



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ
Διευθυντής: Καθηγητής Ηλίας Α. ΖΙΝΤΖΑΡΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**« ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΣΥΓΚΛΙΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ
ΥΠΕΥΘΥΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΓΙΑ ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ »**

ΥΠΟ

ΜΠΟΥΛΙΜΑΡΗ ΙΩΑΝΝΑΣ

ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ, MSC

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2022

Copyright © Μπουλιμάρη Ιωάννα, 2022

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής (5^η/14-12-2022 ΓΣΕΣ):

- | | |
|---|--|
| 1^{ος} Εξεταστής
(Επιβλέπων) | Δρ. Ηλίας Α. Ζιντζαράς
<i>Καθηγητής Βιομαθηματικών-Βιομετρίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας</i> |
| 2^{ος} Εξεταστής | Δρ. Ευθύμιος Λαρδιώτης
<i>Αναπληρωτής Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας</i> |
| 3^{ος} Εξεταστής | Δρ. Ιωάννης Στεφανίδης
<i>Καθηγητής Παθολογίας-Νεφρολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας</i> |
| 4^{ος} Εξεταστής | Δρ. Κωνσταντίνος Νταφόπουλος
<i>Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας</i> |
| 5^{ος} Εξεταστής | Δρ. Χριστίνα Μεσσήνη
<i>Επίκουρη Καθηγήτρια Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας</i> |
| 6^{ος} Εξεταστής | Δρ. Ιωάννης Σκουλαρίγκης
<i>Καθηγητής Καρδιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας</i> |
| 7^{ος} Εξεταστής | Δρ. Δημήτριος Ζαχαρούλης
<i>Καθηγητής Γενικής Χειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας</i> |

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου στους καθηγητές της τριμελούς επιτροπής για το άριστο κλίμα συνεργασίας και κυρίως στον κύριο επιβλέποντα Καθηγητή κ. Ηλία Ζιντζαρά για την ουσιαστική συμβολή του στην εκπόνηση της παρούσας ερευνητικής εργασίας καθώς και για την ευκαιρία να συνεργαστώ μαζί του όλο αυτό το διάστημα και να εκπονήσω τη διδακτορική διατριβή μου, όπως επίσης στους Καθηγητές κ. Ιωάννη Στεφανίδη και κ. Ευθύμιο Δαρδιώτη χωρίς τη βοήθεια των οποίων δε θα ήταν δυνατή η περάτωση της παρούσας εργασίας.

Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου, χωρίς τη στήριξη και συμπαράσταση των οποίων δε θα τα είχα καταφέρει.

Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα

Αφαίρεση προσωπικών δεδομένων
(Υπηρεσία Βιβλιοθήκης &
Πληροφόρησης Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας)

ΑΤΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο : Μπουλιμάρη Ιωάννα

Όνομα Πατρός : Αχιλλέας

Ημερομηνία γέννησης : *****

Τόπος γέννησης : *****

Διεύθυνση κατοικίας : *****

Τηλέφωνο επικοινωνίας :*****

E-mail : *****

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 05/2014 – σήμερα: Υποψήφιος διδάκτωρ στη Βιοστατιστική-Βιομετρία
Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Λάρισα, Ελλάδα
- 2011-2012 : Δίπλωμα μεταπτυχιακών σπουδών, ειδίκευσης με τίτλο
«Βιολογία της Αναπαραγωγής» της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας, Βαθμός τίτλου : 9,13 «Άριστα»
- 2005-2011 : Ιατρική Σχολή , Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
Βαθμός πτυχίου : 8,21 «Λίαν καλώς»
- 2002-2005 : 9^ο Ενιαίο Λύκειο Λάρισας, Βαθμός απολυτηρίου : 19 και 7/10.
Άριστα

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 09/2020 - σήμερα: Εξειδικευόμενη Νεογνολογίας, Μονάδα Εντατικής
Νοσηλείας Νεογνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας
- 04/2020 - 09/2020: Επικουρική Επιμελήτρια Β', Παιδιατρική Κλινική Γενικού
Νοσοκομείου Λάρισας

- 10/2017 – 04/2020: Ειδικευόμενη Παιδιατρικής, Α΄ Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παίδων «Αγία Σοφία»
- 11/2014-03/2017: Ειδικευόμενη Παιδιατρικής Κλινικής, Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας
- 12/2013-03/2014: Υπηρεσία Υπαίθρου, Κ.Υ.Αγιάς, Γ.Ν.Λάρισας
- 2014-σήμερα : Ιατρικός σύμβουλος κλινικών μελετών, Οργανισμός Βιομετρικών και Κλινικών Ελέγχων, «BECRO», Λάρισα

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά Πτυχίο : Certificate of Proficiency in English, University of Michigan .Άριστη γνώση

Γαλλικά Πτυχίο : Diplome approfondi de langue francaise , DALF. . Άριστη γνώση

ΓΝΩΣΕΙΣ Η/Υ

ECDL Core Certificate

Στατιστικά Πακέτα: SPSS

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Bakalos G, Miligkos M, Doxani C, **Mpoulimari I**, Rodopoulou P, Zintzaras E. Assessing the relative effectiveness and tolerability of treatments in small cell lung cancer: A network meta-analysis. Cancer Epidemiol. 2013 Oct;37(5):675-82.
2. Zintzaras E, Miligkos M, Ziakas P, Balk EM, Mademtzoglou D, Doxani C, Mprotsis T, Gowri R, Xanthopoulou P, **Mpoulimari I**, Kokkali C, Dimoulou G, Rodopolou P, Stefanidis I, Kent DM, Hadjigeorgiou GM. Assessment of the relative effectiveness and tolerability of treatments of type 2 diabetes mellitus: a network meta-analysis. Clin Ther. 2014 Oct 1;36(10):1443-53.
3. Paterakis K, Koutsias S, Doxani C, Xanthopoulou P, Kokkali C, **Mpoulimari I**, Tziastoudi M, Karampelas I, Dardiotis E, Hadjigeorgiou G, Brotis AG, Zintzaras E. Variants of the elastin (ELN) gene and susceptibility to intracranial aneurysm: a synthesis of genetic association studies using a genetic model-free approach. Int

J Neurosci. 2017 Jul;127(7):567-572. doi: 10.1080/00207454.2016.1212027. Epub 2016 Aug 14. PMID: 27687579.

4. Mpoulimari I, Zintzaras E. Identification of Chromosomal Regions Linked to Autism-Spectrum Disorders: A Meta-Analysis of Genome-Wide Linkage Scans. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2022;26(2):59-69. doi:10.1089/gtmb.2021.0236
5. Mpoulimari I, Zintzaras E. Synthesis of genetic association studies on autism spectrum disorders using a genetic model-free approach. *Psychiatr Genet*. 2022;32(3):91-104. doi:10.1097/YPG.0000000000000316

Συμμετοχή και ελεύθερες ανακοινώσεις σε πολυάριθμα επιστημονικά συνέδρια και συμπόσια Παιδιατρικής

«ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΣΥΓΚΛΙΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΥΠΕΥΘΥΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΓΙΑ ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ»

ΜΠΟΥΛΙΜΑΡΗ ΙΩΑΝΝΑ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2022

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Δρ. Ηλίας Α. Ζιντζαράς**, Καθηγητής Βιομαθηματικών-Βιομετρίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας - (Επιβλέπων)
2. **Δρ. Ευθύμιος Δαρδιώτης**, Αναπληρωτής Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. **Δρ. Ιωάννης Στεφανίδης**, Καθηγητής Παθολογίας-Νεφρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Περιεχόμενα

A. Περίληψη.....	11
B. Abstract.....	13
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	15
1. Γενετική επιδημιολογία.....	16
1.1 Πολυγονιδιακά-Πολυπαραγοντικά Νοσήματα.....	16
1.2 Ενδείξεις για την συμβολή γενετικών παραγόντων στην εκδήλωση πολυπαραγοντικών νοσημάτων.....	18
1.3 Κληρονομησιμότητα.....	19
1.4 Μοντέλα πολυπαραγοντικής κληρομονικότητας.....	20
1.5 Γενετικές μελέτες σε πολυπαραγοντικά νοσήματα	21
1.6 Γενετική ποικιλομορφία.....	22
2. Διαταραχές στο φάσμα του αυτισμού.....	25
2.1 Εννοιολογικός Προσδιορισμός Αυτισμού – Διαγνωστικά Κριτήρια.....	25
2.2 Κυρίαρχα χαρακτηριστικά διαταραχών του φάσματος του αυτισμού.....	29
2.3 Διάγνωση -αξιολόγηση παιδιών με αυτισμό.....	35
2.4 Ιστορική Αναδρομή.....	38
2.5 Επιδημιολογία.....	40
2.6 Γενετική επιδημιολογία.....	43
2.6.1 Χρωμοσωμικές ανωμαλίες σχετιζόμενες με ASDs.....	48
2.6.1.1 Υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες σχετιζόμενες με ASDs.....	49
2.6.1.2 Χρωμοσωμικές ανωμαλίες σχετιζόμενες με ASDs ορατές με το μικροσκόπιο.....	50
2.6.2 Μονογονιδιακά νοσήματα σχετιζόμενα με τις ASDs.....	51
2.6.3 Μεταβολικά νοσήματα σχετιζόμενα με τις ASDs.....	53

2.6.4 Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί γονιδίων (SNPs) σχετιζόμενοι με τις ASDs...	53
2.6.5 Αλληλεπίδραση μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος.....	56
2.6.6 Επιγενετική.....	59
2.7 Γενετικές μελέτες	60
2.7.1 Μελέτες γονιδιωματικής σύνδεσης.....	62
2.7.2 Μελέτες γενετικής συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων.....	69
2.7.3 Μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (GWAS).....	72
2.7.4 Μελέτες βασιζόμενες σε μικροσυστοιχίες.....	73
2.7.5 Αλληλούχιση νέας γενιάς (Next Generation Sequencing – NGS).....	74
2.8. Μοριακά -μεταβολικά μονοπάτια σχετιζόμενα με τις ASDs.....	74
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	78
Ειδικοί Σκοποί.....	79
Ειδικός Σκοπός 1: Μετα-ανάλυση μελετών ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης με στόχο τον προσδιορισμό των υπεύθυνων γενετικών τόπων συνδεόμενων με τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.....	80
Ειδικός Σκοπός 2: Σύνοψη πεδίου και μετα-ανάλυση των μελετών γενετικής συσχέτισης με στόχο των προσδιορισμό των σημαντικών γενετικών τόπων συνδεόμενων με τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.....	100
Ειδικός σκοπός 3: Η εφαρμογή τεχνικών γονιδιωματικής σύγκλισης στις σαρώσεις ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης (ΣΕΓΣ) και μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (ΜΕΓΣ) όσον αφορά τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.....	120
Παράρτημα	136
Κατάλογος μελετών ανά εξεταζόμενο πολυμορφισμό των μετα-αναλύσεων του ειδικού σκοπού 2.....	137
Μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης των διαθέσιμων μελετών γενετικής συσχέτισης υγιών έναντι ασθενών με βάση την κατανομή γενοτύπων.....	195

Μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης των διαθέσιμων μελετών γενετικής συσχέτισης υγιών έναντι ασθενών με βάση την κατανομή αλληλομόρφων.....198

Επεξήγηση των ακρονυμίων των στατιστικά σημαντικών γονιδίων του ειδικού σκοπού 2..200

Βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που συμπεριελήφθησαν στην μετα-ανάλυση των μελετών ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης του ειδικού σκοπού 1.....203

Βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που συμπεριελήφθησαν στην μετα-ανάλυση των μελετών ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης του ειδικού σκοπού 2.....206

Βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που συμπεριελήφθησαν στην μετα-ανάλυση των μελετών ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης του ειδικού σκοπού 3.....230

Βιβλιογραφία,.....236

Α.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (ASD), συμπεριλαμβανομένης της αυτιστικής διαταραχής, της διαταραχής του Asperger και της διάχυτης αναπτυξιακής διαταραχής μη προσδιοριζόμενης αλλιώς (PDD-NOS), είναι χρόνιες νευροαναπτυξιακές διαταραχές που εμφανίζονται στην παιδική ηλικία και χαρακτηρίζονται από έκπτωση της επικοινωνίας και της κοινωνικής αλληλεπίδρασης καθώς και από στερεοτυπικές ή επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές, ενδιαφέροντα ή δραστηριότητες (1). Αποτελούν τις πιο συχνές νευροαναπτυξιακές διαταραχές της παιδικής ηλικίας, προσβάλλοντας περίπου 1 στα 59 παιδιά. Συνήθως οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (ASD) συνυπάρχουν με άλλες καταστάσεις, όπως κινητικά προβλήματα (79%), διαταραχές του γαστρεντερικού συστήματος (έως 70%), επιληψία (έως 30%), νοητική υστέρηση (45%) και διαταραχές ύπνου (50-80%) (2). Επίσης, διαταραχές νοητικού λόγου εμφανίζονται πολύ συχνά στα παιδιά με ASD και για αυτό αποτελούσαν και ένα από τα διαγνωστικά κριτήρια του συνδρόμου σύμφωνα με την τέταρτη έκδοση του Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου Ψυχικών Διαταραχών (DSM-IV). Μελέτες έχουν δείξει ότι τα εντατικά προγράμματα έγκαιρης παρέμβασης μπορούν να βελτιώσουν τις γνωστικές και γλωσσικές ικανότητες καθώς και την κοινωνική συμπεριφορά των παιδιών με ASDs (3, 4, 5). Πρόκειται για πολυπαραγοντική ασθένεια που επηρεάζεται από μια ποικιλία γενετικών, περιβαλλοντικών και πιθανώς ανοσολογικών παραγόντων που δρουν κατά τη διάρκεια κρίσιμων περιόδων της ζωής και μεταβάλλουν βασικές αναπτυξιακές διεργασίες. Η αλληλεπίδραση του περιβάλλοντος με το γενετικό υπόβαθρο ενός ατόμου εκδηλώνεται διαφορετικά σε κάθε περίπτωση, οδηγώντας έτσι στην μεγάλη φαινοτυπική ετερογένεια της νόσου. Αυτό έχει καταστήσει πολύ δύσκολη την αποσαφήνιση των υποκείμενων γονιδίων παρά την τεράστια πρόοδο που έχει κάνει η επιστήμη. Υπολογίζεται ότι σήμερα περίπου σε ποσοστό 40% των περιπτώσεων παιδιών με ASDs αναγνωρίζεται κάποιο γενετικό σύνδρομο ή χρωμοσωμική ανωμαλία (συμπεριλαμβανομένων διπλασιασμών ή διαγραφών τμημάτων DNA) ή μονογονιδιακό νόσημα ή γενετικές παραλλαγές συγκεκριμένων γονιδίων (γενετικοί πολυμορφισμοί) ή μεταβολικά νοσήματα

Σκοπός της συγκεκριμένης διδακτορικής διατριβής είναι η διερεύνηση του γενετικού υποβάθρου του Αυτισμού.

Για την ανίχνευση γενετικών τόπων που συνδέονται με τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος έγινε η σύνθεση των αποτελεσμάτων των μελετών ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης (genome wide linkage studies-GWLS) χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία της μετα-ανάλυσης γονιδιώματος σύνδεσης (γονιδιακή σάρωση) HEGESMA. Η συγκεκριμένη μετα-ανάλυση προσδιόρισε χρωμοσωμικά τμήματα με σημαντική ένδειξη σύνδεσης με την αυτιστική διαταραχή, όπως οι περιοχές 7q22.3-q34, 5p15.33-5p15.1, 15q22.32-15q26.1, 1q23.2-1q31.1 και 8p21.1-8q13.2, όπου εδράζονται κάποια ισχυρά υποψήφια γονίδια του αυτισμού αλλά χρήζουν ωστόσο περαιτέρω διερεύνησης.

Παράλληλα, έγινε σύνθεση όλων των μελετών γενετικής συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων (GAS) αλλά και μελετών ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (GWAS), όσον αφορά τις αυτιστικές διαταραχές. Συνολικά, 57 γονίδια και 128 πολυμορφισμοί εξετάστηκαν σε 159 ΜΓΣ. Οι κύριες μετα-αναλύσεις ανέδειξαν ως στατιστικά σημαντικούς 28 γενετικούς πολυμορφισμούς, οι οποίοι εδράζονται σε 19 γονίδια. Οι συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί ανήκουν στα εξής 19 γονίδια: ADA, CD157/BST1, DRD1, EN2, MET, MTHFR, SLC6A4, SNAP25, VDR, ADRA1B, ASMT, C4B, DRD3, NLGN4, NRXN1, OXTR, PFTK1, RELN και RIT2.

Τέλος, εφαρμόστηκε η μεθοδολογία της γονιδιωματικής σύγκλισης συνδυάζοντας τα αποτελέσματα από ανεξάρτητες μεθοδολογικές προσεγγίσεις.

B. ABSTRACT

Autism Spectrum Disorders (ASD), including autism, Asperger's disorder, and pervasive developmental disorder-not otherwise specified (PDD-NOS), is a clinically and genetically heterogeneous group of neurodevelopmental disorders characterized by significant impairment in social communication and interaction as well as the presence of restricted interests, stereotyped and repetitive behaviors (1). It is one of the most common neurodevelopmental disorders in early childhood, affecting approximately 1 in 59 children. Autism spectrum disorders (ASDs) usually coexist with other conditions, such as motor problems (79%), gastrointestinal problems (up to 70%), epilepsy (up to 30%), mental retardation (45%) and sleep disorders (50- 80%) (2). Also, speech disorders occur very often in children with ASD and therefore were one of the diagnostic criteria for the syndrome according to the fourth edition of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV). Studies have shown that intensive early intervention programs can improve cognitive and language skills as well as the social behavior of children with ASDs (3, 4, 5).

ASD is a multifactorial disease that is affected by a variety of genetic, environmental and possibly immune factors that act during critical periods of life and alter key developmental processes. The interaction of the environment with the genetic background of an individual leads to the great phenotypic heterogeneity of the disease. This has made it very difficult to elucidate the underlying genes despite the tremendous progress that has been made in this area. It is estimated that approximately 40% of children with ASDs are currently diagnosed with a genetic syndrome or chromosomal abnormality (including duplication or deletion of DNA fragments) or a single gene disorder or genetic variants of specific genes (genetic polymorphisms) or metabolic diseases.

The purpose of this thesis is to investigate the genetic background of Autism.

The results of the genome wide linkage studies (GWLS) were synthesized using the HEGESMA methodology of linkage genome meta-analysis (gene scanning) to identify important genetic loci associated with autism spectrum disorders. The present meta-analysis identified chromosomal regions with some indication of association with autism, such as regions 7q22.3-q34, 5p15.33-5p15.1, 15q22.32-

15q26.1, 1q23.2-1q31.1 and 8p21.1-8q13.2, where some strong autism candidate genes are located but still need further investigation.

At the same time, a field summary of all genetic association studies, both candidate gene association studies and genome wide association studies on autistic disorders, was conducted. In total, 57 genes and 128 polymorphisms were investigated in 159 GAS. The main meta-analyses showed a statistically significant role for 28 genetic polymorphisms, which are located on 19 genes. These polymorphisms are located to the following 19 genes: ADA, CD157 / BST1, DRD1, EN2, MET, MTHFR, SLC6A4, SNAP25, VDR, ADRA1B, ASMT, C4B, DRD3, NLGN4, NRXN1, OXTR, PFTK1, REL.

In addition, the methodology of genomic convergence was applied to identify genetic loci with concomitant statistical support from independent methodological approaches.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Γενετική Επιδημιολογία

Η αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος και η χαρτογράφηση της αλληλουχίας των βάσεων του DNA πριν περίπου 20 χρόνια ανέδειξε τον σημαντικό ρόλο των γονιδίων. Έως σήμερα η γενετική επιστήμη έχει κάνει σημαντική πρόοδο παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με την πρόγνωση, διάγνωση και θεραπεία πολλών ασθενειών.

Η γενετική και η επιδημιολογία είναι δύο διαφορετικές επιστήμες από την σύντηξη των οποίων προκύπτει η γενετική επιδημιολογία. Η επιστήμη αυτή μελετά την συμβολή γενετικών και μη παραγόντων στην εκδήλωση νοσημάτων. Η γενετική επιδημιολογία λοιπόν, χρησιμοποιώντας ανώτερες στατιστικές μεθόδους και εξειδικευμένα προγράμματα, συνθέτει την γενετική πληροφορία, ώστε να καθοριστεί το μέγεθος της επίδρασης της γενετικής ποικιλομορφίας στην εμφάνιση της νόσου.

1.1. Πολυγονιδιακά-Πολυπαραγοντικά Νοσήματα

Τα γενετικά νοσήματα χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

- Χρωμοσωμικές ανωμαλίες
- Μονογονιδιακά νοσήματα, τα οποία οφείλονται σε βλάβη σε ένα γονίδιο
- Πολυγονιδιακά/Πολυπαραγοντικά νοσήματα, τα οποία οφείλονται σε συνεργική επίδραση πολλών διαφορετικών γονιδίων και περιβαλλοντικών παραγόντων. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν ο διαβήτης, ο αυτισμός, οι καρδιοπάθειες, η σχιζοφρένεια και άλλα.

Οι **χρωμοσωμικές** ανωμαλίες, προκύπτουν από προσθήκη ή απώλεια χρωμοσωμάτων ή μεγάλων χρωμοσωμικών τμημάτων. Καθώς το κάθε χρωμόσωμα περιέχει μεγάλο αριθμό γονιδίων, νοσήματα που οφείλονται σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες συχνά εκδηλώνονται ήδη από την γέννηση, την βρεφική ή παιδική ηλικία. Οι περισσότερες χρωμοσωμικές ανωμαλίες χαρακτηρίζονται από καθυστέρηση στην σωματική και νοητική ανάπτυξη και από εμφάνιση δυσμορφικών χαρακτηριστικών. Ωστόσο οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι συχνά ασύμβατες με την ζωή και για αυτό αποτελούν ένα από τα πιο συχνά αίτια αυτόματων αποβολών στα αρχικά στάδια της κύησης.

Τα **μονογονιδιακά** νοσήματα οφείλονται στην παρουσία ενός μεταλλαγμένου γονιδίου και κληρονομούνται με απλό Μεντελικό χαρακτήρα. Εμφανίζονται κατά κύριο λόγο στη νεογνική και πρώτη παιδική ηλικία, αλλά και στην ενήλικη ζωή.

Επισημαίνεται πως μεταλλάξεις μπορούν να συμβούν και στο μιτοχονδριακό DNA. Τα μιτοχονδριακά νοσήματα κληρονομούνται αποκλειστικά από τη μητέρα και εμπλέκονται στην παραγωγή της ενέργειας στα νευρικά και μυϊκά κύτταρα.

Τα **πολυγονιδιακά ή πολυπαραγοντικά νοσήματα** προκύπτουν από την επίδραση πολλών γονιδίων, καθένα από τα οποία μπορεί να έχει διαφορετική συνεισφορά στην εκδήλωση της νόσου. Αποτελούν τα πιο συχνά και λιγότερο κατανοητά ανθρώπινα νοσήματα. Παραδείγματα τέτοιων πολυγονιδιακών ή πολυπαραγοντικών νοσημάτων αποτελούν ο σακχαρώδης διαβήτης, οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού και πολλές άλλες.

Οι παραπάνω τρεις κατηγορίες νοσημάτων αφορούν στο DNA όλων των κυττάρων του σώματος, συμπεριλαμβανομένων και των γαμετών, και επομένως μπορούν να μεταβιβαστούν στις επόμενες γενιές. Υπάρχουν όμως και γενετικά νοσήματα τα οποία αφορούν μόνο σε συγκεκριμένα σωματικά κύτταρα, όπως ο καρκίνος, ο οποίος προκύπτει ως αποτέλεσμα μεταλλάξεων σε γονίδια που εμπλέκονται στην κυτταρική αύξηση.

Ωστόσο οι όροι πολυγονιδιακά και πολυπαραγοντικά δεν είναι συνώνυμοι. **Πολυγονιδιακά** χαρακτηρίζονται τα νοσήματα που προκαλούνται από την επίδραση πολλών διαφορετικών γονιδίων, καθένα από τα οποία έχει διαφορετική επίδραση στην εκδήλωση της νόσου, ενώ **πολυπαραγοντικά** χαρακτηρίζονται τα νοσήματα που προκαλούνται από την αλληλεπίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Τα πολυγονιδιακά νοσήματα συνήθως αφορούν ποσοτικά χαρακτηριστικά, παρά ποιοτικά, και εμφανίζουν συνεχή κατανομή στον πληθυσμό, ακολουθώντας μια κανονική κατανομή συχνότητας (καμπύλη Gauss).

Προκειμένου να κατανοήσουμε την γενετική βάση των πολυπαραγοντικών νοσημάτων δύο είναι τα κύρια σημεία τα οποία λαμβάνουμε υπ' όψιν. Το πρώτο είναι πως καθορίζεται γενετικά η ευπάθεια στην νόσο και όχι η ίδια η νόσος. Ένα γενετικά ευπαθές άτομο μπορεί τελικά να εμφανίσει την νόσο ή όχι ανάλογα με την επίδραση και περιβαλλοντικών παραγόντων. Δεύτερον, ενδέχεται η ευπάθεια για την ίδια νόσο

να έχει διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο. Η αιτιολογία λοιπόν των πολυπαραγοντικών νοσημάτων παρουσιάζει γενετική ετερογένεια.

Όσο πιο πολλοί και πιο πολυμορφικοί είναι οι γενετικοί τόποι (δηλαδή όσο περισσότερα αλληλόμορφα διαθέτει ο κάθε γενετικός τόπος) που συμβάλλουν στην εμφάνιση ενός χαρακτηριστικού, τόσο περισσότερο η κατανομή της νόσου πλησιάζει την κανονική κατανομή. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επιδρούν μπορούν να μεταβάλλουν τη μορφή της κατανομής συχνοτήτων.

1.2. Ενδείξεις για την συμβολή γενετικών παραγόντων στην εκδήλωση πολυπαραγοντικών νοσημάτων

Παρατηρώντας ότι υπάρχουν κάποια συγκεκριμένα νοσήματα με αυξημένη συχνότητα μέσα σε οικογένειες πασχόντων τα οποία ωστόσο δεν μεταβιβάζονται με βάση την Μεντελική κληρονομικότητα, προέκυψε η έννοια της πολυπαραγοντικότητας.

Η ομαδοποίηση στις οικογένειες μετράται με τη μεταβλητή λ που είναι ο λόγος της συχνότητας του χαρακτηριστικού σε άτομα της ίδιας οικογένειας διαιρούμενη με τη συχνότητα στον γενικό πληθυσμό. Η συγκεκριμένη μεταβλητή η οποία ονομάζεται λ_5 μπορεί να υπολογισθεί με βάση τη συχνότητα του χαρακτηριστικού ανάμεσα στα αδέρφια διαιρούμενη με τη συχνότητα στο γενικό πληθυσμό. Η μεταβλητή λ_5 για ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτηριστικό η παίρνει την τιμή $\frac{1}{4}$ και για ένα αυτοσωμικό επικρατές χαρακτηριστικό την τιμή $\frac{1}{2}$. Η τιμή της μεταβλητής εξαρτάται από τη συχνότητα της νόσου στον γενικό πληθυσμό (Εικόνα 1).

Autosomal dominant	$\lambda_s = \frac{1/2}{x} = \frac{1}{2x}$
Autosomal recessive	$\lambda_s = \frac{1/4}{x} = \frac{1}{4x}$
Multifactorial	$\lambda_s = \frac{1}{\sqrt{x}}$

Εικόνα 1: Οι τιμές της μεταβλητής λ_5 για επικρατή, υπολειπόμενα και πολυπαραγοντικά χαρακτηριστικά, όπου x είναι η συχνότητα του χαρακτηριστικού στον πληθυσμό.

Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις που υποστηρίζουν το γενετικό υπόβαθρο των πολυπαραγοντικών νοσημάτων.

Επιδημιολογικές μελέτες προσβεβλημένων οικογενειών συγκρίνουν τη συχνότητα εμφάνισης των νοσημάτων αυτών σε άτομα της ίδιας οικογένειας με την συχνότητα εμφάνισης στον γενικό πληθυσμό. Παρατηρείται λοιπόν ότι υπάρχει οικογενειακή προδιάθεση ανάλογη του βαθμού συγγένειας.

Μια δεύτερη προσέγγιση που υποστηρίζει το γενετικό υπόβαθρο συνήθων νοσημάτων, αποτελούν οι μελέτες διδύμων. Διαφορά στην εμφάνιση νοσημάτων ανάμεσα στα μονοζυγωτικά δίδυμα αποδίδεται στην επίδραση του περιβάλλοντος και συνεπώς οι μελέτες των μονοζυγωτικών διδύμων συμβάλλουν στην αναγνώριση της επίδρασης του γενοτύπου και του περιβάλλοντος στην εκδήλωση του νοσήματος. Σε περίπτωση που πρόκειται για αμιγώς γενετικά χαρακτηριστικά, το 100% των μονοζυγωτικών (MZ) και το 50% των διζυγωτικών (ΔΖ) διδύμων, θα πρέπει να εμφανίσουν αυτό το χαρακτηριστικό. Σε περίπτωση μη γενετικού χαρακτηριστικού, η συμπτωτικότητα ανάμεσα στους MZ και ΔΖ διδύμους θα είναι περίπου ίση και σημαντικά μικρότερη από το 100%. Τέλος, σε περίπτωση ενός πολυπαραγοντικού χαρακτηριστικού με ισχυρό γενετικό υπόβαθρο, οι MZ δίδυμοι θα έχουν συμπτωτικότητα μικρότερη από το 100% αλλά σαφώς μεγαλύτερη από τους ΔΖ δίδυμους. Ωστόσο η κληρονομικότητα αυτή τείνει να υπερεκτιμηθεί καθώς τα δίδυμα μεγαλώνουν μαζί στο ίδιο περιβάλλον. Για τον λόγο αυτό μελέτες διδύμων που μεγάλωσαν σε διαφορετικό περιβάλλον μπορεί να έχουν πιο αξιόπιστα αποτελέσματα.

1.3.Κληρονομησιμότητα

Η κληρονομησιμότητα ενός χαρακτηριστικού, h^2 , ορίζεται ως το ποσοστό της φαινοτυπικής ποικιλότητας που οφείλεται στις γενετικές επιδράσεις. Ο γονότυπος καθορίζει το πλαίσιο μέσα στο οποίο δρουν οι περιβαλλοντικοί παράγοντες. Για την μέτρηση της κληρονομησιμότητας ενός χαρακτηριστικού αρχικά υπολογίζεται η μέση τιμή αυτού σε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα ατόμων και στη συνέχεια η διακύμανσή του.

Η κληρονομησιμότητα μπορεί να λάβει τιμές από το μηδέν έως το ένα. Η διακύμανση της κληρονομησιμότητας μπορεί να διαχωριστεί σε αυτή που αποδίδεται

στους γενετικούς παράγοντες, στους περιβαλλοντικούς παράγοντες, στην συνδιακύμανση μεταξύ των αυτών των δύο και στη διακύμανση της μέτρησης. Οι γενετικοί παράγοντες όπως και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να χωριστούν σε εκείνους που αντιπροσωπεύουν αθροιστικές επιδράσεις πολλαπλών γονιδίων και σε εκείνους που αντιπροσωπεύουν μη αθροιστικές και επιστατικές αλληλεπιδράσεις.

Η κληρονομησιμότητα με τη στενή έννοια του όρου λαμβάνει υπόψιν μόνο τους γενετικούς παράγοντες που δρουν αθροιστικά ενώ η κληρονομησιμότητα με την ευρεία έννοια του όρου λαμβάνει υπόψιν όλους τους γενετικούς παράγοντες.

Ο συντελεστής κληρονομικότητας (heritability coefficient, h^2) με τη στενή έννοια (h_n^2) ή με την ευρεία έννοια (h_B^2) του όρου ορίζεται με βάση τους παρακάτω τύπους:

✓ $h_n^2 = \sigma_A^2 / \sigma_P^2$ όπου σ_A^2 είναι η διασπορά προσθετικής γενετικής επίδρασης και σ_P^2 η φαινοτυπική διασπορά,

✓ $h_B^2 = \sigma_G^2 / \sigma_P^2$ όπου σ_G^2 είναι η γενοτυπική διασπορά και αφορά το κλάσμα εκείνο της σ_P^2 που οφείλεται σε γενετικές διαφορές μεταξύ των ατόμων.

Η κληρονομησιμότητα ενός χαρακτηριστικού αναφέρεται σε έναν συγκεκριμένο πληθυσμό που υφίσταται την επίδραση συγκεκριμένου περιβάλλοντος. Έτσι, ένας γενετικά διαφορετικός πληθυσμός στο ίδιο περιβάλλον μπορεί να έχει διαφορετική κληρονομησιμότητα. Ομοίως, ο ίδιος πληθυσμός σε διαφορετικό περιβάλλον μπορεί να έχει διαφορετική κληρονομησιμότητα. Η κληρονομησιμότητα δεν μπορεί να καθορίσει το ποσοστό της συμβολής της γενετικής συνιστώσας και του περιβάλλοντος στον τελικό φαινότυπο.

