδοση των τεχνικών αυτών φαίνεται ότι στην κλινική πράξη ένα πολύ μικρό ποσοστό των ασθενών με ΔΑΦ υποβάλλεται σε γενετικό έλεγχο. Στη μελέτη των Zhao et al. στις ΗΠΑ αναφέρεται ότι μόνο το 22.5% των παιδιών με ΔΑΦ που συμμετείχαν στην μελέτη είχαν υποβληθεί σε γενετικό έλεγχο (Zhao et al.,2019). Τα αποτελέσματα μιας άλλης μελέτης με 1280 συμμετέχοντες έδειξαν ότι γενετικός έλεγχος είχε πραγματοποιηθεί σε ένα εξαιρετικά μικρό ποσοστό (περίπου 3%) των ασθενών αυτών (Moreno-de-Luca et al., 2020). Ένας από τους πιθανούς λόγους που μπορεί να εξηγήσει τα μικρά αυτά ποσοστά είναι το υψηλό κόστος των γενετικών εξετάσεων καθώς σε πολλές περιπτώσεις δεν καλύπτονται οι εξετάσεις αυτές από την ασφάλεια. Ένας ακόμη λόγος είναι η δυσπιστία των ατόμων για την κλινική χρησιμότητα των αποτελεσμάτων του γενετικού ελέγχου. Μία έρευνα του 2021 έδειξε ότι από τα άτομα που αρνήθηκαν την διενέργεια γενετικού ελέγχου, το 50% το απέρριψαν διότι πίστευαν είτε ότι ο γενετικός έλεγχος δεν θα έχει κάποια χρησιμότητα όσον αφορά την κλινική αντιμετώπιση-θεραπεία της νόσου είτε θεωρούσαν ότι είναι απλά για πειραματικούς ή διερευνητικούς σκοπούς (Smith et al., 2021).

Διάφορες μελέτες διαψεύδουν τους παραπάνω ενδοιασμούς σχετικά με τη χρησιμότητα του γενετικού ελέγχου στην κλινική πράξη και δείχνουν τα οφέλη που μπορεί να έχει η διάγνωση ενός συγκεκριμένου παθολογικού γενετικού ευρήματος σε έναν ασθενή με ΔΑΦ. Μία μελέτη των Harris et al. έδειξε ότι από τους ασθενείς στους οποίους είχε βρεθεί κάποιο παθολογικό εύρημα στο CMA ή στη δοκιμασία Εύθραυστου Χ, το 72% έλαβε ιατρικές συστάσεις που βασίζονταν στο συγκεκριμένο αποτέλεσμα (Harris et al., 2020). Οι Kreiman και Boles σε μία έρευνά τους το 2020 περιγράφουν πέντε περιπτώσιολογικές μελέτες (case studies) ασθενών με ΔΑΦ στους οποίους είχε βρεθεί σχετική με τη νόσο μετάλλαξη. Φαίνεται ότι ο γενετικός έλεγχος επηρέασε άμεσα τη διαχείριση τους από τους κλινικούς γιατρούς και οδήγησε στην βελτίωση των διαφόρων συμπτωμάτων. Σε τρεις από τις πέντε περιπτώσεις (ασθενής με μια μετάλλαξη TRAP1 που του δόθηκε γρανισετρόνη, ένας ασθενής με μετάλλαξη CHAT που έλαβε δονεπεζίλη, και σε έναν ασθενή με μετάλλαξη SLC6A8 που δόθηκε κυκλοκρεατίνη), υπήρξε σημαντική βελτίωση σε συμπτώματα που σχετίζονται με τη ΔΑΦ. Στις υπόλοιπες δύο περιπτώσεις, οι ασθενείς παρουσίασαν βελτίωση στα γενικά σωματικά τους συμπτώματα. Ένας ασθενής με μετάλλαξη GLS2 που έλαβε ακετογλουταρικό είχε αρκετά μειωμένο πόνο και κόπωση και ένας ασθενής με μετάλλαξη AANAT που έλαβε μελατονίνη είδε ομαλοποίηση στη διαταραχή του ύπνου ( Kreiman and Boles, 2020).

Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες του American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) το πρώτο βήμα στην κλινική πράξη για τη διερεύνηση της γενετικής αιτιολογίας σε ένα άτομο με ΔΑΦ είναι η σωστή αξιολόγηση της κλινικής εικόνας του ασθενούς προκειμένου να διαπιστωθεί αν ο φαινότυπός του παραπέμπει σε κάποιο γνωστό σύνδρομο που σχετίζεται με τη ΔΑΦ. Ιδιαίτερα σημαντικό βήμα είναι επίσης η διερεύνηση του οικογενειακού ιστορικού του

ασθενούς. Στην περίπτωση που υπάρχουν φαινοτυπικά χαρακτηριστικά κάποιου συνδρόμου πραγματοποιείται γενετικός έλεγχος κατάλληλος για το εκάστοτε σύνδρομο. Στην περίπτωση που δεν υπάρχει εξαρχής η υποψία κάποιου άλλου γνωστού συνδρόμου προτείνεται η εξέταση για το σύνδρομο Εύθραυστου Χ σε όλα τα αρσενικά άτομα ακόμα και αν δεν εμφανίζουν αντίστοιχα κλινικά χαρακτηριστικά και σε όλα τα θηλυκά άτομα που είτε έχουν κλινικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου είτε έχουν κάποιο ιστορικό FXS. Επίσης σε όλα τα θηλυκά άτομα με ΔΑΦ και νοητική υστέρηση προτείνεται να πραγματοποιείται έλεγχος για το σύνδρομο Rett, συνήθως μέσω αλληλούχισης του γονιδίου MECP2. Ακόμη, τα άτομα με ΔΑΦ και μακροκεφαλία προτείνεται να εξετάζονται για μεταλλάξεις του γονιδίου PTEN που είναι υπεύθυνες για το Σύνδρομο αμαρτωμάτων όγκων. Το ACMG προτείνει επίσης την εφαρμογή CMA σε όλα τα άτομα με ΔΑΦ ως πρώτης-επιλογής μέθοδο για τη γενετική διάγνωση (Shaafer et al., 2013; Wiśniowiecka-Kowalnik, & Nowakowska, 2019; Harris et al., 2020; Stafford et al., 2022)

### **Καρυότυπος**

Αποτελεί μία κλασική κυτταρογενετική τεχνική και επιτρέπει την ανίχνευση αριθμητικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών ή δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών μεγέθους > 7Mb. Η μέθοδος αυτή έχει αντικατασταθεί από τις σύγχρονες διαγνωστικές μεθόδους όπως είναι οι μικροσυστοιχίες και η NGS. Ωστόσο, ενδείκνυται στη διάγνωση της ΔΑΦ στην περίπτωση ισοζυγισμένων μεταθέσεων και χαμηλού βαθμού μωσαϊσμού.

### **Φθορίζων in situ υβριδισμός (FISH)**

Η τεχνική αυτή βασίζεται στον υβριδισμό DNA ανιχνευτών (probes) οι οποίοι είναι συμπληρωματικοί προς την αλληλουχία-στόχο που επιθυμούμε να ανιχνεύσουμε.

Οι ανιχνευτές είναι σημασμένοι με φθορίζουσες ουσίες και είναι ορατοί στο φθορίζον μικροσκόπιο επιτρέποντάς μας έτσι να διαπιστώσουμε την παρουσία ή την απουσία της αλληλουχίας-στόχου. Η FISH μπορεί να εφαρμοστεί και σε μεσοφασικούς πυρήνες. Χρησιμοποιείται συχνά για την ανίχνευση μικροελλειμάτων ή μικροδιπλασιασμών (<4Mb). Στην περίπτωση της ΔΑΦ θα μπορούσε να εφαρμοστεί όταν υπάρχει σοβαρή υποψία για παρουσία κάποιου γνωστού μικροελλείματος ή μικροδιπλασιασμού όπως για παράδειγμα σε άτομα με κλινικά χαρακτηριστικά γνωστών συνδρόμων (πχ. Di George, Prader-Willi-Angelman) καθώς είναι πολύ λιγότερο χρονοβόρα και πιο οικονομική σε σχέση με τις άλλες μεθόδους (Michelson et al., 2020).

#### **CMA (Chromosomal Microarray Analysis)**

Η ανάλυση αυτή γίνεται με τη χρήση μικροσυστοιχιών συγκριτικού γενωμικού Υβριδισμού (arrayCGH) ή μικροσυστοιχιών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNP arrays) ή και τα δυο μαζί (CGH+SNP). Οι δύο αυτοί τύποι μικροσυστοιχιών βασίζονται στην υβριδοποίηση ανιχνευτών-κλώνων στις περιοχές στόχους.

Οι μικροσυστοιχίες array-CGH έχουν ως ανιχνευτές ολιγονουκλεοτίδια και επιτρέπουν την ποσοτικοποίηση αλλαγών στον αριθμό DNA αντιγράφων (CNVs). Η μέθοδος αυτή έχει 10-1000 φορές μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα από τον συμβατικό καρυότυπο. Με την τεχνική αυτή δεν μπορούν να ανιχνευθούν αναστροφές και ισοζυγισμένες μεταθέσεις καθώς και χαμηλού βαθμού μωσαϊκισμός. Οι μικροσυστοιχίες SNP arrays χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs). Τα SNP arrays είναι πιο ευαίσθητα από τα aCGH στην ανίχνευση χαμηλού βαθμού μωσαϊκισμού. Μπορούν εκτός από αλλαγές στον αριθμό των αντιγράφων να ανιχνεύσουν και περιοχές

απώλειας ετεροζυγωτίας που υπάρχει για παράδειγμα στην περίπτωση μονογονικής δισωμίας ή συγγένειας (Michelson et al., 2020)

Με βάση τις οδηγίες του American College of Medical Genetics , η CMA θα πρέπει να αποτελεί το πρώτο βήμα στη γενετική διάγνωση των ασθενών με ΔΑΦ (Schaefer, 2016). Σε μία μελέτη των Tammimies et al. ανιχνεύθηκε κάποιο εύρημα που συνδέεται με τη ΔΑΦ στο 9,3% των ατόμων που εφαρμόστηκε CMA (Tammimies et al., 2015). Η μελέτη των Lee et al. σε 80 ασθενείς με ΔΑΦ στην Ταϊβάν έδειξε ότι η μέθοδος array-CGH είχε διαγνωστική ισχύ 33,8% και οι ερευνητές προτείνουν την κλινική εφαρμογή των array-CGH ως πρώτης-επιλογής μέθοδο για τη γενετική διάγνωση της ΔΑΦ στον πληθυσμό αυτό (Lee et al., 2021).

#### **ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΙΑΣ (NGS)**

Ο όρος αλληλούχιση επόμενης γενιάς αναφέρεται στο σύνολο των τεχνολογιών προσδιορισμού αλληλουχιών που επιτρέπουν την μαζική παράλληλη αλληλούχιση πολλών τμημάτων DNA ή RNA στον ίδιο χρόνο. Χαρακτηρίζονται από πολύ υψηλότερη ακρίβεια σε σχέση με τις παλαιότερες μεθόδους και επιτρέπουν την ταυτόχρονη αλληλούχιση πολλών δειγμάτων σε μικρό χρονικό διάστημα και με χαμηλότερο κόστος .

Τα σύγχρονα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η NGS είναι καταλληλότερη από τα CMAs για τη διάγνωση των νευροαναπτυξιακών διαταραχών (Lee et al., 2018; Lindstrand et al., 2019; Jang et al., 2019). Μια πρόσφατη μελέτη μετα-ανάλυσης στην οποία διερευνάται η διαγνωστική ισχύς της NGS στη διάγνωση νευροαναπτυξιακών διαταραχών έδειξε ότι στην περίπτωση της ΔΑΦ η διαγνωστική ισχύς ήταν 17,1% (Stefanski et al., 2021).

Υπάρχουν διαφορετικές τεχνικές NGS ανάλογα με τα τμήματα που θέλουμε να αναλύσουμε :

➤ **Αλληλούχιση εξώματος (WES)**

Με τη μέθοδο αυτή αλληλουχείται το έξωμα, δηλαδή των σύνολο των εξωνίων που αντιστοιχεί περίπου το 1,5% του γονιδιώματος.

Η WES επιτρέπει τον αποτελεσματικό εντοπισμό CNVs και SNVs, αλλά ορισμένα είδη αλλαγών όπως είναι οι επεκτάσεις επαναλαμβανόμενων τρινουκλεοτιδίων, τα μεγάλα ελλείμματα και ενθέσεις, οι δομικές παραλλαγές και οι ανευπλοειδίες δεν μπορούν να ανιχνευθούν με τη συγκεκριμένη μέθοδο. Στην περίπτωση αυτή ανάλογα με την κλινική εικόνα των ασθενών μπορούν να εφαρμοστούν άλλες μέθοδοι όπως καρυότυπος, FISH, τεστ FMR1, αλληλούχιση συγκεκριμένο γονίδιο και WGS (Bowling et al., 2017)

Οι Srivastava et al. προτείνουν την αλληλούχιση εξώματος ως πρώτης-επιλογής διαγνωστική εξέταση για άτομα με νευροαναπτυξιακές διαταραχές. Συγκεκριμένα για τη ΔΑΦ τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης τους δείχνουν ότι με τη μέθοδο αυτή ανιχνεύθηκε κάποιο παθολογικό εύρημα στο 16% των ασθενών με ΔΑΦ και στο 39% των ατόμων με νοητική υστέρηση ή/και ΔΑΦ (Srivastava et al., 2019). Οι Arteche-López et al. σε μία πρόσφατη μελέτη τους αξιολόγησαν την διαγνωστική ισχύ της WES, των CMAs και του τεστ FMR1 σε 343 ασθενείς με ΔΑΦ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το WES είχε τη μεγαλύτερη διαγνωστική ισχύ. Ο εντοπισμός των γενετικών αλλαγών που συνδέονται με τη διαταραχή έγινε με τη WES στο 75% των περιπτώσεων , με τις CMAs στο 20,4% των περιπτώσεων και με το τεστ FMR1 στο 4,5% των περιπτώσεων (Arteche-López et al., 2021).



➤ **Αλληλούχιση ολόκληρου γονιδιώματος (WGS)**

Η WGS καλύπτει τόσο τις κωδικοποιητικές όσο και τις μη κωδικοποιητικές περιοχές του γονιδιώματος . Επιτρέπει λοιπόν την ανίχνευση παραλλαγών και στις μη κωδικοποιητικές περιοχές, το οποίο δεν είναι εφικτό με την WES. Επίσης η WGS πραγματοποιεί πιο ομοιόμορφη κάλυψη σε όλο το γονιδίωμα επιτρέποντας μια πιο ενδελεχή ανάλυση περιοχών που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα την ικανότητα ανίχνευσης περισσότερων παραλλαγών στις κωδικοποιητικές περιοχές σε σχέση με την WES. Καθώς το κόστος της NGS μειώνεται όλο και περισσότερο φαίνεται πως η WGS θα αρχίσει να αντικαθιστά το WES ως μέθοδος ανίχνευσης γενετικών παραγόντων που συνδέονται με τη ΔΑΦ (Sanders et al., 2019).

Στη μελέτη των Yuen et al. στην οποία έγινε αλληλούχιση ολόκληρου γονιδιώματος οικογενειών με ΔΑΦ ( σε τετράδες: δύο τέκνα με ΔΑΦ και οι δύο γονείς τους) βρέθηκε κάποια σχετιζόμενη με ΔΑΦ μετάλλαξη στις 36 από τις 85 (42,4%) οικογένειες (Yuen et al., 2015).