1.4. Μοντέλα πολυπαραγοντικής κληρονομικότητας

Το πιο απλό μοντέλο πολυπαραγοντικής κληρονομικότητας είναι η πολυγονιδιακή κληρονομικότητα η οποία στηρίζεται τη συνεργική δράση πολλαπλών γονιδίων. Αν υπάρχει ομοιόμορφη κατανομή των αλληλομόρφων στον πληθυσμό, τότε αυτό το ποσοτικό χαρακτηριστικό θα ακολουθεί την κανονική κατανομή στον πληθυσμό.

Το μοντέλο ουδού θεωρεί ότι υπάρχει προδιάθεση στην εμφάνιση μιας νόσου που ακολουθεί την κανονική κατανομή στον πληθυσμό και η οποία καθορίζεται από γενετικούς και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το μέγεθος της ευπάθειας που εμφανίζουν τα άτομα εξαρτάται από τον αριθμό των προδιαθεσικών γονιδίων που έχουν και από τον βαθμό έκθεσης στους προδιαθεσιακούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Όταν λοιπόν ξεπεραστεί το κατώφλι της ευπάθειας, τότε θα εμφανιστεί η νόσος.

Ο κίνδυνος για την εμφάνιση της νόσου είναι μεγαλύτερος όσο μεγαλύτερος είναι και ο αριθμός των προσβεβλημένων ατόμων στην οικογένεια. Η παρουσία περισσότερων προσβεβλημένων ατόμων στην οικογένεια μετατοπίζει προς τα δεξιά την κατανομή της γενετικής προδιάθεσης.

Ο κίνδυνος είναι μεγαλύτερος όσο αυξάνει και η βαρύτητα της νόσου. Αν είναι βαρύτερη είναι η εικόνα της νόσου, τότε αυξάνει και η γενετική προδιάθεση.

Ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου στους συγγενείς ενός πάσχοντος αυξάνει όσο πιο σπάνια είναι η ασθένεια στον γενικό πληθυσμό. Επίσης, ο κίνδυνος αυξάνει ανάλογα με τον βαθμό συγγένειας.

Όταν δεν υπάρχει ίση κατανομή φύλου για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, τότε οι συγγενείς των ασθενών του λιγότερο συχνά προσβαλλόμενου φύλου διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου.

Συμπερασματικά, το πολυπαραγοντικό μοντέλο ουδού φαίνεται ότι μπορεί να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες και να βοηθήσει στην γενετική καθοδήγηση οικογενειών με συνήθεις ασθένειες

1.5. Γενετικές μελέτες σε πολυπαραγοντικά νοσήματα

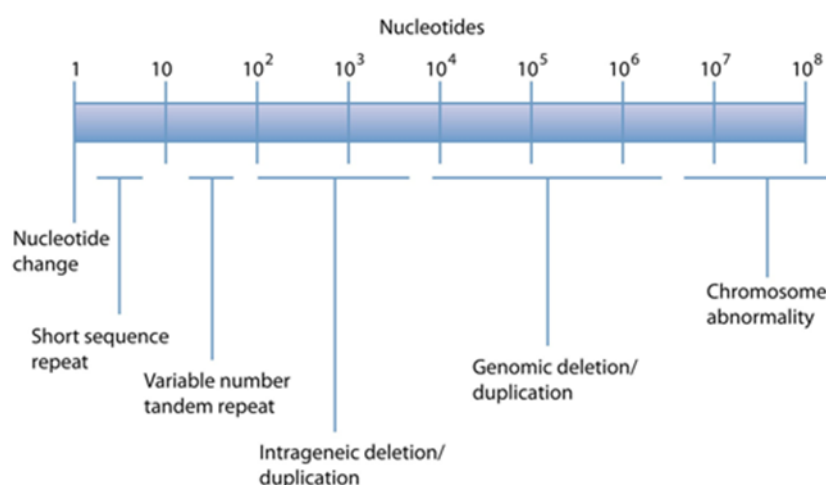
Τα δύο κύρια είδη γενετικών μελετών που χρησιμοποιούνται για την ανεύρεση υπεύθυνων γονιδίων σε πολυπαραγοντικά νοσήματα, είναι οι μελέτες της **συσχέτισης (association)** και οι μελέτες **σύνδεσης (linkage)**. Η ανάλυση συσχέτισης αναζητά τη συσχέτιση μεταξύ της εμφάνισης της νόσου και των αλληλόμορφων ενός γενετικού τόπου σε έναν πληθυσμό. Σε αυτή την ανάλυση χρησιμοποιούνται κυρίως τα **υποψήφια γονιδια**, δηλαδή γονίδια που είτε είναι γνωστό, είτε πιστεύεται ότι συμμετέχουν στην εμφάνιση της νόσου. Έτσι αν ένα συγκεκριμένο αλληλόμορφο

βρίσκεται σε σημαντικά υψηλότερη συχνότητα στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες, σημαίνει ότι το γονίδιο αυτό εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου.

Οι μελέτες ανάλυσης σύνδεσης αναζητούν σε οικογένειες πασχόντων τη συμεταβίβαση της ασθένειας με ένα γενετικό τόπο-δείκτη, ανεξάρτητα του αλληλόμορφου που βρίσκεται σε αυτόν. Έτσι αποδεικνύεται η συμμετοχή του γενετικού τόπου, ή κάποιου άλλου που βρίσκεται κοντά σε αυτόν, στην αιτιοπαθογένεια της νόσου.

1.6. Γενετική ποικιλομορφία

Το εύρος της γενετικής ποικιλομορφίας ορίζεται από την συχνότητα και το μέγεθος των πολυμορφισμών (Εικόνα 2). Αξίζει να σημειωθεί ότι η διαφορά μεταξύ του γονιδιώματος δύο ανθρώπων είναι μικρότερη του 0.5%.



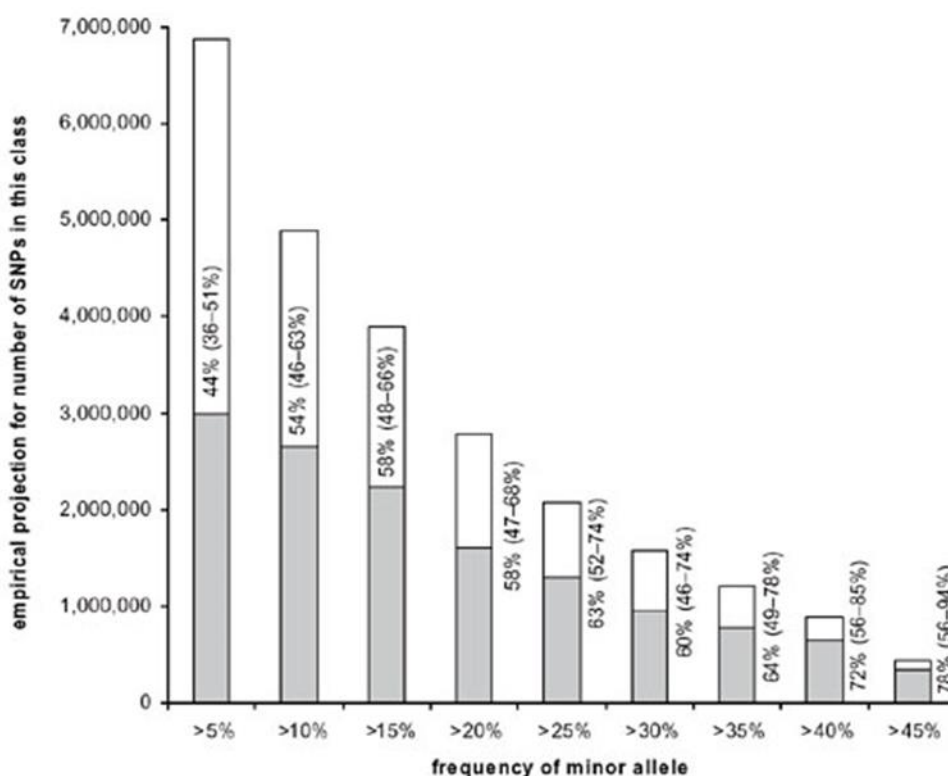
Εικόνα 2: Το μέγεθος της γενετικής ποικιλομορφίας, από αλλαγή ενός νουκλεοτιδίου (αριστερά) μέχρι αλλαγές ολόκληρων χρωμοσωμάτων (δεξιά) (6).

Μονονουκλεοτιδικοί Πολυμορφισμοί (SNPs)

Ο πιο συχνός πολυμορφισμός του γονιδιώματος είναι η αντικατάσταση μίας βάσης, γνωστός ως SNP, η οποία παρατηρείται σε συχνότητα μικρότερη του 1% του πληθυσμού.

Η συχνότητα του ελάσσονος αλληλόμορφου (minor allele frequency, MAF) είναι η συχνότητα του πιο σπάνιου αλληλόμορφου για έναν συγκεκριμένο πληθυσμό.

Υπολογίζεται ότι υπάρχουν τουλάχιστον 8-10 εκατομμύρια SNPs με $MAF > 1\%$ και 5 εκατομμύρια με $MAF > 10\%$ όπως και ένας πολύ μεγάλος αριθμός SNPs με χαμηλότερες MAF. Παρουσιάζει ενδιαφέρον το γεγονός ότι η πλειοψηφία των SNPs με MAF μεγαλύτερη από 15-20% είναι κοινοί σε όλους τους πληθυσμούς.



Εικόνα 3: Ο υπολογιζόμενος αριθμός SNPs στο ανθρώπινο γονιδίωμα ως συνάρτηση της MAF (7).

Οι SNPs χωρίζονται σε **κωδικούς SNP** (coding SNP, cSNP), οι οποίοι εδράζονται σε κάποια μεταφραζόμενη περιοχή του γονιδιώματος, δηλαδή σε ένα εξόνιο και σε αυτούς που βρίσκονται σε κάποια ρυθμιστική περιοχή της μεταγραφής. Ένα μέρος των κωδικών SNPs αλλάζουν τη μεταφραζόμενη πρωτεϊνική αλληλουχία και είναι γνωστοί ως **μη συνώνυμοι cSNPs**, ενώ οι υπόλοιποι είναι γνωστοί ως **συνώνυμοι SNPs**. Μέχρι τώρα, ένα μικρό ποσοστό των cSNPs έχει συσχετισθεί με κάποια νόσο και ακόμα λιγότερων η συσχέτιση υποστηρίζεται επίσης από εργαστηριακά ευρήματα.

Στη dbSNP έχουν καταχωρηθεί περίπου 8.000.000 ανθρώπινοι SNPs, εκ των οποίων περίπου οι μισοί έχουν επικυρωθεί από το HapMap Project.

Οι περισσότεροι SNPs κληρονομούνται σε blocks – δηλαδή σε ομάδες SNPs που μεταβιβάζονται μαζί από γενεά σε γενεά και ορίζονται από την **ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium)**. Η ανισορροπία σύνδεσης υπολογίζει τη συσχέτιση μεταξύ των SNPs και επιτρέπει στους ερευνητές να ερευνούν μια ομάδα SNPs και να υπολογίζουν την εγγύτητα άλλων μη εξεταζόμενων (**tagSNPs**). Αυτή η έμμεση προσέγγιση χρησιμοποιώντας έναν περιορισμένο αριθμό tagSNPs χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο από τις GWAS. Σήμερα, ο κατάλογος των SNPs με $MAF < 1\%$, είναι ατελής. Απαιτούνται ωστόσο ακόμη εκτεταμένες μέθοδοι γονοτύπωσης πολλών ατόμων, ώστε να προσδιοριστούν τα λιγότερο συχνά αλληλόμορφα τα οποία έχουν ισχυρή οικογενειακή κληρονόμηση και υψηλή διεισδυτικότητα μέσα σε οικογένειες. Οι συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί είναι μεταλλάξεις υπεύθυνες για κάποια νόσο και είναι καταχωρημένοι στη βάση δεδομένων OMIM (8).

Δομικοί πολυμορφισμοί

Οι δομικοί πολυμορφισμοί μπορεί να είναι είτε ορατοί με το μικροσκόπιο είτε πιο συνηθισμένα να πρόκειται για υπομικροσκοπικούς πολυμορφισμούς. Πρόκειται συνήθως για προσθήκες, ελλείψεις, διπλασιασμούς χρωμοσωμικών τμημάτων, λιγότερο συχνά για αντιστροφές και μετατοπίσεις και καλούνται επίσης και ως παραλλαγές του αριθμού των αντιγράφων (**copy number variants, CNVs**). Οι CNVs καταλαμβάνουν όλο και πιο σημαντικό ρόλο στην γενετική επιδημιολογία και φαίνεται ότι προκαλούν γενετικές νόσους, είτε μόνοι τους είτε σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες. Πρόσφατα έχει αποδειχθεί ότι οι περισσότεροι κοινοί CNVs με υψηλές MAF μπορεί να είναι σε ανισορροπία σύνδεσης με κοινούς SNPs.

Ακόμα ένα είδος δομικού πολυμορφισμού αποτελούν οι τυχαίες επαναλήψεις λίγων νουκλεοτιδίων (**short tandem repeats, STRs**). Πρόκειται για ένα συγκεκριμένο μοτίβο δυο ή περισσοτέρων νουκλεοτιδίων το οποίο επαναλαμβάνεται, το μήκος τους κυμαίνεται από 2-10 bp (συνήθως τετρα- ή πεντα-νουκλεοτιδικές επαναλήψεις) και τυπικά εντοπίζονται σε μη κωδικές περιοχές του γονιδιώματος (8).

2. Διαταραχές στο φάσμα του αυτισμού

2.1. Εννοιολογικός Προσδιορισμός Αυτισμού – Διαγνωστικά Κριτήρια

Ο όρος αυτισμός προέρχεται από τον ελληνικό «αυτός» που σημαίνει «εγώ ο ίδιος». Επιλέχθηκε από τους ερευνητές γιατί υποδηλώνει ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά των αυτιστικών ατόμων, που είναι η κοινωνική απομόνωση τους. Η λέξη «αυτισμός» χρησιμοποιήθηκε από τον Bleuler αρχικά προκειμένου να περιγράψει την κοινωνική απομόνωση και την απόσυρση από την πραγματικότητα στη σχιζοφρένεια του ενήλικα. Το αυτιστικό άτομο είναι λοιπόν κλεισμένο στον εαυτό του, χωρίς όμως να στερείται εσωτερικής ζωής. Η αυτιστική σκέψη, είναι σε αντίθεση με τη συνήθη μορφή σκέψης (9).

Ο αυτισμός αποτελεί μια νευροαναπτυξιακή διαταραχή, βιολογικά προσδιορισμένη, που συνοδεύεται συνήθως, από ποικίλου βαθμού νοητική υστέρηση και αφορά κυρίως την έκπτωση στους παρακάτω τομείς: (10)

- ✓ Κοινωνικοποίηση.
- ✓ Επικοινωνία.
- ✓ Δημιουργική φαντασία.

Η αυτιστική διαταραχή είναι η πιο γνωστή από όλες τις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού. Η έννοια του φάσματος υποδηλώνει ότι υπάρχει μεγάλη ετερογένεια στην κλινική εικόνα του αυτισμού (11). Τα συμπτώματα του αυτισμού ποικίλλουν τόσο σε ένταση όσο και στον τρόπο εκδήλωσης και ενδέχεται επίσης να μεταβάλλονται με την πάροδο του χρόνου εξαιτίας και της νευρολογικής ωρίμανσης του ατόμου αλλά και των κοινωνικών επιδράσεων και της εκπαίδευσης που δέχεται το άτομο.

Από την μια πλευρά του φάσματος συναντάμε την τυπική μορφή Αυτισμού, ενώ από την άλλη άκρη συναντάμε τον τύπο Αυτισμού υψηλής λειτουργικότητας όπως είναι ο τύπος Asperger. Ενδιάμεσα υπάρχουν άλλες διάφορες μορφές Αυτισμού.

Υπάρχει δυσκολία στο να διατυπωθεί ένας ορισμός για τον αυτισμό εξαιτίας της πολυπλοκότητάς του ως διαταραχή. Αν όμως θα επιδιώκαμε μια οροθέτηση από ιατρικής πλευράς: *«Ο αυτισμός ορίζεται και διαγιγνώσκεται με βάση συγκεκριμένους τύπους συμπεριφοράς, όμως δεν υπάρχουν συμπεριφορές που να αποτελούν από μόνες*

τους μονοσήμαντη ένδειξη αυτισμού. Η συμπεριφορά είναι ουσιώδης για την αναγνώριση του αυτισμού, αλλά από μόνη της δεν μας βοηθά να κατανοήσουμε την πάθηση αυτή ή να αποφασίσουμε για τον τρόπο προσέγγισης της». Ο αυτισμός από την «ματιά» των εκπαιδευτικών, συμπεριλαμβάνει συγκεκριμένες διδακτικές προσεγγίσεις, ένα οριοθετημένο εκπαιδευτικό περιβάλλον και προσδιορίζεται ως «Μία προσέγγιση που βασίζεται, κυρίως, στην έντονη εξατομίκευση, στην οπτική στήριξη, στην προβλεψιμότητα και στη συνέχεια. Υπάρχουν πολλά είδη προσεγγίσεων, αφού υπάρχει και μεγάλη ποικιλία ατομικών μαθησιακών αναγκών» (12).

Μία από τις πιο σημαντικές αλλαγές που έγινε στην πέμπτη έκδοση του «Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου Ψυχικών Διαταραχών» (DSM-5) είναι η διαταραχή του αυτιστικού φάσματος (ASD) και έτσι προέκυψε ένα ακριβέστερο και χρήσιμο εργαλείο διάγνωσης.

Χρησιμοποιώντας την τέταρτη έκδοση του «Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου Ψυχικών Διαταραχών» (DSM-IV), οι ασθενείς θα μπορούσαν να διαγνωσθούν με μία από τις παρακάτω διακριτές διαταραχές υπό τον όρο Διάχυτες Αναπτυξιακές Διαταραχές: την αυτιστική διαταραχή, την διαταραχή του Asperger, το σύνδρομο Rett, την διαταραχή αποδιοργάνωσης κατά την παιδική ηλικία ή την διάχυτη αναπτυξιακή διαταραχή μη αλλιώς προσδιοριζόμενη. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι δεν υπήρξε συνέπεια ως προς την διάγνωση αυτών των ξεχωριστών διαταραχών σε διάφορα κλινικά και θεραπευτικά κέντρα. Όποιος ασθενής διαγνωσθεί με μία από τις πέντε αναπτυξιακές διαταραχές με βάση το DSM-IV, θα πρέπει να πληροί επίσης και τα κριτήρια για την διάγνωση των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού (ASD) με βάση DSM-5 ή άλλη, ακριβέστερη διάγνωση με βάση το DSM-5. Από το 2013, που εκδόθηκε το DSM-V, ο κλασσικός αυτισμός, το σύνδρομο Asperger και οι διάχυτες αναπτυξιακές διαταραχές (PDD-NOS) εμπίπτουν σε μία ενιαία κατηγορία με τον όρο «διαταραχές του φάσματος του αυτισμού» (autism spectrum disorders, ASDs) και διαχωρίζονται με βάση το επίπεδο δυσλειτουργίας (13).

Σημαντικό ρόλο παίζει η βαρύτητα των συμπτωμάτων, με βάση την οποία οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες - Επίπεδα:

- Επίπεδο 1 – «Ανάγκη υποστήριξης» που προκύπτει από προβλήματα στην κοινωνικοποίηση και την προσαρμογή.

- Επίπεδο 2 – «Ανάγκη ενισχυμένης υποστήριξης» που προκύπτει από αξιοσημείωτες δυσκολίες στην κοινωνικοποίηση και την προσαρμογή.
- Επίπεδο 3 – «Ανάγκη για ιδιαίτερα ενισχυμένη υποστήριξη» που προκύπτει από σημαντικές δυσκολίες στην κοινωνικοποίηση και την προσαρμογή.

Επίσης, έχει μετατεθεί η ηλικία διάγνωσης, από το 3ο έτος της ζωής, στην «πρώιμη αναπτυξιακή περίοδο» (αν και είναι πιθανό τα συμπτώματα να μην εκδηλωθούν πλήρως πριν οι κοινωνικές απαιτήσεις υπερβούν τις περιορισμένες ικανότητες του παιδιού).

Η Αμερικανική Παιδιατρική Εταιρεία συστήνει καθολικό screening στην ηλικία των 18 μηνών και στην συνέχεια στην ηλικία των 2 ετών, προκειμένου να ανιχνευθούν πρώιμα σημάδια αυτιστικών διαταραχών (14).

Παρότι το DSM δεν εστιάζει στις θεραπευτικές προσεγγίσεις και παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση των ψυχικών διαταραχών, ο προσδιορισμός μιας ακριβούς διάγνωσης είναι ένα πρώτο βήμα για έναν κλινικό ιατρό προκειμένου να καθοριστεί ένα σχέδιο θεραπευτικής παρέμβασης για τον ασθενή.

Σύμφωνα με τα τρέχοντα κριτήρια της πέμπτης έκδοσης του «Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου Ψυχικών Διαταραχών» (DSM-5), για να διαγνωστεί κάποιος με ASD θα πρέπει να εμφανίζει τα παρακάτω συμπτώματα:

A. Επίμονες ελλείψεις στην επικοινωνία και την κοινωνική αλληλεπίδραση σε πολλαπλά περιβάλλοντα, οι οποίες εκδηλώνονται, επί του παρόντος ή από το ιστορικό ως εξής:

1. Έλλειψη κοινωνικής συναισθηματικής αμοιβαιότητας, η οποία μπορεί να κυμαίνεται από την ανώμαλη κοινωνική προσέγγιση και την αποτυχία της διατήρησης συνομιλίας, σε μειωμένη κατανομή συμφερόντων, συναισθημάτων ή επηρεασμού, στην αποτυχία ανταπόκρισης στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις.

2. Ελλείψεις στην μη λεκτική επικοινωνία που χρησιμοποιείται για την κοινωνική αλληλεπίδραση. Για παράδειγμα έλλειψη βλεμματικής επαφής, διαταραχή στη γλώσσα του σώματος ή στη χρήση των χειρονομιών έως και σε πλήρης έλλειψη εκφράσεων του προσώπου.

3. Ελλείψεις στην ανάπτυξη και τη διατήρηση κοινωνικών σχέσεων. Έτσι για παράδειγμα μπορεί να υπάρχουν δυσκολίες προσαρμογής της συμπεριφοράς σε διάφορα κοινωνικά πλαίσια, δυσκολίες στην ανταλλαγή ευρηματικών παιχνιδιών ή στη δημιουργία φίλων, απουσία ενδιαφέροντος για τους συνομηλίκους.

Β. Περιορισμένες, επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές, ενδιαφέροντα ή δραστηριότητες, όπως εκδηλώνονται από τουλάχιστον δύο από τα παρακάτω, επί του παρόντος ή από το ιστορικό:

1. Στερεοτυπικές ή επαναλαμβανόμενες κινήσεις, ομιλία ή χρήση αντικειμένων (π.χ. στερεότυπα κίνησης, ευθυγράμμιση παιχνιδιών ή αναποδογύρισμα αντικειμένων, ηχολαλία, ιδιοσυγκρασιακές φράσεις).

2. Η επιμονή και άκαμπτη προσκόλληση στην ρουτίνα ή τα τελετουργικά πρότυπα λεκτικής ή μη λεκτικής συμπεριφοράς (π.χ., δυσκολία προσαρμογής στις μικρές αλλαγές, άκαμπτα μοτίβα σκέψης, τελετουργικός χαιρετισμός, ακολουθεί την ίδια διαδρομή ή τρώει το ίδιο φαγητό κάθε μέρα).

3. Τα περιορισμένα ενδιαφέροντα συνήθως μη φυσιολογικά σε ένταση ή εστίαση (π.χ., ισχυρή προσκόλληση με ασυνήθιστα αντικείμενα, υπερβολικά περιορισμένα ή επίμονα ενδιαφέροντα).

4. Αισθητηριακές ανωμαλίες (π.χ. μη ανταπόκριση στον πόνο ή σε ακραίες θερμοκρασίες, υπερβολικές αντιδράσεις σε συγκεκριμένους ήχους ή υφές, υπερβολική οσμή ή επαφή αντικειμένων, έντονη ενασχόληση με φώτα) .

Γ. Τα συμπτώματα πρέπει να είναι εμφανή στην πρώιμη αναπτυξιακή περίοδο (αλλά μπορεί να μην εμφανιστούν πλήρως μέχρι οι κοινωνικές απαιτήσεις ξεπεράσουν τις περιορισμένες ικανότητες).

Δ. Τα συμπτώματα αυτά εμποδίζουν την προσαρμογή σε κοινωνικούς, επαγγελματικούς ή άλλους σημαντικούς τομείς της καθημερινότητας.

Ε. Οι συγκεκριμένες διαταραχές δεν αποδίδονται σε πνευματική αναπηρία ή σε αναπτυξιακή καθυστέρηση. Οι διαταραχές της πνευματικής αναπηρίας και του φάσματος του αυτισμού συσχετίζονται συχνά. Για την πραγματοποίηση συν-διαγνώσεων διαταραχής του φάσματος του αυτισμού και της πνευματικής αναπηρίας,

η κοινωνική επικοινωνία πρέπει να είναι χαμηλότερη από αυτή που αναμένεται με βάση το γενικό αναπτυξιακό επίπεδο.

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα άτομα με την διάγνωση είτε της αυτιστικής διαταραχής, είτε της διαταραχής του Asperger είτε της διάχυτης αναπτυξιακής διαταραχής μη αλλιώς προσδιοριζόμενη, θα πρέπει να έχουν και τη διάγνωση της διαταραχής του φάσματος του αυτισμού. Τα άτομα που έχουν σημαντικές ελλείψεις στην κοινωνική επικοινωνία, αλλά ωστόσο δεν πληρούν τα διαγνωστικά κριτήρια της διαταραχής του φάσματος του αυτισμού, θα πρέπει να ελέγχονται για άλλη κοινωνική επικοινωνιακή διαταραχή.

2.2. Κυρίαρχα χαρακτηριστικά των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού

Η διαταραχή στο φάσμα του αυτισμού αποτελεί μία νευροαναπτυξιακή διαταραχή που χαρακτηρίζεται από περιορισμένη και επαναλαμβανόμενη στερεοτυπική συμπεριφορά, από ελλείψεις στην επικοινωνία και στην κοινωνική αλληλεπίδραση.

Τα άτομα με διαταραχή στο φάσμα του αυτισμού παρουσιάζουν σημαντικά προβλήματα στην ανάπτυξη του λόγου (καθυστέρηση ομιλίας, ηχολαλία), ενώ όταν εμφανίζουν και νοητική υστέρηση, τότε απουσιάζει εντελώς η παραγωγή προφορικού λόγου (1).

Ο όρος φάσμα αυτισμού, εκφράζει την έντονη ποικιλομορφία των κλινικών χαρακτηριστικών στην κατάσταση του αυτισμού. Τα άτομα με αυτισμό μπορεί να εμφανίζουν ποικίλου βαθμού επίπεδο νοημοσύνης. Έτσι μπορεί να χαρακτηρίζονται από βαριά νοητική υστέρηση έως και πολύ υψηλή νοημοσύνη. Ουσιαστικά, η διαφορετική νοημοσύνη και η διαφορετική βαρύτητα κατά τον αυτισμό αποτελούν παράγοντες που συνθέτουν την μεγάλη ποικιλία κλινικού φάσματος (15). Στη σύγχρονη επιστημονική κοινότητα έχει επικρατήσει ο όρος διάχυτες αναπτυξιακές διαταραχές, γεγονός το οποίο υποδηλώνει την ποικιλομορφία στα είδη του αυτισμού. Βέβαια, ο όρος χρησιμοποιείται και για να περιγράψει και άλλες νευρο-ψυχιατρικές καταστάσεις, οι οποίες μπορεί να μην σχετίζονται με τον αυτισμό.

Ένα από τα βασικότερα χαρακτηριστικά του αυτισμού είναι η μη λεκτική επικοινωνία. Τα άτομα που πάσχουν από βαριά μορφή αυτισμού δεν αναπτύσσουν

καθόλου τον προφορικό (και κατά συνέπεια, και το γραπτό τους λόγο) ή μπορεί ο λόγος τους να μην είναι απόλυτα συγκροτημένος. Κατά συνέπεια η απουσία λεκτικής επικοινωνίας καθιστά δυσχερή και την κοινωνικοποίηση τους. Έτσι, τα παιδιά αυτά δυσκολεύονται να επικοινωνήσουν και να συναναστραφούν με συνομήλικά τους (ή μη) άτομα. Επίσης, τα αυτιστικά παιδιά δε διαθέτουν φαντασία, με αποτέλεσμα να αδυνατούν να παίξουν παιχνίδια ρόλων ή φαντασίας. Έτσι, πολλές φορές αποφεύγουν τη συναναστροφή με συνομήλικά τους άτομα, με τη δυσάρεστη απόρροια της απομόνωσής τους.

Τα άτομα με σύνδρομο Asperger έχουν εξαιρετικά ανεπτυγμένες τις δεξιότητες του λόγου, της γραμματικής καθώς και της άρθρωσης αλλά υπολείπονται στην κοινωνική επικοινωνία και στην μη λεκτική επικοινωνία.

Τα άτομα με διαταραχές στο φάσμα του αυτισμού υπολείπονται στη κοινωνική αλληλεπίδραση και δεν έχουν διάθεση για κοινωνική συναναστροφή και επαφή (απουσία βλεμματικής επαφής και μίμησης, αδυναμία ομαδικού παιχνιδιού), ενώ όταν η διάθεση ενυπάρχει, ο τρόπος με τον οποίο εκδηλώνεται δεν είναι κοινωνικά αποδεκτός (16).

Ειδικότερα, τα παιδιά στο φάσμα του αυτισμού χαρακτηρίζονται από έλλειψη συναισθηματικής ενσυναίσθησης και αμοιβαιότητας (17, 18), από αδυναμία αναγνώρισης των συναισθημάτων και της νοητικής κατάστασης των άλλων (19, 10, 20, 21), ενώ ταυτόχρονα δυσκολεύονται να αναπτύξουν σχέσεις με τους συνομήλικους τους (22).

Οι γονείς αυτών των παιδιών αναφέρουν δυσκολίες στη συμμετοχή του παιδιού τους σε ομαδικό παιχνίδι ενώ για τα παιδιά που έχουν αναπτύξει τον προφορικό λόγο, δεν μπορούν να αναπτύξουν φυσιολογικές συζητήσεις (23, 24, 25, 26, 27). Συχνά, οι γονείς αυτών των παιδιών αναγκάζονται να προσαρμόσουν τον προφορικό τους λόγο εξαιτίας της κοινωνικής και επικοινωνιακής δυσχέρειας των παιδιών τους (28, 29, 30).

Επιπροσθέτως, σε πολλές περιπτώσεις αυτιστικών παιδιών αναφέρονται αισθητηριακές δυσκολίες, δηλαδή οι αισθήσεις τους δε λειτουργούν κανονικά, όπως των υπόλοιπων ανθρώπων. Έτσι τα παιδιά αυτά μπορεί να παρουσιάζουν προβλήματα στην όραση, στην ακοή ακόμη και στη γεύση (προσκόλληση σε

συγκεκριμένα φαγητά και γεύσεις). Αυτές οι αισθητηριακές δυσκολίες ευθύνονται και για την δυσκολία στην ανάπτυξη κοινωνικών σχέσεων.

Έτσι μπορεί παιδιά στο φάσμα του αυτισμού να αποφεύγουν τη συναναστροφή με άλλα παιδιά, γιατί οι ομιλίες τους ηχούν πολύ δυνατά στα αυτιά τους ή γιατί δεν ακούν τα άλλα παιδιά (προβλήματα ακοής). Επίσης τα παιδιά με αυτισμό παρουσιάζουν και μια αδικαιολόγητη ανοχή στον πόνο (πχ από μικρο-τραυματισμούς, όπως κοψίματα και γδαρσίματα) και μια μειωμένη αντίληψη της θερμοκρασίας. Τέλος, αναφορικά με τα σωματικά συμπτώματα, κάποια άτομα στο φάσμα του αυτισμού ενδέχεται να μην μπορούν να διαχειριστούν σωστά το σώμα τους και να παρουσιάζουν προβλήματα, όπως έλλειψη ισορροπίας ή άλλες κινητικές διαταραχές.

Το δεύτερο βασικό χαρακτηριστικό γνώρισμα των παιδιών στο φάσμα του αυτισμού είναι οι στερεοτυπικές και επαναλαμβανόμενες κινήσεις του σώματος, όπως το χειροκρότημα, οι περιστροφικές κινήσεις του κορμού ή του κεφαλιού ή των χεριών (hand flapping). Οι συγκεκριμένες κινήσεις αφορούν σε μεγάλες μυϊκές ομάδες του σώματός τους, διότι τα άτομα αυτά υπολείπονται στην ανάπτυξη της λεπτής κινητικότητας. Επιπροσθέτως, τα αυτιστικά άτομα δεν επιθυμούν κανενός είδους σωματικής επαφής με τους άλλους. Έτσι, αποφεύγουν ή δυσανασχετούν στην αγκαλιά και στα χάδια, τα φιλιά και τα αγγίγματα, ενώ μπορεί να αποφεύγουν ακόμη και τη βλεμματική επαφή με τους γονείς τους από τη βρεφική τους ηλικία. Σε σοβαρές περιπτώσεις, μπορεί να έχουν έντονες κρίσεις οργής και θυμού, που χρειάζονται ιδιαίτερο χειρισμό από ειδικούς επαγγελματίες ψυχικής υγείας (ψυχολόγου-ψυχοθεραπευτή ή ψυχιάτρου).

Η παρορμητικότητα και η υπερκινητικότητα μπορεί να χαρακτηρίζουν ένα παιδί (κατά συνέπεια και έναν ενήλικα) που ανήκει στο φάσμα του αυτισμού, ενώ σε άλλες περιπτώσεις μπορεί να κυριαρχεί η παθητικότητα.

Το ποσοστό παιδιών που διαγιγνώσκονται στο φάσμα του αυτισμού έχει αυξηθεί δραματικά τις τελευταίες δεκαετίες, με πρόσφατη επιδημιολογική μελέτη να αναφέρει ότι 1 στα 88 παιδιά της σχολικής ηλικίας διαγιγνώσκεται στο φάσμα του αυτισμού (31).

Επομένως, σε σύγκριση με το παρελθόν όπου ο αυτισμός θεωρείτο ένα σπάνιο σύνδρομο, πλέον επανακαθορίζεται ως ένα σημαντικό σύνδρομο με κοινωνικό ενδιαφέρον (32).

Η εκπαίδευση των ατόμων με αναπτυξιακές διαταραχές αυτιστικού φάσματος απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή, η οποία αφορά στην πολυπλοκότητα της φύσης της συγκεκριμένης διαταραχής, ενώ στηρίζεται σε τρία κοινά χαρακτηριστικά: (33)

- το έλλειμμα της κοινωνικοποίησης,
- το έλλειμμα της επικοινωνίας.
- το έλλειμμα της δημιουργικής φαντασίας.

Καθώς το πιο σοβαρό πρόβλημα του αυτισμού αποτελεί η επικοινωνία, θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στον τρόπο διδασκαλίας της γλώσσας ώστε αυτή να μη διδάσκεται με άκαμπτο τρόπο.

Το νοητικό επίπεδο των αυτιστικών παιδιών ποικίλει ανάλογα με το πόσο βαριά είναι η περίπτωση του αυτισμού ή όχι. Έτσι, υπάρχει ένα μεγάλο ποσοστό αυτιστικών ατόμων που πάσχουν από σοβαρή νοητική υστέρηση, ενώ από την άλλη πλευρά, υπάρχουν αυτιστικά άτομα που έχουν υψηλή νοημοσύνη.

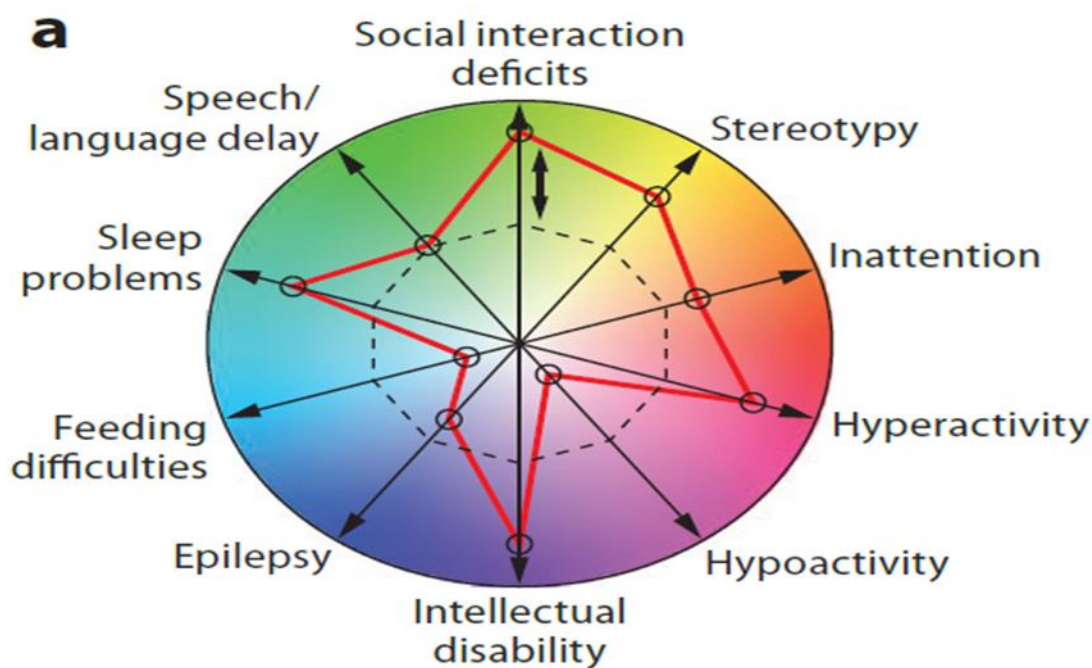
Αξίζει να σημειωθεί πως τα περισσότερα αυτιστικά παιδιά έχουν χαμηλό νοητικό επίπεδο. Πιο συγκεκριμένα, ο δείκτης νοημοσύνης διαμορφώνεται μέχρι την ηλικία των 5 ετών. Έχει υπολογιστεί πως ένα ποσοστό 76-89% των παιδιών με αυτισμό, παρουσιάζει νοητική υστέρηση. Το 30% περίπου αυτών των ατόμων θα παρουσιάσει ελαφριά έως μέτρια νοητική υστέρηση ενώ το 45 - 50% θα εμφανίσει βαριά υστέρηση (12).

Επιπρόσθετα, όπως αναφέρεται και πιο πάνω η διαταραχή του αυτισμού παρουσιάζει διαφορετικού βαθμού σοβαρότητα και χαρακτηρίζεται ήπια, μέτρια ή σοβαρή. Έτσι, υπάρχουν άτομα ικανά που έχουν σπουδάσει, γράφουν βιβλία, δίνουν διαλέξεις, ενώ άλλα δεν έχουν αναπτύξει ποτέ το λόγο, είναι απομονωμένα, παρουσιάζουν διάφορα προβλήματα συμπεριφοράς. Ο αυτισμός ωστόσο είναι μία κατάσταση που συνοδεύει το άτομο εφ' όρου ζωής.

Η επικοινωνία αποτελεί ένα φάσμα διαφόρων συμπεριφορών. Οι αφηρημένες έννοιες, λέξεις με διπλή σημασία και ο υποθετικός λόγος προκαλούν τεράστια σύγχυση στα άτομα με αυτισμό (34).

Ορισμένες έρευνες αναδεικνύουν την ικανότητα των αυτιστικών ατόμων να ζωγραφίζουν, να παίζουν μουσική ή να έχουν αναπτύξει υψηλού επιπέδου λογικο-μαθηματικές νοητικές δεξιότητες (35).

Η συμπτωματολογία του αυτισμού συνδέεται με την ηλικία εκδήλωσης πριν τους πρώτους 30 μήνες της ζωής του ατόμου, την πλήρη έλλειψη ανταπόκρισης προς τους άλλους, σοβαρή γλωσσική καθυστέρηση ή αλαλία, διαταραχές του λόγου (καθυστερημένη ηχολαλία, μεταφορικός λόγος, αντικατάσταση προσώπων και αντωνυμιών), περίεργες αντιδράσεις, παράξενο ενδιαφέρον και δεσμοί για έμψυχα και άψυχα αντικείμενα, παραισθήσεις, παραληρήματα, έλλειψη νοητικής συνοχής σχιζοφρένεια (36).



Εικόνα 4: Ορισμένα από τα κυρίαρχα χαρακτηριστικά των διαταραχών του αυτιστικού φάσματος και συννοσηρότητες (37)

Αξίζει να επισημανθεί πως το έλλειμμα στην κοινωνική επικοινωνία, εκδηλώνεται με τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα:

- ✓ Αξιοσημείωτη έκπτωση σε μη λεκτική επικοινωνία, όπως η βλεμματική επαφή, οι έκφρασεις του προσώπου, η στάση του σώματος και η ανταλλαγή χειρονομιών.
- ✓ Δυσκολία στην ανάπτυξη κοινωνικών σχέσεων με συνομηλίκους.
- ✓ Αδιαφορία για συμμετοχή σε δημιουργικές δραστηριότητες με άλλους ανθρώπους (π.χ. έλλειψη να υποδεικνύει, να θέτει θέματα ενδιαφέροντος).
- ✓ Έλλειψη κοινωνικής ή συναισθηματικής αμοιβαιότητας.

Παράλληλα, ποιοτικές εκπτώσεις στην επικοινωνία, εκδηλώνονται με τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα (34):

- ✓ Καθυστέρηση στην ανάπτυξη του λόγου ή ακόμα και πλήρης έλλειψη αυτού, η οποία ωστόσο δεν συνοδεύεται από μία προσπάθεια ανάπτυξης εναλλακτικών τρόπων επικοινωνίας, όπως οι χειρονομίες ή η μίμηση.
- ✓ Σε άτομα που έχουν αναπτύξει την ομιλία, αδυναμία διατήρησης συζήτησης με άλλους.
- ✓ Στερεοτυπική και επαναλαμβανόμενη χρήση της γλώσσας, καθώς και χρήση ιδιοσυγκρασιακής γλώσσας.

Επομένως, οι ιδιαιτερότητες των αυτιστικών ατόμων είναι πολλές, αλλά δεν παύει να υπάρχουν και πολλά θετικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα τους, τα οποία πρέπει να αξιοποιηθούν ανάλογα από τα εκάστοτε εκπαιδευτικά συστήματα και τις διάφορες δομές που αναλαμβάνουν την εκπαίδευση και την παρέμβαση των ατόμων αυτών.

Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερο, η εκπαιδευτική κοινότητα εστιάζει στη δυνατότητα εκπαίδευσης παιδιών που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού στη γενική πρωτοβάθμια εκπαίδευση. Η ανομοιογένεια των περιπτώσεων που συσσωρεύονται αναφορικά με τη διάχυτη αναπτυξιακή διαταραχή του αυτιστικού φάσματος δυσχεραίνει την εκπαιδευτική προσέγγιση των συγκεκριμένων παιδιών. Επομένως, ο στόχος της εκπαίδευσης που παρέχεται από όλους τους φορείς κοινωνικοποίησης και παιδείας πρέπει να είναι η αξιοποίηση των θετικών γνωρισμάτων των παιδιών στο φάσμα του αυτισμού, ώστε να κοινωνικοποιηθούν και

να καλλιεργηθούν στο μέγιστο βαθμό, αλλά και να προσφέρουν στο ευρύτερο κοινωνικό σύνολο (33).

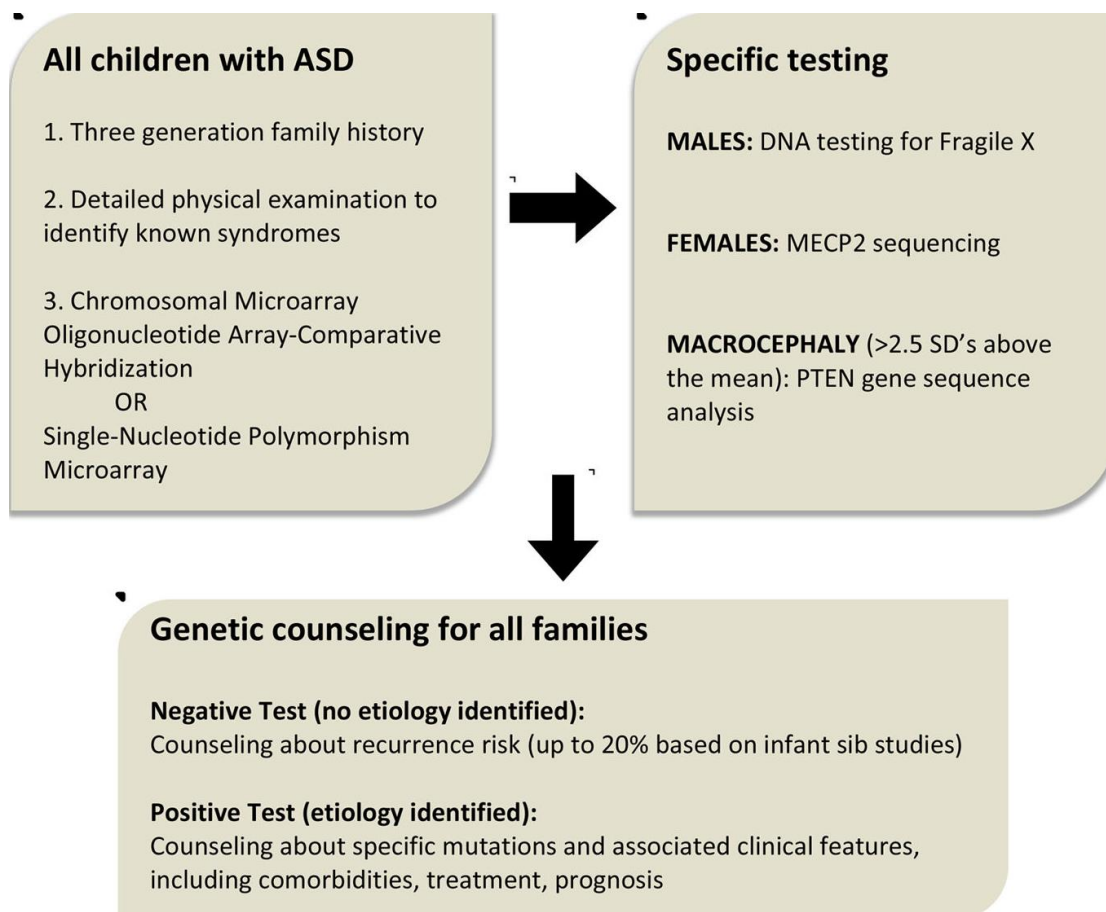
2.3. Διάγνωση - αξιολόγηση παιδιών με αυτισμό

Η διάγνωση των διαταραχών του αυτιστικού φάσματος στηρίζεται στην αναγνώριση των χαρακτηριστικών γνωρισμάτων που αφορούν στους τομείς της κοινωνικής αλληλεπίδρασης - επικοινωνίας - συμπεριφοράς και στη διαφορική διάγνωση από άλλες νευροαναπτυξιακές διαταραχές, με τη λήψη λεπτομερούς ιστορικού και την παρατήρηση – αξιολόγηση της συμπεριφοράς του παιδιού.

Στα πλαίσια αυτής της αξιολόγησης εκτιμάται το νοητικό επίπεδο του παιδιού, η ανάπτυξη του λόγου και της επικοινωνίας και η πιθανή συνύπαρξη άλλων νοσημάτων.

Στον **οργανικό έλεγχο** που προτείνεται περιλαμβάνονται :

- ηλεκτροεγκεφαλογράφημα
- απεικονιστικός έλεγχος εγκεφάλου, συνηθέστερα με CT ή MRI εγκεφάλου
- ακουσολογικός έλεγχος με ακουστικά προκλητά δυναμικά
- οφθαλμολογικός έλεγχος
- έλεγχος μεταβολικών νοσημάτων
- γενετικός έλεγχος με χρωμοσωμικές μικροσυστοιχίες και καρυότυπος (διερεύνηση για πιθανό σύνδρομο εύθραυστου-X σε αγόρια και για σύνδρομο Rett σε κορίτσια)
- γενετικός έλεγχος με αλληλούχιση επόμενης γενιάς (NGS) για πάνελς γονιδίων
- έλεγχος για διαταραχές ύπνου
- κλινική εκτίμηση από παιδίατρο – πλήρες οικογενειακό ιστορικό
- κλινική νευρολογική εκτίμηση



Εικόνα 5. Συστάσεις για τον γενετικό έλεγχο σε παιδιά με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (38).

Για την αξιολόγηση των παιδιών με διαταραχές στο αυτιστικό φάσμα έχουν δημιουργηθεί συγκεκριμένες κλίμακες- διαγνωστικά εργαλεία τα οποία χρησιμοποιούνται για ερευνητικούς και κλινικούς σκοπούς.

- «**Η Αναθεωρημένη Διαγνωστική Συνέντευξη για τον Αυτισμό**» (**ADI-R: Autism Diagnostic Interview-Revised**) είναι ημιδομημένη συνέντευξη που γίνεται με την βοήθεια των γονέων και χρησιμοποιείται για τη διερεύνηση του αυτισμού και τη διαφοροδιάγνωση από άλλες αναπτυξιακές διαταραχές, σε όλες τις ηλικίες και σε κάθε επίπεδο νοημοσύνης (39).

- «**Η Διαγνωστική Συνέντευξη για Διαταραχές Κοινωνικότητας και Επικοινωνίας από τις L. Wing και J. Gould**» (**DISCO: Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders**) είναι ερωτηματολόγιο - συνέντευξη για τη διάγνωση του αυτιστικού φάσματος και άλλων αναπτυξιακών διαταραχών και για την αξιολόγηση των αναγκών του αυτιστικού ατόμου. Καταγράφονται πληροφορίες για

ένα ευρύ φάσμα συμπεριφορικών και αναπτυξιακών δεξιοτήτων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλες τις ηλικίες και τα επίπεδα ικανοτήτων. Επίσης υπάρχει ειδική ενότητα της συνέντευξης για την διαφοροδιάγνωση του αυτισμού από άλλες ψυχιατρικές διαταραχές (40).

- Η «**Vineland Adaptive Behavior Scale**» (**Κλίμακα Προσαρμοστικής Συμπεριφοράς Vineland**) εκτιμά την προσαρμοστικότητα του ατόμου και την λειτουργικότητά του στην καθημερινή ζωή. Ωστόσο είναι μη ειδική για τον αυτισμό.

- Το «**Checklist for Autism in Toddlers**» (**CH.A.T.**) είναι ένα ερωτηματολόγιο για παιδιά σε ηλικίες παιδιών 18-24 μηνών και αξιολογεί δεξιότητες, όπως η βλεμματική επαφή, το συμβολικό παιχνίδι και το προδηλωτικό δείξιμο, οι οποίες συνδέονται άμεσα με τον αυτισμό. Το CH.A.T. δημιουργήθηκε από μία ομάδα ερευνητών στο Πανεπιστήμιο του Cambridge στη Μεγάλη Βρετανία, το 1992 και αποτελεί ένα απλό και εύχρηστο διαγνωστικό εργαλείο με 9 ερωτήσεις κλειστού τύπου (απαντώντας, δηλαδή, με ναι ή όχι), που διαρκεί 5 λεπτά

- Μία δεύτερη ομάδα ερευνητών στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής το 1996, τροποποίησε το ερωτηματολόγιο για το αμερικανικό κοινό, με αποτέλεσμα να δημιουργήσουν το **M-CH.A.T. (Modified Checklist for Autism Toddlers)**. Αυτό το ερωτηματολόγιο αποτελείται από 23 ερωτήσεις βασισμένες στις 9 ερωτήσεις του CH.A.T. και διαρκεί λιγότερο από 2 λεπτά, αντιστοιχεί σε ηλικίες παιδιών από 16- 30 μηνών. Το M-CH.A.T. διεξάγεται πάλι από τον παιδίατρο προς τους γονείς του παιδιού, ενώ ο παιδίατρος παρατηρεί και το ίδιο το παιδί κατά τη διάρκεια της επίσκεψης.

- «**Η Κλίμακα Αξιολόγησης Παιδικού Αυτισμού**» (**CARS: Childhood Autism Rating Scale**) αξιολογεί την ύπαρξη αλλά και την βαρύτητα του αυτισμού λαμβάνοντας πληροφορίες από το οικογενειακό περιβάλλον αλλά και την παρατήρηση-αξιολόγηση του ίδιου του παιδιού (41, 42).

- Η «**Κλίμακα Διαγνωστικής Παρατήρησης για τον Αυτισμό**» (**ADOS: Autism Diagnostic Observation Schedule**), στηρίζεται στην απευθείας παρατήρηση του ατόμου και στη αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης με τον εξεταζόμενο, ανάλογα με την ηλικία του και την παρουσία ή όχι προφορικού λόγου. Έτσι γίνεται εκτίμηση

μέσα από δραστηριότητες που απαιτούν κοινωνική αλληλεπίδραση, φαντασία, ικανότητες παιχνιδιού και ικανότητα κατανόησης των συναισθημάτων.

- Το «Αναθεωρημένο Ψυχοεκπαιδευτικό Προφίλ» (**PEP-R: Psychoeducational Profile Revised**), αξιολογεί το αναπτυξιακό επίπεδο παιδιών ηλικίας έως 12 χρόνων. Εντοπίζει ιδιοσυγκρασιακά και ανόμοια πρότυπα μάθησης και είναι χρήσιμο για το σχεδιασμό εξατομικευμένου ψυχοεκπαιδευτικού προγράμματος.

- Το «Αναθεωρημένο Ψυχοεκπαιδευτικό Προφίλ Ενηλίκων-Εφήβων» (**AAPEP: Adult-Adolescent Psychoeducational Profile**) αξιολογεί το επίπεδο δεξιοτήτων εφήβων και ενηλίκων με αυτισμό. Σε συνέχεια με το προηγούμενο, χρησιμοποιείται για τη δημιουργία ατομικού εκπαιδευτικού προγράμματος (42,43).

2.4. Ιστορική Αναδρομή

Ο Eugen Bleuler (1857-1939), ένας Ελβετός ψυχίατρος, ήταν ο πρώτος που χρησιμοποίησε τους όρους της σχιζοφρένειας και του αυτισμού. Από την ελληνική λέξη «εαυτός» προέκυψε η απομόνωση των ασθενών με σχιζοφρένεια από τον κοινωνικό τους περίγυρο σε μια προσπάθεια αντιμετώπισης της πραγματικής τους ζωής (44).

Η χρήση του όρου αυτισμός με την σημερινή έννοια ξεκίνησε 30 χρόνια αργότερα, από τον Αυστριακό παιδίατρο Hans Asperger ο οποίος χρησιμοποίησε αυτόν τον όρο σε διάλεξη που έδωσε στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Βιέννης (45).

Ο Asperger στη συνέχεια δημοσίευσε τη διδακτορική του διατριβή το 1944 όπου περιέγραψε μια ομάδα παιδιών και εφήβων με ελλείματα στην επικοινωνία και τις κοινωνικές δεξιότητες και με στερεοτυπικές και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές (45).

Ταυτόχρονα, το 1943, ο Leo Kanner, στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Johns Hopkins στις ΗΠΑ, περιέγραψε 11 παιδιά με παρόμοια συμπεριφορικά χαρακτηριστικά με εκείνα που απεικόνιζε ο Asperger στην δική του εργασία «Αυτιστικές διαταραχές της συναισθηματικής επαφής». Τα περισσότερα από αυτά τα

χαρακτηριστικά, όπως η «αυτιστική διαφυγή» και η «επιμονή στην ομοιομορφία» εξακολουθούν να αποτελούν μέρος των κριτηρίων διάγνωσης του αυτισμού (46).

Τα παιδιά ωστόσο που περιγράφει ο Asperger διέφεραν από τα παιδιά του Kanner, επειδή δεν είχαν καθυστέρηση στη γνωστική ή γλωσσική τους ανάπτυξη. Η εργασία του Asperger, που δημοσιεύθηκε στα γερμανικά, παρέμεινε σε μεγάλο βαθμό άγνωστη έως ότου η Uta Frith την μετέφρασε στα αγγλικά, γεγονός όπου την έκανε ευρέως γνωστή (45).

Οι συγκεκριμένες διαπιστώσεις διαδόθηκαν περαιτέρω από την Lorna Wing στο Ηνωμένο Βασίλειο. Ως αποτέλεσμα, υπήρξε μια σταδιακή αναγνώριση ότι ο αυτισμός αποτελεί ένα φάσμα που περιλαμβάνει από ήπια έως σοβαρά συμπτώματα και ότι η διαταραχή του Asperger είναι μέρος αυτού του φάσματος (47).

Η αρχική έννοια του όρου του αυτισμού του Bleuler και η συσχέτιση του με τη σχιζοφρένεια, σε συνδυασμό με τις ψυχαναλυτικές θεωρίες που κυριαρχούσαν στα μέσα του εικοστού αιώνα, συνδύαζαν τις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (ASD) με τις ψυχιατρικές διαταραχές, κατατάσσοντάς τις κάτω από το κεφάλαιο της παιδικής σχιζοφρένειας. Η κοινωνική απομόνωση των ασθενών με ASD παρερμηνεύθηκε ως ο ίδιος μηχανισμός που παρατηρήθηκε στη σχιζοφρένεια. Δυστυχώς, ορισμένες από αυτές τις διαστρεβλωμένες ιδέες εξακολουθούν να υφίστανται από ορισμένους. Η σχετική σημασία των ASD σε σχέση με άλλες υγειονομικές συνθήκες εξακολουθεί να υποτιμάται από τις κυβερνήσεις και τους διεθνείς οργανισμούς. Στην Αφρική, για παράδειγμα, οι κλινικές εργασίες σχετικά με τις ASD δεν άρχισαν παρά πριν από τρεις δεκαετίες μετά την δημοσίευση του έργου των Kanner και Asperger (48, 49).

Αξίζει να επισημανθεί πως στην Ελλάδα ιδρύεται το πρώτο σχολείο για παιδιά με σωματικές αναπηρίες το ημερολογιακό έτος του 1945, το οποίο λειτουργεί μέχρι σήμερα και προσφέρει σημαντική υποστήριξη τόσο στους μαθητές, όσο και στο οικογενειακό περιβάλλον που χρειάζεται στήριξη και είναι γνωστό ως ΕΛ.Ε.Π.Α.Π. Το ημερολογιακό έτος του 1954 με τη βοήθεια και τη συμβολή του Παπανούτσου ιδρύεται ο πρώτος Συμβουλευτικός Ιατρό-παιδαγωγικός Σταθμός και η Εταιρεία Ψυχικής Υγιεινής και Νευροψυχιατρικής του Παιδιού. Ακολουθούν τις επόμενες δεκαετίες ιδρύματα όπως η Θεοτόκος, το Ψυχολογικό Κέντρο Βορείου Ελλάδας το Σικιαρίδειο ίδρυμα ενώ την περίοδο από το 1969 έως 1970, παρέχεται η δυνατότητα

σε εκπαιδευτικούς να παρακολουθήσουν μαθήματα εξειδίκευσης σε μαθησιακές ανάγκες στη Μαράσλειο Παιδαγωγική Ακαδημία. (50).

2.5. Επιδημιολογία

Ο αυτισμός αποτελεί μια σοβαρή αναπτυξιακή διαταραχή, με ιδιαίτερες δυσκολίες κοινωνικής αλληλεπίδρασης. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια παρατηρείται ότι με την κατάλληλη θεραπευτική παρέμβαση, τα άτομα με αυτισμό διαθέτουν και μπορούν να αναπτύξουν ικανότητες. Ο αυτισμός ως μια νευροαναπτυξιακή διαταραχή, λαμβάνει χώρα κατά την διάρκεια των πρώτων ετών της ζωής (51).

Αναφέρεται ως σύνδρομο γιατί αποτελείται από μια σειρά συμπτωμάτων και όχι από μια συγκεκριμένη ασθένεια. Δεν γνωρίζουμε ακριβώς την χρονική στιγμή που λαμβάνει χώρα, ωστόσο είναι γνωστό πως δε θεραπεύεται. Γενικά, θεωρείται η σοβαρότερη αναπτυξιακή διαταραχή στα παιδιά (52).

Έρευνες σε παγκόσμια κλίμακα έχουν δείξει ότι το ποσοστό του αυτισμού κυμαίνεται στα 17/10.000 άτομα, ενώ οι υπόλοιπες διαταραχές αυτιστικού φάσματος αντιστοιχούν σε 46/10.000. Όλες οι έρευνες επισημαίνουν την υπεροχή του αυτισμού στο αρρεν φύλο σε σχέση με το θήλυ, σε αναλογία 3:1, αλλά δείχνουν ακόμη ότι τα κορίτσια με αυτισμό παρουσιάζουν κατά προσέγγιση περισσότερο σοβαρά μειονεκτήματα στο σύνολο των ελεγχόμενων ικανοτήτων από ότι τα αγόρια με αυτισμό. Η συχνότητα του αυτισμού δεν σχετίζεται με τη φυλή, τη κουλτούρα ή τη κοινωνική τάξη (53).

Πολλές φορές τα συμπτώματα του αυτισμού συνδέονται στενά με ασθένειες ή και καταστάσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την προγεννητική, την περιγεννητική και την μεταγεννητική περίοδο της ζωής, ενώ οδηγούν σε διαταραχές των λειτουργιών του εγκεφάλου (54).

Επιπρόσθετα υποστηρίζεται πως για την εκδήλωση του αυτισμού ενέχονται νευροφυσιολογικές και νευροχημικές ανωμαλίες, βάσει πολυάριθμων ερευνών. Η παρουσία του αυτισμού έχει θεωρηθεί ότι οφείλεται και σε ψυχογενούς φύσεως τραυματικές εμπειρίες του παιδιού (55).

Ο Asperger, ένας από τους πρώτους που ασχολήθηκε με τον αυτισμό, θεωρεί ότι το αυτιστικό σύνδρομο έχει ισχυρή γενετική βάση και υπάρχει οικογενειακή

προδιάθεση. Τα διαφορετικά παθογόνα αίτια προσβάλλουν το κεντρικό νευρικό σύστημα και μπορεί να παίζουν έναν αιτιώδη ρόλο αυτισμού (56).

Ωστόσο, έχει διαπιστωθεί η παρουσία περιπτώσεων παιδιών με αυτισμό ως ένα αποτέλεσμα μεταβολικών διαταραχών ή διαταραχών στο ενδοκρινικό σύστημα ή ακόμα και χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Επιπλέον, θα πρέπει να αναζητείται το αίτιο του αυτισμού σε μία μακρά αλυσίδα παραγόντων. Το συγκεκριμένο γεγονός δε σημαίνει πως ο αυτισμός μπορεί να προκληθεί από οποιοδήποτε αίτιο. Υπάρχει ένα συγκεκριμένο κρίσιμο αίτιο, αλλά οι παράγοντες οι οποίοι οδηγούν τελικά στον αυτισμό είναι ποικίλοι (15).

Το ποσοστό των παιδιών που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού έχει αυξηθεί δραματικά τις τελευταίες δεκαετίες, με μια επιδημιολογική μελέτη να αναφέρει ότι ένα στα ογδόντα οκτώ παιδιά της σχολικής ηλικίας διαγιγνώσκεται στο φάσμα του αυτισμού (31).

Στις ΗΠΑ φαίνεται ότι ο αυτισμός σήμερα επηρεάζει περίπου το 1-2% των παιδιών, με γενετικούς παράγοντες να καταλαμβάνουν όλο και μεγαλύτερο ρόλο στην αιτιολογία του αυτισμού.

Όσον αφορά τον επιπολασμό της νόσου, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας εκτιμά ότι το 0,76% των παιδιών του κόσμου παρουσίαζε ASD το 2010 (57).

Ωστόσο, σύμφωνα με έρευνα του Erskine και των συνεργατών το 2016 (258), η συγκεκριμένη εκτίμηση βασίστηκε σε μελέτες που έγιναν σε χώρες που αντιπροσωπεύουν μόνο το 16% του παγκόσμιου παιδικού πληθυσμού. Άλλες συστηματικές ανασκοπήσεις μελετών σε διεθνές επίπεδο παρήγαγαν παρόμοιες εκτιμήσεις περίπου στο 0,7% (57, 58).

Παράλληλα, μια ανασκόπηση στην Κίνα των Wan και των συνεργατών το έτος 2013 ανέφερε χαμηλότερες εκτιμήσεις. Ωστόσο, οι συνοπτικές εκτιμήσεις καλύπτουν τη σημαντική μεταβλητότητα που μπορεί να υπάρχει ανάλογα με τον γεωγραφικό τόπο, τη μεθοδολογική προσέγγιση και τον χρόνο. Η υψηλότερη πρόσφατη διεθνής εκτίμηση για την επικράτηση των ASD ήταν 2,64% για παιδιά ηλικίας 7 έως 12 ετών στη Νότιο Κορέα το 2005-2009. Η συγκεκριμένη εκτίμηση βασίστηκε σε προσέγγιση σάρωσης-επιβεβαίωσης δύο σταδίων (59).