➤ **Πάνελ επιλεγμένων γονιδίων (Targeted gene panels)**

Πραγματοποιείται αλληλούχιση επιλεγμένων γονιδίων που σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο φαινότυπο. Η μέθοδος αυτή είναι λιγότερο χρονοβόρα και κοστοβόρα από την αλληλούχιση ολόκληρου του εξώματος ή του γονιδιώματος καθώς ένα πάνελ για συγκεκριμένη ασθένεια τις περισσότερες φορές καλύπτει μερικές εκατοντάδες kilobases έως μερικά εκατομμύρια bp ( περίπου 0,5%-5% ενός εξώματος) . Ένα τέτοιο πάνελ περιλαμβάνει περίπου 50 έως 300 γονίδια. Ανάλογα βέβαια με τις ανάγκες τις εκάστοτε διαγνωστικής εφαρμογής ένα πάνελ μπορεί να σχεδιαστεί έτσι ώστε να περιλαμβάνει από λίγα (2-5) έως και κάποιες χιλιάδες γονίδια. Κάτι που είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την κλινική εφαρμογή της μεθόδου

είναι η μεγάλη βαθμού κάλυψη που επιτρέπει την ακριβή ανίχνευση των παραλλαγών που μπορεί να συνδέονται με την παθολογία. Επίσης, ανάμεσα στις τρεις NGS προσεγγίσεις η TGP έχει το χαμηλότερο ποσοστό ψευδώς-αρνητικών αποτελεσμάτων για συγκεκριμένες ομάδες γονιδίων κάποιων ασθενειών (Klein et al., 2017).

Μια ομάδα ερευνητών στην Κίνα χρησιμοποίησε ένα πάνελ αλληλούχισης 2742 γονιδίων που σχετίζονται με τη ΔΑΦ για τον γενετικό έλεγχο 573 ασθενών με ΔΑΦ. Στο 19,16% των ατόμων βρέθηκε κάποια σχετική με τη ΔΑΦ παραλλαγή. Το 13,89% των περιπτώσεων είχαν SNVs, το 4,4% είχαν CNVs και το 0,9% είχαν και SNVs και CNVs. Οι ερευνητές προτείνουν την αλληλούχιση σε πάνελ επιλεγμένων γονιδίων ως ένα αποτελεσματικό διαγνωστικό εργαλείο για τον αυτισμό (Hu et al., 2022). Σε μία άλλη μελέτη χρησιμοποιήθηκε πάνελ 358 γονιδίων (111 συνδρομικά και 247 μη συνδρομικά). Παθογόνες και πιθανώς παθογόνες παραλλαγές εντοπίστηκαν στο 9,5% των ατόμων (Zhou et al., 2019)

Παρά τις τεράστιες διαγνωστικές δυνατότητες που παρέχονται από την NGS υπάρχουν δυσκολίες και προκλήσεις όσον αφορά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Μία από αυτές τις δυσκολίες είναι οι παραλλαγές αβέβαιης σημασίας (VUS). Επίσης, οι παραλλαγές που ταυτοποιούνται και αναφέρονται ως πιθανώς σχετιζόμενες με μία ασθένεια συχνά ερμηνεύονται έτσι με βάση τη συχνότητα της παραλλαγής σε μεγάλης κλίμακας βάσεις δεδομένων μαζί με μοντέλα πρόβλεψης που λαμβάνουν υπόψη τον πιθανό αντίκτυπο της παραλλαγής στη λειτουργία του γονιδίου. Ωστόσο, κάποιες παραλλαγές που θεωρούνται σπάνιες με βάση δεδομένα μεγάλης κλίμακας μπορεί στην πραγματικότητα να είναι αρκετά κοινές σε συγκεκριμένες φυλετικές ομάδες (Manrai et al., 2016). Αυτό

μπορεί να οδηγήσει σε παρερμηνεία των αποτελεσμάτων καθώς παραλλαγές που αναφέρονται ως «δυσνητικά παθογόνες» μπορεί να είναι στην πραγματικότητα «καλοήθεις» όπως αποδεικνύεται από την συχνότητά τους σε υγιείς υποομάδες του πληθυσμού (Manrai et al., 2016; Kalsner et al., 2018).

### **Εξέταση για σύνδρομο Εύθραυστου Χ (FXS)**

Το σύνδρομο Εύθραυστου Χ όπως αναλύεται και παραπάνω αποτελεί πολύ συχνό μονογονιδιακό νόσημα στα άτομα με ΔΑΦ. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του ACMG θα πρέπει να πραγματοποιείται εξέταση για FXS σε όλα τα αρσενικά άτομα με ΔΑΦ ακόμα και αν δεν εμφανίζουν άλλα κλινικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου και στα θηλυκά άτομα που είτε εμφανίζουν κλινικά συμπτώματα είτε έχουν κάποιο οικογενειακό ιστορικό. Η εξέταση για το FXS πραγματοποιείται με PCR ή με τη μέθοδο του στυπώματος Southern. Με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) προσδιορίζεται ο αριθμός των επαναλήψεων CGG. Με τη μέθοδο του στυπώματος Southern προσδιορίζεται η κατάσταση μεθυλίωσης του FMR1. Ωστόσο, στην περίπτωση των ατόμων με FXS που το σύνδρομο δεν οφείλεται σε επέκταση των επαναλήψεων CGH αλλά σε κάποια σημειακή μετάλλαξη ή σε έλλειμμα στο γονίδιο FMR1, δεν είναι δυνατή η διάγνωση με τις παραπάνω μεθόδους. Στην περίπτωση αυτή ενδείκνυται η αλληλούχιση του γονιδίου FMR1 (Michelson et al., 2020).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΔΑΦ

Η ΔΑΦ όπως αναλύεται και παραπάνω χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια όσον αφορά την κλινική εικόνα αλλά και την βιολογική βάση της νόσου. Επίσης, τα συμπτώματα και η γενετική αρχιτεκτονική αλληλεπικαλύπτονται με άλλες νευροψυχιατρικές και αναπτυξιακές διαταραχές. Το ευρύ λοιπόν φάσμα της βαρύτητας των συμπτωμάτων, η συννοσηρότητα και η συσχέτιση με πολυάριθμα σπάνια γενετικά σύνδρομα και πολυάριθμες γενετικές αλλαγές δημιουργεί πολλές δυσκολίες και προκλήσεις στην ανεύρεση αποτελεσματικής θεραπείας και γι' αυτό μέχρι σήμερα η αντιμετώπιση του αυτισμού βασίζεται μόνο στην μείωση ή/και βελτίωση των συμπτωμάτων που εμφανίζουν τα άτομα αυτά. Υπάρχει ένα ευρύ φάσμα θεραπειών που εφαρμόζονται για την αντιμετώπιση της διαταραχής, στο οποίο περιλαμβάνονται φαρμακευτικές και μη φαρμακευτικές μέθοδοι.

### 6.1 ΜΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Οι μη φαρμακευτικές θεραπείες δείχνουν κάποια οφέλη στην βελτίωση της ποιότητας ζωής των ατόμων με ΔΑΦ και την ένταξη τους στο κοινωνικό σύνολο μέσω της καλλιέργειας των κοινωνικών τους δεξιοτήτων και της βελτίωσης κάποιων συμπεριφορικών προβλημάτων. Οι συμπεριφορικές-ψυχολογικές θεραπείες εφαρμόζονται ευρέως σε ασθενείς με ΔΑΦ που ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες του φάσματος και ενδείκνυνται ιδιαίτερα για μικρής ηλικίας παιδιά στα οποία φαίνεται να έχουν και μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και στα οποία η χορήγηση κάποιας φαρμακευτικής θεραπείας θέλει ιδιαίτερη προσοχή. Η μουσικοθεραπεία για παράδειγμα είναι μια μορφή ψυχολογικής θεραπείας που φαίνεται πως οδηγεί σε βελτίωση στην κοινωνική αλληλεπίδραση και στην λεκτική γλωσσική επικοινωνία. Μελέτες δείχνουν ότι η μουσικοθεραπεία κατά το πρώιμο αναπτυξιακό στάδιο μπορεί να επηρεάσει τις φλοιώδεις και υποφλοιώδεις

περιοχές του εγκεφάλου μεταβάλλοντας τις φλοιώδεις δομές και τις λειτουργίες σύνδεσης (Wang et al., 2023). Η γνωσιακή συμπεριφορική θεραπεία (CBT) φαίνεται πως έχει σημαντικά πλεονεκτήματα για τη θεραπεία βασικών συμπτωμάτων και συννοσηροτήτων της ΔΑΦ όπως το άγχος και η κατάθλιψη. Η κοινωνική συμπεριφορική θεραπεία (SBT) εστιάζει στην ανάπτυξη λειτουργικής ανεξαρτησίας στα άτομα με ΔΑΦ καλλιεργώντας τις επικοινωνιακές και συναισθηματικές τους δεξιότητες (Sharma et al., 2018). Μια άλλη προσέγγιση στην θεραπεία της ΔΑΦ είναι η μη επεμβατική διέγερση του εγκεφάλου (μέθοδοι TMS και tDCS). Με τις μεθόδους αυτές δημιουργείται τοπική διέγερση του φλοιού του εγκεφάλου η οποία υποστηρίζεται ότι επηρεάζει τη διεγερσιμότητα των κυττάρων του και τη συναπτική πλαστικότητα. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν βελτιώσεις στην κοινωνική συμπεριφορά και στη γνωστική λειτουργία σε ασθενείς με ΔΑΦ στους οποίους εφαρμόστηκε TMS ή tDCS (Ameis et al., 2020 ; Garcia-Gonzalez et al., 2021).

## 6.2 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Κυτταρικές θεραπείες με αιμοποιητικά και μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία πολλών νευρολογικών προβλημάτων. Στην περίπτωση της ΔΑΦ, η θεραπεία με αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα φαίνεται πως μπορεί να έχει κάποια θετικά αποτελέσματα (Sun et al., 2018). Ένα σύνολο δεδομένων διαφόρων μελετών υποδηλώνει την ύπαρξη φλεγμονής στο ΚΝΣ σε ασθενείς με ΔΑΦ. Σε δείγματα εγκεφάλου και εγκεφαλονωτιαίου υγρού ασθενών με ΔΑΦ έχει βρεθεί αυξημένη ενεργοποίηση της αστρογλοίας και της μικρογλοίας (Vargas et al., 2005). Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα δρουν τόσο στο έμφυτο όσο και στο επίκτητο ανοσοποιητικό σύστημα καταστέλλοντας τις προφλεγμονώδεις διαδικασίες μέσω της αναστολής του πολλαπλασιασμού και της κυτταροτοξικότητας των NK κυττάρων και της μείωσης της ενεργοποίησης και του

πολλαπλασιασμού των Β-κυττάρων. Επίσης τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα συμβάλλουν στην ρύθμιση ή και διόρθωση της συναπτικής λειτουργίας και της πλαστικότητας που συχνά όπως προαναφέρθηκε διαταράσσεται στην περίπτωση της ΔΑΦ ( Liu et al., 2019 ). Σε κλινικές δοκιμές θεραπείας με βλαστικά κύτταρα, τα παιδιά τα οποία υποβλήθηκαν σε ενδοφλέβια έγχυση αυτόλογου ομφαλοπλακουντιακού αίματος παρουσίασαν σημαντικές αλλαγές στην ηλεκτροεγκεφαλογραφία (EEG) καθώς και σημαντικές βελτιώσεις σε βασικά συμπτώματα της ΔΑΦ όπως για παράδειγμα οι κοινωνικές δεξιότητες (Dawson et al.,2017; Murias et al., 2018 ).

### 6.3 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

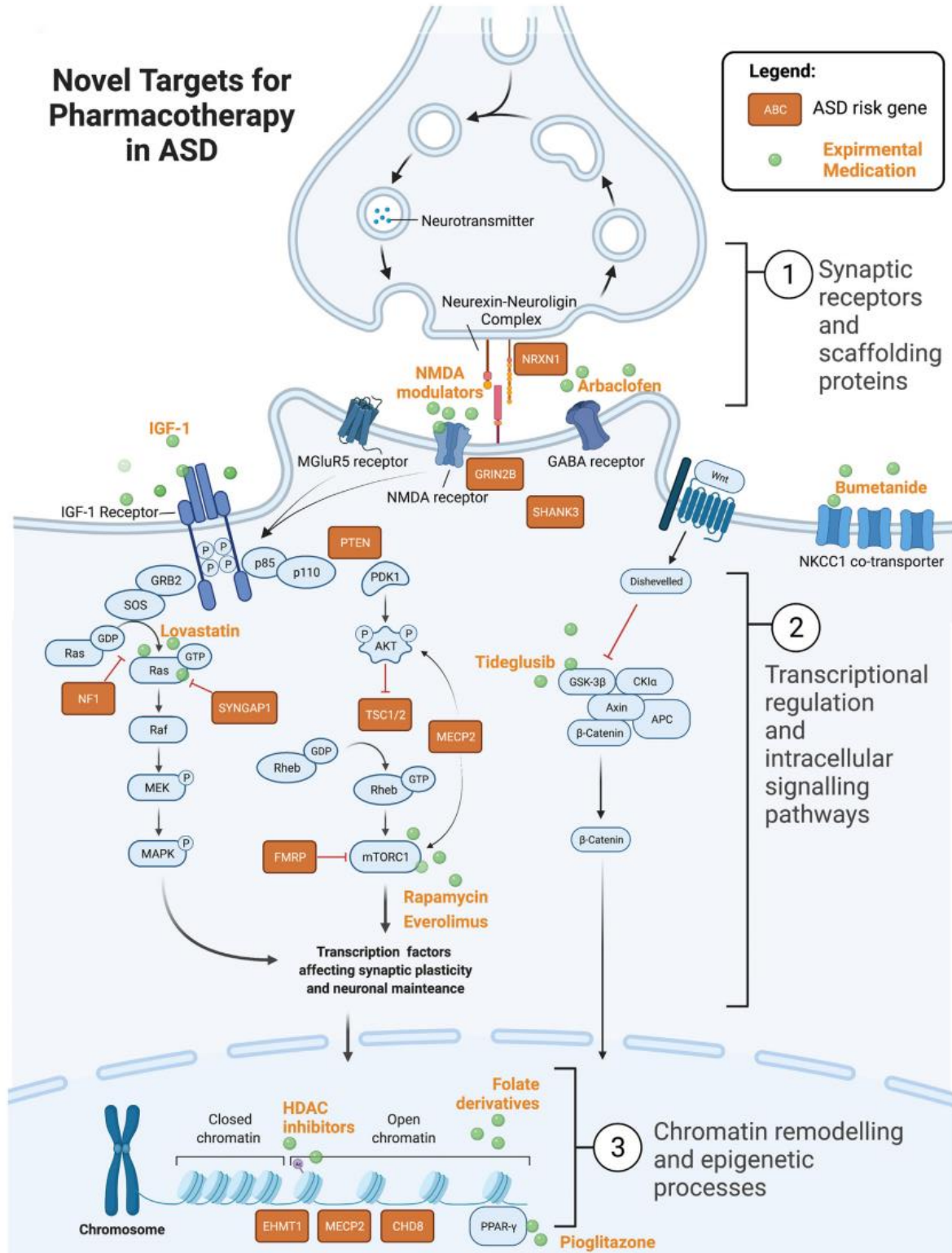
Επί του παρόντος, δεν έχει εγκριθεί καμία φαρμακευτική θεραπεία για την αντιμετώπιση της βασικής συμπτωματολογίας της ΔΑΦ. Μόνο δύο αντιψυχωσικά, η ρισπεριδόνη και η αριπιπραζόλη που δρουν στον D2 υποδοχέα της ντοπαμίνης, έχουν εγκριθεί από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) να χορηγούνται σε άτομα με ΔΑΦ ,τα οποία όμως δρουν βοηθητικά και όχι για την αντιμετώπιση των κύριων συμπτωμάτων. Ωστόσο, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές κλινικές δοκιμές κυρίως αρχικών σταδίων για διάφορους παράγοντες που θα μπορούσαν δυνητικά να βοηθήσουν στην θεραπεία της ΔΑΦ. Για κανέναν όμως δεν έχουν προκύψει επαρκή δεδομένα που να αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητά του σε κλινικό επίπεδο. Τα φάρμακα που συνταγογραφούνται από τους περισσότερους κλινικούς γιατρούς βοηθούν κυρίως στον περιορισμό και την βελτίωση κάποιων δευτερευόντων συμπτωμάτων που εμφανίζουν συχνά τα άτομα με ΔΑΦ και όχι στην αντιμετώπιση των βασικών συμπτωμάτων της διαταραχής. Χορηγούνται για