Το 2011, ο επιπολασμός των ASD με βάση τις εκτιμήσεις από τα μητρώα στις σκανδιναβικές χώρες ξεπέρασε το 1% στη Φινλανδία και τη Σουηδία και το 1,5% στη Δανία. Οι συγκεκριμένες εκτιμήσεις για το 2011, αντικατοπτρίζουν σταθερές αυξήσεις του επιπολασμού των ASD κατά τη διάρκεια των γεννήσεων από το 1990 έως το 2007 (60).

Επιπρόσθετα, με μελέτη των Christensen και των συνεργατών το 2016, συμφωνούν με τις αντίστοιχες εκθέσεις για τις Ηνωμένες Πολιτείες. Στη Σουηδία, μεγάλο μέρος της αύξησης αποδόθηκε σε βελτιωμένη τεκμηρίωση και αναγνώριση της ηπιότερης μορφής ASD (π.χ. χωρίς συνοδευτική πνευματική αναπηρία) (61).

Ωστόσο, η συγκεκριμένη και άλλες προσπάθειες να αναλυθούν οι αιτίες των τάσεων στη διεθνή επικράτηση των ASD αντιμετωπίζουν παρόμοιες προκλήσεις όπως οι προσπάθειες στις Ηνωμένες Πολιτείες (62, 63).

Τέλος, αξιόπιστα στοιχεία για τον επιπολασμό του αυτισμού στις αναπτυσσόμενες χώρες εξακολουθούν να είναι περιορισμένα και παρά το αυξανόμενο ενδιαφέρον τις τελευταίες δεκαετίες, η επίσημη μελέτη της επίδρασης των παγκόσμιων πολιτισμικών διακυμάνσεων στην ευαισθητοποίηση και τη διάγνωση των ASD παραμένει περιορισμένη (58, 64).

Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι ουσιαστικά όλη η επιδημιολογία των ASD αφορά στα παιδιά. Μέχρι σήμερα, υπήρξε μόνο μία μελέτη του επιπολασμού των ASD στους ενήλικες, η οποία διεξήχθη στην Αγγλία το 2007. Η έρευνα έλεγξε ενεργά τους ενήλικες από την κοινότητα και χρησιμοποίησε μια ενεργή προσέγγιση σάρωσης-επιβεβαίωσης δύο σταδίων για να υπολογίσει την εκτίμηση στο 1%. Η ανίχνευση ASD σε πληθυσμιακά δείγματα ενηλίκων αποτελεί μία πρόκληση, καθώς τα αποτελεσματικά πλαίσια δειγματοληψίας είναι πολύ πιο δύσκολα να αναπτυχθούν, τα αποτελέσματα που σχετίζονται με τη μη απειλούμενη κατά τη γέννηση ομάδα μεγεθύνονται και η πορεία της ζωής επιδρά στην αύξηση της φαινοτυπικής μεταβλητότητας (65).

Σε σχέση με την επιδημιολογία του φύλου, οι ΔΑΔ (Διάχυτες Αναπτυξιακές Διαταραχές) εμφανίζουν αναλογία αγοριών προς κοριτσιών που κυμαίνεται από 3.5/1 έως 4/1.

Ανάλογα με το είδος της αυτιστικής διαταραχής, διαφοροποιείται και ο τρόπος θεραπευτικής παρέμβασης ενός αυτιστικού ατόμου. Εντούτοις, υπάρχουν κάποια βασικά κοινά χαρακτηριστικά γνωρίσματα που μαρτυρούν την ύπαρξη (ή έστω την πιθανότητα ύπαρξης) αυτισμού και κάποιοι επίσης βασικοί και συνήθεις τρόποι αντιμετώπισης των δυσχερειών που προκαλούνται από αυτά τα συμπτώματα και εφαρμόζονται από την πληθώρα των κέντρων αποκατάστασης και από ειδικούς παιδαγωγούς και διάφορους επαγγελματίες υγείας.

Αναφορικά με την Ελλάδα, η επιστημονική έρευνα για τον αυτισμό ήταν σχεδόν ανύπαρκτη. Οι επιστήμονες ψυχίατροι, ψυχολόγοι, εκπαιδευτικοί που γνώριζαν τον αυτισμό ήταν ελάχιστοι και η παροχή υπηρεσιών, ειδικής εκπαίδευσης, ψυχολογικής υποστήριξης ήταν ανύπαρκτες. Επομένως το αποτέλεσμα είναι να μην υπήρχε έρευνα για τον αυτισμό στην ελληνική επικράτεια, αλλά και αξιόλογη εγχώρια βιβλιογραφία.

Ωστόσο τα τελευταία χρόνια συντελείται αξιόλογη επιστημονική έρευνα πάνω στην διάγνωση, παρακολούθηση και θεραπευτική παρέμβαση των ατόμων με αυτισμό από ιδιωτικούς και δημόσιους φορείς.

2.6. Γενετική επιδημιολογία

Η γενετική συμβολή στην αιτιολογία των ASD υποστηρίζεται έντονα ιστορικά από μελέτες διδύμων και οικογενειών, με πρόσφατες εκτιμήσεις κληρονομικότητας στις Ηνωμένες Πολιτείες και την Ευρώπη να κυμαίνονται από 50% έως 95% (66, 67).

Η πρώτη μελέτη διδύμων το 1977, η οποία περιελάμβανε 11 ζεύγη μονοζυγωτικών διδύμων και 10 ζεύγη διζυγωτικών διδύμων έδειξε ότι γενετικοί παράγοντες συμβάλουν καθοριστικά στην εκδήλωση του αυτισμού (68). Σε μία πρόσφατη μετα-ανάλυση μελετών διδύμων, η κληρονομικότητα του αυτισμού ανέρχεται στο 74% (69). Έτσι σύμφωνα με μελέτες διδύμων, η πιθανότητα να εμφανίσουν ASD μονοζυγωτικά δίδυμα είναι περίπου 70-90% έναντι της πιθανότητας που έχουν τα διζυγωτικά δίδυμα που είναι περίπου 0-30% (70).

Επιπλέον, οι εκτιμήσεις του κινδύνου επανεμφάνισης μεταξύ των αδελφών αυτιστικών παιδιών κυμαίνονται από 3% έως 18% (71, 72). Γενικά υποστηρίζεται ότι

ο κίνδυνος επανεμφάνισης ASDs είναι 25 φορές μεγαλύτερος μεταξύ αδελφών σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό (73).

Μελέτες που επικεντρώθηκαν στον καρυότυπο ατόμων με αυτισμό, ανέδειξαν τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες ως ένα βασικό γενετικό παράγοντα εκδήλωσης της αυτιστικής διαταραχής.

Κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας, οι γενετικές μελέτες ήταν αρκετά επιτυχείς για τον εντοπισμό σπάνιων γενετικών παραλλαγών, είτε κληρονομούμενων είτε de novo μεταλλάξεων καθώς και παραλλαγών αριθμού αντιγράφων (CNVs), που σχετίζονται με τον αυτισμό ή με αυτιστικά χαρακτηριστικά. (74).

Ωστόσο, οι παρατηρήσεις των ειδικά σπάνιων de novo και κληρονομούμενων CNVs περιορίστηκαν σε ένα μικρό ποσοστό (περίπου 10%) παιδιών με μη συνδρομικό αυτισμό. (75)..

Παράλληλα, έχουν ταυτοποιηθεί αρκετά ισχυρά υποψήφια γονίδια, συμπεριλαμβανομένων γονιδίων μετασυναπτικών ικριωμάτων (π.χ. SHANK3), γονιδίων επαφής (π.χ., CNTN4), γονιδίων της οικογένειας της νευροξίνης (π.χ., CNTNAP2) και γονιδίων αναδιαμόρφωσης χρωματίνης (π.χ., CHD2). Υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ότι οι γενετικές μεταβλητές κινδύνου που εντοπίζονται μεταξύ ατόμων με ASD συγκλίνουν σε κοινές γενετικές οδούς. Η συσσωρευτική επίδραση πολλαπλών κοινών γενετικών παραλλαγών, δηλ. ο πολυγονικός κίνδυνος, αναγνωρίζεται τώρα ως ένας σημαντικός δείκτης κινδύνου για ASD καθώς και για άλλες ψυχιατρικές διαταραχές (75, 76).

Οι συνηθισμένες παραλλαγές που συμβάλλουν στον πολυγονικό κίνδυνο στα ASD πιστεύεται πως είναι κοινές, τουλάχιστον εν μέρει, με άλλες νευροαναπτυξιακές και ψυχιατρικές διαταραχές. Μεγάλης κλίμακας μελέτες συσχέτισης ASD και διασταυρούμενης αλληλεπίδρασης με αρκετά σημαντική στατιστική ισχύ για την εκτίμηση των μικρών αποτελεσμάτων από τις κοινές γενετικές παραλλαγές μόλις τώρα αναδύονται και απαιτούν συνδυασμό συνόλων δεδομένων από πολλαπλά δείγματα μεγάλου πληθυσμού (77).

Η κλινική εικόνα του αυτισμού εμφανίζει μεγάλη ποικιλομορφία και κυμαίνεται από ηπιότερες μορφές έως βαρύτερες (με πολλαπλά αυτιστικά στοιχεία συνοδευόμενα με βαριά νοητική καθυστέρηση) (78).

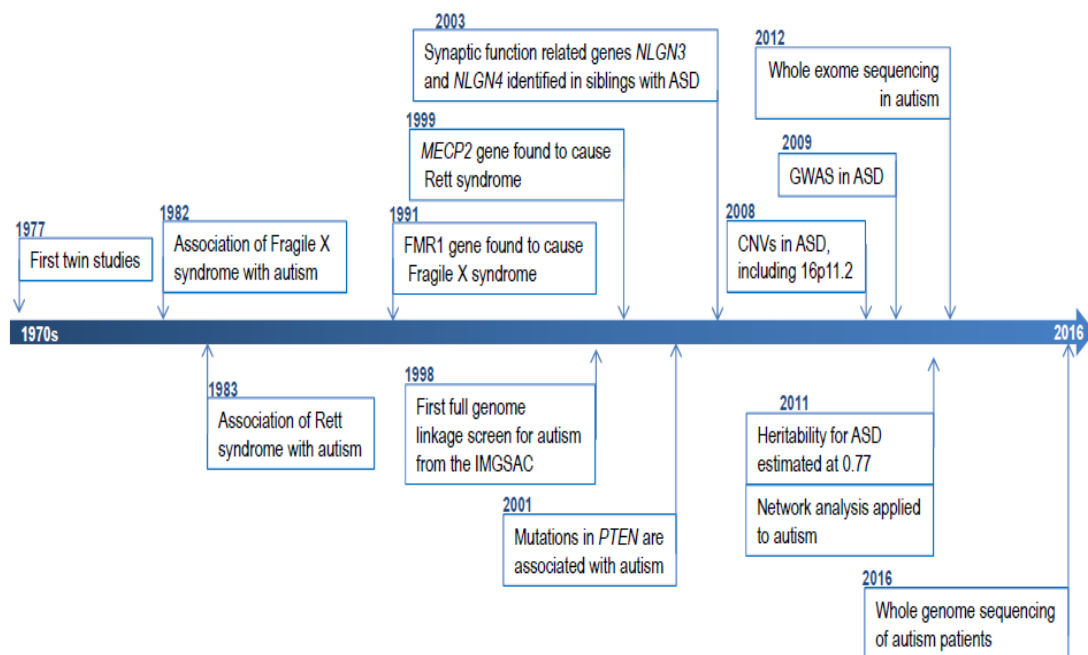
Παράλληλα, η κλινική εικόνα μπορεί να μεταβάλλεται με την ηλικία και ένα άτομο με ήπια μορφή αυτισμού μπορεί να προσαρμοστεί στο κοινωνικό περιβάλλον. Παρόλα αυτά παραμένουν κάποια ελλείματα. Η δυνατότητα καθημερινής συνδιαλλαγής και κοινωνικής αλληλεπίδρασης παραμένει περιορισμένη και έξω από τα φυσιολογικά όρια. Δεν επιτρέπει την πλήρη ενσωμάτωση στον κόσμο των ενηλίκων (79).

Σήμερα, είναι γενικά αποδεκτό ότι ο αυτισμός είναι ένα φάσμα αναπτυξιακών διαταραχών που έχει πολυπαραγοντική αιτιολογία. Προκύπτει από μία διαταραχή του εγκεφάλου η οποία είναι παρούσα από την γέννηση και επηρεάζει τον τρόπο που ο εγκέφαλος χρησιμοποιεί τις πληροφορίες. Μια έμμεση ένδειξη ότι υφίσταται εγκεφαλική βλάβη στα άτομα με αυτισμό είναι ότι συνυπάρχει σε υψηλό ποσοστό συνύπαρξη επιληψίας. Οι έρευνες δείχνουν ότι υπάρχει κάποιο γενετικό κληρονομικό υπόβαθρο και πως σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να συνδέεται και με άλλες ψυχιατρικές διαταραχές. Γενετικοί παράγοντες οι οποίοι αλληλεπιδρούν με περιβαλλοντικούς συντελούν στην εμφάνισή του.

Σε άλλες περιπτώσεις ενοχοποιούνται συμβάματα κατά τη γέννηση ή άλλες οργανικές καταστάσεις, όπως η οξώδης σκλήρυνση και η φαινυλκετονουρία. Μια επιστημονική μελέτη με 100 αυτιστικά παιδιά, εξετάζοντας το ιστορικό των γονέων τους για σχιζοφρένεια, κατέληξε πως η διαταραχή των παιδιών ήταν μια εντελώς ανεξάρτητη με διακριτά χαρακτηριστικά, διαφορετική από την παιδική σχιζοφρένεια (80).

Στην περίπτωση όπου ο αυτισμός περιλαμβάνει και νοητική καθυστέρηση χαρακτηρίζεται συνήθως ως «βαρύς αυτισμός», σε αντίθεση με πιο ήπιες περιπτώσεις αυτισμού (81).

Έτσι από τις αρχές του 1970 όπου ξεκίνησε να μελετάται η αιτιοπαθογένεια του αυτισμού μέχρι σήμερα πλήθος μελετών και νέες τεχνολογίες έχουν συμβάλει σημαντικά στην αποκάλυψη γενετικών παράγοντων με ισχυρή συσχέτιση, όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα.



Διάγραμμα 1: Σημαντικά χρονικά ορόσημα στην ανακάλυψη γενετικών παραγόντων που συμβάλλουν στον αυτισμό (82).

Υπάρχουν ωστόσο 2 θεωρίες προκειμένου να εξηγήσουν την γενετική αρχιτεκτονική μίας κοινής σύνθετης ασθένειας, όπως ο αυτισμός. Η πρώτη είναι η υπόθεση κοινής παραλλαγής-κοινής ασθένειας (**common variant-common disease**), που προτείνει κοινές γενετικές παραλλαγές υψηλής συχνότητας (συχνότητα δευτερευόντος αλληλίου >1%) ότι συμβάλλουν στον γενετικό κίνδυνο μιας κοινής σύνθετης ασθένειας. Η δεύτερη υπόθεση, η οποία φαίνεται ότι κερδίζει όλο και περισσότερο έδαφος είναι η υπόθεση σπάνιας παραλλαγής-κοινής ασθένειας (**rare variant-common disease**). Σύμφωνα με την τελευταία σπάνιες μεταλλάξεις φαίνεται ότι έχουν σημαντικό κίνδυνο (83).

Ιδιαίτερα σημαντικό από κλινικής άποψης είναι να καθοριστεί αν η αυτιστική διαταραχή που παρουσιάζει ένα άτομο είναι μη συνδρομική (**non-syndromic ASD**) ή συνδρομική (**syndromic ASD, ASD-plus**).

Όσον αφορά στις μη συνδρομικές περιπτώσεις παιδιών με ASDs οι οποίες αφορούν και την πλειοψηφία των περιπτώσεων (75% των παιδιών με ASDs), τα άτομα γενικά δεν διαθέτουν δυσμορφικά χαρακτηριστικά (με εξαίρεση ίσως κάποιες κοινές συννοσηρότητες που έχουν συσχετιστεί με τις ASDs), παρουσιάζουν φυσιολογική σωματική ανάπτυξη, φυσιολογική νευρολογική εξέταση και δεν εμφανίζουν συγγενείς ανωμαλίες. Αυτές οι περιπτώσεις ASDs χαρακτηρίζονται από

αναλογία ανδρών/γυναικών 6:1, υψηλό κίνδυνο επανεμφάνισης σε αδέλφια και θετικό οικογενειακό ιστορικό.

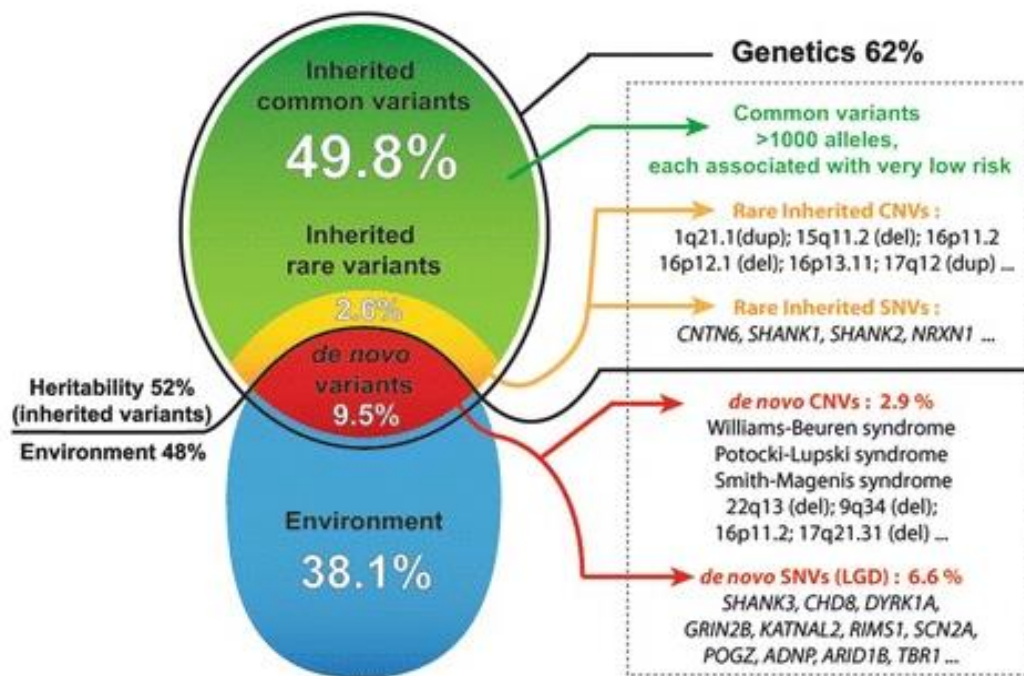
Οι συνδρομικές περιπτώσεις ASDs (25% των περιπτώσεων παιδιών με ASDs) χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένα δυσμορφικά χαρακτηριστικά. Η αναλογία εμφάνισης ανδρών προς γυναίκες είναι χαμηλότερη (3,5:1), καθώς και ο κίνδυνος επανεμφάνισης στην οικογένεια.

Υπολογίζεται ότι σήμερα περίπου σε ποσοστό 40% των περιπτώσεων παιδιών με ASDs αναγνωρίζεται κάποιο γενετικό σύνδρομο ή χρωμοσωμική ανωμαλία (συμπεριλαμβανομένων διπλασιασμών ή διαγραφών τμημάτων DNA) ή μονογονιδιακό νόσημα ή γενετικές παραλλαγές συγκεκριμένων γονιδίων (γενετικοί πολυμορφισμοί) ή μεταβολικά νοσήματα. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται γενετικά σύνδρομα, μεταβολικά σύνδρομα ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες με γνωστά αυτιστικά χαρακτηριστικά.

• Adenylate succinase deficiency • Angelman and Prader-Willi syndromes (AS-maternal or PWS-paternal 15q11-q13 deletions) • Apert syndrome • 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion (Burnside-Butler) syndrome • CHARGE syndrome • Chromosome 15 duplications (maternal origin) • Chromosome 16p11.2 deletions • Cohen syndrome • De Lange syndrome • Down syndrome • Duchenne muscular dystrophy • Fragile X syndrome (FMR1 gene) • Hypomelanosis of Ito • Joubert syndrome • Mitochondrial dysfunction • Moebius sequence	• Myotonic dystrophy • Neurofibromatosis • Noonan syndrome • Oculo-auriculo-vertebral spectrum • Phelan-McDermid syndrome (22q13 deletion) • PTEN gene associated disorders with extreme macrocephaly (Cowden/Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome) • Rett syndrome (MECP2 gene) • Shprintzen/velo-cardio-facial/DiGeorge (22q11 deletion) • Smith-Lemli-Opitz syndrome • Smith-Magenis syndrome (17p11.2 deletion) • Sotos syndrome • Tuberous sclerosis • Turner syndrome • Untreated or poorly treated phenylketonuria (PKU) • Williams syndrome
---	--

Πίνακας 1: Λίστα με γνωστά γενετικά σύνδρομα, μεταβολικά νοσήματα και χρωμοσωμικές ανωμαλίες με γνωστά αυτιστικά χαρακτηριστικά (84).

Η συμβολή της γενετικής και του περιβάλλοντος στην εκδήλωση των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού απεικονίζεται στο παρακάτω **διάγραμμα 2** (74).



2.6.1. Χρωμοσωμικές ανωμαλίες σχετιζόμενες με ASDs

Από τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες που έχουν συσχετιστεί με τις ASDs κάποιες είναι υπομικροσκοπικές και εντοπίζονται με τη βοήθεια χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών, ενώ άλλες είναι ορατές με το μικροσκόπιο. Οι πιο συχνές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που έχουν συσχετιστεί με τον αυτισμό παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Locus	Comment
15q11.2-q13.1	The maternal deletion or mutation of <i>UBE3A</i> gene causes Angelman Syndrome. The paternal deletion leads to Prader-Willi Syndrome. And 15q11-q13 maternal duplication is the most frequent cause for ASD.
16p11.2	A typical 500 kb microduplication or microdeletion of 16p11.2 is associated with ASD and schizophrenia. The deletion is more penetrant than duplication. <i>KCTD13</i> gene has been implicated to be major contributor to the neuroanatomical phenotype.
2p16.3	Deletions which disrupted <i>NRXN1</i> gene were frequently reported in ASD cases.
1q21.1	The 1.35 Mb deletion is associated with development delay, intellectual disability, schizophrenia and the duplication is linked to intellectual disability and ASD. This region is gene rich and structurally complex. A paralog of the <i>HYDIN</i> gene in this locus might account for microcephaly or macrocephaly.
7q11.23	Deletion of 7q11.23 is known to be responsible for Williams syndrome where as the duplication is associated with ASD and speech delay.
3q29	3q29 deletions are associated with ASD and schizophrenia. <i>FBXO45</i> , <i>PAK2</i> and <i>DLG1</i> might be causal genes in this region.
22q11.2	The 22q11.2 deletion is associated with DiGeorge syndrome, ASD, schizophrenia and ADHD. The symptom of the duplication is very heterogeneous but mostly leads to mental retardation, developmental delay and ASD.
17p11.2	Deletion of 17p11.2 results in Smith-Magenis syndrome. Duplications of this region leads to Potocki-Lupski syndrome. Both syndromes are associated with ASD.
17q12	Deletion of 17q12 has been reported to be associated with diabetes, renal cysts, epilepsy, intellectual disability and ASD.

Πίνακας 2: Οι πιο συχνές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που έχουν συσχετιστεί με τις ASDs

2.6.1.1 Υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες σχετιζόμενες με ASDs

Όσο αφορά στις υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες οι σημαντικότεροι εκπρόσωποι είναι ορισμένες παραλλαγές αριθμού αντιγράφων **CNVs** (copy number variations), οι οποίοι εντοπίζονται με τη χρήση χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών και μπορεί να είναι μεγάλου μήκους, σπάνια ή και *de novo*. Αρκετές είναι οι περιοχές με ενδιαφέρον όσον αφορά στην ύπαρξη CNVs που σχετίζονται με τις ASDs. Υπολογίζεται ότι σε ποσοστό περίπου 7% παιδιών με ASDs ανευρίσκονται υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες (85).

Μία από αυτές είναι η **1q21.1**. Συγκεκριμένα, ευθύνονται, συνολικά, για το 0,2% των περιπτώσεων ASDs και κάποιες φορές κληρονομούνται από γονέα που δεν έχει επηρεαστεί κλινικά (86). Άλλες περιοχές είναι η **3q29** –που παρουσιάζει επίσης σημαντική συσχέτιση με την παιδική σχιζοφρένεια (childhood-onset schizophrenia). Διαγραφή σε αυτή την περιοχή έχει θεωρηθεί υπεύθυνη για ένα πολύ μικρό αριθμό περιπτώσεων ASDs. Επίσης διπλασιασμός στην περιοχή **7q11.23** έχει ανευρεθεί στο 0,2% των οικογενειών με ASDs, ενώ το 40% των ατόμων όπου έχει βρεθεί διπλασιασμός της ίδιας περιοχής παρουσιάζουν συμπεριφορές οι οποίες είναι σε συμφωνία με τις ASDs. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η περιοχή **15q11- 13**. Διπλασιασμοί και γενικότερα αυξημένη δόση της γενετικής πληροφορίας στη θέση αυτή έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση ASDs και το πιθανότερο είναι ότι

σχετίζονται με την πλαστικότητα των συνάψεων (87). Ακόμη, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η περιοχή **16p11.2**, όπου συναντώνται CNVs σε ποσοστό >1% των ατόμων με ASDs και σχετίζονται με μεγάλη ποικιλία φαινοτύπων. Πιο συχνά στην περιοχή αυτή παρατηρούνται διαγραφές οι οποίες συνδέονται και με σοβαρότερο κλινικό φαινότυπο και έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση παχυσαρκίας. Η ύπαρξη αμοιβαίων διπλασιασμών στην περιοχή σχετίζεται με ηπιότερο φαινότυπο και οι ασθενείς είναι λιποβαρείς. Τέλος, αναφορά γίνεται και στις θέσεις **16p12.1**, **17q12** και **22q11.2**.

Στις περιοχές που εμφανίζονται τα CNVs βρέθηκε ότι συχνά επηρεάζουν γονίδια. Πολλά από τα γονίδια αυτά, όπως τα **NRXN1** (στην περιοχή **2p16.3**), το **NLGN3** (η σύνδεση του οποίου με τις ASDs φαίνεται κάπως ασαφής), τα **NLGN4**, **SHANK2**, **SHANK3**, **SYNGAP1** και **DLGGAP2**, παίζουν ρόλο στην δημιουργία των συνάψεων, ενώ άλλα όπως τα **ANKRD11**, **DPP6**, **DPP10** και **DPYD** σχετίζονται με την κυτταρική και τη νευρωνική ανάπτυξη και λειτουργία.

Πιστεύεται ότι η βαρύτητα της αυτιστικής διαταραχής αυξάνει με την αύξηση του «φορτίου» των CNVs. Επίσης έχει παρατηρηθεί πως τα κληρονομούμενα σπάνια CNVs είναι κυρίως διπλασιασμοί, ενώ τα de novo είναι κυρίως ελλείμματα. Επίσης στα θηλυκά άτομα παρατηρούνται de novo CNVs σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα αρσενικά, τα οποία είναι συνήθως μεγαλύτερου μεγέθους. Θεωρείται ότι συνήθως τα ελλείμματα συνδέονται με βαρύτερο κλινικό φαινότυπο σε σχέση με τους διπλασιασμούς (88, 89).

2.6.1.2 Χρωμοσωμικές ανωμαλίες σχετιζόμενες με ASDs ορατές με το μικροσκόπιο

Σπάνιες χρωμοσωμικές ανωμαλίες συναντώνται σε άτομα με ASDs σε ποσοστό υψηλότερο σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (>7,4% έναντι <1%). Υπολογίζεται ότι χρωμοσωμικές ανωμαλίες ανευρίσκονται σε ένα ποσοστό περίπου 5% παιδιών με ASDs με τις συμβατικές τεχνικές καρυότυπου και ότι περίπου το 3% των παιδιών έχουν αναγνωρίσιμες χρωμοσωμικές ανευπλοειδίες χρησιμοποιώντας την τεχνική του φθορίζοντα υβριδισμού in situ – FISH (90).

Έχουν περιγραφεί δομικές ανωμαλίες σε όλα τα χρωμοσώματα που περιλαμβάνουν διαγραφές, ελλείψεις, διπλασιασμούς, ισοζυγισμένες ή μη μεταθέσεις *caste* (91).

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν εντοπιστεί στην περιοχή **15q11-13 (περιοχή Prader-Willi syndrome/Angelman syndrome)**, όπου διπλασιασμοί (συνήθως μητρικά κληρονομούμενοι), ελλείμματα, αλλά και ανώμαλη μεθυλίωση συνδέονται με την εμφάνιση σημαντικού ποσοστού περιπτώσεων ASDs (92, 93). Πιθανά υποψήφια γονίδια που εδράζονται στην περιοχή αυτή και θα μπορούσαν να συνδέονται με την λειτουργία του εγκεφάλου είναι οι GABA υποδοχείς **GABRA5** and **GABRB3** (94, 95), συστατικά των πρωτεοσωμικών συμπλεγμάτων **UBE3A** and **HERC2** (96, 97), ριβονουκλεοπρωτεϊνικά στοιχεία **SNRPN**, and το γονίδιο **FMRP** που αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη **CYFIP1** (98).

Άλλες περιοχές με ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι η περιοχή **Xp22.3**, όπου εδράζεται και το γονίδιο **NLGN4X**, η **22q13**, με το γονίδιο **SHANK3**, η περιοχή **2p16.3** όπου υφίσταται το **NRXN1** και η περιοχή **7q35-36**, στην οποία εντοπίζεται το γονίδιο **CNTNAP2** (99, 100). Άλλα συχνά ευρήματα που προκύπτουν από τον κοινό καρυότυπο είναι οι διαγραφές στην περιοχή **2q37**, **7q31**, το σύνδρομο **Klinefelter Syndrome (XXY)** (101) καθώς και διπλασιασμοί στην περιοχή του **συνδρόμου Williams–Beuren–Syndrome 7q11.23** (102) και διαγραφές της περιοχής **22q11 (Velo-cardio-facial Syndrome)** (103).

Έτσι λόγω αυτιστικών χαρακτηριστικών που παρατηρούνται σε πολλά άτομα με χρωμοσωμικές ανευπλοειδίες, συστήνεται έλεγχος με μοριακό καρυότυπο σε όλους τους ασθενείς με ASDs. Σε ορισμένες περιπτώσεις υπάρχει και η πιθανότητα γενετικής συμβουλευτικής καθώς και θεραπευτικής παρέμβασης σε άλλες ιατρικές καταστάσεις που μπορεί να σχετίζονται με την καρυοτυπική ανωμαλία.

2.6.2 Μονογονιδιακά νοσήματα σχετιζόμενα με τις ASDs

Αρκετές γνωστές μονογονιδιακές παθήσεις μπορεί να συνυπάρχουν με τις ASDs. Υπολογίζεται ότι γνωστές μονογονιδιακές ασθένειες ανευρίσκονται σε ποσοστό 5-10% παιδιών με αυτιστικά χαρακτηριστικά (104).

Από τις πιο συχνές μονογονιδιακές ασθένειες που συνδέονται με τις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού είναι το **σύνδρομο εύθραυστου X**, το οποίο

οφείλεται σε μία ασταθή επέκταση ενός τρινουκλεοτιδίου (CGG repeat > 200 repeats) στο 5' άκρο του γονιδίου **FMR1** στην περιοχή Xq27 (105). Το γονίδιο FMR1 παίζει ρόλο ζωτικής σημασίας στην πλαστικότητα των συνάψεων, ρυθμίζοντας την μεταφορά του mRNA και την μετάφραση του στον εγκέφαλο. Το **σύνδρομο εύθραυστου X** παρουσιάζει ποσοστό 1,5–3% των ατόμων με ASDs, ενώ ASDs παρουσιάζουν το 18–67% των ανδρών και το 10–23% των γυναικών με εύθραυστο X. Έτσι είναι σημαντικό να ελέγχονται για το σύνδρομο αυτό όλα τα παιδιά που παρουσιάζουν αναπτυξιακή καθυστέρηση, ανεξάρτητα από το φύλο τους.

Όλα τα κορίτσια που παρουσιάζουν ASDs και αναπτυξιακή καθυστέρηση, πιθανόν να διαγιγνώσκονται με το **σύνδρομο Rett**. Οπότε τα κορίτσια συνιστάται να υποβάλλονται σε έλεγχο για μεταλλάξεις στο γονίδιο **MeCP2** (σημαντικός ρυθμιστής της μεταγραφικής διαδικασίας). Μεταλλάξεις στο άνωθεν γονίδιο έχουν βρεθεί στο 1% των ατόμων που διαγνώστηκαν με μη συνδρομικές μορφές ASDs. Στα πρώτα του στάδια το σύνδρομο Rett είναι δύσκολο να διαφοροδιαγνωστεί από τον ιδιοπαθή αυτισμό, αν και υπάρχουν κριτήρια για τη διάκριση μεταξύ των δύο, όπως η μικροκεφαλία που παρατηρείται στο Rett.