παράδειγμα ψυχοδιεγερτικά φάρμακα όπως η μεθυλφαινιδάτη και οι αμφεταμίνες, οι οποίες φαίνεται ότι μειώνουν την υπερκινητικότητα των ατόμων με ΔΑΦ. Κάποια αντιψυχωσικά φάρμακα (ρισπεριδόνη, αριπιπραζόλη, κουετιαπίνη, ζιπρασιδόνη και ολανζαπίνη) είναι αποτελεσματικά στη μείωση της ευερεθιστότητας. Αντικαταθλιπτικά φάρμακα (φλουοξετίνη, σετραλίνη, σιταλοπράμη, εσιταλοπράμη και φλουβοξαμίνη) συνταγογραφούνται επίσης σε ασθενείς με ΔΑΦ για τη μείωση των επαναλαμβανόμενων συμπεριφορών και τη βελτίωση του άγχους και της επιθετικότητας. Άλλοι φαρμακολογικοί παράγοντες όπως οι αγωνιστές των άλφα-2 αδρενεργικών υποδοχέων ,κλονιδίνη και γουανφασίνη έχουν δείξει οφέλη στη θεραπεία επιθετικών συμπεριφορών και αγχωδών διαταραχών, καθώς και στη βελτίωση των διαταραχών ύπνου (Sharma et al., 2018; Aishworiya et al., 2022; Baribeau and Anagnostou, 2022).

Σήμερα οι ερευνητικές προσπάθειες έχουν στραφεί στην εύρεση κλινικά ομοιογενών υποομάδων ασθενών καθώς και κοινών μοριακών μονοπατιών που θα βοηθήσουν στον καθορισμό συγκεκριμένων στόχων των φαρμάκων για την θεραπεία της ΔΑΦ. Για παράδειγμα οι Satterstrom et al. σε μία μελέτη μεγάλης κλίμακας στην οποία έγινε αλληλούχιση εξώματος (WES) σε 35585 άτομα (11986 με ΔΑΦ) βρήκαν ότι τα περισσότερα γονίδια που συνδέονταν με τη ΔΑΦ έπαιζαν ρόλο σε συγκεκριμένες λειτουργίες όπως η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και η επικοινωνία των νευρώνων (Satterstrom et al., 2020). Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και άλλων μελετών. Έτσι λοιπόν οι έρευνες εστιάζουν σε φαρμακευτικές ουσίες που στοχεύουν παράγοντες που συμμετέχουν σε συγκεκριμένους μοριακούς μηχανισμούς , η απορρύθμιση των οποίων οδηγεί στην εκδήλωση των συμπτωμάτων της ΔΑΦ. Αυτοί είναι κυρίως : α) η ρύθμιση της μεταγραφής και η μοριακή σηματοδότηση (μονοπάτια mTOR, Ras, MAPK και Wnt)

2) η αναδιαμόρφωση της χρωματίνης και άλλες επιγενετικές διεργασίες γ) η λειτουργία των συνάψεων (κανάλια ιόντων, υποδοχείς, πρωτεΐνες ικριώματος και κυτταροσκελετού).





Εικόνα 2 Νέοι καινοτόμοι στόχοι της φαρμακοθεραπείας στη ΔΑΦ (Baribeau and Anagnostou, 2022).

➤ **Φαρμακευτικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ρύθμιση της μεταγραφής**

Τα σηματοδοτικά μονοπάτια Ras-MAPK και PI3K-AKT-mTOR παίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της μεταγραφής και μετάφρασης των πρωτεϊνών και η σωστή λειτουργία τους είναι απαραίτητη για την πλαστικότητα των συνάψεων και την ανάπτυξη του Κεντρικού Νευρικού συστήματος. Όπως έχει αναλυθεί και στα προηγούμενα κεφάλαια πολλά CNVs που συνδέονται με τον αυτισμό εντοπίζονται σε γονίδια που κωδικοποιούν παράγοντες των μονοπατιών αυτών. Επίσης, πολλά γνωστά γενετικά σύνδρομα (πχ. FXS, TSC, Rett, Phelan-McDermid) που έχουν φαινότυπο ΔΑΦ οφείλονται σε μεταλλάξεις σε μόρια που επηρεάζουν την ρύθμιση των μονοπατιών αυτών (Baribeau and Anagnostou, 2022).

**IGF-1(insulin-like growth factor 1)** : είναι ένας αυξητικός παράγοντας σημαντικός για την ανάπτυξη του εγκεφάλου, καθώς δρα στον υποδοχέα IGF-1 και ενεργοποιεί την σηματοδότηση μέσω των μονοπατιών MAPK και mTOR που ρυθμίζουν την μεταγραφή πρωτεϊνών σημαντικών για την συναπτογένεση και τη λειτουργία των νευρώνων. In vitro μελέτες σε ασθενείς με σύνδρομο Phelan-McDermid (έλλειμμα στο γονίδιο SHANK3) έδειξαν ότι τα κύτταρα παρουσίαζαν προβλήματα στην διεγερτική νευροδιαβίβαση, η οποία διορθώθηκε μετά από θεραπεία με IGF-1 (Shcheglovitov et al., 2013). Μία άλλη μελέτη σε εννέα παιδιά με σύνδρομο Phelan-McDermid έδειξε ότι η θεραπεία με IGF-1 βελτίωσε την ευερεθιστότητα και την επαναλαμβανόμενη συμπεριφορά στα παιδιά αυτά. Μελέτες αρχικών σταδίων σε άτομα με σύνδρομο Rett υποστηρίζουν ότι η χορήγηση ανασυνδυασμένου IGF-1 βοήθησε στην μείωση κάποιων συμπτωμάτων συμπεριλαμβανομένου του άγχους (Khwaja et al., 2014; Pini et al., 2016). Ωστόσο, μία μελέτη τυχαιοποιημένης ελεγχόμενης δοκιμής έδειξε ότι η χορήγηση του ανασυνδυασμένου παράγοντα IGF-

1 (μεκασερίμνη) δημιουργούσε συμπτώματα κατάθλιψης και υπεραερισμού αν και κάποιες δευτερεύουσες παρατηρήσεις έδειχναν πιθανά οφέλη στην επαναλαμβανόμενη συμπεριφορά και στην κοινωνική επικοινωνία (O'Leary et al., 2018). Φαίνεται λοιπόν ότι τα δεδομένα σε κλινικό επίπεδο είναι πολύ προκαταρκτικά για να βγουν συμπεράσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα του παράγοντα IGF-1.

**Συνθάση του γλυκογόνου 3 (GSK-3):** Είναι μία κινάση που παίζει σημαντικό ρόλο στη φωσφοριλίωση πολλών ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών συμπεριλαμβανομένων εκείνων που εμπλέκονται στη σηματοδότηση Wnt. Σε μία κλινική δοκιμή, η χορήγηση σε άτομα με ΔΑΦ του tideglusib που είναι ένας αναστολέας της συνθάσης του γλυκογόνου έδειξε τάσεις βελτίωσης της κοινωνικής απόσυρσης και της επαναλαμβανόμενης συμπεριφοράς, καθώς και σημαντικές βελτιώσεις στην προσαρμοστική λειτουργία και τις κοινωνικές ικανότητες ( Anagnostou et al., 2018). Σύμφωνα με την βάση δεδομένων Orphanet το tideglusib προτείνεται για τη θεραπεία του συνδρόμου Εύθραυστου Χ αλλά δεν έχουν πραγματοποιηθεί κλινικές δοκιμές (<https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Drugs.php?lng=EN>).

➤ **Φαρμακευτικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης**

Πολλά γονίδια που έχουν συνδεθεί με τη ΔΑΦ (πχ. CDH8, MECP2, ARID18) επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα την ακετυλίωση ή μεθυλίωση των ιστονών ή την μεθυλίωση του DNA. Οι διάφορες μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά διαταράσσουν τους μηχανισμούς της επιγενετικής ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης.

**Αναστολείς των ιστονικών αποακετυλασών (HDAC) :** Φαίνεται πως μπορεί να έχουν κάποια θετικά αποτελέσματα στη μείωση των συμπτωμάτων της ΔΑΦ. Οι

περισσότερες όμως έρευνες για τους παράγοντες αυτούς βρίσκονται στο στάδιο των προκλινικών μελετών. Οι HDAC καταλύουν την αφαίρεση ακετυλικών ομάδων από τις ιστονικές πρωτεΐνες. Η αναστολή της δραστηριότητας των HDAC έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της ακετυλίωσης και άρα την χαλαρότητα της χρωματίνης που οδηγεί σε μεταγραφική ενεργότητα. Σε μία μελέτη με μοντέλα ποντικών με αυτισμό (με μετάλλαξη SHANK3) παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση των κοινωνικών δυσκολιών κατά τη διάρκεια θεραπείας με αναστολείς HDAC (Ma et al., 2018; Qin et al., 2018). Το βαλπροϊκό οξύ που είναι ένας αναστολέας HDAC είχε αντικρουόμενα αποτελέσματα σε κάποιες μικρές δοκιμές θεραπείας της ευερεθιστότητας και της επαναληπτικής συμπεριφοράς σε άτομα με ΔΑΦ (Hellings et al., 2005; Anagnostou et al., 2006; Hollander et al., 2010).

➤ **Φαρμακευτικοί παράγοντες που επηρεάζουν την λειτουργία των συνάψεων**

Η πλειοψηφία των φαρμάκων που δοκιμάζονται για την θεραπεία της ΔΑΦ επιδρούν σε μηχανισμούς που εμπλέκονται στη λειτουργία των συνάψεων όπως για παράδειγμα τα περισσότερα αντικαταθλιπτικά, διεγερτικά και αντιψυχωσικά φάρμακα που χορηγούνται για την αντιμετώπιση κάποιων συμπτωμάτων που εμφανίζουν τα άτομα με ΔΑΦ. Οι μελέτες για την εύρεση νέων παραγόντων βασίζονται στην υπόθεση ότι η ανισορροπία διεγερτικής : ανασταλτικής (E:I) σηματοδότησης παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της ΔΑΦ (Baribeau and Anagnostou, 2022).

**Αρμπακλοφένη** : Ασκήει τη θεραπευτική της δράση λειτουργώντας ως εκλεκτικός αγωνιστής του υποδοχέα GABA<sub>B</sub>. Η χορήγηση αρμπακλοφένης βελτίωσε την κοινωνική συμπεριφορά σε μοντέλα ποντικών με FXS (Silverman et al., 2015) και με σύνδρομο μικροελλείμματος 16p11.2 (Stoppel et al., 2018). Σύμφωνα με τα

αποτελέσματα μιας μελέτης σε 150 συμμετέχοντες με ΔΑΦ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην κοινωνική απόσυρση μεταξύ της ομάδας που πήρε το φάρμακο και της ομάδας των μαρτύρων, αν και κάποιες δευτερεύουσες αναλύσεις έδειξαν διαφορές όσον αφορά την κοινωνικοποίηση (Veenstra VanderWeele et al., 2017). Σε μία άλλη μελέτη στην οποία περιλαμβάνονταν μία ομάδα ενηλίκων και μία ομάδα παιδιών με ΔΑΦ εξετάζονταν ως κύριο σύμπτωμα η κοινωνική απομόνωση. Κατά την θεραπεία με αμπακλοφένη στην ομάδα των ενηλίκων δεν υπήρχαν αξιοσημείωτες διαφορές, ενώ στην ομάδα των παιδιών παρατηρήθηκε κάποια βελτίωση σε δευτερεύοντα συμπτώματα όπως η ευερεθιστότητα (Berry-Kravis et al., 2017). Σύμφωνα με τη βάση δεδομένων Orphanet η αρμπακλοφένη είναι μία ουσία που προτείνεται για την θεραπεία του συνδρόμου Εύθραυστου Χ (<https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Drugs.php?lng=EN>).

**Κεταμίνη:** Είναι ένας ανταγωνιστής του υποδοχέα NMDA και έχει ταχεία αντικαταθλιπτική δράση. Δρα αποκλείοντας τους ανοιχτούς υποδοχείς NMDA και επηρεάζει την συχνότητα της πυροδότησής τους έχοντας επίδραση στα κατάντη μονοπάτια συμπεριλαμβανομένου του mTOR (Zanos & Gould, 2018). Μία μελέτη μεμονωμένης περίπτωσης σε έναν ασθενή με αυτισμό και σοβαρή νοητική υστέρηση έδειξε ότι η θεραπεία με κεταμίνη προκάλεσε δραματική αν και μικρής διάρκειας ύφεση βασικών συμπτωμάτων του αυτισμού (Kastner et al., 2016). Μία ακόμη μελέτη μεμονωμένου ασθενή υποστηρίζει ότι η χορήγηση κεταμίνης σε έναν ενήλικο άνδρα με αυτισμό φαίνεται πως μείωσε τα συμπτώματα κατάθλιψης και τις αυτοκτονικές τάσεις καθώς και κάποια από τα βασικά συμπτώματα του αυτισμού όπως η κοινωνική απομόνωση και η επαναλαμβανόμενη συμπεριφορά (Özgen & van den Brink, 2021). Αντίθετα, τα αποτελέσματα μιας τυχαιοποιημένης κλινικής δοκιμής έδειξαν ότι η χορήγηση κεταμίνης σε 21 άτομα με ΔΑΦ δεν είχε κάποια

σημαντική επίδραση όσον αφορά τις κοινωνικές δυσκολίες και άλλα προβλήματα συμπεριφοράς που εμφάνιζαν τα άτομα αυτά (Wink et al, 2021). Σύμφωνα με την βάση δεδομένων Orphanet η κεταμίνη αποτελεί προτεινόμενη θεραπεία για άτομα με σύνδρομο Rett (<https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Drugs.php?lng=EN>).

**Βουμετανίδη:** Είναι ένα ισχυρό διουρητικό που μπορεί έμμεσα να αυξήσει τη GABAεργική αναστολή μειώνοντας το ενδοκυτταρικό χλώριο. Μέσω της δράσης της αυτής, υποστηρίζεται ότι μπορεί να συμβάλλει θετικά σε κάποια συμπτώματα της ΔΑΦ (Aishworiya et al., 2022). Δύο κλινικές δοκιμές έδειξαν ότι η θεραπεία με βουμετανίδη για 3 μήνες σε παιδιά με ΔΑΦ μείωσε σημαντικά τα συμπτώματά τους (Lemonnier et al., 2012; Lemonnier et al., 2017). Σε μία άλλη μελέτη χορηγήθηκε για 3 μήνες βουμετανίδη σε 6 παιδιά με βαριάς μορφής ΔΑΦ και νοητική υστέρηση. Σύμφωνα με τις μαρτυρίες των γονέων τους υπήρξε σημαντική βελτίωση της ικανότητας επικοινωνίας στα παιδιά αυτά (Fernel et al., 2021). Αντίθετα, τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μελέτης των Sprengers et al. έδειξαν ότι η θεραπεία με βουμετανίδη σε παιδιά με ΔΑΦ χωρίς σοβαρή υστέρηση δεν είχε κάποιο όφελος στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων (Sprengers et al., 2021).

**Διατροφή και συμπληρώματα διατροφής :** Η φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία του νευρικού συστήματος απαιτεί προγραμματισμένες αλλαγές στην έκφραση διαφόρων γονιδίων στις οποίες η επιγενετική ρύθμιση παίζει πολύ σημαντικό ρόλο. Ορισμένες μελέτες της τελευταίας δεκαετίας υποστηρίζουν ότι η αλλαγή της διατροφής, των διαφόρων ουσιών δηλαδή που λαμβάνονται από τα τρόφιμα καθώς και κάποια συμπληρώματα διατροφής μπορούν να επηρεάσουν την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, έχοντας θεραπευτικές δυνατότητες για την ΔΑΦ. Για παράδειγμα, τα παράγωγα του φυλλικού οξέος, η σουλφοραφάνη , και οι

κετονικές δίαιτες έχει προταθεί ότι επηρεάζουν τις οδούς μεθυλίωσης άμεσα ή έμμεσα (Karhu et al., 2020; Narzisi et al., 2021; Baribeau and Anagnostou, 2022). Η μεθυλίωση του DNA απαιτεί ομάδες μεθυλίου που προέρχονται από το φυλλικό οξύ. Μελέτες σε ζωικά μοντέλα υποστηρίζουν ότι τα αντισώματα έναντι των υποδοχέων του φυλλικού οξέος μπορεί να συμβάλλουν στην εκδήλωση φαινοτύπου ΔΑΦ. Επίσης σε ένα μεγάλο ποσοστό παιδιών με ΔΑΦ καθώς και σε πολλούς γονείς παιδιών με ΔΑΦ εντοπίζονται τα αντισώματα αυτά (Frye et al., 2013; Desai et al., 2017; Ramaekers et al., 2019). Σε μία μικρή κλινική δοκιμή στην οποία χορηγήθηκε φολινικό οξύ σε άτομα με ΔΑΦ για δύο χρόνια, παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων στους ασθενείς που έλαβαν την ουσία (Ramaekers et al., 2019). Η σουλφοραφάνη είναι μία πλούσια σε θείο ουσία που συναντάται στα σταυρανθή (πχ. μπρόκολο) και έχει υποστηριχθεί ότι μπορεί να συμβάλλει στη θεραπεία της ΔΑΦ. Σε μία παλαιότερη κλινική δοκιμή χορηγήθηκε σουλφοραφάνη σε εφήβους και ενήλικες με ΔΑΦ. Οι ασθενείς που έλαβαν την ουσία εμφάνισαν σημαντικές βελτιώσεις σε κάποια από τα βασικά συμπτώματα της ΔΑΦ όπως η λεκτική επικοινωνία και η κοινωνική αλληλεπίδραση. Παρατηρήθηκε μάλιστα ότι μετά τη διακοπή της λήψης σουλφοραφάνης, η κλινική τους εικόνα επιδεινώθηκε και πάλι επιστρέφοντας στα επίπεδα που ήταν πριν την χορήγηση (Singh et al., 2014).

Οι κετονικές δίαιτες βασίζονται στην κατανάλωση τροφών χαμηλών σε πρωτεΐνες και υδατάνθρακες και πλούσιων σε λιπαρά. Ενεργοποιείται στον οργανισμό μια μεταβολική κατάσταση παρόμοια με εκείνη που ενεργοποιείται κατά την αιτία κατά την οποία ο οργανισμός αναγκάζεται να χρησιμοποιήσει το λίπος ως κύρια πηγή ενέργειας με αποτέλεσμα την απελευθέρωση κετονικών σωμάτων. Τα κετονικά σώματα έχει βρεθεί ότι επηρεάζουν την επιγενετική ρύθμιση

αναστέλλοντας την λειτουργία των ιστονικών αποακετυλασών ( Ruan and Crawford, 2018). Ακόμη, παίζουν κάποιο ρόλο στην σωστή λειτουργία του νευρικού συστήματος μέσω ποικίλων δράσεων όπως η βελτίωση του ενεργειακού μεταβολισμού, ο έλεγχος κάποιων νευροδιαβιβαστών, ο έλεγχος του σηματοδοτικού μονοπατιού mTOR κ.α (Lee et al., 2021). Η μελέτη των El-Rashidy et al. σε 45 παιδιά με ΔΑΦ έδειξε ότι η κετονική διαίτα επέφερε σημαντικότερες βελτιώσεις στα βασικά συμπτώματα της νόσου σε σχέση με την διαίτα χωρίς καζεΐνη και γλουτένη καθώς και μια «κλασσική» ισορροπημένη διατροφή (El-Rashidy et al., 2017) . Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και μιας άλλης μελέτης τα οποία επίσης έδειξαν θετική επίδραση της κετονικής διαίτας στην βελτίωση των συμπτωμάτων της ΔΑΦ (Lee et al., 2018).



**ΑΥΤΙΣΜΟΣ : ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΣΗΜΕΡΑ****ΜΙΧΑΗΛΙΑ ΛΩΛΗ****ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Οι γενετικοί παράγοντες παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην αιτιολογία της ΔΑΦ και έχει επιτευχθεί σήμερα σημαντική πρόοδος όσον αφορά την γενετική διερεύνηση της νόσου. Έχει βρεθεί ένας μεγάλος αριθμός γονιδίων που φαίνεται να συνδέονται με τη διαταραχή. Δεν υπάρχει όμως άμεση συσχέτιση ενός γονιδίου με την εκδήλωση της διαταραχής αλλά κίνδυνος προδιάθεσης του ατόμου για τη ΔΑΦ. Η ανάλυση και η πλήρης αποσαφήνιση των μηχανισμών που σχετίζονται με τη γενετική βάση της διαταραχής είναι ιδιαίτερα δύσκολη εξαιτίας της γενετικής ετερογένειας και συνθετότητας του αυτισμού. Οι γενετικές παραλλαγές που έχει βρεθεί ότι συνδέονται με προδιάθεση της νόσου είναι διαφόρων ειδών όσον αφορά το μέγεθος, τη συχνότητα εμφάνισης και την κληρονομησιμότητα. Κοινές και σπάνιες παραλλαγές, SNVs, CNVs αλλά και μεγάλες κυτταρογενετικές αλλαγές, κληρονομούμενες αλλά και de novo παραλλαγές όλες φαίνεται πως μπορούν να συνεισφέρουν. Η ατελής διεισδυτικότητα, η ποικίλη εκφραστικότητα και η πλειοτροπία που χαρακτηρίζουν πολλές από τις παραλλαγές αυτές δυσχεραίνουν ακόμα περισσότερο τη γενετική διάγνωση του αυτισμού σε κλινικό επίπεδο αλλά και γενικότερα την γενετική διερεύνηση της νόσου σε επιστημονικό επίπεδο. Απαιτούνται λοιπόν ακόμα σημαντικά βήματα προκειμένου να μπορούν τα ερευνητικά δεδομένα των γενετικών μελετών να μεταφραστούν σωστά, ώστε να έχουν κάποια κλινική χρησιμότητα στη διάγνωση και τη θεραπευτική αντιμετώπιση της Διαταραχής Αυτιστικού Φάσματος.

**AUTISM: GENETIC RESEARCH TODAY****MICHAELIA LOLI****ABSTRACT**

Genetic factors play an important role in the etiology of ASD and major advances have been made in recent years in genetic research of the disease. A large number of genes has been identified to be associated with the disorder. There is not direct association of a specific gene with the manifestation of the disorder but an individual's predisposition to the disease. Analyzing and elucidating the mechanisms that are associated with the genetic basis of this disorder is difficult due to genetic heterogeneity and complexity of autism. Genetic variants that have been found to be associated with autism predisposition vary in size, frequency and heritability. Common and rare variants, SNVs, CNVs and large cytogenetic alterations, inherited and de novo variants can be responsible for ASD. Incomplete penetrance, variable expressivity and pleiotropy of these variants make genetic diagnosis and genetic scientific research of autism more difficult. Therefore, significant steps are required to properly understand genetic research data in order of them to have any clinical utility in diagnosis and treatment of Autism Spectrum Disorder.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aishworiya, R., Valica, T., Hagerman, R., & Restrepo, B. (2022). An Update on Psychopharmacological Treatment of Autism Spectrum Disorder. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 19(1), 248–262. <https://doi.org/10.1007/s13311-022-01183-1>

American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association

Ameis, S. H., Blumberger, D. M., Croarkin, P. E., Mabbott, D. J., Lai, M. C., Desarkar, P., Szatmari, P., & Daskalakis, Z. J. (2020). Treatment of Executive Function Deficits in autism spectrum disorder with repetitive transcranial magnetic stimulation: A double-blind, sham-controlled, pilot trial. *Brain stimulation*, 13(3), 539–547. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2020.01.007>

Alarcón, M., Abrahams, B. S., Stone, J. L., Duvall, J. A., Perederiy, J. V., Bomar, J. M., Sebat, J., Wigler, M., Martin, C. L., Ledbetter, D. H., Nelson, S. F., Cantor, R. M., & Geschwind, D. H. (2008). Linkage, association, and gene-expression analyses identify CNTNAP2 as an autism-susceptibility gene. *American journal of human genetics*, 82(1), 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.09.005>

Al-Dewik, N., & Alsharshani, M. (2020). New Horizons for Molecular Genetics Diagnostic and Research in Autism Spectrum Disorder. *Advances in neurobiology*, 24, 43–81. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-30402-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30402-7_2)

Anagnostou, E., Bennett, T. A., Thorpe, K., and Nicolson, R. (2018). 5.16 A phase 2 randomized, placebo-controlled trial of tideglusib, an orally administered GSK-3 β inhibitor, in the treatment of adolescents with ASD. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 57:S232. [doi: 10.1016/j.jaac.2018.09.311](https://doi.org/10.1016/j.jaac.2018.09.311)

Anagnostou, E., Esposito, K., Soorya, L., Chaplin, W., Wasserman, S., & Hollander, E. (2006). Divalproex versus placebo for the prevention of irritability associated with fluoxetine treatment in autism spectrum disorder. *Journal of clinical psychopharmacology*, 26(4), 444–446. <https://doi.org/10.1097/01.jcp.0000227703.72117.bc>

Armstrong, E. C., Caruso, A., Servadio, M., Andrae, L. C., Trezza, V., Scattoni, M. L., & Fernandes, C. (2020). Assessing the developmental trajectory of mouse models of neurodevelopmental disorders: Social and communication deficits in mice with Neurexin 1α deletion. *Genes, brain, and behavior*, 19(4), e12630. <https://doi.org/10.1111/gbb.12630>

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>

Ashley-Koch, A. E., Mei, H., Jaworski, J., Ma, D. Q., Ritchie, M. D., Menold, M. M., Delong, G. R., Abramson, R. K., Wright, H. H., Hussman, J. P., Cuccaro, M. L., Gilbert, J. R., Martin, E. R., & Pericak-Vance, M. A. (2006). An analysis paradigm for investigating multi-locus effects in complex disease: examination of three GABA receptor subunit genes on 15q11-q13 as risk factors for autistic disorder. *Annals of human genetics*, *70*(Pt 3), 281–292. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2006.00253.x>

Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network (ADDM) (2023, September) Centers for disease control and Prevention. <https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/data/index.html>

Babaev, O., Botta, P., Meyer, E., Müller, C., Ehrenreich, H., Brose, N., Lüthi, A., & Krueger-Burg, D. (2016). Neuroligin 2 deletion alters inhibitory synapse function and anxiety-associated neuronal activation in the amygdala. *Neuropharmacology*, *100*, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.06.016>

Bai, D., Yip, B. H. K., Windham, G. C., Sourander, A., Francis, R., Yoffe, R., Glasson, E., Mahjani, B., Suominen, A., Leonard, H., Gissler, M., Buxbaum, J. D., Wong, K., Schendel, D., Kodesh, A., Breshnahan, M., Levine, S. Z., Parner, E. T., Hansen, S. N., Hultman, C., ... Sandin, S. (2019). Association of Genetic and Environmental Factors With Autism in a 5-Country Cohort. *JAMA psychiatry*, *76*(10), 1035–1043. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.1411>

Bacon, C., Schneider, M., Le Magueresse, C., Froehlich, H., Sticht, C., Gluch, C., Monyer, H., & Rappold, G. A. (2015). Brain-specific Foxp1 deletion impairs neuronal development and causes autistic-like behaviour. *Molecular psychiatry*, *20*(5), 632–639. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.116>

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>

Bakkaloglu, B., O'Roak, B. J., Louvi, A., Gupta, A. R., Abelson, J. F., Morgan, T. M., Chawarska, K., Klin, A., Ercan-Sencicek, A. G., Stillman, A. A., Tanriover, G., Abrahams, B. S., Duvall, J. A., Robbins, E. M., Geschwind, D. H., Biederer, T., Gunel, M., Lifton, R. P., & State, M. W. (2008). Molecular cytogenetic analysis and resequencing of contactin associated protein-like 2 in autism spectrum disorders. *American journal of human genetics*, *82*(1), 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.09.017>

Baribeau, D., & Anagnostou, E. (2022). Novel treatments for autism spectrum disorder based on genomics and systems biology. *Pharmacology & therapeutics*, *230*, 107939. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107939>

Berry-Kravis, E., Hagerman, R., Visootsak, J., Budimirovic, D., Kaufmann, W. E., Cherubini, M., Zarevics, P., Walton-Bowen, K., Wang, P., Bear, M. F., & Carpenter, R. L. (2017). Arbaclofen in fragile X syndrome: results of phase 3 trials. *Journal of neurodevelopmental disorders*, *9*, 3. <https://doi.org/10.1186/s11689-016-9181-6>

Bikowska-Opalach, B., & Jackowska, T. (2013). Nerwiakowłóknikowatość typu 1 - opis obrazu klinicznego oraz molekularnych podstaw rozwoju choroby [Neurofibromatosis type 1 - description of clinical features and molecular mechanism of the disease]. *Medycyna wieku rozwojowego*, *17*(4), 334–340.