Το **σύνδρομο Phelan-McDermid** προκαλείται από διαγραφή στην περιοχή **23q13.3** –όπου βρίσκεται το γονίδιο **SHANK3**– και έχει συσχετιστεί με τις ASD.

Αυτιστική συμπεριφορά παρατηρείται σε πολλά παιδιά με **οζώδη σκλήρυνση**, ενώ στο 1,1–1,3% των ατόμων που διαγιγνώσκονται αρχικά με ASDs βρίσκονται μεταλλάξεις είτε στο γονίδιο **TSC1** (9q34), είτε στο γονίδιο **TSC2** (16p13). Και τα δύο γονίδια φαίνεται ότι λειτουργούν ως αναστολείς του μονοπατιού mTOR, το οποίο ρυθμίζει την μεταφραστική διαδικασία στον εγκέφαλο. Η διάκριση μεταξύ των δύο καταστάσεων (οζώδης σκλήρυνση και ASDs) γίνεται με βάση το αυτοσωμικό επικρατές πρότυπο κληρονόμησης της οζώδους σκλήρυνσης και τα συνοδά δερματικά συμπτώματα αυτής.

Μεταλλάξεις του γονιδίου **PTEN** παρατηρούνται στο **σύνδρομο Gowden** – χαρακτηρίζεται από την παρουσία διαφόρων όγκων και από ιδιαίτερα δερματικά μορφώματα – καθώς και στο **σύνδρομο Bannayan-RileyRuvacclaba (BRRS)** (το οποίο χαρακτηρίζεται από αναπτυξιακή επιβράδυνση, μακροσωμία, αμαρτωματώδη πολυποδίαση στο έντερο και δερματικά μορφώματα). Και στα δύο σύνδρομα κοινό χαρακτηριστικό αποτελεί η μακροκεφαλία, ενώ κάποιες φορές συνυπάρχουν με

ASDs. Έτσι, όλα τα άτομα με ASDs που εμφανίζουν σημαντική μακροκεφαλία (περίμετρος κεφαλής >3 τυπικές αποκλίσεις πάνω από τη μέση φυσιολογική τιμή για την αντίστοιχη ηλικία) πρέπει να ελέγχονται για μεταλλάξεις του γονιδίου PTEN.

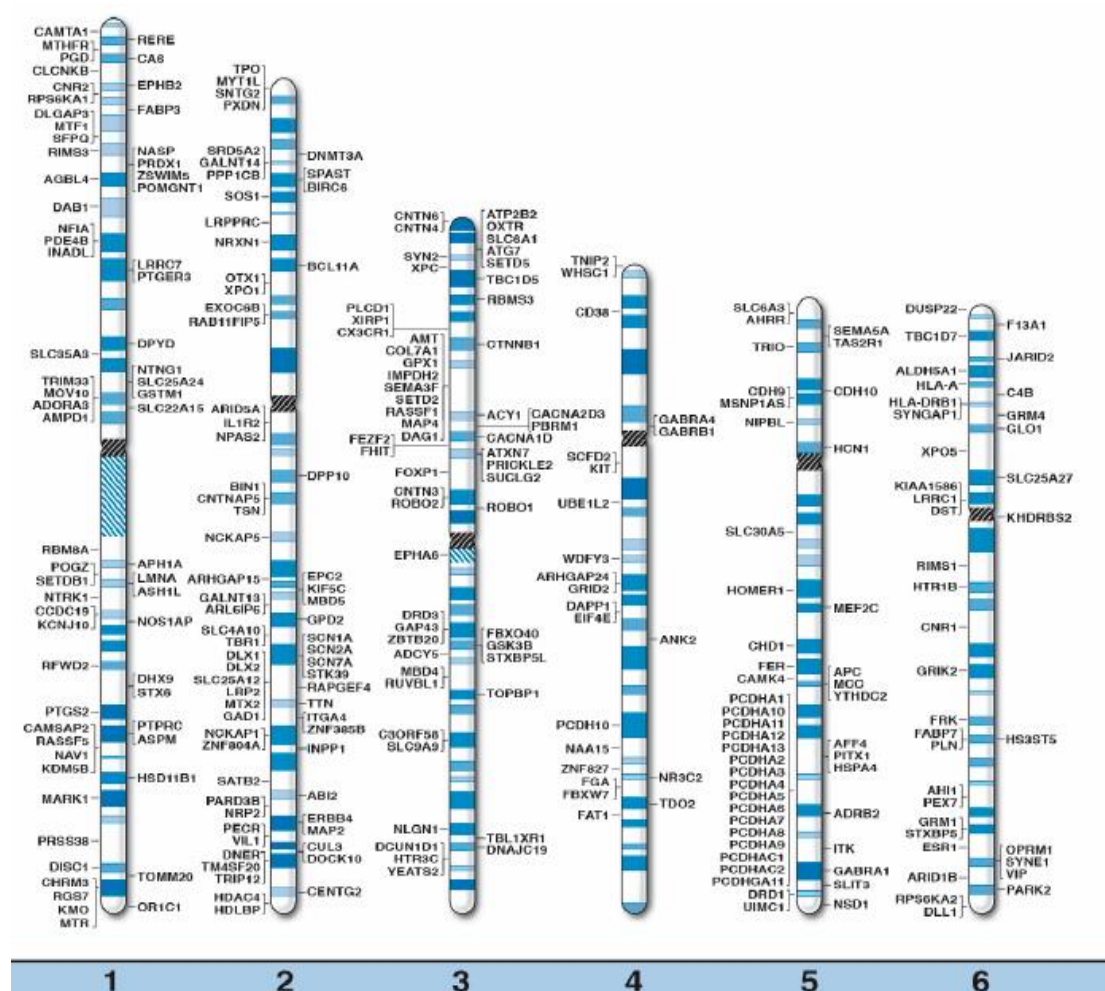
2.6.3 Μεταβολικά νοσήματα σχετιζόμενα με τις ASDs

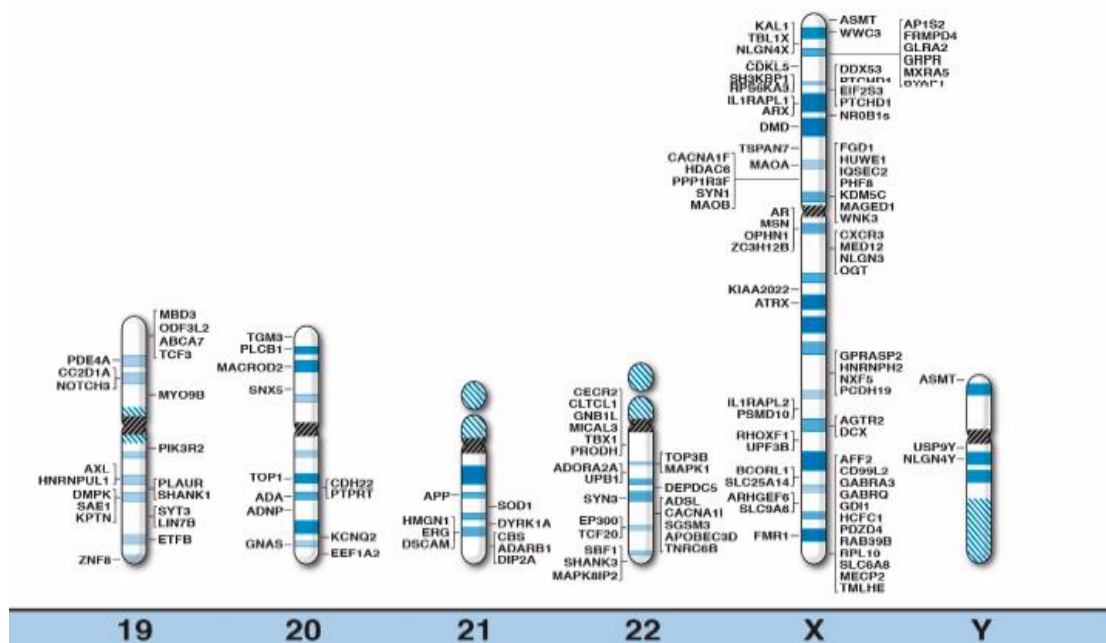
Έχει βρεθεί ότι πολλά μεταβολικά νοσήματα μπορεί να συνοδεύονται από την εμφάνιση αυτιστικών χαρακτηριστικών. Για παράδειγμα η **φαινυλκετονουρία**, όπου η έγκαιρη διάγνωση σε συνδυασμό με τη σωστή διατροφή πιθανότατα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αποτροπή της εμφάνισης ASDs, σύνδρομο που σχετίζεται με τον μεταβολισμό των πουρινών, τους νευροδιαβιβαστές στον εγκέφαλο και τη λειτουργία των μιτοχondρίων, η ανεπάρκεια αδενυλοηλεκτρικού, κρεατινίνης, βιοτινιδάσης και SSADH (ένζυμο που μετατρέπει το GABA σε ηλεκτρικό οξύ), καθώς και το **σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz**, που προκαλείται από την ανεπάρκεια της αναγωγής της 7-δεϋδροχοληστερόλης. Πιστεύεται επίσης ότι οι διαφορές στο μεταβολικό προφίλ ατόμων με ASDs ενδεχομένως να σχετίζονται και με ανωμαλίες στο μονοπάτι μεταβολισμού της μεθειονίνης. Άλλα γονίδια τα οποία φαίνεται να σχετίζονται με την παθογένεση των ASDs είναι τα RFC και MTHFR, που εμπλέκονται στη ρύθμιση του φολικού οξέος στο ενδοκυττάριο περιβάλλον, και το TCN2, το οποίο σχετίζεται με την πρόσληψη βιταμίνης B12 από το κύτταρο. Μελέτες έδειξαν ότι διατροφικές παρεμβάσεις μέσω της χορήγησης βεταΐνης και φολινικού οξέος και στη συνέχεια και μεθυλοκοβαλαμίνης, αύξησαν την ποσότητα της μεθειονίνης στον οργανισμό παιδιών με ASDs και οδήγησαν σε βελτίωση του λόγου και της αντίληψης (106, 107). Οι μιτοχondριακές διαταραχές φαίνεται επίσης να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αιτιοπαθογένεια του αυτισμού.

2.6.4. Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί γονιδίων (SNPs) σχετιζόμενοι με τις ASDs

Εκτός από τα κλινικά γνωστά γενετικά σύνδρομα, τα οποία πιθανόν να προδιαθέτουν στην ανάπτυξη του αυτισμού, ένα πλήθος πολυμορφισμών γονιδίων φαίνεται να συσχετίζεται με την ευαισθησία στις ASDs. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να εντοπιστούν αυτά τα γονίδια είναι οι μελέτες συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων καθώς και οι μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης. Η ηλεκτρονική πλατφόρμα SFARIGENE (<http://gene.sfari.org/>) περιλαμβάνει μία λίστα υποψήφιων γονιδίων σχετιζόμενων με τον αυτισμό.

Σύμφωνα με μια πρόσφατη μεγάλη μετα-ανάλυση των Butler et al, 2015 (108) σχεδόν 800 γονίδια φαίνονται να σχετίζονται με την εμφάνιση των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού. Όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 6) όλα τα γνωστά ή υποψήφια γονίδια, όπως προέκυψαν από μελέτες γονιδιακής σύνδεσης, γονιδιακής συσχέτισης ή μελέτες υποψήφιων γονιδίων, τοποθετήθηκαν σε ιδεογράμματα ανθρώπινων χρωμοσωμάτων υψηλής ανάλυσης.





Εικόνα 6: Υψηλής ανάλυσης ιδεογράμματα ανθρώπινων χρωμοσωμάτων. Το κεντρομερίδιο παρουσιάζεται με μαύρο χρώμα, το οποίο διαχωρίζει το βραχύ και το μακρύ σκέλος του κάθε χρωμοσώματος (108).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα γονίδια **NLGN3**, **NLGN4**, **NRXN1**, **SHANK3** τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση συναπτικών κυττάρων και οι μεταλλάξεις αυτών φαίνεται να προκαλούν ανωμαλίες στις γλουταμινεργικές συνάψεις.

2.6.5. Αλληλεπίδραση μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος

Παρόλο που υπάρχει σαφής γενετική συμβολή στις ASD, η σημαντική φαινοτυπική και γενετική ανομοιογένεια μεταξύ των ατόμων με ASD υποστηρίζει μια πολυπαραγοντική αιτιολογία. Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις σχετικά με τη συμβολή των περιβαλλοντικών παραγόντων στην αιτιολογία των ASD, με ορισμένα δείγματα να εμφανίζουν κυρίαρχη επίδραση των γενετικών παραγόντων, ενώ άλλα να δείχνουν σχεδόν ίση συμβολή από κληρονομικούς και μη κληρονομικούς κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες (69).

Επιπλέον, η αδυναμία προσαρμογής της ετερογένειας από την έκθεση στο περιβάλλον θα μπορούσε να οδηγήσει σε εξασθένιση της σημαντικότητας γενετικών σημάτων που προέκυψαν από παραδοσιακές μελέτες συσχέτισης GWAS (genome-

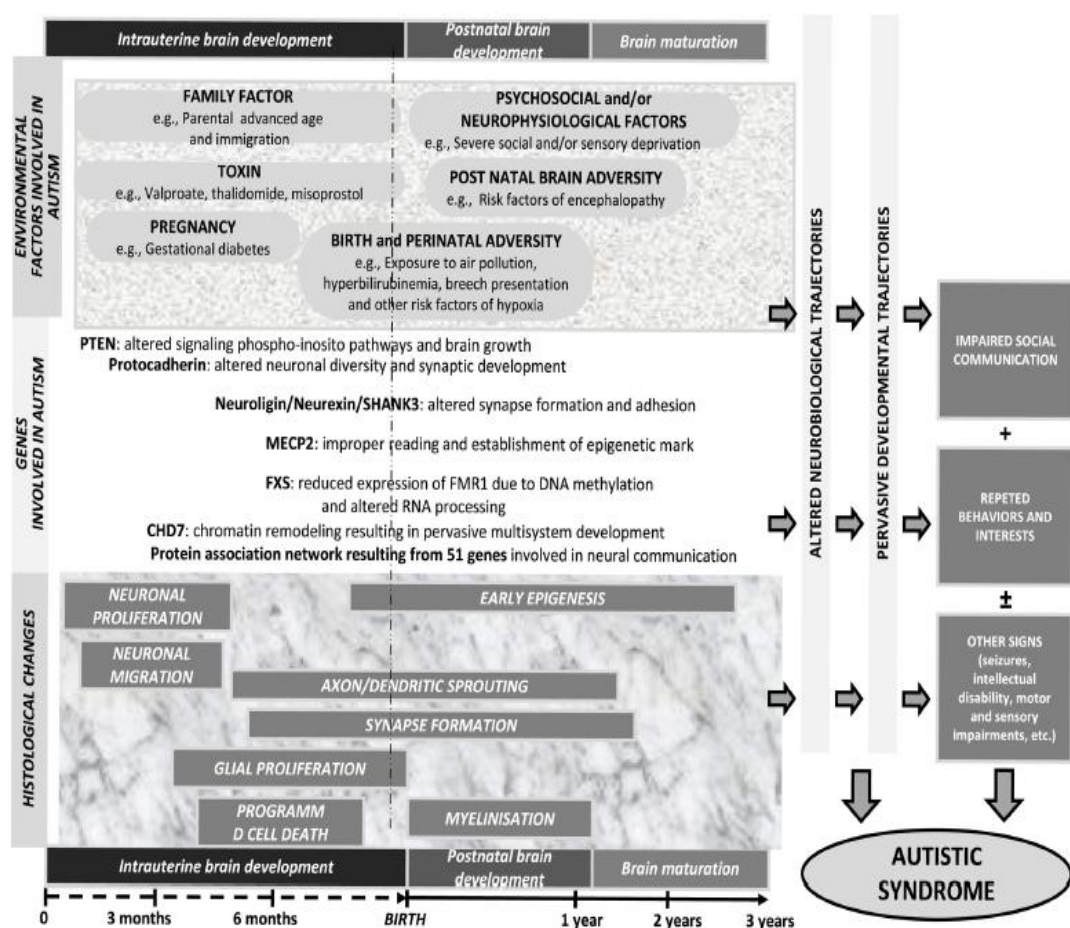
wide association studies). Παρά το αυξανόμενο ενδιαφέρον για την αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης γονιδίου-περιβάλλοντος στις ASD, μόνο λίγες τέτοιες μελέτες έχουν δημοσιευθεί μέχρι σήμερα (109, 110).

Το παραπάνω οφείλεται κυρίως στην έλλειψη διαθεσιμότητας γονοτύπων και υψηλής ποιότητας πληροφοριών έκθεσης εντός του ίδιου συνόλου δεδομένων, σε συνδυασμό με την ανάγκη μεγάλων μεγεθών δειγμάτων στις αναλύσεις αλληλεπίδρασης γονιδίου-περιβάλλοντος προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν ανακρίβειες και ψευδώς θετικές διαπιστώσεις. Για να ξεπεραστούν αυτές οι προκλήσεις και να αυξηθεί η έρευνα στον τομέα αυτό, έχουν αρχίσει αρκετές έρευνες για τη συλλογή κατάλληλων συνόλων δεδομένων. Επιπρόσθετα, έχει γίνει προσπάθεια για την ανάπτυξη καινοτόμων εργαλείων που θα επιτρέψουν την μετα-ανάλυση των αλληλεπιδράσεων γονιδίου-περιβάλλοντος σε μελέτες και την εφαρμογή πρόσφατων μεθόδων μέτρησης της αλληλεπίδρασης γονιδίου-περιβάλλοντος. Οι συγκεκριμένες προσεγγίσεις είχαν επιτυχίες σε άλλες σύνθετες χρόνιες παθήσεις και μπορεί να εφαρμοστούν και στην έρευνα των ASD (111).

Παρόλο που τα δημοσιευμένα αποτελέσματα ήταν λίγα και χρειάζεται αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων αυτών και σε άλλες μελέτες, η ανάλυση των βιολογικών μετρήσεων και των μετρήσεων γονιδιωματικού φορτίου είναι πολλά υποσχόμενη για την αναγνώριση της αλληλεπίδρασης γονιδίου-περιβάλλοντος στις ASD. Οι μελέτες για την αλληλεπίδραση γονιδίου-περιβάλλοντος που δημοσιεύθηκαν μέχρι σήμερα βασίστηκαν είτε σε υποψήφιο γονίδιο είτε στο «φορτίο» των CNV, σε αντίθεση με τις πλήρεις γονιδιακές αναλύσεις της αλληλεπίδρασης γονιδίου-περιβάλλοντος που θα απαιτούσαν εκατομμύρια εξετάσεις. Οι συγκεκριμένες αναφορές υποδεικνύουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ της παραλλαγής του γονιδίου MET και της προγεννητικής έκθεσης σε ατμοσφαιρικούς ρύπους (109), μεταξύ των παραλλαγών στο μονοπάτι του μεταβολισμού του άνθρακα και της μητρικής χρήσης βιταμινών κατά την προγεννητική περίοδο (110), καθώς και μεταξύ διάφορων CNV που σχετίζονται με τις ASDs και της μητρικής προγεννητικής λοίμωξης (112). Ωστόσο, είναι αναγκαία η αναπαραγωγή των συγκεκριμένων στοιχείων.

Στους περιβαλλοντικούς παράγοντες που ευνοούν την εμφάνιση ASDs θα μπορούσε να συμπεριληφθεί η έκθεση σε βαλπροϊκό οξύ (VPA) κατά την διάρκεια της ενδομήτριας ζωής και η κατανάλωση φαρμάκων που περιέχουν λίθιο (καθώς

αυξάνουν την έκφραση γονιδίων του μονοπατιού Wnt, επειδή το VPA αναστέλλει την HDAC1 –φυσιολογικά η HDAC1 μειώνει τη μεταγραφή των γονιδίων αυτών– και το λίθιο την GSK3β), η ανεπάρκεια βιταμίνης D ή οι διαταραχές του μεταβολισμού της –με τις επιπτώσεις που έχουν στην ομαλή νευρωνική ανάπτυξη– και το ενδομήτριο περιβάλλον. Στη διαμόρφωση ενός ενδομήτριου περιβάλλοντος που συνδέεται με την εμφάνιση αυτιστικών διαταραχών μπορεί να συμβάλλουν διάφοροι παράγοντες, όπως η υπομεθυλίωση του μητρικού DNA, η εμφάνιση διαβήτη κύησης, οι αιμορραγίες της κύησης, οι λοιμώξεις του ενδομητρίου, η έκθεση σε κάποια συνθετικά χημικά, καθώς και η προσβολή της εγκύου από ορισμένα παθογόνα κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης (87).



Διάγραμμα 3: Γενετικοί και Περιβαλλοντικοί παράγοντες που σχετίζονται με τον αυτισμό: μία νευροαναπτυξιακή προσέγγιση. Γενετικοί και Περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν την ανάπτυξη του εγκεφάλου ενδομήτρια και κατά την πρώιμη μεταγεννητική περίοδο. Κυρίως φαίνεται να μεταβάλλουν νευροβιολογικές και νευροαναπτυξιακές διεργασίες καταλήγοντας στα κύρια συμπτώματα του αυτισμού(113, 114).. Αυτές οι επιδράσεις διαφέρουν ανάλογα με την περίοδο ανάπτυξης του εγκεφάλου και τον στόχο.

2.6.6. Επιγενετική

Η επιγενετική είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται προκειμένου να περιγράψει ένα ευρύ φάσμα μοριακών πληροφοριών που βρίσκεται πάνω στην ακολουθία του DNA και ρυθμίζει ένα διαφορετικό σύνολο κυτταρικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της μεταγραφής, της έκφρασης γονιδίων και της ανάπτυξης οργανισμού. Κατά τα τελευταία έτη, υπήρξε αυξανόμενο ενδιαφέρον για την εξέταση επιγενετικών σημάτων στις ASDs εξαιτίας της πιθανής μηχανιστικής συμμετοχής τους στην αιτιολογία των ASDs, ιδιαίτερα για να εξηγήσει τις επιδράσεις της περιβαλλοντικής έκθεσης ή τη συσχέτιση της αλληλεπίδρασης γονιδίου-περιβάλλοντος με ASD ή προκειμένου να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες προηγούμενης έκθεσης ή ασθένειας (115).

Μελέτες έχουν δείξει ότι η μεθυλίωση του DNA (DNAm), ένας τύπος επιγενετικής αλλαγής, μπορεί να διαταραχθεί είτε από γενετικές παραλλαγές (116), είτε λόγω της έκθεσης σε διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες (117, 118).

Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι το σύνδρομο Rett, το σύνδρομο εύθραυστου X και το σύνδρομο Angelman προκαλούνται από επιγενετική δυσρυθμία και το καθένα παρουσιάζει φαινοτυπική επικάλυψη με τις ASD (119).

Έχουν εντοπιστεί επιγενετικές αλλαγές στους εγκεφάλους των ατόμων με ASD, συμπεριλαμβανομένης της υπο-και υπερμεθυλίωσης (120), καθώς και της εξάπλωσης σημάτων ιστόνη-3 λυσίνη-4 τριμεθυλίωσης και σε DNA προερχόμενα από μια σειρά πιο εύκολα προσβάσιμων ιστών, εκτός του εγκεφάλου (121).

Για παράδειγμα τα χαμηλά επίπεδα της MeCP2 ενδεχομένως προκύπτουν από υπερμεθυλίωση ή μετάλλαξη του προαγωγέα του γονιδίου MeCP2 ή και από μεταλλάξεις του ίδιου του γονιδίου και είναι υπεύθυνα για τη μη φυσιολογική ενεργοποίηση κάποιων γονιδίων και την αποσιώπηση κάποιων άλλων. Αντίστοιχα, τα χαμηλά επίπεδα του γονιδίου PRKCB1 στον κροταφικό λοβό των ατόμων με ASDs ευθύνονται για τη μη συντονισμένη επαγόμενη από την πρωτεϊνική κινάση C βήτα (PRKCB) έκφραση γονιδίων. Άλλες πρωτεΐνες των οποίων επηρεάζεται ο βαθμός έκφρασης σε άτομα με ASDs είναι η OXTR, η οποία λειτουργεί ως υποδοχέας οξυτοκίνης, η RORA, η Bcl-2 και η SHANK3. Παράλληλα, η αυξημένη έκφραση των γονιδίων του μονοπατιού Wnt κατά την προγεννητική και τη νεογνική περίοδο έχει

συσχετίζεται με τις ASDs και ενδεχομένως επάγεται από την υψηλή συγκέντρωση οιστρογόνων στο κυτοσόλιο των εγκεφαλικών κυττάρων. Τα οιστρογόνα ενεργοποιούν τον υποδοχέα ERα, προκαλώντας την απελευθέρωση της β-καντενίνης. Η β-καντενίνη, με τη σειρά της, προσδένεται στον προαγωγέα LEC/TCF και ενισχύει τη μεταγραφή των γονιδίων του μονοπατιού Wnt (122).

Τα συγκεκριμένα τεκμήρια υπογραμμίζουν το μελλοντικό δυναμικό για την επιγενετική ώστε να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης της νόσου. Είναι ενδιαφέρον ότι σπάνιες γενετικές παραλλαγές για τις ASD εμπλέκονται με την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, μια άλλη πτυχή της επιγενετικής ρύθμισης. Η δομή της χρωματίνης δεν έχει εξεταστεί εκτενώς στις ASD, δεδομένης της ανάγκης για άμεση επεξεργασία μεγάλων ποσοτήτων βιοδειγμάτων ιστού.

Τέλος, θα μπορούσε να αναφερθεί η συμμετοχή του γονεϊκού εντυπώματος (parental imprinting) στην παθογένεση κάποιων περιπτώσεων ASDs.

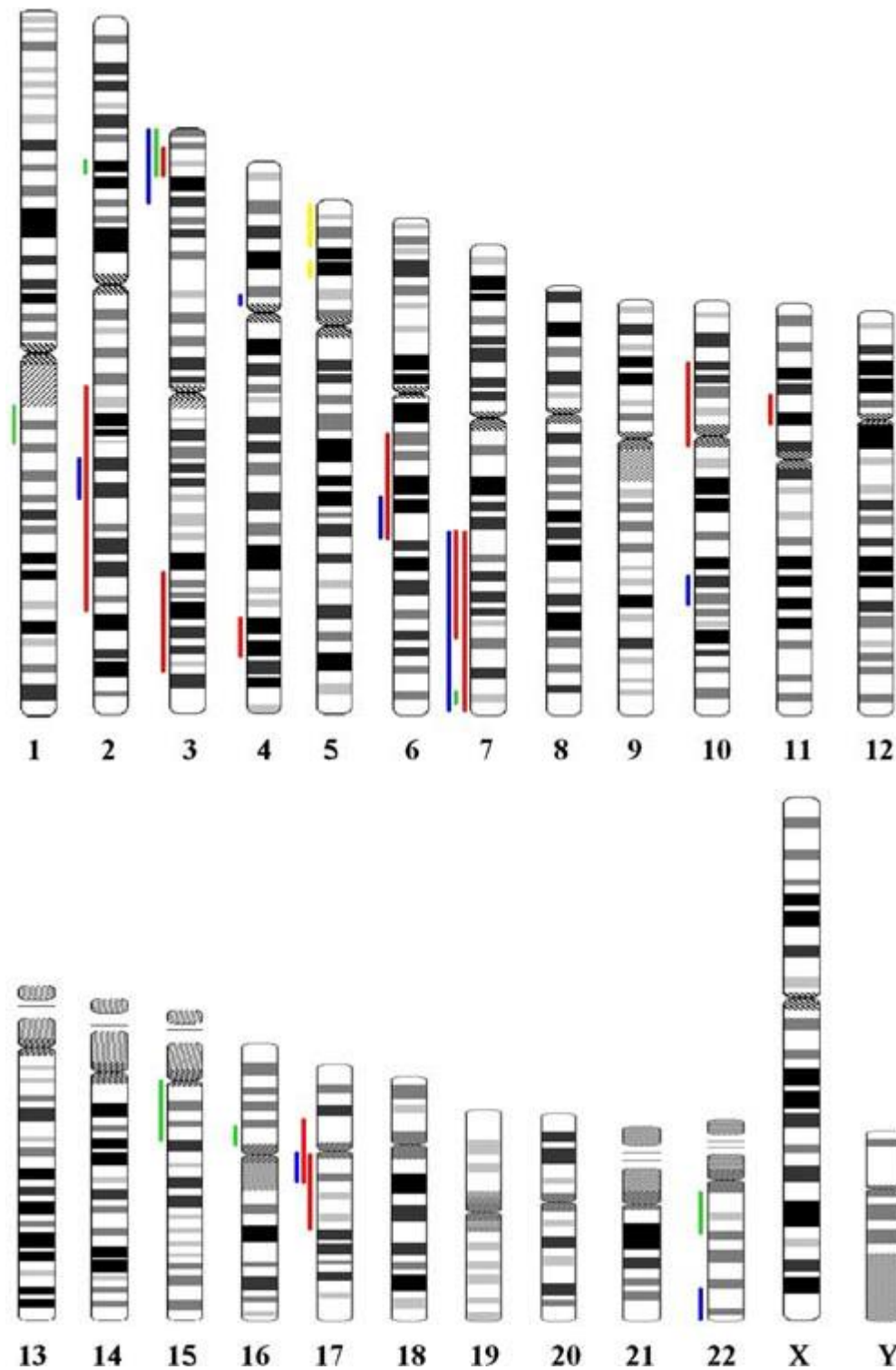
2.7. Γενετικές μελέτες

Μοριακές γενετικές μελέτες στον αυτισμό εκτείνονται από τις πρώτες μελέτες σύνδεσης έως τις πρόσφατες μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης και τις μικροσυστοιχίες. Από όλες αυτές τις μελέτες και τα διάφορα άλλοτε συγκρουόμενα και άλλοτε συγκλίνοντα αποτελέσματα προκύπτει ότι οι διαταραχές του αυτιστικού φάσματος είναι μία νόσος με υψηλή γενετική ετερογένεια.

Η γενετική επιδημιολογία χρησιμοποιεί κατά κύριο λόγο δύο μεθόδους για τον εντοπισμό των υπεύθυνων γονιδίων σύνθετων νοσημάτων: τις μεθόδους που καθοδηγούνται από μια υπόθεση και εστιάζουν σε μια συγκεκριμένη περιοχή του γονιδιώματος ("**hypothesis driven**") και τις μεθόδους ελεύθερες υποθέσεων που εξετάζουν ολόκληρο το γονιδίωμα ("**unbiased**" and "**hypothesis generating**") και όχι συγκεκριμένα γονίδια.

Στις μεθόδους που καθοδηγούνται από μια υπόθεση ανήκουν οι μελέτες γενετικής συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων (GAS) και οι μελέτες ανάλυσης σύνδεσης συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων ή χρωμοσωμικών τμημάτων. Στις μεθόδους που είναι ελεύθερες υπόθεσης ανήκουν οι μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης και οι μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης.

Στα παρακάτω ιδεογράμματα χρωμοσωμάτων παρουσιάζονται τα πιο σημαντικά συγκλίνοντα αποτελέσματα μελετών γονιδιωματικής σύνδεσης, μελετών ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης, μελετών παραλλαγών αριθμού αντιγράφων-CNVs και μελετών υποψήφιων γονιδίων (εικόνα 7).



Εικόνα 7: Συγκλίνοντα αποτελέσματα μελετών γονιδιωματικής σύνδεσης (κόκκινες μπάρες), μελετών ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (κίτρινες μπάρες), μελετών παραλλαγών αριθμού αντιγράφων- CNVs (πράσινες μπάρες) και μελετών υποψήφιων γονιδίων (μπλε μπάρες) (123).

2.7.1 Μελέτες γονιδιωματικής σύνδεσης

Οι πρώτες μελέτες που προσπάθησαν να αναδείξουν την γενετική βάση του αυτισμού ήταν οι μελέτες γονιδιακής σύνδεσης (GWLS/GLS -genetic linkage studies) σε οικογένειες πασχόντων. Στόχος των μελετών αυτών ήταν να αναδείξουν γενετικούς τόπους σχετιζόμενους με την εμφάνιση του αυτισμού, σαρώνοντας το γονιδίωμα σε οικογένειες. Η ανάλυση σύνδεσης χαρτογραφεί περιοχές του γονιδιώματος όπου εδράζονται τα υπεύθυνα γονίδια για διάφορα νοσήματα και βασίζεται στον διαχωρισμό των ομόλογων χρωμοσωμάτων (και των αλληλόμορφων τους) ο οποίος συμβαίνει κατά την διαδικασία της μείωσης. Εξετάζεται δηλαδή η μεταβίβαση στις επόμενες γενιές της ασθένειας σε μία συγκεκριμένη οικογένεια αλλά και των αλληλόμορφων του δείκτη αναζητώντας συσχετίσεις του συγκεκριμένου δείκτη με τον υπεύθυνο για την νόσο γενετικό τόπο. Οι μελέτες γενετικής σύνδεσης μπορεί είτε να σαρώνουν ολόκληρο το γονιδίωμα χρησιμοποιώντας γενετικούς δείκτες, είτε κάποιες συγκεκριμένες χρωμοσωμικές περιοχές ή χρωμοσώματα.