Buizer-Voskamp, J. E., Laan, W., Staal, W. G., Hennekam, E. A., Aukes, M. F., Termorshuizen, F., Kahn, R. S., Boks, M. P., & Ophoff, R. A. (2011). Paternal age and psychiatric disorders: findings from a Dutch population registry. *Schizophrenia research*, *129*(2-3), 128–132. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2011.03.021>

Burrows, E. L., Laskaris, L., Koyama, L., Churilov, L., Bornstein, J. C., Hill-Yardin, E. L., & Hannan, A. J. (2015). A neuroligin-3 mutation implicated in autism causes abnormal aggression and increases repetitive behavior in mice. *Molecular autism*, *6*, 62. <https://doi.org/10.1186/s13229-015-0055-7>

Busch, R. M., Srivastava, S., Hogue, O., Frazier, T. W., Klaas, P., Hardan, A., Martinez-Agosto, J. A., Sahin, M., Eng, C., & Developmental Synaptopathies Consortium (2019). Neurobehavioral phenotype of autism spectrum disorder associated with germline heterozygous mutations in PTEN. *Translational psychiatry*, *9*(1), 253. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0588-1>

Bulik-Sullivan, B. K., Loh, P. R., Finucane, H. K., Ripke, S., Yang, J., Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, Patterson, N., Daly, M. J., Price, A. L., & Neale, B. M. (2015). LD Score regression distinguishes confounding from polygenicity in genome-wide association studies. *Nature genetics*, *47*(3), 291–295. <https://doi.org/10.1038/ng.3211>

Bowling, K. M., Thompson, M. L., Amaral, M. D., Finnila, C. R., Hiatt, S. M., Engel, K. L., Cochran, J. N., Brothers, K. B., East, K. M., Gray, D. E., Kelley, W. V., Lamb, N. E., Lose, E. J., Rich, C. A., Simmons, S., Whittle, J. S., Weaver, B. T., Nesmith, A. S., Myers, R. M., Barsh, G. S., ... Cooper, G. M. (2017). Genomic diagnosis for children with intellectual disability and/or developmental delay. *Genome medicine*, 9(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0433-1>

Canali, G., Garcia, M., Hivert, B., Pinatel, D., Goullancourt, A., Oguievetskaia, K., Saint-Martin, M., Girault, J. A., Faivre-Sarrailh, C., & Goutebroze, L. (2018). Genetic variants in autism-related CNTNAP2 impair axonal growth of cortical neurons. *Human molecular genetics*, 27(11), 1941–1954. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy102>

Chapman, R., & Veit, W. (2021). "The essence of autism: fact or artefact?". *Molecular psychiatry*, 26(5), 1440–1441. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-00959-1>

Chen, C. H., Huang, C. C., Cheng, M. C., Chiu, Y. N., Tsai, W. C., Wu, Y. Y., Liu, S. K., & Gau, S. S. (2014). Genetic analysis of GABRB3 as a candidate gene of autism spectrum disorders. *Molecular autism*, 5, 36. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-5-36>

Crow J. F. (2000). The origins, patterns and implications of human spontaneous mutation. *Nature reviews. Genetics*, 1(1), 40–47. <https://doi.org/10.1038/35049558>

Dachtler, J., Ivorra, J. L., Rowland, T. E., Lever, C., Rodgers, R. J., & Clapcote, S. J. (2015). Heterozygous deletion of  $\alpha$ -neurexin I or  $\alpha$ -neurexin II results in behaviors relevant to autism and schizophrenia. *Behavioral neuroscience*, 129(6), 765–776. <https://doi.org/10.1037/bne0000108>

Dawson, G., Sun, J. M., Davlantis, K. S., Murias, M., Franz, L., Troy, J., Simmons, R., Sabatos-DeVito, M., Durham, R., & Kurtzberg, J. (2017). Autologous Cord Blood Infusions Are Safe and Feasible in Young Children with Autism Spectrum Disorder: Results of a Single-Center Phase I Open-Label Trial. *Stem cells translational medicine*, 6(5), 1332–1339. <https://doi.org/10.1002/sctm.16-0474>

Dassati, S., Waldner, A., & Schweigreiter, R. (2014). Apolipoprotein D takes center stage in the stress response of the aging and degenerative brain. *Neurobiology of aging*, 35(7), 1632–1642. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.148>

Desachy, G., Croen, L. A., Torres, A. R., Kharrazi, M., Delorenze, G. N., Windham, G. C., Yoshida, C. K., & Weiss, L. A. (2015). Increased female autosomal burden of rare copy number variants in human populations and in autism families. *Molecular psychiatry*, 20(2), 170–175. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.179>

Desai, A., Sequeira, J. M., & Quadros, E. V. (2017). Prevention of behavioral deficits in rats exposed to folate receptor antibodies: implication in autism. *Molecular psychiatry*, 22(9), 1291–1297. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.153>

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>

Do Carmo, S., Levros, L. C., Jr, & Rassart, E. (2007). Modulation of apolipoprotein D expression and translocation under specific stress conditions. *Biochimica et biophysica acta*, 1773(6), 954–969. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2007.03.007>

Dubov, T., Toledano-Alhadeef, H., Bokstein, F., Constantini, S., & Ben-Shachar, S. (2016). The effect of parental age on the presence of de novo mutations - Lessons from neurofibromatosis type I. *Molecular genetics & genomic medicine*, 4(4), 480–486. <https://doi.org/10.1002/mgg3.222>

Edlow, A. G., Vora, N. L., Hui, L., Wick, H. C., Cowan, J. M., & Bianchi, D. W. (2014). Maternal obesity affects fetal neurodevelopmental and metabolic gene expression: a pilot study. *PloS one*, 9(2), e88661. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088661>

Ehrhart, F., Coort, S. L., Cirillo, E., Smeets, E., Evelo, C. T., & Curfs, L. M. (2016). Rett syndrome - biological pathways leading from MECP2 to disorder phenotypes. *Orphanet journal of rare diseases*, 11(1), 158. <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0545-5>

Eijk, S., Mous, S. E., Dieleman, G. C., Dierckx, B., Rietman, A. B., de Nijs, P. F. A., Ten Hoopen, L. W., van Minkelen, R., Elgersma, Y., Catsman-Berrevoets, C. E., Oostenbrink, R., & Legerstee, J. S. (2018). Autism Spectrum Disorder in an Unselected Cohort of Children with Neurofibromatosis Type 1 (NF1). *Journal of autism and developmental disorders*, 48(7), 2278–2285. <https://doi.org/10.1007/s10803-018-3478-0>

El-Rashidy, O., El-Baz, F., El-Gendy, Y., Khalaf, R., Reda, D., & Saad, K. (2017). Ketogenic diet versus gluten free casein free diet in autistic children: a case-control study. *Metabolic brain disease*, 32(6), 1935–1941. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0088-z>

Farzin, F., Koldewyn, K. (2014). Fragile X Syndrome and Autism. In: Patel, V., Preedy, V., Martin, C. (eds) *Comprehensive Guide to Autism*. Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4788-7\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4788-7_8)

Feliciano D. M. (2020). The Neurodevelopmental Pathogenesis of Tuberous Sclerosis Complex (TSC). *Frontiers in neuroanatomy*, 14, 39. <https://doi.org/10.3389/fnana.2020.00039>

Feliciano, P., Zhou, X., Astrovskaya, I., Turner, T. N., Wang, T., Brueggeman, L., Barnard, R., Hsieh, A., Snyder, L. G., Muzny, D. M., Sabo, A., SPARK Consortium, Gibbs, R. A., Eichler, E. E., O'Roak, B. J., Michaelson, J. J., Volfovsky, N., Shen, Y., & Chung, W. K. (2019). Exome sequencing of 457 autism families recruited online provides evidence for autism risk genes. *NPJ genomic medicine*, *4*, 19. <https://doi.org/10.1038/s41525-019-0093-8>

Fernell, E., Gustafsson, P., & Gillberg, C. (2021). Bumetanide for autism: Open-label trial in six children. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, *110*(5), 1548–1553. <https://doi.org/10.1111/apa.15723>

Frazier, T. W., Jaini, R., Busch, R. M., Wolf, M., Sadler, T., Klaas, P., Hardan, A. Y., Martinez-Agosto, J. A., Sahin, M., Eng, C., & Developmental Synaptopathies Consortium (2021). Cross-level analysis of molecular and neurobehavioral function in a prospective series of patients with germline heterozygous PTEN mutations with and without autism. *Molecular autism*, *12*(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s13229-020-00406-6>

Frye, R. E., Sequeira, J. M., Quadros, E. V., James, S. J., & Rossignol, D. A. (2013). Cerebral folate receptor autoantibodies in autism spectrum disorder. *Molecular psychiatry*, *18*(3), 369–381. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.175>

García-González, S., Lugo-Marín, J., Setien-Ramos, I., Gisbert-Gustemps, L., Arteaga-Henríquez, G., Díez-Villoria, E., & Ramos-Quiroga, J. A. (2021). Transcranial direct current stimulation in Autism Spectrum Disorder: A systematic review and meta-analysis. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, *48*, 89–109. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2021.02.017>

Gaugler, T., Klei, L., Sanders, S. J., Bodea, C. A., Goldberg, A. P., Lee, A. B., Mahajan, M., Manaa, D., Pawitan, Y., Reichert, J., Ripke, S., Sandin, S., Sklar, P., Svantesson, O., Reichenberg, A., Hultman, C. M., Devlin, B., Roeder, K., & Buxbaum, J. D. (2014). Most genetic risk for autism resides with common variation. *Nature genetics*, *46*(8), 881–885. <https://doi.org/10.1038/ng.3039>

Grove, J., Ripke, S., Als, T. D., Mattheisen, M., Walters, R. K., Won, H., Pallesen, J., Agerbo, E., Andreassen, O. A., Anney, R., Awashti, S., Belliveau, R., Bettella, F., Buxbaum, J. D., Bybjerg-Grauholm, J., Bækvad-Hansen, M., Cerrato, F., Chambert, K., Christensen, J. H., Churchhouse, C., ... Børglum, A. D. (2019). Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder. *Nature genetics*, *51*(3), 431–444. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0344-8>



Guo, H., Duyzend, M. H., Coe, B. P., Baker, C., Hoekzema, K., Gerds, J., Turner, T. N., Zody, M. C., Beighley, J. S., Murali, S. C., Nelson, B. J., University of Washington Center for Mendelian Genomics, Bamshad, M. J., Nickerson, D. A., Bernier, R. A., & Eichler, E. E. (2019). Genome sequencing identifies multiple deleterious variants in autism patients with more severe phenotypes. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 21(7), 1611–1620. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0380-2>

Haddadi, N., Travis, G., Nassif, N. T., Simpson, A. M., & Marsh, D. J. (2020). Toward Systems Pathology for PTEN Diagnostics. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 10(5), a037127. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a037127>

Haghighatfard, A., Yaghoubi Asl, E., Bahadori, R. A., Aliabadian, R., Farhadi, M., Mohammadpour, F., & Tabrizi, Z. (2022). FOXP2 down expression is associated with executive dysfunctions and electrophysiological abnormalities of brain in Autism spectrum disorder; a neuroimaging genetic study. *Autism & developmental language impairments*, 7, 23969415221126391. <https://doi.org/10.1177/23969415221126391>

Harris, H. K., Sideridis, G. D., Barbaresi, W. J., & Harstad, E. (2020). Pathogenic Yield of Genetic Testing in Autism Spectrum Disorder. *Pediatrics*, 146(4), e20193211. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-3211>

He, X., Jittiwat, J., Kim, J. H., Jenner, A. M., Farooqui, A. A., Patel, S. C., & Ong, W. Y. (2009). Apolipoprotein D modulates F2-isoprostane and 7-ketocholesterol formation and has a neuroprotective effect on organotypic hippocampal cultures after kainate-induced excitotoxic injury. *Neuroscience letters*, 455(3), 183–186. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.03.038>

Hellings, J. A., Weckbaugh, M., Nickel, E. J., Cain, S. E., Zarcone, J. R., Reese, R. M., Hall, S., Ermer, D. J., Tsai, L. Y., Schroeder, S. R., & Cook, E. H. (2005). A double-blind, placebo-controlled study of valproate for aggression in youth with pervasive developmental disorders. *Journal of child and adolescent psychopharmacology*, 15(4), 682–692. <https://doi.org/10.1089/cap.2005.15.682>

Hicks, J. K., Sangkuhl, K., Swen, J. J., Ellingrod, V. L., Müller, D. J., Shimoda, K., Bishop, J. R., Kharasch, E. D., Skaar, T. C., Gaedigk, A., Dunnenberger, H. M., Klein, T. E., Caudle, K. E., & Stingl, J. C. (2017). Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline (CPIC) for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants: 2016 update. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 102(1), 37–44. <https://doi.org/10.1002/cpt.597>

Hollander, E., Chaplin, W., Soorya, L., Wasserman, S., Novotny, S., Rusoff, J., Feirsen, N., Pepa, L., & Anagnostou, E. (2010). Divalproex sodium vs placebo for the treatment of irritability in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(4), 990–998. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.202>

Hogart, A., Wu, D., LaSalle, J. M., & Schanen, N. C. (2010). The comorbidity of autism with the genomic disorders of chromosome 15q11.2-q13. *Neurobiology of disease*, 38(2), 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.08.011>

Hu, C., He, L., Li, H., Ding, Y., Zhang, K., Li, D., Zhu, G., Wu, B., Xu, X., & Xu, Q. (2022). Clinical Targeted Panel Sequencing Analysis in Clinical Evaluation of Children with Autism Spectrum Disorder in China. *Genes*, 13(6), 1010. <https://doi.org/10.3390/genes13061010>

Hunter, J., Rivero-Arias, O., Angelov, A., Kim, E., Fotheringham, I., & Leal, J. (2014). Epidemiology of fragile X syndrome: a systematic review and meta-analysis. *American journal of medical genetics. Part A*, 164A(7), 1648–1658. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36511>

ICD-11. International Classification of Diseases (11<sup>th</sup> edition). World Health Organization [ICD-11 \(who.int\)](https://www.who.int/icd-11) (January, 2023)

Iossifov, I., O'Roak, B. J., Sanders, S. J., Ronemus, M., Krumm, N., Levy, D., Stessman, H. A., Witherspoon, K. T., Vives, L., Patterson, K. E., Smith, J. D., Paepker, B., Nickerson, D. A., Dea, J., Dong, S., Gonzalez, L. E., Mandell, J. D., Mane, S. M., Murtha, M. T., Sullivan, C. A., ... Wigler, M. (2014). The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature*, 515(7526), 216–221. <https://doi.org/10.1038/nature13908>

Ivanov, H. Y., Stoyanova, V. K., Popov, N. T., & Vachev, T. I. (2015). Autism Spectrum Disorder - A Complex Genetic Disorder. *Folia medica*, 57(1), 19–28. <https://doi.org/10.1515/folmed-2015-0015>

Ip, Mellios, N., & Sur, M. (2018). Rett syndrome: insights into genetic, molecular and circuit mechanisms. *Nature Reviews. Neuroscience*, 19(6), 368–382. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0006-3>

Ishizuka, K., Yoshida, T., Kawabata, T., Imai, A., Mori, H., Kimura, H., Inada, T., Okahisa, Y., Egawa, J., Usami, M., Kushima, I., Morikawa, M., Okada, T., Ikeda, M., Branko, A., Mori, D., Someya, T., Iwata, N., & Ozaki, N. (2020). Functional characterization of rare NRXN1 variants identified in autism spectrum disorders and schizophrenia. *Journal of neurodevelopmental disorders*, 12(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s11689-020-09325-2>

Jacquemont, S., Coe, B. P., Hersch, M., Duyzend, M. H., Krumm, N., Bergmann, S., Beckmann, J. S., Rosenfeld, J. A., & Eichler, E. E. (2014). A higher mutational burden in females supports a "female protective model" in neurodevelopmental disorders. *American journal of human genetics*, 94(3), 415–425. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.02.001>

Jamain, S., Quach, H., Betancur, C., Råstam, M., Colineaux, C., Gillberg, I. C., Soderstrom, H., Giros, B., Leboyer, M., Gillberg, C., Bourgeron, T., & Paris Autism Research International Sibpair Study (2003). Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nature genetics*, 34(1), 27–29. <https://doi.org/10.1038/ng1136>

Jang, W., Kim, Y., Han, E., Park, J., Chae, H., Kwon, A., Choi, H., Kim, J., Son, J. O., Lee, S. J., Hong, B. Y., Jang, D. H., Han, J. Y., Lee, J. H., Kim, S. Y., Lee, I. G., Sung, I. K., Moon, Y., Kim, M., & Park, J. H. (2019). Chromosomal Microarray Analysis as a First-Tier Clinical Diagnostic Test in Patients With Developmental Delay/Intellectual Disability, Autism Spectrum Disorders, and Multiple Congenital Anomalies: A Prospective Multicenter Study in Korea. *Annals of laboratory medicine*, 39(3), 299–310. <https://doi.org/10.3343/alm.2019.39.3.299>

Jaramillo, T. C., Liu, S., Pettersen, A., Birnbaum, S. G., & Powell, C. M. (2014). Autism-related neuroligin-3 mutation alters social behavior and spatial learning. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 7(2), 264–272. <https://doi.org/10.1002/aur.1362>

Jedlicka, P., Vnencak, M., Krueger, D. D., Jungenitz, T., Brose, N., & Schwarzacher, S. W. (2015). Neuroligin-1 regulates excitatory synaptic transmission, LTP and EPSP-spike coupling in the dentate gyrus in vivo. *Brain structure & function*, 220(1), 47–58. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0636-1>

Kalsner, L., Twachtman-Bassett, J., Tokarski, K., Stanley, C., Dumont-Mathieu, T., Cotney, J., & Chamberlain, S. (2018). Genetic testing including targeted gene panel in a diverse clinical population of children with autism spectrum disorder: Findings and implications. *Molecular genetics & genomic medicine*, 6(2), 171–185. <https://doi.org/10.1002/mgg3.354>

Karhu, E., Zukerman, R., Eshraghi, R. S., Mittal, J., Deth, R. C., Castejon, A. M., Trivedi, M., Mittal, R., & Eshraghi, A. A. (2020). Nutritional interventions for autism spectrum disorder. *Nutrition reviews*, 78(7), 515–531. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz092>

Kastner, T., Walsh, K., Shulman, L., Alam, F., & Flood, S. (2016). Ketamine and the core symptoms of autism. *International Journal on Disability and Human Development* 15, 121–123

Khwaja, O. S., Ho, E., Barnes, K. V., O'Leary, H. M., Pereira, L. M., Finkelstein, Y., Nelson, C. A., 3rd, Vogel-Farley, V., DeGregorio, G., Holm, I. A., Khatwa, U., Kapur, K., Alexander, M. E., Finnegan, D. M., Cantwell, N. G., Walco, A. C., Rappaport, L., Gregas, M., Fichorova, R. N., Shannon, M. W., ... Kaufmann, W. E. (2014). Safety, pharmacokinetics, and preliminary assessment of efficacy of mecaseprin (recombinant human IGF-1) for the treatment of Rett syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(12), 4596–4601. <https://doi.org/10.1073/pnas.1311141111>

Khoja, S., Haile, M. T., & Chen, L. Y. (2023). Advances in neurexin studies and the emerging role of neurexin-2 in autism spectrum disorder. *Frontiers in molecular neuroscience*, 16, 1125087. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1125087>

Kim, W. S., Wong, J., Weickert, C. S., Webster, M. J., Bahn, S., & Garner, B. (2009). Apolipoprotein-D expression is increased during development and maturation of the human prefrontal cortex. *Journal of neurochemistry*, 109(4), 1053–1066. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06031.x>

Klei, L., Sanders, S. J., Murtha, M. T., Hus, V., Lowe, J. K., Willsey, A. J., Moreno-DeLuca, D., Yu, T. W., Fombonne, E., Geschwind, D., Grice, D. E., Ledbetter, D. H., Lord, C., Mane, S. M., Martin, C. L., Martin, D. M., Morrow, E. M., Walsh, C. A., Melhem, N. M., Chaste, P., ... Devlin, B. (2012). Common genetic variants, acting additively, are a major source of risk for autism. *Molecular autism*, 3(1), 9. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-3-9>

Klein, C. J., & Foroud, T. M. (2017). Neurology Individualized Medicine: When to Use Next-Generation Sequencing Panels. *Mayo Clinic proceedings*, 92(2), 292–305. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.09.008>

Kosacka, J., Gericke, M., Nowicki, M., Kacza, J., Borlak, J., & Spanel-Borowski, K. (2009). Apolipoproteins D and E3 exert neurotrophic and synaptogenic effects in dorsal root ganglion cell cultures. *Neuroscience*, 162(2), 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.04.073>

Kreiman, B. L., & Boles, R. G. (2020). State of the Art of Genetic Testing for Patients With Autism: A Practical Guide for Clinicians. *Seminars in pediatric neurology*, 34, 100804. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2020.100804>

Leblond, C. S., Nava, C., Polge, A., Gauthier, J., Huguet, G., Lumbroso, S., Giuliano, F., Stordeur, C., Depienne, C., Mouzat, K., Pinto, D., Howe, J., Lemièrre, N., Durand, C. M., Guibert, J., Ey, E., Toro, R., Peyre, H., Mathieu, A., Amsellem, F., ... Bourgeron, T. (2014). Meta-analysis of SHANK Mutations in Autism Spectrum Disorders: a gradient of severity in cognitive impairments. *PLoS genetics*, 10(9), e1004580. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004580>

Lee, C. L., Chuang, C. K., Tu, R. Y., Chiu, H. C., Lo, Y. T., Chang, Y. H., Chen, Y. J., Chou, C. L., Wu, P. S., Chen, C. P., Lin, H. Y., & Lin, S. P. (2021). Increased Diagnostic Yield of Array Comparative Genomic Hybridization for Autism Spectrum Disorder in One Institution in Taiwan. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 58(1), 15. <https://doi.org/10.3390/medicina58010015>

Lee, R. W. Y., Corley, M. J., Pang, A., Arakaki, G., Abbott, L., Nishimoto, M., Miyamoto, R., Lee, E., Yamamoto, S., Maunakea, A. K., Lum-Jones, A., & Wong, M. (2018). A modified ketogenic gluten-free diet with MCT improves behavior in children with autism spectrum disorder. *Physiology & behavior*, 188, 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.02.006>

Lee, J. S., Hwang, H., Kim, S. Y., Kim, K. J., Choi, J. S., Woo, M. J., Choi, Y. M., Jun, J. K., Lim, B. C., & Chae, J. H. (2018). Chromosomal Microarray With Clinical Diagnostic Utility in Children With Developmental Delay or Intellectual Disability. *Annals of laboratory medicine*, 38(5), 473–480. <https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.5.473>

Lee, B. K., & McGrath, J. J. (2015). Advancing parental age and autism: multifactorial pathways. *Trends in molecular medicine*, 21(2), 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.11.005>

Lemonnier, E., Degrez, C., Phelep, M., Tyzio, R., Josse, F., Grandgeorge, M., Hadjikhani, N., & Ben-Ari, Y. (2012). A randomised controlled trial of bumetanide in the treatment of autism in children. *Translational psychiatry*, 2(12), e202. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.124>

Lemonnier, E., Villeneuve, N., Sonie, S., Serret, S., Rosier, A., Roue, M., Brosset, P., Viellard, M., Bernoux, D., Rondeau, S., Thummler, S., Ravel, D., & Ben-Ari, Y. (2017). Effects of bumetanide on neurobehavioral function in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Translational psychiatry*, 7(3), e1056. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.10>

Leppert, B., Havdahl, A., Riglin, L., Jones, H. J., Zheng, J., Davey Smith, G., Tilling, K., Thapar, A., Reichborn-Kjennerud, T., & Stergiakouli, E. (2019). Association of Maternal Neurodevelopmental Risk Alleles With Early-Life Exposures. *JAMA psychiatry*, 76(8), 834–842. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.0774>

Li, M., Fallin, M. D., Riley, A., Landa, R., Walker, S. O., Silverstein, M., Caruso, D., Pearson, C., Kiang, S., Dahm, J. L., Hong, X., Wang, G., Wang, M. C., Zuckerman, B., & Wang, X. (2016). The Association of Maternal Obesity and Diabetes With Autism and Other Developmental Disabilities. *Pediatrics*, 137(2), e20152206. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-2206>

Li, Q., Liang, J., Fu, N., Han, Y., & Qin, J. (2021). A Ketogenic Diet and the Treatment of Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in pediatrics*, 9, 650624. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.650624>

Li, X., Hu, Z., He, Y., Xiong, Z., Long, Z., Peng, Y., Bu, F., Ling, J., Xun, G., Mo, X., Pan, Q., Zhao, J., & Xia, K. (2010). Association analysis of CNTNAP2 polymorphisms with autism in the Chinese Han population. *Psychiatric genetics*, 20(3), 113–117. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e32833a216f>

Li, Y., Qiu, S., Shi, J., Guo, Y., Li, Z., Cheng, Y., & Liu, Y. (2020). Association between MTHFR C677T/A1298C and susceptibility to autism spectrum disorders: a meta-analysis. *BMC pediatrics*, 20(1), 449. <https://doi.org/10.1186/s12887-020-02330-3>

Li, S., Weidenfeld, J., & Morrissey, E. E. (2004). Transcriptional and DNA binding activity of the Foxp1/2/4 family is modulated by heterotypic and homotypic protein interactions. *Molecular and cellular biology*, 24(2), 809–822. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.2.809-822.2004>

Liang, J., Xu, W., Hsu, Y. T., Yee, A. X., Chen, L., & Südhof, T. C. (2015). Conditional neuroligin-2 knockout in adult medial prefrontal cortex links chronic changes in synaptic inhibition to cognitive impairments. *Molecular psychiatry*, *20*(7), 850–859. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.31>

Lindstrand, A., Eisfeldt, J., Pettersson, M., Carvalho, C. M. B., Kvarnung, M., Grigelioniene, G., Anderlid, B. M., Bjerin, O., Gustavsson, P., Hammarsjö, A., Georgii-Hemming, P., Iwarsson, E., Johansson-Soller, M., Lagerstedt-Robinson, K., Lieden, A., Magnusson, M., Martin, M., Malmgren, H., Nordenskjöld, M., Norling, A., ... Nilsson, D. (2019). From cytogenetics to cytogenomics: whole-genome sequencing as a first-line test comprehensively captures the diverse spectrum of disease-causing genetic variation underlying intellectual disability. *Genome medicine*, *11*(1), 68. <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0675-1>

Liu, Q., Chen, M. X., Sun, L., Wallis, C. U., Zhou, J. S., Ao, L. J., Li, Q., & Sham, P. C. (2019). Rational use of mesenchymal stem cells in the treatment of autism spectrum disorders. *World journal of stem cells*, *11*(2), 55–72. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v11.i2.55>

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>.

Lord, C., Brugha, T. S., Charman, T., Cusack, J., Dumas, G., Frazier, T., Jones, E. J. H., Jones, R. M., Pickles, A., State, M. W., Taylor, J. L., & Veenstra-VanderWeele, J. (2020). Autism spectrum disorder. *Nature reviews. Disease primers*, *6*(1), 5. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0138-4>

Lord, C., Elsabbagh, M., Baird, G., & Veenstra-Vanderweele, J. (2018). Autism spectrum disorder. *Lancet (London, England)*, *392*(10146), 508–520. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31129-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31129-2)

Lu, S., Chen, Y., & Wang, Z. (2022). Advances in the pathogenesis of Rett syndrome using cell models. *Animal models and experimental medicine*, 10.1002/ame2.12236. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/ame2.12236>

Ma, K., Qin, L., Matas, E., Duffney, L. J., Liu, A., & Yan, Z. (2018). Histone deacetylase inhibitor MS-275 restores social and synaptic function in a Shank3-deficient mouse model of autism. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *43*(8), 1779–1788. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0073-1>

MacDonald, J. R., Ziman, R., Yuen, R. K., Feuk, L., & Scherer, S. W. (2014). The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic acids research*, *42*(Database issue), D986–D992. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt958>

Mahdavi, M., Kheirollahi, M., Riahi, R., Khorvash, F., Khorrami, M., & Mirsafaie, M. (2018). Meta-Analysis of the Association between GABA Receptor Polymorphisms and Autism Spectrum Disorder (ASD). *Journal of molecular neuroscience : MN*, *65*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s12031-018-1073-7>

Marlborough, M., Welham, A., Jones, C., Reckless, S., & Moss, J. (2021). Autism spectrum disorder in females with fragile X syndrome: a systematic review and meta-analysis of prevalence. *Journal of neurodevelopmental disorders*, *13*(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s11689-021-09362-5>

Manrai, A. K., Funke, B. H., Rehm, H. L., Olesen, M. S., Maron, B. A., Szolovits, P., Margulies, D. M., Loscalzo, J., & Kohane, I. S. (2016). Genetic Misdiagnoses and the Potential for Health Disparities. *The New England journal of medicine*, *375*(7), 655–665. <https://doi.org/10.1056/NEJMsa1507092>

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>

McGrew, S. G., Peters, B. R., Crittendon, J. A., & Veenstra-Vanderweele, J. (2012). Diagnostic yield of chromosomal microarray analysis in an autism primary care practice: which guidelines to implement?. *Journal of autism and developmental disorders*, *42*(8), 1582–1591. <https://doi.org/10.1007/s10803-011-1398-3>

Mitchell, M. M., Woods, R., Chi, L. H., Schmidt, R. J., Pessah, I. N., Kostyniak, P. J., & LaSalle, J. M. (2012). Levels of select PCB and PBDE congeners in human postmortem brain reveal possible environmental involvement in 15q11-q13 duplication autism spectrum disorder. *Environmental and molecular mutagenesis*, *53*(8), 589–598. <https://doi.org/10.1002/em.21722>

Modabbernia, A., Velthorst, E., & Reichenberg, A. (2017). Environmental risk factors for autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. *Molecular autism*, *8*, 13. <https://doi.org/10.1186/s13229-017-0121-4>

Monteiro, P., & Feng, G. (2017). SHANK proteins: roles at the synapse and in autism spectrum disorder. *Nature reviews. Neuroscience*, *18*(3), 147–157. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.183>

Mottron, L., Bzdok, D. Autism spectrum heterogeneity: fact or artifact?. *Mol Psychiatry* **25**, 3178–3185 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0748-y>

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>

Murias, M., Major, S., Compton, S., Buttinger, J., Sun, J. M., Kurtzberg, J., & Dawson, G. (2018). Electrophysiological Biomarkers Predict Clinical Improvement in an Open-Label Trial Assessing Efficacy of Autologous Umbilical Cord Blood for Treatment of Autism. *Stem cells translational medicine*, 7(11), 783–791. <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0090>

Nahum Sacks, K., Friger, M., Shoham-Vardi, I., Abokaf, H., Spiegel, E., Sergienko, R., Landau, D., & Sheiner, E. (2016). Prenatal exposure to gestational diabetes mellitus as an independent risk factor for long-term neuropsychiatric morbidity of the offspring. *American journal of obstetrics and gynecology*, 215(3), 380.e1–380.e3807. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.03.030>