Η γενετική σύνδεση (**linkage**) ορίζεται ως η τάση που έχουν γειτονικά αλληλόμορφα γονίδια σε ένα χρωμόσωμα να μεταβιβάζονται ως μία ενιαία οντότητα κατά την διαδικασία της μείωσης. Η ισχύς της σύνδεσης αυτής, μετρούμενη ως ποσοστό ανασυνδυασμού, μπορεί περαιτέρω να χρησιμοποιηθεί ως μονάδα μέτρησης της γενετικής απόστασης των γενετικών τόπων. Ωστόσο, η γενετική απόσταση είναι διαφορετική παράμετρος από την φυσική απόσταση μεταξύ των γενετικών τόπων.

Η μονάδα μέτρησης της γενετικής σύνδεσης ονομάζεται Morgan και είναι το γενετικό μήκος ενός χρωμοσώματος στο οποίο συντελείται ένας ανασυνδυασμός ανά μείωση. Ένα centiMorgan (cM) είναι το γενετικό μήκος όπου η παρατηρείται ποσοστό ανασυνδυασμών 1% και αντιστοιχεί περίπου σε ένα εκατομμύριο ζεύγη βάσεων. Το ανθρώπινο γονιδίωμα υπολογίζεται στα 3600 cM, με 3×10^9 ζευγών

βάσεων. Έτσι το μέσο μήκος ενός χρωμοσώματος υπολογίζεται στα 100 έως 300 cM, με 1 έως 3 ανασυνδυασμούς να επισημαίνονται ανά χρωμόσωμα ανά μείωση.

Προκειμένου να διεξαχθεί μια ανάλυση γενετικής σύνδεσης θα πρέπει σε μια οικογένεια τόσο γενετικός τόπος που μελετάται όσο και τα αλληλόμορφα στο χρωμόσωμα του γονέα (φάση) να είναι γνωστά ή να μπορούν να προσδιοριστούν. Επίσης, θα πρέπει ο γονέας να είναι ετερόζυγος (άρα πληροφοριακός) ως προς τον γενετικό τόπο της νόσου, αλλά και ως προς τους γενετικούς τόπους-δείκτες. Επομένως, περισσότερο πληροφοριακοί θεωρούνται οι γενετικοί τόποι που εμφανίζουν μεγαλύτερο πολυμορφισμό στον πληθυσμό. Σήμερα, συνήθως η ανίχνευση των γενετικών τόπων στην ανάλυση γενετικής σύνδεσης γίνεται μέσω πολυμορφισμών μεγέθους περιοριστικού τμήματος (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) με ανιχνευτές DNA αλλά και πολυμορφισμών ποικίλου αριθμού τυχαίων επαναλήψεων (Variable Number of Tandem Repeats, VNTR), επειδή οι περισσότεροι άνθρωποι είναι για τους τόπους αυτούς ετερόζυγοι.

Επίσης θα πρέπει να προσδιοριστεί ποιο από τα δύο αλληλόμορφα του δείκτη βρίσκεται μαζί με το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο γονίδιο της νόσου. Τα αλληλόμορφα που βρίσκονται στο ίδιο χρωμόσωμα βρίσκονται σε ομόπλευρη διάταξη (ή *cis*), ενώ τα αλληλόμορφα που βρίσκονται σε ομόλογα χρωμοσώματα βρίσκονται σε ετερόπλευρη διάταξη (ή *trans*). Αυτή η πληροφορία προσδιορίζεται για την κάθε οικογένεια ξεχωριστά. Οι συχνότητες των αλληλόμορφων στους δύο γενετικούς τόπους λέγεται ότι βρίσκονται σε ισορροπία σύνδεσης (*linkage equilibrium*). Οι πιθανοί συνδυασμοί αλληλομόρφων γενετικού τόπου της νόσου και γενετικού δείκτη υπολογίζονται με βάση τις συχνότητες των αλληλόμορφων στον πληθυσμό. Επομένως, αν μια νόσος συνδέεται με έναν πολυμορφικό δείκτη ο οποίος έχει δύο αλληλόμορφα ίσης συχνότητας στον πληθυσμό, τότε στις μισές προσβεβλημένες οικογένειες το αλληλόμορφο της νόσου θα συνδέεται με το ένα αλληλόμορφο του δείκτη και στις άλλες μισές οικογένειες με το άλλο αλληλόμορφο του δείκτη.

Στα νοσήματα που είναι συνδεδεμένα με το X χρωμόσωμα, ο γονότυπος του μητρικού παππού έχει ιδιαίτερη σημασία, διότι παρέχει πληροφορίες για τον γονότυπο της μητέρας. Στους άνδρες δεν συμβαίνει ανασυνδυασμός των συνδεδεμένων με το X χρωμόσωμα γονιδίων και στη μητέρα μεταβιβάζεται πάντα το

μοναδικό χρωμόσωμα X του πατέρα της. Έτσι κάθε συνδεδεμένος με το X χρωμόσωμα πολυμορφικός δείκτης που υπάρχει στον γονότυπο της μητέρας, αλλά δεν υπάρχει στον γονότυπο του πατέρα της, θα πρέπει να έχει κληρονομηθεί από τη μητέρα της. Αυτό έχει μεγάλη σημαία για την παροχή γενετικής καθοδήγησης σε νοσήματα συνδεδεμένα με το X χρωμόσωμα.

Για τις μελέτες γενετικής σύνδεσης, προτιμώνται σαφώς οι μεγάλες οικογένειες σε σχέση με τις πιο μικρές, ωστόσο αυτές δεν είναι πάντα διαθέσιμες ειδικά όταν πρόκειται για σπάνιες διαταραχές ή για διαταραχές με χαμηλό προσδόκιμο επιβίωσης. Δύο είναι οι προσεγγίσεις που έχουν εφαρμοσθεί. Στη μία προσέγγιση συλλέγεται και μελετάται μικρός αριθμός ατόμων από πολυμελείς οικογένειες και γίνεται γονοτύπωση αυτών. Το πλεονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι ότι όλοι οι πάσχοντες της ίδιας οικογένειας έχουν την ίδια γενετική νόσο, η οποία προκαλείται από μεταλλάξεις σε έναν μόνο γενετικό τόπο. Η δεύτερη προσέγγιση αφορά στη συλλογή μεγαλύτερου δείγματος από μικρότερες οικογένειες. Το μειονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι ότι η νόσος μπορεί να μην είναι γενετικά πανομοιότυπη σε όλες τις οικογένειες. Αυτή η γενετική ετερογένεια, δηλαδή η κατάσταση κατά την οποία μπορεί μεταλλάξεις σε δύο ή περισσότερους γενετικούς τόπους να προκαλέσουν την ίδια νόσο, ενδέχεται να προκαλέσει προβλήματα στην εξαγωγή συμπερασμάτων στην ανάλυση σύνδεσης. Έτσι μπορεί να προκύψει ότι κάποιος γενετικός δείκτης δεν συνδέεται με τον γενετικό τόπο του νοσήματος, ενώ στην πραγματικότητα συνδέεται αλλά όχι με το σύνολο των οικογενειών που αναλύθηκαν.

Ωστόσο οι μελέτες γενετικής σύνδεσης έχουν ορισμένους περιορισμούς. Πρώτον έχουν μικρότερη ισχύ για σύνθετες ασθένειες, όπου δεν είναι ακριβώς γνωστός ο τρόπος κληρονομής τους όπως συμβαίνει με τις μενδελικά κληρονομούμενες ασθένειες. Δεύτερον απαιτούν πολύ μεγάλο αριθμό εκτεταμένων οικογενειών, κάτι το οποίο δεν είναι πάντα εφικτό. Τρίτον οι χρωμοσωμικές περιοχές οι οποίες προκύπτουν ως στατιστικά σημαντικές συνήθως είναι μεγάλες (10 cM) και περιέχουν μεγάλο αριθμό γονιδίων και έτσι χρειάζεται περαιτέρω χαρτογράφηση η περιοχή προκειμένου να περιοριστεί η υποψήφια περιοχή.

Η στατιστική σημαντικότητα των αποτελεσμάτων των μελετών γενετικής σύνδεσης αξιολογείται με τη βαθμολογία LOD (ή Z). Υπολογίζονται λοιπόν οι λόγοι

πιθανοτήτων (σχετικές πιθανότητες) για διάφορες πιθανές τιμές του θ , από $\theta=0$ (απουσία ανασυνδυασμού) έως $\theta=0,50$ (τυχαίος ανασυνδυασμός). Έτσι, η σχετική πιθανότητα για δεδομένη τιμή του θ ορίζεται από τον τύπο:

$$\text{πιθανότητα των δεδομένων αν οι γενετικοί τόποι συνδέονται με ποσοστό ανασυνδυασμού } \theta$$

$$= \frac{\text{πιθανότητα των δεδομένων αν οι γενετικοί τόποι δεν συνδέονται μεταξύ τους}}{\text{...}}$$

πιθανότητα των δεδομένων αν οι γενετικοί τόποι δεν συνδέονται μεταξύ τους

Οι υπολογιζόμενες πιθανότητες εκφράζονται συνήθως ως δεκαδικός λογάριθμος ($\log_{10}$) αυτού του λόγου και ονομάζονται λογάριθμος του αθροίσματος των σχετικών πιθανοτήτων (lod score) (Z). Η χρήση λογαρίθμων επιτρέπει το να συνδυάζονται δεδομένα από διαφορετικές οικογένειες και από διαφορετικές μελέτες με απλή πρόσθεση. Η βαθμολογία LOD είναι μια στατιστική παράμετρος η οποία συγκρίνει την πιθανότητα το να έχουν προκύψει τα δεδομένα αποτελέσματα εάν οι δύο γενετικοί τόποι είναι πραγματικά συνδεδεμένοι μεταξύ τους, με την πιθανότητα να έχουν προκύψει τα ίδια αποτελέσματα από τύχη. Έτσι, θετική βαθμολογία LOD υποδηλώνει ισχυρή πιθανότητα σύνδεσης, ενώ αρνητική βαθμολογία LOD υποδηλώνει ότι μικρότερη πιθανότητα σύνδεσης. Όσο πιο κοντά βρίσκονται δύο γενετικοί τόποι, τόσο πιο πιθανό είναι αυτοί να παραμένουν συνδεδεμένοι μεταξύ τους, να μεταβιβάζονται δηλαδή στην επόμενη γενιά μαζί. Κατά συνθήκη, ένα Z ίσο με +3 ή μεγαλύτερο (που ισοδυναμεί με σχετική πιθανότητα υπέρ της σύνδεσης τουλάχιστον 1000:1) αποτελεί ισχυρή ένδειξη ότι οι δύο γενετικοί τόποι είναι συνδεδεμένοι. Η τιμή του θ για την οποία το Z μεγιστοποιείται γίνεται αποδεκτή ως η βέλτιστη εκτίμηση για το ποσοστό ανασυνδυασμού και ονομάζεται εκτίμηση μέγιστης πιθανοφάνειας.

Με τις μελέτες γενετικής σύνδεσης κατέστη δυνατή η δημιουργία γενετικών χαρτών. Η βάση δεδομένων Marshfield για παράδειγμα χρησιμοποιείται ευρέως στις αναλύσεις γενετικής σύνδεσης (<http://research.marshfieldclinic.org/genetics/GeneticResearch/compMaps.asp>) και μπορεί να συμβάλει και στην γενετική καθοδήγηση.

Αξίζει να σημειωθεί ότι ακόμα κι αν οι πολυμορφισμοί που χρησιμοποιούνται είναι πληροφοριακοί, η ανάλυση σύνδεσης είναι έμμεση και πάντα υπάρχει ο κίνδυνος ενδεχόμενου ανασυνδυασμού μεταξύ γενετικού δείκτη και του υπεύθυνου γονιδίου. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο κίνδυνος αυτός είναι πιθανότατα ιδιαίτερα χαμηλός. Έτσι, όταν υπάρχει πιθανότητα ανασυνδυασμού 5% ενός γενετικού δείκτη με το γονίδιο της νόσου, υπάρχει η πιθανότητα 5% σφάλματος. Η ακρίβεια της διάγνωσης, μπορεί να αυξηθεί αν χρησιμοποιήσουμε δύο γενετικούς δείκτες εκατέρωθεν του γονιδίου της νόσου που να είναι πληροφοριακοί. Έτσι, η πιθανότητα σφάλματος μειώνεται ακόμη περισσότερο, δεδομένου ότι είναι πιο δύσκολο να συμβούν ταυτόχρονα δύο ανασυνδυασμοί, ένας σε κάθε πλευρά του υπεύθυνου γονιδίου.

Πρακτικά, στο ανθρώπινο γονιδίωμα, γενετική σύνδεση μπορεί να βρεθεί σε απόσταση ίση ή μικρότερη από 20 cM, διότι σε μεγαλύτερες αποστάσεις είναι συνήθως δύσκολο να αποδειχθεί η σύνδεση. Επομένως, για να αποδειχθεί η σύνδεση, ένας πολυμορφικός δείκτης θα πρέπει να βρίσκεται σε απόσταση έως 20 περίπου εκατομμύρια ζεύγη βάσεων από το γονίδιο της νόσου. Για ένα αυτοσωμικό γνώρισμα, η απόσταση αυτή αντιπροσωπεύει λιγότερο από το 1% του γονιδιώματος, επομένως, μία ανάλυση σύνδεσης θα πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον 100 αυτοσωμικούς πολυμορφικούς δείκτες σε κατάλληλη απόσταση μεταξύ τους, ώστε να προκύψει κάποιο αξιόπιστο αποτέλεσμα.

Όταν αρχίζει μια μελέτη γενετικής σύνδεσης, το πιθανότερο είναι να μην υπάρχει σύνδεση του δείκτη με το γονίδιο της νόσου. Επομένως, αρκούν λίγες πληροφοριακές μειώσεις ώστε να αποδειχθεί ότι ο πολυμορφισμός δεν συνδέεται με το υπό μελέτη γονίδιο. Εάν ένας γενετικός δείκτης εμφανίζει ενδείξεις σύνδεσης, τότε είναι σημαντικό να γνωρίζουμε τη θέση του στον φυσικό και γενετικό χάρτη. Στη συνέχεια μπορούμε να ελέγξουμε και άλλους δείκτες κοντά σε αυτόν που εντοπίσαμε, και έτσι να πλησιάσουμε όλο και περισσότερο το γονίδιο της νόσου.

Συμπερασματικά, η συνεισφορά των μελετών γενετικής σύνδεσης στη Γενετική του Ανθρώπου είναι ότι βοηθά στον προσδιορισμό και τη χαρτογράφηση γονιδίων που ευθύνονται για κληρονομικές ασθένειες των οποίων το υπεύθυνο γονίδιο δεν έχει ακόμα απομονωθεί. Επομένως, σε κατάλληλες οικογένειες μπορεί να προσδιοριστεί ένα συγκεκριμένο παθογόνο γονίδιο, παρακολουθώντας τη μεταβίβαση

άλλων, στενά συνδεδεμένων γενετικών τόπων, οι οποίοι ονομάζονται «γενετικοί τόποι-δείκτες».

Όσο αφορά τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος, λίγες ήταν οι μελέτες που κατάφεραν να αναδείξουν στατιστική σημαντικότητα σε συγκεκριμένους γενετικούς τόπους και τα αποτελέσματα των μελετών αυτών δεν ήταν εύκολο να αναπαραχθούν στις μελέτες που ακολούθησαν. Γενετικοί τόποι που αναδείχθηκαν σε τουλάχιστον δύο μελέτες γενετικής σύνδεσης είναι οι εξής: **2q21-33, 3q25-27, 3p25, 4q32, 6q14-21, 7q22, 7q31-36, 11p12-13 και 17q11-21**. Δύο γενετικοί τόποι αναδείχθηκαν με επιτυχία : η χρωμοσωμική περιοχή **20p13** (124) και η περιοχή **7q35** (257).

Σύμφωνα με μία πρώτη μετα-ανάλυση των Badner et al, 2002 (125) η οποία περιλάμβανε 4 ανεξάρτητες μελέτες, η περιοχή στο **χρωμόσωμα 7** φαίνεται ότι αναδείχθηκε ως στατιστικά σημαντική. Σε επομένη μετα-ανάλυση των Trikalinos et al, 2006 (126) με 9 ανεξάρτητες μελέτες γονιδιακής σύνδεσης η περιοχή **7q22-q32** αναδείχθηκε ισχυρά υποψήφια στις μελέτες που αφορούσαν τον τυπικό αυτισμό, ενώ οι περιοχές **10p12-q11.1** και **17p11.2-q12** αφορούσαν σε μελέτες πάνω στο φάσμα των αυτιστικών διαταραχών.

Τα γονίδια **RELN, FOXP2, WNT2** και **CADPS2** εδράζονται στην χρωμοσωμική περιοχή **7q**. Το γονίδιο **RELN** κωδικοποιεί μία εξωκυττάρια γλυκοπρωτεΐνη η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην νευρωνική μετανάστευση των στρωμάτων του φλοιού του εγκεφάλου και στην συναπτική αναδιαμόρφωση. Το γονίδιο **WNT2** εκφράζεται κυρίως κατά την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 8) παρουσιάζονται οι κύριες γενετικές μελέτες σύνδεσης, με τους υπό μελέτη πληθυσμούς, τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους γενετικής σύνδεσης και τα στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα της κάθε μελέτης.

Research group	Reference	Diagnostic criteria AD	Number of families	Linkage analysis method	Chromosomal region	Markers	Highest LOD/NPL/MLS/ Z-scores/lowest P-values
Duke	Ashley-Koch <i>et al.</i> (1999)	ADI-R ICD-10 DSM-IV	76 ASP	Non-parametric and parametric linkage analysis (fine mapping of 7q22.1–q31.2 only)	7q22.1–q31.2	D7S640	NPL = 2.0
Finland	Auranen <i>et al.</i> (2002)	CARS ASSQ ASDI DSM-IV/ICD-10	38 ASP and extended families	Non-parametric and parametric linkage analysis	3q25–27	D8S2421 D3S2427 D3S3041 D3S3037 D3S3699 D3S3730	LOD = 3.5 LOD = 3.1 LOD = 3.6 LOD = 4.3 LOD = 3.0 LOD = 3.2
CLSA	Barrett <i>et al.</i> (1999)	ADI-R ADOS-G VABS, RPM	75 ASP	Parametric linkage analysis	7q31–33 13	D7S1813 D13S800	HLOD recessive = 2.2 HLOD recessive = 3.0
AGRE*	Bartlett <i>et al.</i> (2005) (subset of Yonan <i>et al.</i> (2003))	ADI-R*	303 ASP	Posterior probability of linkage, allowing for heterogeneity	1q23–24 17q11	Not reported Not reported	55% 15% (values > 2% indicative of linkage)
AGRE*	Buxbaum <i>et al.</i> (2001) (subset of Alarcon <i>et al.</i> (2002))	ADI-R ADOS-G	95 ASP	Non-parametric and parametric linkage analysis	2q	D2S364	HLOD dominant = 2.25 NPL = 2.45
AGRE*	Cantor <i>et al.</i> (2005)	ADI-R*	91 ASP	Non-parametric linkage analysis	3p14–12 17q11–23	D3S2406 D17S1299	MLS = 1.8 MLS = 1.9
Utah	Coon <i>et al.</i> (2005)	ADI-R ADOS-G WISC WAIS	One large family with seven affected and 24 unaffected members	Non-parametric linkage analysis (fine mapping of 3q25–27 only)	3q25–27	rs1362645 rs1402229	NPL = 3.34 NPL = 3.53
IMGSAC	IMGSAC (2001)	ADI-R ADOS-G VABS, RPM, PPVT	152 ASP	Model-free linkage analysis	2q24–q33 7q 16p	D2S2188 D7S477 D16S3102	MLS = 3.74 MLS = 3.20 MLS = 2.93
IMGSAC	IMGSAC (1998) (subset of IMGSAC (2001))	ADI-R ADOS-G VABS	99 ASP	Model-free linkage analysis	7q	D7S530– D7S684	MLS = 2.53 UK families: MLS = 3.55
IMGSAC	Lamb <i>et al.</i> (2005)	ADI-R ADOS-G VABS	219 ASP	Model-free linkage analysis	2 7 9	D2S2314–D2S2310 D7S530–D7S640 D9S171–D9S161	MLS = 2.5 MLS = 2.3 MLS = 2.1
AGRE*	Liu <i>et al.</i> (2001) (subset of Yonan <i>et al.</i> (2003))	ADI-R*	110 ASP	Model-free linkage analysis broad and narrow phenotype	5 19 X	D5S2494 (broad) D19S714 (narrow) DXS1047 (both)	MLS = 2.55 MLS = 2.53 MLS = 2.67
CLSA AGRE*	McCauley <i>et al.</i> (2005)	ADI-R*	158 ASP	Model-free and model-dependent methods	3p25 17q11 19p13	D3S2691 D17S1294 D19S930 D19S113	HLOD = 1.8, LOD = 2.2 HLOD = 2.9, LOD = 2.1 HLOD = 2.6, LOD = 1.9 HLOD = 2.2, LOD = 1.4
PARIS	Philippe <i>et al.</i> (1999)	ADI-R VABS	51 ASP	Model-free linkage analysis	6q21	D6S283	MLS = 2.23
Stanford	Risch <i>et al.</i> (1999)	ADI-R ADOS-GVABS Other IQ measures	90 ASP (stage 1) and 49 ASP (stage 2)	Model-free linkage analysis	1	D1S1675 (combined stages 1 + 2)	MLS = 2.15
CAT	Shao <i>et al.</i> (2002a)	ADI-R ADOS-G VABS	99 ASP	Non-parametric and parametric linkage analysis	3	D3S3680	Two-point MLS = 2.02 Parametric models resulted in LOD scores < 2.0
London	Vincent <i>et al.</i> (2005)	ADI-R ADOS-G	22 multiplex families	Non-parametric linkage analysis (fine mapping of Xq27–28 only)	Xq27–28	DXS37	HLOD = 1.1
AGRE*	Yonan <i>et al.</i> (2003)	ADI-R*	345 ASP (11 later diagnosed with FRAXA; Bartlett <i>et al.</i> (2005))	Model-free linkage analysis broad and narrow phenotype	5 11 17	D5S2494 (broad) D11S1392– D11S1993 (broad) D17S1800 (broad)	MLS = 2.54 MLS = 2.24 MLS = 2.83
Finland	Ylisaukko-Oja <i>et al.</i> (2004)	ICD-10 DSM-IV ASSQ	17 multiplex families Asperger syndrome only	Non-parametric and parametric linkage analysis	1q21–22 3p14–24 D13q31–33	D1S484 D3S2432 D13S793	Z-dominant = 3.6 Z-dominant = 2.5 NPL = 3.32 Z-dominant = 1.6 NPL = 2.7

AGRE*	Ylisaukko-Oja <i>et al.</i>	ADI-R	314 ASP and	Non-parametric linkage analysis	1p12-q25	D1S1677	NPL = 2.25
Finland	(2006) (samples	CARS	extended families	3 liability classes	3p24-26	D3S3691	NPL = 2.10
	of Liu <i>et al.</i> (2001);	ASSQ			4q21-31	D4S1591	NPL = 2.53
	Yonan <i>et al.</i> (2003);	ASDI			6q14-21	D6S1021	NPL = 2.47
	and Auranen <i>et al.</i>	DSM-IV/ICD-10			7q33-36	D7S483	NPL = 2.31
	(2002))				8q22-24	D8S1832	NPL = 2.07
					17p12-q21	D17S1294	NPL = 2.30

Εικόνα 8: Μελέτες γενετικής σύνδεσης σχετιζόμενες με τις ASDs (127)

2.7.2 Μελέτες γενετικής συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων

Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης εστιάζουν σε υποψήφια γονίδια σε χρωμοσωμικές περιοχές οι οποίες αναδείχθηκαν ως στατιστικά σημαντικές από τις μελέτες σύνδεσης. Οι μελέτες υποψήφιων γονιδίων είναι μελέτες καθοδηγούμενες από υπόθεση (hypothesis-driven), οι οποίες επιλέγουν ορισμένα υποψήφια γονίδια προς περαιτέρω έλεγχο, όπως αυτά έχουν προκύψει από την γνώση ότι εμπλέκονται σε μεταβολικά μονοπάτια της νευροανάπτυξης. Οι μελέτες αυτές συγκρίνουν ασθενείς με μάρτυρες ως προς την παρουσία πολυμορφισμών υποψήφιων γονιδίων και την πιθανή συσχέτιση τους με την νόσο. Οι γενετικές παραλλαγές μπορεί να είναι είτε αλλαγές νουκλεοτιδίων, με συνηθέστερους τους SNPs, είτε να πρόκειται για προσθήκη, έλλειψη, αναστροφή ή διπλασιασμό κάποιου χρωμοσωμικού τμήματος.

Η συσχέτιση (association) ορίζεται ως η ύπαρξη ενός αλληλομόρφου ενός γενετικού τόπου σε αυξημένη συχνότητα στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες (128). Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης καταγράφουν τον αριθμό των ασθενών και υγιών ατόμων με κάθε έναν από τους τρεις γονοτύπους (wt/wt, wt/mt, mt/mt). Για να εκτιμηθεί η ύπαρξη ή όχι συσχέτισης στην περίπτωση ενός δυαδικού φαινότυπου με ένα γενετικό τόπο που εμφανίζει δυο αλληλόμορφα, κατασκευάζεται ένας πίνακας 2x3 και γίνεται ένα χ^2 -τεστ (με 2 βαθμούς ελευθερίας) (Πίνακας 3). Το μέγεθος και η σημαντικότητα μιας συσχέτισης συνήθως υπολογίζεται από τον λόγο αναλογιών (odds ratio, OR) και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (confidence interval, CI) αυτού.

Πίνακας 3: Πίνακας ασθενών-μαρτύρων σε σχέση με το αλλήλιο.

	Με το αλλήλιο	Χωρίς το αλλήλιο
Ασθενείς	A	B
Μάρτυρες	Γ	Δ

Ο λόγος αναλογιών ορίζεται ως $OR = (A/\Gamma)/(B/\Delta) = (A\Delta/B\Gamma)$. Αν το αλλήλιο παρατηρείται σε ίση συχνότητα σε ασθενείς και μάρτυρες και δεν υπάρχει δηλαδή συσχέτιση, ο λόγος των αναλογιών είναι 1. Αν ο λόγος των αναλογιών είναι μεγαλύτερος από 1, τότε το αλλήλιο εμφανίζει συσχέτιση με τη νόσο, ενώ αν ο λόγος των αναλογιών είναι μικρότερος από 1, τότε το αλλήλιο έχει προστατευτικό ρόλο. Η απόκλιση της τιμής του OR από την τιμή 1 είναι ενδεικτική της ισχύος της συσχέτισης.

Ο λόγος αναλογιών εξετάζεται για τα παρακάτω γενετικά μοντέλα, καθώς τις περισσότερες φορές δεν είναι γνωστός ο τρόπος κληρονομής:

- ✓ το προσθετικό μοντέλο (additive model), όπου συγκρίνονται οι δυο ομοζυγώτες: mtmt με wtwt
- ✓ το υπολειπόμενο μοντέλο (recessive model), όπου συγκρίνονται οι ομοζυγώτες mtmt με τους φορείς του αλληλόμορφου wt,
- ✓ το επικρατές μοντέλο (dominant), όπου συγκρίνονται οι φορείς του αλληλόμορφου mt με τους ομοζυγώτες wtwt
- ✓ το μοντέλο συγκυριαρχίας (co-dominant), όπου συγκρίνονται οι ετεροζυγώτες με όλους τους ομοζυγώτες

Στη συνέχεια, ελέγχεται η ετερογένεια των ευρημάτων και εξετάζονται ζητήματα ποιότητας, όπως η ομοιογένεια στον ορισμό του φαινοτύπου, το matching, οι μέθοδοι γονοτύπωσης, η ύπαρξη ισορροπίας Hardy–Weinberg (HWE) στην ομάδα των μαρτύρων, καθώς και η ύπαρξη πηγών μεροληψίας.

Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων ανάλογα με το εύρος της περιοχής που εξετάζουν χωρίζονται στις παρακάτω ομάδες:

- ✓ μελέτες που ελέγχουν έναν πολυμορφισμό ενός γονιδίου

✓ μελέτες που ελέγχουν ένα ολόκληρο γονίδιο χρησιμοποιώντας 5-50 SNPs (συμπεριλαμβανομένης της κωδικής περιοχής, των 5' και 3' αμετάφραστων περιοχών και ίσως και των θέσεων ματίσματος, καθώς και των ρυθμιστικών περιοχών)

✓ μελέτες που ελέγχουν μια περιοχή 1-10 Mb, η οποία μπορεί να περιέχει 5-50 γονίδια και σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιούνται μερικές εκατοντάδες SNPs (129).

Οι μελέτες υποψήφιου γονιδίου ωστόσο περιορίζονται καθώς δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί οι μοριακοί μηχανισμοί της αιτοπαθογένειας του αυτισμού. Επιπλέον, έχουν περιορισμένη ισχύ όσον αφορά την ανίχνευση κοινών πολυμορφισμών οι οποίοι έχουν μικρή επίδραση στη γενετική προδιάθεση της νόσου. Επίσης οι περισσότερες από τις μελέτες διεξάγονται σε μικρό αριθμό ασθενών-μαρτύρων και έτσι έχουν περιορισμένη ισχύ. Έτσι αν και προκύπτουν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα, τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα τείνουν να υπερτονίζονται, ενώ τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται. Τέλος, αρκετές μελέτες, τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζουν επαναληψιμότητα σε διαφορετικούς πληθυσμούς.

Κοινές παραλλαγές σε υποψηφία γονίδια - πολυμορφισμοί μελετήθηκαν για πιθανή συσχέτιση με τις ASDs. Διάφορες παραλλαγές του γονιδίου **SLC25A12** που εντοπίζεται στην περιοχή 2q24 συσχετίζονται με τον αυτισμό σε διάφορες μελέτες. Άλλα υποψηφία γονίδια που μελετήθηκαν είναι το γονίδιο του υποδοχέα της οξυτοκίνης (**OXTR**) (130) στην περιοχή 3p24-26, οι υποομάδες του γονιδίου του υποδοχέα **GABA-A receptor** στην περιοχή 4p12, το γονίδιο **GluR6**, το **FOXP2**, το γονίδιο **RELN** το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην νευρωνική μετανάστευση και την συναπτογένεση, το γονίδιο **PTPRZ1** το οποίο παρουσιάζει υψηλή έκφραση κατά την εμβρυογένεση, το **NRCAM**, **WNT2**, και το **HOXA1** που εδράζονται στην χρωμοσωμική περιοχή 7q22-36. Άλλα υποψηφία γονίδια στο χρωμόσωμα 7 αποτελούν **Engrailed 2 (EN2)**- και το γονίδιο της πρωτεΐνης που σχετίζεται με την κοντακτίνη **CNTNAP2** (131). Τα γονίδια στο χρωμόσωμα 15 **ATP10C**, **UBE3A** και του υποδοχέα του γαμμα-αμινοβουτυρικού οξέος (**GABA**) επίσης φαίνονται να σχετίζονται με την αιτοπαθογένεια του αυτισμού. Στο χρωμόσωμα 17 το γονίδιο του υποδοχέα της σεροτονίνης (**SLC6A4**) και στο χρωμόσωμα 22 το γονίδιο **SHANK3**

(132) που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη σύναψης μελετήθηκαν ως προς την ύπαρξη νέων μεταλλάξεων ή κοινών γενετικών παραλλαγών σε πάσχοντες. Δυο γονίδια που σχετίζονται με την νευρογλίνη- βασικό στοιχείο της συναπτογένεσης στο χρωμόσωμα Xq13 and Xp22 είναι τα γονίδια **NLGN3** and **NLGN4** τα οποία σε πολλές μελέτες διερευνήθηκαν (133).

2.7.3 Μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (GWAS)

Εκτός από τις μελέτες συσχέτισης σε υποψήφια γονίδια, οι οποίες απέτυχαν πολλές φορές να αναπαράγουν τα αποτελέσματα σε επόμενες μελέτες, αναπτύχθηκαν και οι μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (GWAS) οι οποίες είναι ελεύθερες υπόθεσης και χρησιμοποιούν εκατοντάδες-χιλιάδες μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) του ανθρώπινου γονιδιώματος. Οι GWAS χαρακτηρίζουν τόσο τους ασθενείς όσο και τα υγιή άτομα με κάθε ένα από τους τρεις γενοτύπους (wt/wt, wt/mt, mt/mt). Η συσχέτιση και σε αυτή την περίπτωση εξετάζεται διενεργώντας ένα χ^2 -τεστ.

Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος, προκειμένου να αποφευχθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα είναι να εφαρμόζεται η γονιδιακή σάρωση σε ένα αρκετά μεγάλο δείγμα ασθενών και στην συνέχεια σε ένα ανεξάρτητο δείγμα να αναπαράγονται τα πιο σημαντικά στατιστικά αποτελέσματα. Ωστόσο οι περισσότερες μελέτες απέτυχαν να αναπαράγουν τα αποτελέσματα είτε των μελετών γονιδιακής σύνδεσης είτε των μελετών συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων (134). Ένας από τους λόγους αυτής της αποτυχίας μπορεί να είναι το ότι το γενετικό μοντέλο κοινής ασθένειας-κοινής παραλλαγής (“common disease–common variant”) στο οποίο βασίζονται οι μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης να μην αληθεύει για τις περισσότερες περιπτώσεις ασθενών με διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.

Η πρώτη μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης η οποία πραγματοποιήθηκε από τους Lauritsen et al. in 2006 (135) εντόπισε συσχέτιση του αυτισμού με την χρωμοσωμική περιοχή 3p25.3.

Δύο μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης φάνηκε να συγκλίνουν στα ίδια αποτελέσματα. Σύμφωνα με τον Wang et al, 2009 (136) κοινές γενετικές παραλλαγές στην περιοχή **5p14** φαίνεται να συνδέονται με τον αυτισμό. Συγκεκριμένα τα γονίδια **CDH9** και **CDH10** που εδράζονται στην περιοχή και

κωδικοποιούν τις καδχερίνες, μια ομάδα πρωτεϊνών που σχετίζονται με τις νευρωνικές κυτταρικές συνδέσεις και παίζουν καθοριστικό ρόλο στην δομή και λειτουργική συνδεσιμότητα του εγκεφάλου. Η άλλη χρωμοσωμική περιοχή η οποία αναδείχθηκε από τους Weiss et al, 2009 (124) είναι η περιοχή **5p15** και το γονίδιο **SEMA5A** το οποίο σχετίζεται με την λειτουργία των νευραξόνων. Το Autism Genome Project consortium πραγματοποίησε άλλες δύο μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης. Στο πρώτο στάδιο της μελέτης προέκυψε με στατιστική σημαντικότητα συσχέτιση με το γονίδιο MACROD2 (137), ωστόσο η δεύτερη μελέτη (138) δεν ανέδειξε συσχέτιση στατιστικά σημαντική με κανέναν πολυμορφισμό.

2.7.4 Μελέτες βασισμένες σε μικροσυστοιχίες

Με την ανάπτυξη του συγκριτικού γονιδιωματικού υβριδισμού βασισμένου στις μικροσυστοιχίες (array-CGH), προέκυψε πλήθος μελετών που ανέδειξε ότι το γονιδίωμα υγιών ατόμων διαφέρει σημαντικά ως προς τον αριθμό αντιγράφων χρωμοσωμικών τμημάτων (139). Οι παραλλαγές αριθμού αντιγράφων **CNVs** (copy number variations) ορίζονται ως τμήματα DNA μεγαλύτερα από 1 kb, με μεταβλητό αριθμό αντιγράφων συγκρινόμενα με το γονιδίωμα αναφοράς. Μπορεί να αφορούν διαγραφή, διπλασιασμό, εισαγωγή DNA και να είναι κληρονομούμενες ή de novo. Προκειμένου να χαρακτηριστούν ως παθολογικές θα πρέπει να επηρεάζουν γονίδια που εμπλέκονται σε μεταβολικά μονοπάτια του ανθρώπινου οργανισμού. Μπορεί να μειώνουν ή να αυξάνουν τον μεταγραφικό ρυθμό ενός γονιδίου ή να μεταβάλλουν την κωδικοποιητική αλληλουχία ενός γονιδίου.

Αρκετές δημοσιεύσεις ανέδειξαν ότι κάποια CNVs παρατηρούνται με μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Κάποια από αυτά τα CNVs τα οποία προέκυψαν από τις αντίστοιχες μελέτες εντοπίζονται στις παράκατω χρωμοσωμικές περιοχές: **1q21**, **2p16.3 (NRXN1)**, **3p25-26 (CNTN4)**, **7q36.2 (DPP6)**, **15q11-13 (UBE3A, OR4M2, OR4N4)**, **16p11.2 (MAPK3, MAZ, DOC2A, SEZ6L2, HIRIP3, IL6)**, **22q11.2** (88, 96, 140, 141, 142, 143). Επίσης όπως προκύπτει από τις μελέτες αυτές οι σπάνιες de novo CNVs φαίνεται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην γενετική αιτιολογία του αυτισμού ειδικά σε σποραδικές περιπτώσεις, με ένα ποσοστό που κυμαίνεται από 5.8% έως 8.4% (88).

2.7.5 Αλληλούχιση νέας γενιάς (Next Generation Sequencing – NGS)

Η ανάλυση της αλληλουχίας του DNA όλων των γονιδίων (Whole Exome Sequencing – WES) με τις μεθόδους ανάλυσης αλληλούχισης DNA νέας γενιάς (Next Generation Sequencing – NGS) επιβεβαίωσε την συμβολή (περίπου 5% των περιπτώσεων) *de novo* μονονουκλεοτιδικών παραλλαγών (single nucleotide variants - SNVs) και *de novo* διαγραφών ή ενθέσεων στις ASD (144, 145, 146, 147).

Η πρώτη ανάλυση αλληλουχίας όλου του γονιδιώματος πραγματοποιήθηκε από τους O’Roak et al, 2011 (148), όπου 11 παραλείψεις μεταλλάξεων προσδιορίστηκαν και 4 γονίδια FOXP1, GRIN2B, SCN1A and LAMC3 επισημάνθηκαν ως δυνητικά γενετικά υπεύθυνα.

Στην συνέχεια ο Sanders et al, 2012 (147) με τις μεθόδους αλληλούχισης νέας γενιάς εντόπισε επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις στα γονίδια SCN2A, KATNAL2 και CHD8. Ακολούθησε και ο Neales et al, 2012 (146) ο οποίος συσχέτισε το ποσοστό των *de novo* μεταλλάξεων με την πατρική ηλικία. Τρία γονίδια στην μελέτη αυτή βρέθηκαν να φέρουν *de novo* μεταλλάξεις : BRCA2, FAT1 και KCNMA1.

2.8. Μοριακά -μεταβολικά μονοπάτια σχετιζόμενα με τις ASDs

Πρόσφατα έχει δοθεί έμφαση στη μόχλευση της γονιδιωματικής για να οριστούν κοινές βιολογικές διεργασίες που εμπλέκονται στην γενετική αιτιολογία των ASDs. Η ανάλυση των σπάνιων γενετικών παραλλαγών που συνδέονται με τις ASDs έχει αποκαλύψει τρία κοινά βιολογικά μονοπάτια: την αναδιαμόρφωση χρωματίνης, την προσκόλληση συναπτικών κυττάρων και την νευρωνική σηματοδότηση και ανάπτυξη (74, 149).

Σε μοριακό επίπεδο έχουν αναπτυχθεί δίκτυα γονιδίων τα οποία περιλαμβάνουν : το μονοπάτι της μεταγραφικής και μεταφραστικής διαδικασίας των συναπτικών γονιδίων (FMR1, TSC1, TSC2, PTEN, NF1, CYFIP1), μόρια προσκόλλησης νευρωνικών κυττάρων (Nerexin and Neuroligin families, CNTN4), το μονοπάτι της ουμπικουιτίνης (UBE3A, PARK2, TRIM33), μεταβατικές πρωτεΐνες των συνάψεων (SHANK2 and SHANK3), πρωτεΐνες διαύλου ιόντων (CACNA1A, CACNA1H, SCN1A, SCN2A), νευροδιαβιβαστές (GRIN2A, GRIN2B, SLC6A3) και πρωτεΐνες αναδιαμόρφωσης χρωματίνης (CHD8, BAF155).

Όλα τα ανωτέρω δίκτυα γονιδίων φαίνεται ότι επηρεάζουν την ανάπτυξη και λειτουργία των νευρώνων, τροποποιώντας την νευρωνική ανάπτυξη, την ισορροπία μεταξύ διέγερσης-αναστολής και την εξαρτώμενη από τη δραστηριότητα σηματοδότηση.

Οι μελέτες μεταγραφικής ανάλυσης που σχετίζονται με τα μοντέλα συν-έκφρασης που σχετίζονται με τις ASD στον μεταθανάτιο εγκέφαλο έχουν αναγνωρίσει δίκτυα γονιδίων ανάπτυξης του εγκεφάλου (150), όπου εμπλέκονται στις ASD και συγκεκριμενοποίησαν την ανάπτυξη του μεσο-εμβρύου ως κρίσιμη περίοδο για την έναρξη νευροπαθολογίας των ASD (151).

Επιπλέον, οι συγκεκριμένες μελέτες έχουν βρει δίκτυα γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσοαπόκριση (150, 152), καθώς και την ενεργοποίηση του μικρονευρογλοίου M2 (152), ώστε να αλληλεπιδρούν διαφορετικά σε εγκέφαλους με ASD, αν και εξακολουθούν να υπάρχουν ερωτήματα σχετικά με το εάν αυτό έχει αιτιολογικές συνέπειες ή είναι επακόλουθο άλλων γεγονότων.

Τα τελευταία χρόνια οι περισσότερες μελέτες στην επιστήμη της νευρολογίας εστιάζουν στα διάφορα συστήματα μνήμης του εγκεφάλου και στις περιοχές του εγκεφάλου που ενεργοποιούνται κατά τη λειτουργία τους (153, 154, 155).

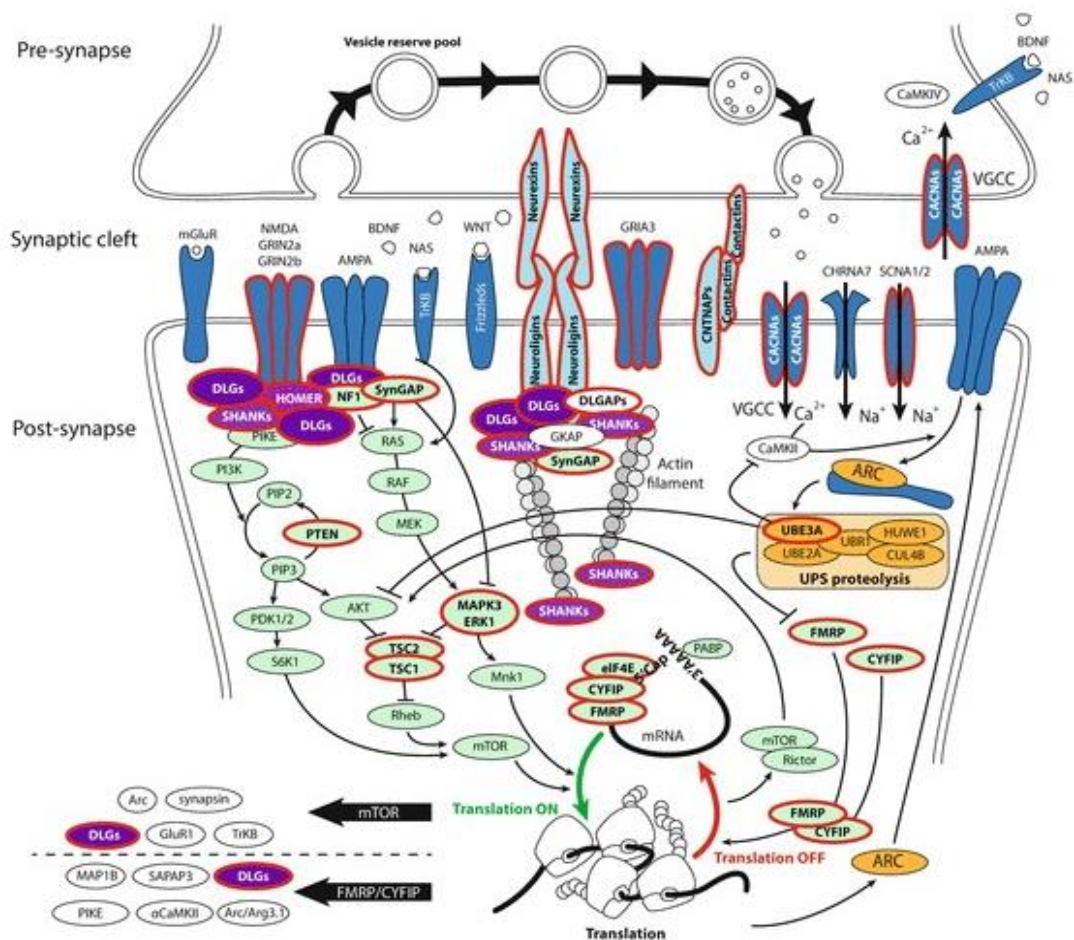
Στις συγκεκριμένες έρευνες, η μνήμη που εμπλέκεται στη διαδικασία της μάθησης και στην υπενθύμιση ικανοτήτων του σώματος, όπως η οδήγηση ενός ποδηλάτου ή το παίξιμο του πιάνου- είναι αντίθετη με την ρητή ή αλλιώς δηλωτική μνήμη (156).

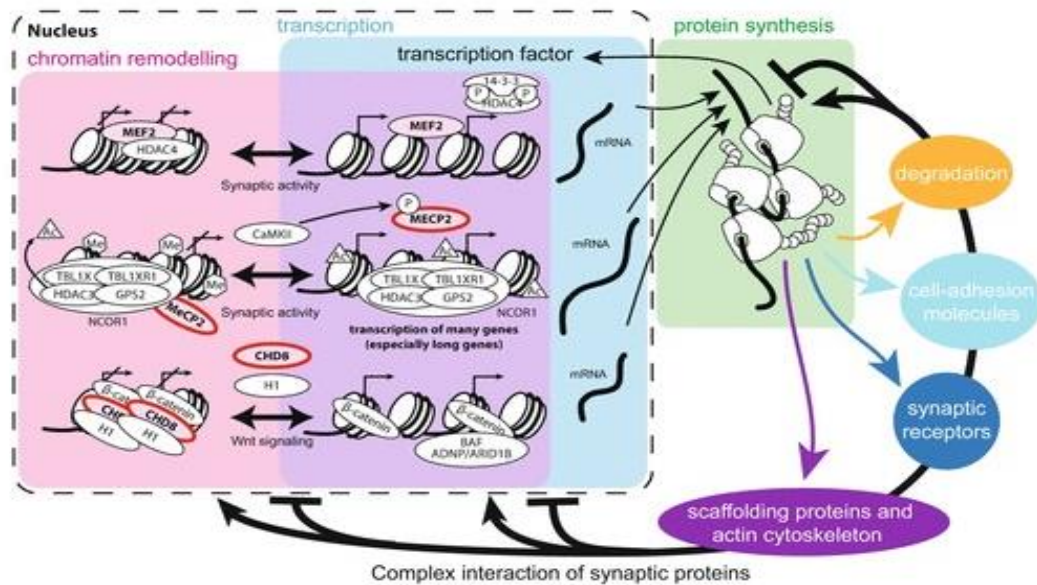
Η δηλωτική μνήμη υποδιαιρείται στη σημασιολογική μνήμη, που αναφέρεται σε γενικά γεγονότα και σε πληροφορίες/γνώσεις, την επεισοδιακή ή αυτοβιογραφική μνήμη που αναφέρεται σε ειδικά επεισόδια ή γεγονότα στη ζωή κάποιου. Η έμμεση και η άμεση μνήμη ενεργοποιούνται σε διαφορετικά μέρη του εγκεφάλου. Τα άτομα στο φάσμα του αυτισμού παρουσιάζουν ελλείμματα στην αυτοβιογραφική τους μνήμη και αυτό έχει ερευνηθεί από πολλούς επιστήμονες.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί μία μελέτη με ενήλικες στο φάσμα του αυτισμού, διαπίστωσαν ότι παρουσίαζαν έλλειμμα στην αυτοβιογραφική μνήμη συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, ενώ δεν υπήρχε καμιά διαφοροποίηση στην

προσωπική σημασιολογική μνήμη. Οι ερευνητές συμπεραίνουν ότι υφίσταται μια ιδιαίτερη σχέση μνήμης στα άτομα που βρίσκονται στο φάσμα του αυτισμού (157).

Παράλληλα, σε άλλη έρευνα με ενήλικες στο φάσμα του αυτισμού, προτείνουν ότι η ανικανότητα τους να ανακαλέσουν πρόσφατες προσωπικές τους εμπειρίες συνδέεται ενδεχομένως, με την αδυναμία τους για αυτοεπίγνωση και αυτοέλεγχο (158).





Εικόνα 9: Παραδείγματα των βιολογικών μονοπατιών που σχετίζονται με τις ASDs. Τα υποψήφια γονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες που σχετίζονται με την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, την μεταγραφική διαδικασία, την λειτουργία των συνάψεων. Οι σχετιζόμενες πρωτεΐνες φαίνονται με κόκκινο κύκλο (159).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΔΙΚΟΙ ΣΚΟΠΟΙ

Δεδομένης της γενετικής ετερογένειας των διαταραχών του αυτιστικού φάσματος, με βάση το πρωτόκολλο της παρούσας διατριβής τέθηκαν οι ακόλουθοι ειδικοί σκοποί:

1. Μελέτες γενετικής σύνδεσης

Ειδικός Σκοπός 1: Μετα-ανάλυση μελετών ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης με στόχο τον προσδιορισμό των υπεύθυνων γενετικών τόπων που συνδέονται με τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος

2. Μελέτες γενετικής συσχέτισης

Ειδικός Σκοπός 2: Σύνοψη πεδίου και μετα-ανάλυση των μελετών γενετικής συσχέτισης με στόχο τον προσδιορισμό των σημαντικών γενετικών τόπων που συνδέονται με τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.

3. Γονιδιωματική σύγκλιση

Ειδικός σκοπός 3: Εφαρμογή τεχνικών γονιδιωματικής σύγκλισης στις σαρώσεις ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης (ΣΕΓΣ) και μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (ΜΕΓΣ) όσον αφορά τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.

Ειδικός Σκοπός 1: Μετα-ανάλυση μελετών ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης με στόχο τον προσδιορισμό των υπεύθυνων γενετικών τόπων συνδεδεμένων με τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.

Εισαγωγή

Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (ASD), είναι χρόνιες νευροαναπτυξιακές καταστάσεις που εμφανίζονται στην παιδική ηλικία και χαρακτηρίζονται από έκπτωση της επικοινωνίας και της κοινωνικής αλληλεπίδρασης καθώς και από την παρουσία στερεοτυπικών ή επαναλαμβανόμενων συμπεριφορών, ενδιαφερόντων ή δραστηριοτήτων (13). Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού έχουν μια ισχυρή κληρονομική συνιστώσα.

Σύμφωνα με μελέτες διδύμων, η πιθανότητα να εμφανίσουν ASD μονοζυγωτικά δίδυμα είναι περίπου 70-90% έναντι της πιθανότητας που έχουν τα διζυγωτικά δίδυμα που είναι περίπου 0-25%. (68, 160, 161, 162).

Ο εκτιμώμενος κίνδυνος για τα αδέλφια να εμφανίσουν κάποια διαταραχή του φάσματος του αυτισμού είναι σχεδόν 100 φορές μεγαλύτερος από τον κίνδυνο του γενικού πληθυσμού (160,163, 164).

Εκτιμάται ότι μεγάλος αριθμός γονιδίων μπορεί να εμπλέκονται στη ρύθμιση του πολύπλοκου γενετικού κινδύνου των διαταραχών του αυτιστικού φάσματος (165, 166, 167, 168)

Ωστόσο, ο κίνδυνος δεν παρέχεται με το Μενδελικό τρόπο κληρονόμησης και η ταυτοποίηση των υπεύθυνων γονιδίων έχει παρεμποδιστεί περαιτέρω από τα μικρά μεγέθη των πληθυσμών που μελετώνται, και από την έλλειψη σαφών παθοφυσιολογικών μηχανισμών που να στοχεύουν σε ισχυρά υποψήφια γονίδια. Ως εκ τούτου, η τυπική προσέγγιση ήταν η σάρωση ολόκληρου του ανθρώπινου γονιδιώματος. Ένας αριθμός τέτοιων σαρώσεων δημοσιεύθηκε στα τέλη της δεκαετίας του '90 και στις αρχές του 2000 και πολλές από αυτές έχουν ενημερωθεί, επεκταθεί ή επεξεργαστεί σε μελέτες δύο σταδίων σε μια προσπάθεια να προκύψουν πρόσθετες πληροφορίες για συγκεκριμένες υποσχόμενες χρωμοσωμικές περιοχές (126).

Παρά την κάποιου βαθμού αλληλοεπικάλυψη των αποτελεσμάτων αυτών των γονιδιωματικών σαρώσεων, τυπικά κάθε σάρωση έχει αναδείξει ελάχιστα ή καθόλου στοιχεία για ισχυρά σημάδια σύνδεσης με συγκεκριμένες χρωμοσωμικές περιοχές και τα αποτελέσματα είναι γενικά δύσκολο να ερμηνευτούν. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η κάθε σάρωση που πραγματοποιήθηκε μέχρι τότε είχε ένα σχετικά περιορισμένο αριθμό προσβεβλημένων ατόμων και αυτό περιόρισε την ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Χρειαζόταν επομένως να συντεθούν όλες οι συσσωρευμένες πληροφορίες, οι διαθέσιμες γονιδιωματικές σαρώσεις και να αξιολογηθεί η συνέπεια και η ετερογένεια μεταξύ των αποτελεσμάτων των διαφορετικών σαρώσεων. Μια πρώιμη προσπάθεια προσπάθησε να συνθέσει δεδομένα από τέσσερις σαρώσεις γονιδιώματος χρησιμοποιώντας μια μετα-αναλυτική μεθοδολογία (125).

Αυτή η πρώιμη μετα-ανάλυση χρησιμοποίησε μια μέθοδο που συνδύασε τις τιμές P σε αυτές τις τέσσερις σαρώσεις και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η περιοχή 7q είναι ένας πιθανός γενετικός τόπος που συνδέεται με την γενετική προδιάθεση με τον αυτισμό. Ωστόσο, αργότερα δημοσιεύθηκαν πολλές νέες σαρώσεις γονιδιώματος και επεκτάθηκαν παλαιότερες σαρώσεις. Έτσι, υπήρχε ένα πολύ μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος για μετα-ανάλυση των συσσωρευμένων στοιχείων ενώ επιπλέον, αναπτύχθηκαν νέες μέθοδοι για τη σύνθεση και την ερμηνεία πληροφοριών από διάφορες σαρώσεις γονιδιώματος για την ίδια ασθένεια (169, 170).

Αποδείχθηκε ακόμη ότι η αξιολόγηση της ετερογένειας, δηλαδή η ποικιλομορφία της σύνδεσης μεταξύ των αποτελεσμάτων σε όλες τις σαρώσεις του γονιδιώματος είναι εξίσου σημαντική με την απλή σύνθεση των δεδομένων. (170).

Έτσι, οι Trikalinos et al. (2006) (126) εφάρμοσαν τη νέα μεθοδολογία της μετα-ανάλυσης γονιδιώματος σύνδεσης (γονιδιακή σάρωση) HEGESMA με βάση την ετερογένεια στα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με τις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού. Η μετα-ανάλυση συμπέρανε ότι η περιοχή 7q22-q32 θα πρέπει να εξεταστεί περαιτέρω για τα γονίδια ευαισθησίας στον αυτισμό, ενώ οι διαταραχές του φάσματος αυτισμού φαίνεται να έχουν αρκετά διαφορετικά σήματα σύνδεσης σε σαρώσεις, ενδεχομένως υποδεικνύοντας σημαντική γενετική ετερογένεια.

Σκοπός της παρούσας μετα-ανάλυσης είναι να επεκτείνουμε και να επιβεβαιώσουμε τα αποτελέσματα αυτής της πρώτης ανάλυσης των δεδομένων μελετών ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης πάνω στον αυτισμό χρησιμοποιώντας τη

νέα μεθοδολογία της μετα-ανάλυσης γονιδιώματος σύνδεσης (γονιδιακή σάρωση) HEGESMA και προσθέτοντας νέες μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης που δημοσιεύθηκαν έως και σήμερα.

Υλικά και Μέθοδοι

Βιβλιογραφική αναζήτηση και Υποψήφιες Μελέτες Ευρείας

Γονιδιωματικής Σύνδεσης

Έγινε αναζήτηση της βιβλιογραφίας για όλες τις μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης (GWLS) δημοσιεύμενες έως τον Σεπτέμβριο του 2020. Έγινε συστηματική αναζήτηση της βάσης δεδομένων PubMed, χρησιμοποιώντας τους παρακάτω όρους αναζήτησης: ("genome search" OR "genome scan" OR "genome screen" OR "genomic search" OR "genomic scan" OR "genomic screen" OR "LOD score" OR "NPL score" OR "susceptibility loci" OR "genomewide" OR "genome-wide" OR "genome-wide linkage analysis") AND ("autism" OR "Asperger syndrome" OR "autism-spectrum disorder"). Η αναζήτηση περιορίστηκε σε μελέτες που αφορούσαν μόνο ανθρώπους και που ήταν δημοσιευμένες στην Αγγλική γλώσσα. Ερευνήθηκαν επίσης και οι βιβλιογραφικές αναφορές των συστηματικών ανασκοπήσεων, μετααναλύσεων και επιλέξιμων μελετών για την ανεύρεση επιπλέον μελετών.

Οι επιλέξιμες μελέτες έπρεπε να πληρούν τα ακόλουθα κριτήρια ένταξης: (1) οι πάσχοντες να είναι άτομα που πάσχουν από κάποια μορφή αυτιστικής διαταραχής, μη συνδρομικής (ιδιοπαθής αυτισμός) και να μην πάσχουν από κάποια γνωστή χρωμοσωμική ανωμαλία, γενετική πάθηση, μεταβολική ασθένεια, νευρολογική ή ψυχιατρική διαταραχή, (2) οι ασθενείς να έχουν διαγνωσθεί με διαταραχή στο φάσμα του αυτισμού με κάποια έγκυρη διαγνωστική δοκιμασία (DSM–III, DSM–IV, DSM–V, ICD–10, ADI-R, ADOS), (3) χρήση τουλάχιστον 100 πολυμορφικών δεικτών με απόσταση περίπου 30 (cM) μεταξύ τους κατά μήκος του γονιδιώματος, ανεξάρτητα του λογισμικού ή της στατιστικής μεθόδου που εφαρμόζεται σε κάθε μελέτη, (4) να είναι διαθέσιμα τα δεδομένα σύνδεσης για όλο το γονιδίωμα και όχι μόνο για συγκεκριμένα χρωμοσώματα ή χρωμοσωμικά τμήματα (δημοσίευση στο διαδίκτυο, παροχή από τους συγγραφείς της μελέτης ή εξαγωγή από δημοσιευμένα γραφήματα),

(5) απουσία αλληλοεπικάλυψης του δείγματος, (6) διεξαγωγή σε ανθρώπινο πληθυσμό, (7) οι μελέτες να είναι δημοσιευμένες στην αγγλική γλώσσα.

Σαρώσεις που αφορούσαν μόνο συγκεκριμένα χρωμοσώματα ή χρωμοσωμικά τμήματα εξαιρέθηκαν, όπως επίσης και μελέτες που κατηγοριοποιούσαν τους ασθενείς με βάση ποιοτικά ή ποσοτικά χαρακτηριστικά της αυτιστικής διαταραχής, όπως ο βαθμός νοημοσύνης, η ηλικία έναρξης της ομιλίας πριν τα 3 έτη ζωής κλπ. Στην περίπτωση μελετών με αλληλεπικαλυπτόμενους πληθυσμούς, συμπεριλήφθηκε στην μετα-ανάλυση η μεγαλύτερη ή η πιο πρόσφατη μελέτη με διαθέσιμα δεδομένα για όλο το γονιδίωμα.

Εξαγωγή των δεδομένων

Για κάθε συμπεριληφθείσα μελέτη, έγινε εξαγωγή των παρακάτω δεδομένων: Πρώτος συγγραφέας, περιοδικό και έτος δημοσίευσης, εθνικότητα του πληθυσμού, μορφή αυτιστικής διαταραχής, διαγνωστικά εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν, αριθμός μελετώμενων οικογενειών και ατόμων, αριθμός και απόσταση μεταξύ των πολυμορφικών δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν, στατιστική δοκιμασία σύνδεσης, τύπος στατιστικής ανάλυσης, λογισμικό ανάλυσης και χρωμοσωμικές περιοχές με την υψηλότερη στατιστική δοκιμασία.

Τα δεδομένα των γονιδιακών σαρώσεων, αν δεν ήταν άμεσα διαθέσιμα από τα κείμενα ή από τους συγγραφείς, προέκυψαν από τα δημοσιευμένα διαγράμματα-εικόνες, ψηφιοποιώντας τα με την χρήση του λογισμικού Engauge Digitizer (version 2.12, Mark Mitchell, 2002). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα αφορούσαν όλα τα χρωμοσώματα.

Στατιστική Ανάλυση των δεδομένων και έλεγχος ετερογένειας

Αρχικά έγινε διαχωρισμός του γονιδιώματος σε 120 χρωμοσωμικά τμήματα (bins), μήκους περίπου 30 cM το καθένα. Κάθε χρωμοσωμικό τμήμα συμβολίζεται κατά συνθήκη ως ["χρωμόσωμα". "Αριθμός τμήματος"], π.χ. ο αριθμός 2.3 αναφέρεται στο τρίτο τμήμα του χρωμοσώματος 2. Για κάθε μελέτη σύνδεσης, καταγράφηκε το σημαντικότερο στατιστικά αποτέλεσμα σύνδεσης για κάθε χρωμοσωμικό τμήμα (bin). Στη συνέχεια, τα χρωμοσωμικά αυτά τμήματα ταξινομήθηκαν αναλόγως της σημαντικότητάς τους (rank). Το χρωμοσωμικό τμήμα σε κάθε μελέτη που είχε το πιο σημαντικό στατιστικά αποτέλεσμα πήρε την πιο

υψηλή βαθμολογία στην κατάταξη (rank). Οι βαθμολογίες όλων των χρωμοσωμικών τμημάτων προστέθηκαν για όλες τις μελέτες. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών για κάθε τμήμα ελέγχθηκε με τη στατιστική δοκιμασία Q. Χαμηλού βαθμού ετερογένεια μεταξύ των μελετών υποδηλώνει συμφωνία των μελετών για το δεδομένο χρωμοσωμικό τμήμα. Χαμηλού βαθμού ετερογένεια σε συνδυασμό με υψηλή βαθμολογία στην κατάταξη (rank) ενός συγκεκριμένου χρωμοσωμικού τμήματος αποτελεί περαιτέρω ένδειξη της σημαντικότητας αυτού.

Πραγματοποιήθηκε σταθμισμένη και μη σταθμισμένη ανάλυση. Ο παράγοντας στάθμισης για την κάθε μελέτη ήταν η τετραγωνική ρίζα του γινομένου του αριθμού των οικογενειών επί τον αριθμό των πολυμορφικών δεικτών. Οι παράγοντες στάθμισης προσαρμόστηκαν ώστε να δίνουν άθροισμα 1. Η σημαντικότητα των αθροισμένων βαθμολογιών και των μετρήσεων ετερογένειας αξιολογήθηκαν έναντι της μηδενικής κατανομής με τη χρήση 50.000 τυχαίων αντιμεταθέσεων.

Όλες οι αναλύσεις έγιναν εφαρμόζοντας το λογισμικό HEGESMA (<http://biomath.med.uth.gr>).