Nakanishi, M., Nomura, J., Ji, X., Tamada, K., Arai, T., Takahashi, E., Bućan, M., & Takumi, T. (2017). Functional significance of rare neuroligin 1 variants found in autism. *PLoS genetics*, 13(8), e1006940. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006940>

Nakanishi, M., Anderson, M. P., & Takumi, T. (2019). Recent genetic and functional insights in autism spectrum disorder. *Current opinion in neurology*, 32(4), 627–634. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000718>

Narzisi, A., Masi, G., & Grossi, E. (2021). Nutrition and Autism Spectrum Disorder: Between False Myths and Real Research-Based Opportunities. *Nutrients*, 13(6), 2068. <https://doi.org/10.3390/nu13062068>

Nguyen, T. A., Wu, K., Pandey, S., Lehr, A. W., Li, Y., Bembem, M. A., Badger, J. D., 2nd, Lauzon, J. L., Wang, T., Zaghoul, K. A., Thurm, A., Jain, M., Lu, W., & Roche, K. W. (2020). A Cluster of Autism-Associated Variants on X-Linked NLGN4X Functionally Resemble NLGN4Y. *Neuron*, 106(5), 759–768.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.03.008>

Niemi, M. E. K., Martin, H. C., Rice, D. L., Gallone, G., Gordon, S., Kelemen, M., McAloney, K., McRae, J., Radford, E. J., Yu, S., Gecz, J., Martin, N. G., Wright, C. F., Fitzpatrick, D. R., Firth, H. V., Hurles, M. E., & Barrett, J. C. (2018). Common genetic variants contribute to risk of rare severe neurodevelopmental disorders. *Nature*, 562(7726), 268–271. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0566-4>

O'Leary, H. M., Kaufmann, W. E., Barnes, K. V., Rakesh, K., Kapur, K., Tarquinio, D. C., Cantwell, N. G., Roche, K. J., Rose, S. A., Walco, A. C., Bruck, N. M., Bazin, G. A., Holm, I. A., Alexander, M. E., Swanson, L. C., Baczewski, L. M., Poon, C., Mayor Torres, J. M., Nelson, C. A., 3rd, & Sahin, M. (2018). Placebo-controlled crossover assessment of mecamsermin for the treatment of Rett syndrome. *Annals of clinical and translational neurology*, 5(3), 323–332. <https://doi.org/10.1002/acn3.533>

Ordoñez, C., Navarro, A., Perez, C., Astudillo, A., Martínez, E., & Tolivia, J. (2006). Apolipoprotein D expression in substantia nigra of Parkinson disease. *Histology and histopathology*, 21(4), 361–366. <https://doi.org/10.14670/HH-21.361>



O'Roak, B. J., Deriziotis, P., Lee, C., Vives, L., Schwartz, J. J., Girirajan, S., Karakoc, E., Mackenzie, A. P., Ng, S. B., Baker, C., Rieder, M. J., Nickerson, D. A., Bernier, R., Fisher, S. E., Shendure, J., & Eichler, E. E. (2011). Exome sequencing in sporadic autism spectrum disorders identifies severe de novo mutations. *Nature genetics*, 43(6), 585–589. <https://doi.org/10.1038/ng.835>

O'Roak, B. J., Stessman, H. A., Boyle, E. A., Witherspoon, K. T., Martin, B., Lee, C., Vives, L., Baker, C., Hiatt, J. B., Nickerson, D. A., Bernier, R., Shendure, J., & Eichler, E. E. (2014). Recurrent de novo mutations implicate novel genes underlying simplex autism risk. *Nature communications*, 5, 5595. <https://doi.org/10.1038/ncomms6595>

Orphanet <https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Drugs.php?lng=EN>

Özgen, M. H., & van den Brink, W. (2021). Ketamine als zelfmedicatie bij patiënt met autismespectrumstoornis en therapieresistente depressie [Ketamine self-medication in a patient with autism spectrum disorder and comorbid treatment-resistant depression]. *Tijdschrift voor psychiatrie*, 63(12), 890–894.

Palmer, N., Beam, A., Agniel, D., Eran, A., Manrai, A., Spettell, C., Steinberg, G., Mandl, K., Fox, K., Nelson, S. F., & Kohane, I. (2017). Association of Sex With Recurrence of Autism Spectrum Disorder Among Siblings. *JAMA pediatrics*, 171(11), 1107–1112. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2017.2832>

Parente, D. J., Garriga, C., Baskin, B., Douglas, G., Cho, M. T., Araujo, G. C., & Shinawi, M. (2017). Neurologin 2 nonsense variant associated with anxiety, autism, intellectual disability, hyperphagia, and obesity. *American journal of medical genetics. Part A*, 173(1), 213–216. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37977>

Paşca, S. P., Nemeş, B., Vlase, L., Gagyi, C. E., Dronca, E., Miu, A. C., & Dronca, M. (2006). High levels of homocysteine and low serum paraoxonase 1 arylesterase activity in children with autism. *Life sciences*, 78(19), 2244–2248. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.040>

Persico, A. M., & Napolioni, V. (2013). Autism genetics. *Behavioural brain research*, 251, 95–112. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.06.012>

Pezzani, L., Milani, D. (2020). Epidemiology of Neurofibromatosis Type 1. In: Tadini, G., Legius, E., Brems, H. (eds) *Multidisciplinary Approach to Neurofibromatosis Type 1*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-92450-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-92450-2_1)

Pini, G., Congiu, L., Benincasa, A., DiMarco, P., Bigoni, S., Dyer, A. H., Mortimer, N., Della-Chiesa, A., O'Leary, S., McNamara, R., Mitchell, K. J., Gill, M., & Tropea, D. (2016). Illness Severity, Social and Cognitive Ability, and EEG Analysis of Ten Patients with Rett Syndrome Treated with Mecasermin (Recombinant Human IGF-1). *Autism research and treatment*, 2016, 5073078. <https://doi.org/10.1155/2016/5073078>

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>

Pinto, D., Delaby, E., Merico, D., Barbosa, M., Merikangas, A., Klei, L., Thiruvahindrapuram, B., Xu, X., Ziman, R., Wang, Z., Vorstman, J. A., Thompson, A., Regan, R., Pilorge, M., Pellecchia, G., Pagnamenta, A. T., Oliveira, B., Marshall, C. R., Magalhaes, T. R., Lowe, J. K., ... Scherer, S. W. (2014). Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. *American journal of human genetics*, *94*(5), 677–694. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.03.018>

Portocarrero, L. K. L., Quental, K. N., Samorano, L. P., Oliveira, Z. N. P., & Rivitti-Machado, M. C. D. M. (2018). Tuberous sclerosis complex: review based on new diagnostic criteria. *Anais brasileiros de dermatologia*, *93*(3), 323–331. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20186972>

Pös, O., Radvanszky, J., Buglyó, G., Pös, Z., Rusnakova, D., Nagy, B., & Szemes, T. (2021). DNA copy number variation: Main characteristics, evolutionary significance, and pathological aspects. *Biomedical journal*, *44*(5), 548–559. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2021.02.003>

Qin, L., Ma, K., Wang, Z. J., Hu, Z., Matas, E., Wei, J., & Yan, Z. (2018). Social deficits in Shank3-deficient mouse models of autism are rescued by histone deacetylase (HDAC) inhibition. *Nature neuroscience*, *21*(4), 564–575. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0110-8>

Qiu, S., Qiu, Y., Li, Y., & Cong, X. (2022). Genetics of autism spectrum disorder: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Translational psychiatry*, *12*(1), 249. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02009-6>

Quartier, A., Courraud, J., Thi Ha, T., McGillivray, G., Isidor, B., Rose, K., Drouot, N., Savidan, M. A., Feger, C., Jagline, H., Chelly, J., Shaw, M., Laumonnier, F., Gecz, J., Mandel, J. L., & Piton, A. (2019). Novel mutations in NLGN3 causing autism spectrum disorder and cognitive impairment. *Human mutation*, *40*(11), 2021–2032. <https://doi.org/10.1002/humu.23836>

Ramaekers, V. T., Sequeira, J. M., DiDuca, M., Vrancken, G., Thomas, A., Philippe, C., Peters, M., Jadot, A., & Quadros, E. V. (2019). Improving Outcome in Infantile Autism with Folate Receptor Autoimmunity and Nutritional Derangements: A Self-Controlled Trial. *Autism research and treatment*, *2019*, 7486431. <https://doi.org/10.1155/2019/7486431>

Richards, C., Jones, C., Groves, L., Moss, J., & Oliver, C. (2015). Prevalence of autism spectrum disorder phenomenology in genetic disorders: a systematic review and meta-analysis. *The lancet. Psychiatry*, 2(10), 909–916. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(15\)00376-4](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(15)00376-4)

Rosen, N. E., Lord, C., & Volkmar, F. R. (2021). The Diagnosis of Autism: From Kanner to DSM-III to DSM-5 and Beyond. *Journal of autism and developmental disorders*, 51(12), 4253–4270. <https://doi.org/10.1007/s10803-021-04904-1>

Rossignol, D. A., Genuis, S. J., & Frye, R. E. (2014). Environmental toxicants and autism spectrum disorders: a systematic review. *Translational psychiatry*, 4(2), e360. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.4>

Ruan, H. B., & Crawford, P. A. (2018). Ketone bodies as epigenetic modifiers. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 21(4), 260–266. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000475>

Sadeghiyeh, T., Dastgheib, S. A., Mirzaee-Khoramabadi, K., Morovati-Sharifabad, M., Akbarian-Bafghi, M. J., Poursharif, Z., Mirjalili, S. R., & Neamatzadeh, H. (2019). Association of MTHFR 677C>T and 1298A>C polymorphisms with susceptibility to autism: A systematic review and meta-analysis. *Asian journal of psychiatry*, 46, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2019.09.016>

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>

Sanders, S. J., He, X., Willsey, A. J., Ercan-Sencicek, A. G., Samocha, K. E., Cicek, A. E., Murtha, M. T., Bal, V. H., Bishop, S. L., Dong, S., Goldberg, A. P., Jinlu, C., Keaney, J. F., 3rd, Klei, L., Mandell, J. D., Moreno-De-Luca, D., Poultney, C. S., Robinson, E. B., Smith, L., Solli-Nowlan, T., ... State, M. W. (2015). Insights into Autism Spectrum Disorder Genomic Architecture and Biology from 71 Risk Loci. *Neuron*, 87(6), 1215–1233. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.016>

Sanders, S. J., Murtha, M. T., Gupta, A. R., Murdoch, J. D., Raubeson, M. J., Willsey, A. J., Ercan-Sencicek, A. G., DiLullo, N. M., Parikshak, N. N., Stein, J. L., Walker, M. F., Ober, G. T., Teran, N. A., Song, Y., El-Fishawy, P., Murtha, R. C., Choi, M., Overton, J. D., Bjornson, R. D., Carriero, N. J., ... State, M. W. (2012). De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature*, 485(7397), 237–241. <https://doi.org/10.1038/nature10945>

Sanders S. J. (2019). Next-Generation Sequencing in Autism Spectrum Disorder. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 9(8), a026872. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026872>

Sandin, S., Lichtenstein, P., Kuja-Halkola, R., Hultman, C., Larsson, H., & Reichenberg, A. (2017). The Heritability of Autism Spectrum Disorder. *JAMA*, 318(12), 1182–1184. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.12141>

Sato A. (2016). mTOR, a Potential Target to Treat Autism Spectrum Disorder. *CNS & neurological disorders drug targets*, 15(5), 533–543. <https://doi.org/10.2174/1871527315666160413120638>

Satterstrom, F. K., Kosmicki, J. A., Wang, J., Breen, M. S., De Rubeis, S., An, J. Y., Peng, M., Collins, R., Grove, J., Klei, L., Stevens, C., Reichert, J., Mulhern, M. S., Artomov, M., Gerges, S., Sheppard, B., Xu, X., Bhaduri, A., Norman, U., Brand, H., ... Buxbaum, J. D. (2020). Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. *Cell*, 180(3), 568–584.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.036>

Schaefer G. B. (2016). Clinical Genetic Aspects of ASD Spectrum Disorders. *International journal of molecular sciences*, 17(2), 180. <https://doi.org/10.3390/ijms17020180>

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>

Scott-Van Zeeland, A. A., Abrahams, B. S., Alvarez-Retuerto, A. I., Sonnenblick, L. I., Rudie, J. D., Ghahremani, D., Mumford, J. A., Poldrack, R. A., Dapretto, M., Geschwind, D. H., & Bookheimer, S. Y. (2010). Altered functional connectivity in frontal lobe circuits is associated with variation in the autism risk gene CNTNAP2. *Science translational medicine*, 2(56), 56ra80. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001344>

Sesarini, C. V., Costa, L., Naymark, M., Grañana, N., Cajal, A. R., García Coto, M., Pallia, R. C., & Argibay, P. F. (2014). Evidence for interaction between markers in GABA(A) receptor subunit genes in an Argentinean autism spectrum disorder population. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 7(1), 162–166. <https://doi.org/10.1002/aur.1353>

Sehn, J. K. (2015). Insertions and Deletions (Indels) (S. Kulkarni & J. Pfeifer, Eds.). ScienceDirect; Academic Press.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B978012404748800009>

- Sharma, S. R., Gonda, X., & Tarazi, F. I. (2018). Autism Spectrum Disorder: Classification, diagnosis and therapy. *Pharmacology & therapeutics*, 190, 91–104. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.05.007>
- Shcheglovitov, A., Shcheglovitova, O., Yazawa, M., Portmann, T., Shu, R., Sebastiano, V., Krawisz, A., Froehlich, W., Bernstein, J. A., Hallmayer, J. F., & Dolmetsch, R. E. (2013). SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature*, 503(7475), 267–271. <https://doi.org/10.1038/nature12618>
- Shelton, J. F., Geraghty, E. M., Tancredi, D. J., Delwiche, L. D., Schmidt, R. J., Ritz, B., Hansen, R. L., & Hertz-Picciotto, I. (2014). Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: the CHARGE study. *Environmental health perspectives*, 122(10), 1103–1109. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307044>
- Shi, L., Zhang, Z., & Su, B. (2016). Sex Biased Gene Expression Profiling of Human Brains at Major Developmental Stages. *Scientific reports*, 6, 21181. <https://doi.org/10.1038/srep21181>
- Silverman, J. L., Pride, M. C., Hayes, J. E., Puhger, K. R., Butler-Struben, H. M., Baker, S., & Crawley, J. N. (2015). GABAB Receptor Agonist R-Baclofen Reverses Social Deficits and Reduces Repetitive Behavior in Two Mouse Models of Autism. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 40(9), 2228–2239. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.66>
- Singh, K., Connors, S. L., Macklin, E. A., Smith, K. D., Fahey, J. W., Talalay, P., & Zimmerman, A. W. (2014). Sulforaphane treatment of autism spectrum disorder (ASD). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(43), 15550–15555. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416940111>
- Smith, H. S., Franciskovich, R., Lewis, A. M., Gerard, A., Littlejohn, R. O., Nugent, K., Rodriguez, J., & Streff, H. (2021). Outcomes of prior authorization requests for genetic testing in outpatient pediatric genetics clinics. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 23(5), 950–955. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-01081-x>
- Specchio, N., Pietrafusa, N., Trivisano, M., Moavero, R., De Palma, L., Ferretti, A., Vigevano, F., & Curatolo, P. (2020). Autism and Epilepsy in Patients With Tuberous Sclerosis Complex. *Frontiers in neurology*, 11, 639. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00639>
- Sprengers, J. J., van Andel, D. M., Zuithoff, N. P. A., Keijzer-Veen, M. G., Schulp, A. J. A., Scheepers, F. E., Lilien, M. R., Oranje, B., & Bruining, H. (2021). Bumetanide for Core Symptoms of Autism Spectrum Disorder (BAMBI): A Single Center, Double-Blinded, Participant-Randomized, Placebo-Controlled, Phase-2 Superiority Trial. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 60(7), 865–876. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2020.07.888>

Srivastava, S., Love-Nichols, J. A., Dies, K. A., Ledbetter, D. H., Martin, C. L., Chung, W. K., Firth, H. V., Frazier, T., Hansen, R. L., Prock, L., Brunner, H., Hoang, N., Scherer, S. W., Sahin, M., Miller, D. T., & NDD Exome Scoping Review Work Group (2019). Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 21(11), 2413–2421. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0554-6>

Stafford, C. F., & Sanchez-Lara, P. A. (2022). Impact of Genetic and Genomic Testing on the Clinical Management of Patients with Autism Spectrum Disorder. *Genes*, 13(4), 585. <https://doi.org/10.3390/genes13040585>

Stefanski, A., Calle-López, Y., Leu, C., Pérez-Palma, E., Pestana-Knight, E., & Lal, D. (2021). Clinical sequencing yield in epilepsy, autism spectrum disorder, and intellectual disability: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsia*, 62(1), 143–151. <https://doi.org/10.1111/epi.16755>

Styles, M., Alsharshani, D., Samara, M., Alsharshani, M., Khattab, A., Qoronfleh, M. W., & Al-Dewik, N. I. (2020). Risk factors, diagnosis, prognosis and treatment of autism. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 25(9), 1682–1717. <https://doi.org/10.2741/4873>

Stoppel, L. J., Kazdoba, T. M., Schaffler, M. D., Preza, A. R., Heynen, A., Crawley, J. N., & Bear, M. F. (2018). R-Baclofen Reverses Cognitive Deficits and Improves Social Interactions in Two Lines of 16p11.2 Deletion Mice. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 43(3), 513–524. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.236>

Sun, J. M., & Kurtzberg, J. (2018). Cell therapy for diverse central nervous system disorders: inherited metabolic diseases and autism. *Pediatric research*, 83(1-2), 364–371. <https://doi.org/10.1038/pr.2017.254>

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>

Thapar, A., & Rutter, M. (2021). Genetic Advances in Autism. *Journal of autism and developmental disorders*, 51(12), 4321–4332. <https://doi.org/10.1007/s10803-020-04685-z>

Thomas, E. A., Dean, B., Pavey, G., & Sutcliffe, J. G. (2001). Increased CNS levels of apolipoprotein D in schizophrenic and bipolar subjects: implications for the pathophysiology of psychiatric disorders. *Proceedings of the National Academy of*

Sciences of the United States of America, 98(7), 4066–4071.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.071056198>

Thomas, E. A., Laws, S. M., Sutcliffe, J. G., Harper, C., Dean, B., McClean, C., Masters, C., Lautenschlager, N., Gandy, S. E., & Martins, R. N. (2003). Apolipoprotein D levels are elevated in prefrontal cortex of subjects with Alzheimer's disease: no relation to apolipoprotein E expression or genotype. *Biological psychiatry*, 54(2), 136–141.  
[https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(02\)01976-5](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(02)01976-5)

Thomaidis, L., Mavroei, N., Richardson, C., Choleva, A., Damianos, G., Boli, K., & Tsoia, M. (2020). Autism Spectrum Disorders in Greece: Nationwide Prevalence in 10-11 Year-Old Children and Regional Disparities. *Journal of clinical medicine*, 9(7), 2163. <https://doi.org/10.3390/jcm9072163>

Trobiani, L., Meringolo, M., Diamanti, T., Bourne, Y., Marchot, P., Martella, G., Dini, L., Pisani, A., De Jaco, A., & Bonsi, P. (2020). The neuroligins and the synaptic pathway in Autism Spectrum Disorder. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 119, 37–51. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.09.017>

Uddin, M. S., Azima, A., Aziz, M. A., Aka, T. D., Jafrin, S., Millat, M. S., Siddiqui, S. A., Uddin, M. G., Hussain, M. S., & Islam, M. S. (2021). CNTNAP2 gene polymorphisms in autism spectrum disorder and language impairment among Bangladeshi children: a case-control study combined with a meta-analysis. *Human cell*, 34(5), 1410–1423.  
<https://doi.org/10.1007/s13577-021-00546-8>

van der Burg, J. W., Sen, S., Chomitz, V. R., Seidell, J. C., Leviton, A., & Dammann, O. (2016). The role of systemic inflammation linking maternal BMI to neurodevelopment in children. *Pediatric research*, 79(1-1), 3–12.  
<https://doi.org/10.1038/pr.2015.179>

Varea, O., Martin-de-Saavedra, M. D., Kopeikina, K. J., Schürmann, B., Fleming, H. J., Fawcett-Patel, J. M., Bach, A., Jang, S., Peles, E., Kim, E., & Penzes, P. (2015). Synaptic abnormalities and cytoplasmic glutamate receptor aggregates in contactin associated protein-like 2/Caspr2 knockout neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(19), 6176–6181.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1423205112>

Vargas, D. L., Nascimbene, C., Krishnan, C., Zimmerman, A. W., & Pardo, C. A. (2005). Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of neurology*, 57(1), 67–81. <https://doi.org/10.1002/ana.20315>

Veenstra-VanderWeele, J., Cook, E. H., King, B. H., Zarevics, P., Cherubini, M., Walton-Bowen, K., Bear, M. F., Wang, P. P., & Carpenter, R. L. (2017). Arbaclofen in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder: A Randomized, Controlled, Phase 2 Trial. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 42(7), 1390–1398.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2016.237>

Vernes, S. C., Newbury, D. F., Abrahams, B. S., Winchester, L., Nicod, J., Groszer, M., Alarcón, M., Oliver, P. L., Davies, K. E., Geschwind, D. H., Monaco, A. P., & Fisher, S. E. (2008). A functional genetic link between distinct developmental language disorders. *The New England journal of medicine*, *359*(22), 2337–2345. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0802828>

von Ehrenstein, O. S., Ling, C., Cui, X., Cockburn, M., Park, A. S., Yu, F., Wu, J., & Ritz, B. (2019). Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study. *BMJ (Clinical research ed.)*, *364*, I962. <https://doi.org/10.1136/bmj.I962>

Wan, H., Zhang, C., Li, H., Luan, S., & Liu, C. (2018). Association of maternal diabetes with autism spectrum disorders in offspring: A systemic review and meta-analysis. *Medicine*, *97*(2), e9438. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000009438>

Wang, J., Gong, J., Li, L., Chen, Y., Liu, L., Gu, H., Luo, X., Hou, F., Zhang, J., & Song, R. (2018). Neurexin gene family variants as risk factors for autism spectrum disorder. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, *11*(1), 37–43. <https://doi.org/10.1002/aur.1881>

Wang, X., Lu, J., Xie, W., Lu, X., Liang, Y., Li, M., Wang, Z., Huang, X., Tang, M., Pfaff, D. W., Tang, Y. P., & Yao, P. (2019). Maternal diabetes induces autism-like behavior by hyperglycemia-mediated persistent oxidative stress and suppression of superoxide dismutase 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(47), 23743–23752. <https://doi.org/10.1073/pnas.1912625116>

Weiner, D. J., Wigdor, E. M., Ripke, S., Walters, R. K., Kosmicki, J. A., Grove, J., Samocha, K. E., Goldstein, J. I., Okbay, A., Bybjerg-Grauholm, J., Werge, T., Hougaard, D. M., Taylor, J., iPSYCH-Broad Autism Group, Psychiatric Genomics Consortium Autism Group, Skuse, D., Devlin, B., Anney, R., Sanders, S. J., Bishop, S., ... Robinson, E. B. (2017). Polygenic transmission disequilibrium confirms that common and rare variation act additively to create risk for autism spectrum disorders. *Nature genetics*, *49*(7), 978–985. <https://doi.org/10.1038/ng.3863>

Werling, D. M., & Geschwind, D. H. (2013). Sex differences in autism spectrum disorders. *Current opinion in neurology*, *26*(2), 146–153. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32835ee548>

Werling, D. M., & Geschwind, D. H. (2015). Recurrence rates provide evidence for sex-differential, familial genetic liability for autism spectrum disorders in multiplex families and twins. *Molecular autism*, *6*, 27. <https://doi.org/10.1186/s13229-015-0004-5>



White, C. L., Pistell, P. J., Purpera, M. N., Gupta, S., Fernandez-Kim, S. O., Hise, T. L., Keller, J. N., Ingram, D. K., Morrison, C. D., & Bruce-Keller, A. J. (2009). Effects of high fat diet on Morris maze performance, oxidative stress, and inflammation in rats: contributions of maternal diet. *Neurobiology of disease*, 35(1), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.04.002>

Windham, G. C., Anderson, M., Lyall, K., Daniels, J. L., Kral, T. V. E., Croen, L. A., Levy, S. E., Bradley, C. B., Cordero, C., Young, L., & Schieve, L. A. (2019). Maternal Pre-pregnancy Body Mass Index and Gestational Weight Gain in Relation to Autism Spectrum Disorder and other Developmental Disorders in Offspring. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 12(2), 316–327. <https://doi.org/10.1002/aur.2057>

Wink, L. K., Reisinger, D. L., Horn, P., Shaffer, R. C., O'Brien, K., Schmitt, L., Dominick, K. R., Pedapati, E. V., & Erickson, C. A. (2021). Brief Report: Intranasal Ketamine in Adolescents and Young Adults with Autism Spectrum Disorder-Initial Results of a Randomized, Controlled, Crossover, Pilot Study. *Journal of autism and developmental disorders*, 51(4), 1392–1399. <https://doi.org/10.1007/s10803-020-04542-z>

Wiśniowiecka-Kowalnik, B., & Nowakowska, B. A. (2019). Genetics and epigenetics of autism spectrum disorder-current evidence in the field. *Journal of applied genetics*, 60(1), 37–47. <https://doi.org/10.1007/s13353-018-00480-w>

Wohr M, Silverman JL, Scattoni ML, Turner SM, Harris MJ, Saxena R et al (2013). Developmental delays and reduced pup ultrasonic vocalizations but normal sociability in mice lacking the postsynaptic cell adhesion protein neuroligin2. *Behav Brain Res*, 251,50–64.

Wolff S. (2004). The history of autism. *European child & adolescent psychiatry*, 13(4), 201–208. <https://doi.org/10.1007/s00787-004-0363-5>

World Health Organization. (2018). International classification of diseases for mortality and morbidity statistics (11th Revision). Retrieved from [ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics \(who.int\)](https://www.who.int/icd-11-for-mortality-and-morbidity-statistics)

Wu, S., Wu, F., Ding, Y., Hou, J., Bi, J., & Zhang, Z. (2017). Advanced parental age and autism risk in children: a systematic review and meta-analysis. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 135(1), 29–41. <https://doi.org/10.1111/acps.12666>

Wyner, N., Barash, M., & McNevin, D. (2020). Forensic autosomal short tandem repeats and their potential association with phenotype. *Frontiers in Genetics*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2020.00884>

Xu, X., Xiong, Z., Zhang, L., Liu, Y., Lu, L., Peng, Y., Guo, H., Zhao, J., Xia, K., & Hu, Z. (2014). Variations analysis of NLGN3 and NLGN4X gene in Chinese autism patients. *Molecular biology reports*, 41(6), 4133–4140. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3284-5>

Yan, J., Feng, J., Schroer, R., Li, W., Skinner, C., Schwartz, C. E., Cook, E. H., Jr, & Sommer, S. S. (2008). Analysis of the neuroligin 4Y gene in patients with autism. *Psychiatric genetics*, *18*(4), 204–207. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e3282fb7fe6>

Yin, J., & Schaaf, C. P. (2017). Autism genetics - an overview. *Prenatal diagnosis*, *37*(1), 14–30. <https://doi.org/10.1002/pd.4942>

Yuen, C. R., Merico, D., Bookman, M. *et al.* (2017). Whole genome sequencing resource identifies 18 new candidate genes for autism spectrum disorder. *Nat Neurosci*, *20*, 602–611. <https://doi.org/10.1038/nn.4524>

Yuen, R. K., Thiruvahindrapuram, B., Merico, D., Walker, S., Tammimies, K., Hoang, N., Chrysler, C., Nalpathamkalam, T., Pellecchia, G., Liu, Y., Gazzellone, M. J., D'Abate, L., Deneault, E., Howe, J. L., Liu, R. S., Thompson, A., Zarrei, M., Uddin, M., Marshall, C. R., Ring, R. H., ... Scherer, S. W. (2015). Whole-genome sequencing of quartet families with autism spectrum disorder. *Nature medicine*, *21*(2), 185–191. <https://doi.org/10.1038/nm.3792>

Zanos, P., & Gould, T. D. (2018). Mechanisms of ketamine action as an antidepressant. *Molecular psychiatry*, *23*(4), 801–811. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.255>

Zeidan, J., Fombonne, E., Scora, J., Ibrahim, A., Durkin, M. S., Saxena, S., Yusuf, A., Shih, A., & Elsabbagh, M. (2022). Global prevalence of autism: A systematic review update. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, *15*(5), 778–790. <https://doi.org/10.1002/aur.2696>

Zhang, J., Ma, X., Su, Y., Wang, L., Shang, S., & Yue, W. (2021). Association Study of *MTHFR* C677T Polymorphism and Birth Body Mass With Risk of Autism in Chinese Han Population. *Frontiers in psychiatry*, *12*, 560948. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.560948>

Zhou, X., Feliciano, P., Shu, C., Wang, T., Astrovskaya, I., Hall, J. B., Obiajulu, J. U., Wright, J. R., Murali, S. C., Xu, S. X., Brueggeman, L., Thomas, T. R., Marchenko, O., Fleisch, C., Barns, S. D., Snyder, L. G., Han, B., Chang, T. S., Turner, T. N., Harvey, W. T., ... Chung, W. K. (2022). Integrating de novo and inherited variants in 42,607 autism cases identifies mutations in new moderate-risk genes. *Nature genetics*, *54*(9), 1305–1319. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01148-2>

Zhou, W. Z., Zhang, J., Li, Z., Lin, X., Li, J., Wang, S., Yang, C., Wu, Q., Ye, A. Y., Wang, M., Wang, D., Pu, T. Z., Wu, Y. Y., & Wei, L. (2019). Targeted resequencing of 358 candidate genes for autism spectrum disorder in a Chinese cohort reveals diagnostic potential and genotype-phenotype correlations. *Human mutation*, *40*(6), 801–815. <https://doi.org/10.1002/humu.23724>

Zhao, S., Chen, W. J., Dhar, S. U., Eble, T. N., Kwok, O. M., & Chen, L. S. (2019). Genetic Testing Experiences Among Parents of Children with Autism Spectrum Disorder in the United States. *Journal of autism and developmental disorders*, 49(12), 4821–4833. <https://doi.org/10.1007/s10803-019-04200-z>