Αποτελέσματα

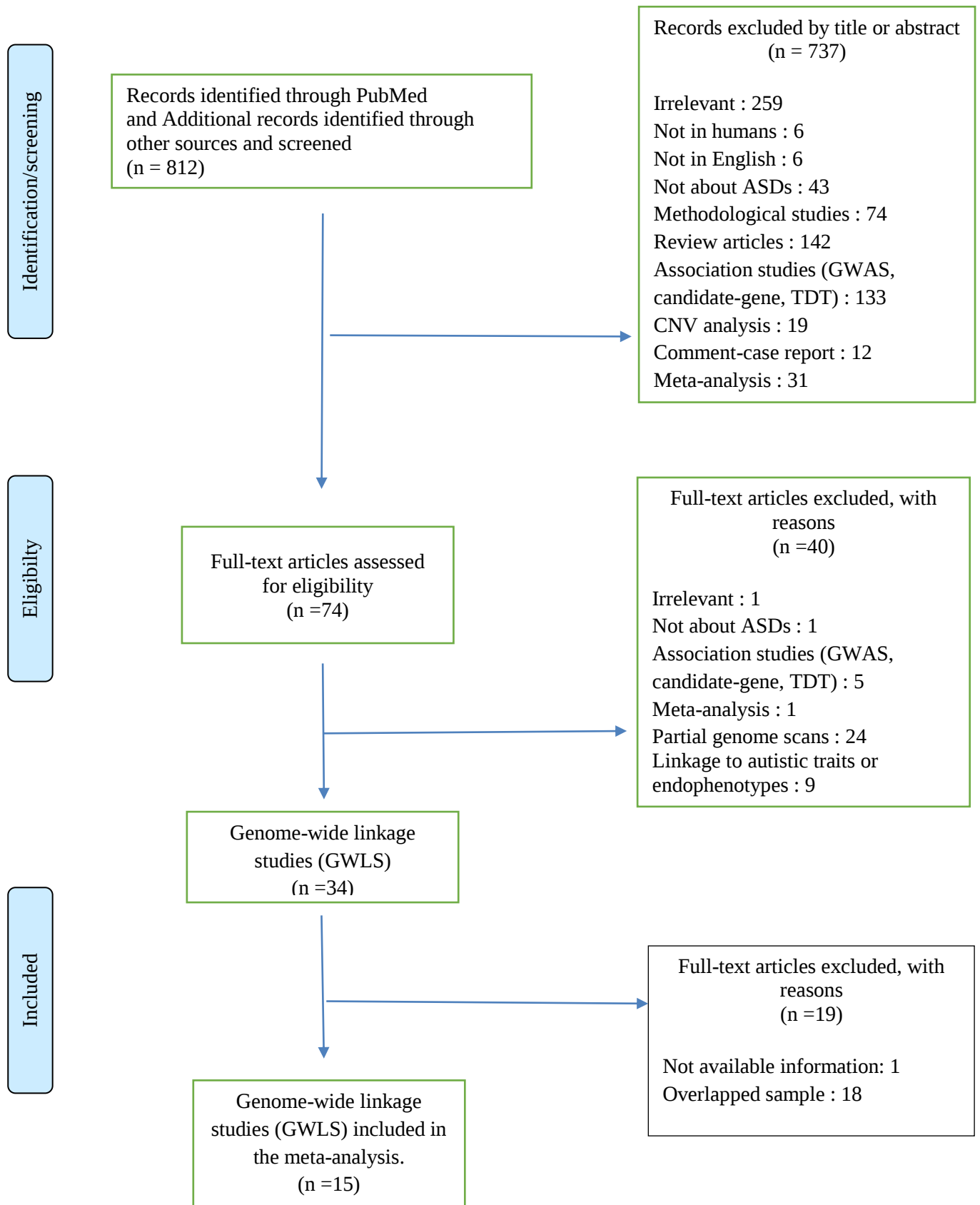
Χαρακτηριστικά επιλέξιμων μελετών

Η αναζήτηση της βάσης PubMed καθώς και η αναζήτηση σε επιπλέον μελέτες απέφερε 812 τίτλους που πληρούσαν τα κριτήρια. Πρώτα έγινε εξαίρεση κάποιων άρθρων με βάση τους τίτλους και τις περιλήψεις τους (737) και τα υπόλοιπα άρθρα (74) μελετήθηκαν διεξοδικά ως προς την καταλληλότητά τους. Από αυτά τελικά μόνο 34 ήταν μελέτες σύνδεσης οι οποίες αναφέρονταν στον αυτισμό ή στην ευρεία διαταραχή του αυτιστικού φάσματος και αφορούσαν ολόκληρο το γονιδίωμα. Τελικά στη μετα-ανάλυση συμπεριελήφθησαν 15 μελέτες, καθώς οι 18 μελέτες αφορούσαν δείγματα με αλληλοεπικαλυπτόμενο πληθυσμό και για 1 μελέτη δεν ήταν διαθέσιμα δεδομένα για το σύνολο του γονιδιώματος. 6 μελέτες συμπεριλήφθηκαν στην μετα-ανάλυση για τον αυτισμό, 12 μελέτες στην μετα-ανάλυση για τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος και μία συνδυασμένη ανάλυση η οποία αφορούσε όλες τις διαθέσιμες μελέτες (n=15).

Στο **διάγραμμα 4** παρουσιάζονται αναλυτικά οι λόγοι αποκλεισμού των άρθρων που προέκυψαν μετά από συστηματική αναζήτηση της βιβλιογραφίας. Λόγοι αποκλεισμού ήταν το γεγονός ότι η μελέτη αφορούσε συγκεκριμένα χρωμοσωμικά τμήματα και όχι όλο το γονιδίωμα ή ότι τα δείγματα ήταν αλληλοεπικαλυπτόμενα. Τέλος, άλλες μελέτες αποκλείστηκαν επειδή μελετούσαν την ύπαρξη σύνδεσης με ποσοτικά ή ποιοτικά χαρακτηριστικά της αυτιστικής διαταραχής όπως ο βαθμός νοημοσύνης, η ηλικία έναρξης της ομιλίας πριν τα 3 έτη ζωής κλπ, και όχι με την αυτιστική διαταραχή.

Τα χαρακτηριστικά των μελετών που αναλύθηκαν τελικά, καθώς και οι χρωμοσωμικές περιοχές με ενδείξεις σύνδεσης σε κάθε μελέτη παραθέτονται στον **Πίνακα 4**. Όλες οι μελέτες χρησιμοποίησαν παρόμοια κριτήρια διάγνωσης των αυτιστικών διαταραχών και οι περισσότερες μελέτες χρησιμοποίησαν το LOD score ως μέτρο της ανάλυσης σύνδεσης

Διάγραμμα 4: Διάγραμμα ροής επιλέξιμων μελετών (171)



Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά των επιλέξιμων μελετών (171)

Author. year	Ethnicity	Type of ASD	Diagnostic criteria of ASD	families	number of markers	intermarker interval (cM)	linkage method (software)	chromosome regions significant lod score
Philippe, 1999	Caucasian (Sweden, France, Norway, the USA, Italy,Austria and Belgium)	AUTISM	DSM-IV, ICD-10	51	264		Multipoint non-parametric MLS (Mapmaker/Sibs)	2q, 7q, 16p, 19p, 15q11–q13, 4q, 5p, 6q, 10q, 18q and Xp
Risch, 1999	USA	AUTISM	DSM-IV, ICD-10	90 (FS1)-49 (FS2)	149/51 9 A	10	Multipoint MLS (ASPEX)	1p, 1q, 7p, 11p, 13q, 15q, 17p, 18q, 20p
CLSA, 2001	USA	AUTISM	ADI-R, ADOS	75	416 STRPs	9	Two-point LOD(MLINK)	7q, 13q, 13p
Auranen, 2002	Finland	AUTISM	DSM-IV,ICD10	12	369		Two-point LOD (MLINK)	3p, 3q25-27, 1q21-22, 9, 12, 14, 17, 18, 21 and 7q.
Yonan, 2003	USA (AGRE 1)	AUTISM	ADI-R,DSM IV	285	408	2	Multipoint MLS (Mapmaker/Sibs)	17q, 5p, 11p, 4q, 8q
Schellenber,2006	USA	AUTISM	ADI-R, ADOS, DSM-IV	169	410	9,07	Multipoint p-value (Merlin)	7q, 19, 4, 3
Yonan, 2003	USA (AGRE 1)	ASD	ADI-R,DSM IV	345	408	2	Multipoint MLS (Mapmaker/Sibs)	17q, 5p, 11p, 4q, 8q
Auranen, 2002	Finland	ASD	DSM-IV,ICD10	19	369		Two-point LOD (MLINK)	1, 3p, 3q, 6, 19, x

Cantor, 2005	USA (AGRE 2)	ASD	ADI-R,DSM IV	91	401	9	Multipoint MLS (Mapmaker/Sibs)	3p14-p12, 17q11-17q21
Ylisaukko-oja 2004	Finland	ASD	DSM-IV,ICD10	17	415		Two-point LOD (MLINK)	1q21-22, 3p14-24, 3q25-27,4p14, 4q32, 6p25, 6q16, 13q31- 33 and 18p11
Allen-Brady, 2010	Utah	ASD	ADI-R, ADOS, DSM- IV	70	6090 SNPs	0,65	Multipoint HLOD/ parametric(MCLIN K)	15q13.1-q14, 15q14-q21.1, 15q21.1-q22.2, 2p25.3-p24.1, 7q31.31-q32.3, 13q12.11- q12.3
Ma, 2007	USA	ASD	ADI-R, DSM-IV	26	9505 SNPs		Multipoint HLOD (FASTLINK)	12q14, 14q12, 1q23.2-23.3, 2q35-36.3, 5q23.2, 6p25.3, 6q15, 11q22.1, 12q14.2-14.3, 12q22, 7p14.1
IMGSAC, 2001	GLOBAL	ASD	ADI-R, ADOS	149	119/39 4 ^A	4,88/9,92	Multipoint LOD/(ASPEX)	2q,7q,16p
Kilpinen,2009	Finland	ASD	DSM-IV, ICD-10	20	1109	3,43	Multipoint NPL (Simwalk2 v.2.91)	19p13.3, 1q23, 15q11-q13
Schellenberg,2006	USA	ASD	ADI-R, ADOS, DSM- IV	222	410	9,07	Multipoint p-value (Merlin)	10,15,11,X
Woodbury-Smith, 2018	EUROPEAN	ASD	DSM-IV	28	22004	0,17	PPL statistic (KELVIN v2.4.9)	1p36.22, 2q37.2, 6q27,

								8q24.22, 12p13.31, 16p13.2, 22q13.1, 2p13.1, 2q37.3, 9p21.3, 9q31.2, 15q13.3, 18q21.1, Xp22.11
Liu, 2008	EUROPE/NORTH AMERICA	ASD	ADI-R,ADOS	976	5371 SNPs	0,68	Multipoint NPL- LOD score (FLOSS v1.4.1)	11p15.4-p15.3, 15, 11
Werling, 2014	Mixed (AGRE 3)	ASD	ADI-R, ADOS, DSM- V	847	57929 SNPs		Multipoint NPL- LOD score (PLINK)	4q13.1, 6q27, 8p21.2, 20p13, 6q27, 8q13.2,

Μετα-ανάλυση των μελετών που αφορούν τον αυτισμό (strictly defined autism)

6 γονιδιωματικές σαρώσεις συμπεριλήφθηκαν σε αυτή την μετα-ανάλυση. Προσδιορίστηκαν 7 χρωμοσωμικά τμήματα (3.6, 5.1, 7.4, 7.5, 7.6, 8.3 και 13.2) ως στατιστικά σημαντικά ($P_{\text{rank}} \leq 0.05$) είτε στην σταθμισμένη είτε στην μη σταθμισμένη ανάλυση. Από αυτά 4 χρωμοσωμικά τμήματα (5.1, 7.5, 7.6 και 8.3) ήταν ταυτόχρονα στατιστικά σημαντικά τόσο στη σταθμισμένη όσο και στη μη σταθμισμένη ανάλυση ($P_{\text{rank}} \leq 0.05$). Στη στατιστική σειράς, κανένα τμήμα δεν ήταν στατιστικά σημαντικό ($P_{\text{order}} > 0.05$).

Μόνο το τμήμα 7.5 είχε στατιστικά σημαντική χαμηλή ετερογένεια ($P_Q < 0.05$) στην μη σταθμισμένη ανάλυση. Έτσι το χρωμοσωμικό τμήμα 7.5 είχε ισχυρή ένδειξη ότι συνδέεται με τον αυτισμό.

Μετα-ανάλυση των μελετών που αφορούν τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος (autism spectrum disorders)

12 μελέτες συμπεριλήφθηκαν σε αυτή την μετα-ανάλυση. 14 χρωμοσωμικά τμήματα (1.7, 4.2, 4.5, 5.1, 6.6, 8.3, 10.2, 11.3, 11.4, 15.2, 15.3, 15.4, 20.1 και 21.1) αναδείχθηκαν ως στατιστικά σημαντικά ($P_{\text{rank}} \leq 0.05$) είτε στην σταθμισμένη είτε στην μη σταθμισμένη ανάλυση. Από αυτά 2 χρωμοσωμικά τμήματα (5.1 and 15.3) ήταν ταυτόχρονα στατιστικά σημαντικά τόσο στη σταθμισμένη όσο και στη μη σταθμισμένη ανάλυση ($P_{\text{rank}} \leq 0.05$). Στη στατιστική σειράς, μόνο το τμήμα 11.3 ήταν στατιστικά σημαντικό ($P_{\text{order}} \leq 0.05$).

Μόνο το τμήμα 1.7 είχε στατιστικά σημαντική χαμηλή ετερογένεια ($P_Q < 0.05$) τόσο στην μη σταθμισμένη ανάλυση αλλά και στην σταθμισμένη ετερογένεια με όλα τα μέτρα της ετερογένειας (left-sided P_Q / $H_a/B < 0.05$).

Συνδυασμένη μετα-ανάλυση όλων των μελετών

Όταν συνδυάσαμε όλες τις διαθέσιμες μελέτες (15) οι οποίες αφορούσαν είτε τον αυτισμό είτε το φάσμα των αυτιστικών διαταραχών 11 χρωμοσωμικά τμήματα (1.7, 4.2, 4.5, 5.1, 6.6, 7.5, 8.3, 11.3, 15.2, 15.3, and 20.1) είχαν στατιστική σημαντικότητα ($P_{\text{rank}} \leq 0.05$) είτε στην σταθμισμένη είτε στην μη σταθμισμένη ανάλυση. Από αυτά 2 χρωμοσωμικά τμήματα (5.1 and 15.3) ήταν ταυτόχρονα

στατιστικά σημαντικά τόσο στη σταθμισμένη όσο και στη μη σταθμισμένη ανάλυση. Στη στατιστική σειράς, μόνο το τμήμα 1.7 ήταν στατιστικά σημαντικό ($P_{\text{order}} \leq 0.05$).

Μόνο το τμήμα 1.7 είχε στατιστικά σημαντική χαμηλή ετερογένεια ($P_Q < 0.05$) στην μη σταθμισμένη ανάλυση με όλα τα μέτρα της ετερογένειας (left-sided $P_Q/Ha/B < 0.05$).

10 από τα 11 χρωμοσωμικά τμήματα τα οποία ήταν σημαντικά στη συνδυασμένη μετα-ανάλυση, αναδείχθηκαν επίσης σημαντικά στην μετα-ανάλυση των μελετών που αφορούσαν μόνο τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος και επιπλέον το τμήμα 7.5 το οποίο ήταν σημαντικό στην ανάλυση των μελετών που αφορούσαν μόνο τον αυτισμό. Τα χρωμοσωμικά τμήματα 5.1 and 8.3 ήταν κοινά σε όλες τις μετα-αναλύσεις.

Phenotype	BIN	Cytogenetic location	Average Rank			P for low heterogeneity			
			observed	P rank	P order	Q	Q adjusted	Ha	B
AUTISM	3.6	3q21.2-3q25.32	88.42 (77.91)	0.023 (0.139)	0.550 (0.926)	0.348 (0.538)	0.664 (0.573)	0.304 (0.435)	0.328 (0.515)
	5.1	5p15.33-5p15.1	93.08 (91.26)	0.009 (0.022)	0.308 (0.516)	0.185 (0.283)	0.636 (0.549)	0.241 (0.346)	0.153 (0.283)
	7.4	7q11.23-7q22.3	84.92 (78.17)	0.042 (0.136)	0.400 (0.952)	0.501 (0.611)	0.704 (0.647)	0.615 (0.685)	0.474 (0.600)
	7.5	7q22.3-7q34	99.67 (100.24)	0.002 (0.003)	0.194 (0.311)	0.029 (0.066)	0.399 (0.409)	0.031 (0.091)	0.036 (0.094)
	7.6	7q34-7q36.3	85.08 (96.74)	0.041 (0.007)	0.572 (0.221)	0.502 (0.401)	0.723 (0.823)	0.524 (0.425)	0.498 (0.238)
	8.3	8p21.1-8q13.2	86.33 (88.03)	0.034 (0.038)	0.599 (0.706)	0.165 (0.095)	0.347 (0.181)	0.172 (0.101)	0.157 (0.105)
	13.2	13q13.3-13q22.1	77.75 (87.15)	(0.111) (0.044)	(0.884) (0.628)	(0.496) (0.208)	0.535 (0.348)	(0.447) (0.186)	(0.483) (0.110)
ASD	1.7	1q23.2-1q31.1	82.50 (84.62)	0.013 (0.144)	0.212 (0.069)	0.010 (0.004)	0.040 (0.003)	0.012 (0.005)	0.014 (0.019)
	5.1	5p15.33-5p15.1	85.79 (95.36)	0.005 (0.033)	0.465 (0.615)	0.237 (0.394)	0.590 (0.132)	0.166 (0.364)	0.138 (0.457)
	10.2	10p14-10p11.23	77.42 (64.39)	0.046 (0.440)	0.479 (0.263)	0.528 (0.311)	0.652 (0.514)	0.623 (0.324)	0.487 (0.375)
	11.4	11q13.3-11q22.1	77.29 (63.45)	0.047 (0.454)	0.322 (0.226)	0.273 (0.684)	0.381 (0.936)	0.368 (0.719)	0.272 (0.838)
	15.3	15q22.32-15q26.1	82.67 (96.32)	0.012 (0.027)	0.461 (0.892)	0.339 (0.197)	0.608 (0.045)	0.544 (0.230)	0.297 (0.088)

	15.4	15q26.1-15q26.3	79.38 (71.89)	0.030 (0.331)	0.482 (0.330)	0.081 (0.061)	0.155 (0.083)	0.142 (0.112)	0.105 (0.109)
	21.1	21p11.2-21q22.11	78.25 (54.03)	0.038 (0.598)	0.494 (0.813)	0.070 (0.787)	0.125 (0.954)	0,096 (0.763)	0,056 (0.792)
	4.2	4p15.33-4p14	69.00 (94.29)	0.201 (0.041)	0.441 (0.354)	0.998 (0.727)	0.998 (0.502)	0.997 (0.745)	0.982 (0.283)
	4.5	4q22.3-4q28.3	64.38 (93.89)	0.351 (0.043)	0.239 (0.107)	0.896 (0.901)	0.869 (0.836)	0.926 (0.931)	0.889 (0.709)
	6.6	6q25.3-6q27	75.75 (94.13)	0.064 (0.043)	0.527 (0.199)	0.886 (0.850)	0.929 (0.731)	0.820 (0.877)	0.881 (0.891)
	8.3	8p21.1-8q13.2	72.38 (103.61)	0.116 (0.003)	0.471 (0.331)	0.599 (0.823)	0.631 (0.752)	0.432 (0.833)	0.572 (0.367)
	11.3	11p12-11q13.3	60.13 (93.87)	0.516 (0.043)	0.133 (0.038)	0.896 (0.934)	0.865 (0.892)	0.921 (0.949)	0.901 (0.625)
	15.2	15q14-15q22.32	69.00 (95.21)	0.199 (0.035)	0.321 (0.401)	0.423 (0.632)	0.400 (0.349)	0.450 (0.654)	0.464 (0.225)
	20.1	20p13-20p12.2	59.75 (95.96)	0.534 (0.030)	0.118 (0.748)	0.141 (0.880)	0.098 (0.783)	0.144 (0.866)	0.151 (0.488)
ALL	1.7	1q23.2-1q31.1	76.20 (83.32)	0.039 (0.144)	0.732 (0.045)	0.056 (0.015)	0.092 (0.008)	0.060 (0.050)	0.059 (0.021)
	5.1	5p15.33-5p15.1	84.37 (94.28)	0.004 (0.031)	0.339 (0.546)	0.167 (0.386)	0.497 (0.104)	0.157 (0.363)	0.120 (0.446)
	7.5	7q22.3-7q34	77.63 (89.23)	0.028 (0.073)	0.666 (0.207)	0.680 (0.216)	0.818 (0.064)	0.727 (0.289)	0.650 (0.142)
	15.3	15q22.32-15q26.1	79.87 (95.58)	0.015 (0.024)	0.542 (0.822)	0.346 (0.239)	0.557 (0.042)	0.529 (0.347)	0.318 (0.074)

	4.2	4p15.33-4p14	63.40 (92.21)	0.378 (0.046)	0.432 (0.144)	0.991 (0.814)	0.988 (0.637)	0.992 (0.846)	0.987 (0.358)
	4.5	4q22.3-4q28.3	63.10 (91.86)	0.387 (0.048)	0.379 (0.084)	0.926 (0.921)	0.908 (0.861)	0.938 (0.947)	0.938 (0.764)
	6.6	6q25.3-6q27	72.50 (92.56)	0.092 (0.044)	0.824 (0.233)	0.950 (0.884)	0.965 (0.779)	0.867 (0.901)	0.944 (0.908)
	8.3	8p21.1-8q13.2	73.03 (102.55)	0.082 (0.002)	0.910 (0.259)	0.495 (0.797)	0.560 (0.659)	0.328 (0.804)	0.483 (0.367)
	11.3	11p12-11q13.3	62.57 (93.36)	0.408 (0.038)	0.242 (0.270)	0.899 (0.907)	0.870 (0.826)	0.943 (0.929)	0.896 (0.603)
	15.2	15q14-15q22.32	71.50 (94.14)	0.111 (0.336)	0.741 (0.335)	0.456 (0.555)	0.479 (0.225)	0.519 (0.585)	0.504 (0.236)
	20.1	20p13-20p12.2	62.37 (95.10)	0.418 (0.026)	0.245 (0.652)	0.124 (0.828)	0.088 (0.647)	0.185 (0.816)	0.143 (0.463)

Πίνακας 5: Αποτελέσματα της κύριας μετα-ανάλυσης μελετών ΣΕΓΣ για τον αυτισμό, τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος, καθώς της συνδυασμένης ανάλυσης.. Παρουσιάζονται τα σημαντικά ευρήματα όσον αφορά τις μέσες βαθμολογίες για τη σταθμισμένη και μη σταθμισμένη ανάλυση, καθώς και τα ευρήματα από τον έλεγχο της ετερογένειας (σε παρένθεση εμφανίζονται τα αποτελέσματα της σταθμισμένης ανάλυσης) (171)

Συζήτηση

Στην παρούσα μετα-ανάλυση μελετών ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης, συνθέσαμε αποτελέσματα από 6 γονιδιακές σαρώσεις που αφορούσαν τον αυτισμό με πιο αυστηρά κριτήρια διάγνωσης και από 12 γονιδιακές σαρώσεις που αφορούσαν πληθυσμό με διαταραχές του αυτιστικού φάσματος. Προσδιορίστηκαν λοιπόν χρωμοσωμικά τμήματα με κάποια ένδειξη σύνδεσης με την αυτιστική διαταραχή.

Η χρωμοσωμική περιοχή 7q22.3-q34 παρέμεινε στατιστικά σημαντική στην σταθμισμένη και μη σταθμισμένη ανάλυση με σημαντικά χαμηλή ετερογένεια μεταξύ των μελετών για τους πληθυσμούς με την πιο αυστηρή διάγνωση του αυτισμού. Αυτό το αποτέλεσμα είναι σύμφωνο και με το αποτέλεσμα της προηγούμενης μετα-ανάλυσης των Trikalinos et al, 2006 (126) καθώς και με μία παλαιότερη μετα-ανάλυση των Badner et al, 2002 (125). Η συγκεκριμένη χρωμοσωμική περιοχή παρέμεινε σημαντική και στην συνδυασμένη ανάλυση όλων των διαθέσιμων γονιδιωματικών σαρώσεων, που αφορούσαν είτε τον αυτισμό είτε το ευρύ φάσμα των αυτιστικών διαταραχών.

Στην συγκεκριμένη χρωμοσωμική περιοχή 7q22 εδράζεται ένα από τα πιο μελετημένα γονίδια πάνω στον αυτισμό, το γονίδιο RELN. Το συγκεκριμένο γονίδιο κωδικοποιεί μία εξωκυττάρια πρωτεάση της σερίνης η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην μετανάστευση των κυττάρων κατά την διάρκεια της ανάπτυξης του κεντρικού νευρικού συστήματος. Διάφοροι πολυμορφισμοί αυτού του γονιδίου έχουν μελετηθεί σε μελέτες γενετικής συσχέτισης και σε μετα-αναλύσεις με θετικά και αρνητικά αποτελέσματα (172, 173, 174).

Ένα ακόμη γονίδιο, το MET εδράζεται στην περιοχή 7q31.2. Το γονίδιο MET κωδικοποιεί έναν υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα των ηπατοκυττάρων με δραστηριότητα κίνησης της τυροσίνης και εμπλέκεται στην ανάπτυξη του εγκεφαλικού φλοιού και της παρεγκεφαλίδας. Θετική συσχέτιση με το φάσμα του αυτισμού έχει αναφερθεί σε καυκάσιους καθώς και ασιατικούς πληθυσμούς, όπως επίσης και σε οικογένειες από την AGRE (175, 176, 177, 178). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελεί και η συσχέτιση του συγκεκριμένου γονιδίου με την σχιζοφρένεια.

Στην περιοχή 7q21-31.3 βρίσκεται το γονίδιο FOXP2, το οποίο είναι απαραίτητο για την ομαλή ανάπτυξη των κέντρων λόγου και γλώσσας κατά την

εμβρυογένεση. Διάφοροι πολυμορφισμοί του γονιδίου αυτού έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση του αυτισμού σε Ασιάτες, ωστόσο άλλες μελέτες δεν ανέδειξαν καμία συσχέτιση με τον αυτισμό (179, 180, 181, 182).

Γειτονικά στα ανωτέρω γονίδια βρίσκονται και τα γονίδια, EN2 (homeodomain transcription factor ENGRAILED 2) στο τμήμα 7q36.3 καθώς και το γονίδιο CNTNAP2 στο χρωμοσωμικό τμήμα 7q35-36, τα οποία είναι υποψήφια γονίδια για τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.

Στην μετα-ανάλυση των γονιδιωματικών σαρώσεων των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού, αναδείχθηκαν 14 χρωμοσωμικά τμήματα στατιστικά σημαντικά, αλλά μόνο 2 από αυτά (5p15.33-5p15.1 και 15q22.32-15q26.1) ήταν σημαντικά ταυτόχρονα στην σταθμισμένη και την μη σταθμισμένη ανάλυση. Δεν καταφέραμε να αναπαράγουμε το αποτέλεσμα της προηγούμενης μετα-ανάλυσης των Trikalinos et al, 2006 (126), που ανέδειξε ως σημαντικό το τμήμα 17p11.2-q12, καθώς συμπεριλάβαμε επιπλέον 7 μελέτες, των μελετών της προηγούμενης ανάλυσης και σε καμία από αυτές η συγκεκριμένη περιοχή δεν είχε υψηλή στατιστική δοκιμασία σύνδεσης. Οι νέες μελέτες σάρωσης αφορούσαν μεγαλύτερο αριθμό ασθενών και μεγαλύτερο αριθμό πολυμορφικών δεικτών, οπότε είχαν μεγαλύτερο βάρος και συνέβαλαν περισσότερο στο τελικό αποτέλεσμα. Τα συγκεκριμένα χρωμοσωμικά τμήματα παρέμειναν σημαντικά και στην συνδυασμένη ανάλυση όλων των διαθέσιμων γονιδιωματικών σαρώσεων, που αφορούσαν είτε τον αυτισμό είτε το ευρύ φάσμα των αυτιστικών διαταραχών.

Η χρωμοσωμική περιοχή 5p15.33-5p15.1 ήταν στατιστικά σημαντικά και στις μελέτες των Philippe et al, 1999 (183) και Yonan et al, 2003 (184). Εκεί εδράζονται ορισμένα γονίδια μορίων κυτταρικής προσκόλλησης, όπως τα CDH9 και CDH10 γονίδια τα οποία έχει βρεθεί ότι συσχετίζονται με την εμφάνιση του αυτισμού σε μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης όπως των Wang et al., 2009 (136). Σε μία άλλη μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης των Weiss et al, 2009 (124), στατιστικά σημαντικό σήμα αναδείχθηκε στην περιοχή 5p15.31 και στο γονίδιο SEMA5A, το οποίο παίζει ρόλο στην κατεύθυνση των νευραξόνων κατά την νευρωνική ανάπτυξη. Το γονίδιο SLC6A3 και οι πολυμορφισμοί αυτού επίσης έχουν συσχετισθεί με την παραγωγή ενός ανώμαλου μεταφορέα της ντοπαμίνης και έχουν ανευρεθεί όχι μόνο σε άτομα με διαταραχές του αυτιστικού φάσματος (185), αλλά και

σε ασθενείς με διπολική διαταραχή (186) και με το σύνδρομο ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας (187).

Το χρωμοσωμικό τμήμα 15q22.32-15q26.1, το οποίο ήταν σημαντικό στην μετα-ανάλυση μας ήταν επίσης σημαντικό σε πολλές γονιδιωματικές σαρώσεις τις οποίες είχαμε συμπεριλάβει. Κοντά στην περιοχή αυτή εδράζεται η περιοχή που σχετίζεται με τα σύνδρομα Prader-Willi και Angelman (15q11-13), τα οποία έχουν αυτιστικά χαρακτηριστικά στον φαινότυπό τους. Επίσης το γονίδιο GABRB3, σημαντικό για την νευρομετάδοση, αποτελεί ένα σημαντικό υποψήφιο γονίδιο της περιοχής, το οποίο φαίνεται να απορυθμίζεται και στο σύνδρομο Rett, στο σύνδρομο Angelman καθώς και στον αυτισμό σε πολλές μελέτες (94, 188).

Ακόμα μία περιοχή που αναδείχθηκε από την παρούσα μετα-ανάλυση είναι η περιοχή 1q23.2-1q31.1. Διάφορα γονίδια που εδράζονται στην συγκεκριμένη περιοχή είναι υποψήφια γονίδια για τον αυτισμό, όπως τα γονίδια ALDH9A1 και RGS4 και RGS5 (189) καθώς και το γονίδιο CAPON για την σχιζοφρένεια (190).

Το χρωμοσωμικό τμήμα 8p21.1-8q13.2 αποτελεί ένα κοινό τμήμα το οποίο είναι στατιστικά σημαντικό σε όλες τις μετα-αναλύσεις μας. Το συγκεκριμένο τμήμα είχε υψηλή στατιστική δοκιμασία σύνδεσης μόνο στην μελέτη των Werling et al, 2014 (191). Γονίδια που εδράζονται στην συγκεκριμένη περιοχή, όπως το STC1 πιθανώς να προστατεύει τους νευρώνες από την ισχαιμία και την υποξία (192) και τα γονίδια NEFM and NEFL φαίνεται να σχετίζονται με τις νευρωνικές προβολές (193). Η συγκεκριμένη περιοχή αποτελεί ένα υποψήφιο τμήμα για περαιτέρω διερεύνηση με μελέτες γενετικής συσχέτισης σε ασθενείς με αυτισμό.

Τα νέα ευρήματα αυτής της μελέτης που προσδιορίστηκαν ως σημαντικά από τη μετα-ανάλυση, αλλά όχι από τις επιμέρους σαρώσεις γονιδιώματος, αποτελούν τα χρωμοσωμικά τμήματα 3.6 (3q21.2-3q25.32) για τον αυτισμό και τα τμήματα 10.2 (10p14-10p11.23) και 21.1 (21p11.2-21q22.11) για τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος. Το γονίδιο SLC9A9 βρίσκεται στο τμήμα 3q4 και σπάνιες παραλλαγές αυτού έχουν εντοπιστεί στον αυτισμό (194). Τα CNVs που εμπλέκουν το γονίδιο UPF2, που εδράζεται στην περιοχή 10p14, εμπλουτίστηκαν στατιστικά σε μια κοόρτη 57.356 ασθενών με νευροαναπτυξιακές διαταραχές σε σύγκριση με μια ομάδα 20.474 μαρτύρων (διαγραφές, $P=0,034805$, διπλασιασμοί, $P=030$). Μια de novo διαγραφή 2,04 Mb που περιελάμβανε το γονίδιο UPF2 ανιχνεύτηκε σε μια γυναίκα ασθενή από

το Developmental Gene Discovery Project (DGDP151) με διαταραχή του αυτιστικού φάσματος, νοητική αναπηρία, τριχοτιλλομανία, επιθετική συμπεριφορά (195). Τέλος, η περιοχή 21p11.2-21q22.11 περιέχει το γονίδιο SOD1. Δύο σπάνια SNP που βρίσκονται στις μη κωδικοποιητικές, δυνητικά ρυθμιστικές περιοχές που περιβάλλουν το γονίδιο SOD1 βρέθηκαν να σχετίζονται με ΔΑΦ σε μια ανάλυση περιστατικών-κοόρτης της Σλοβενίας (196).

Θα πρέπει ωστόσο να επισημάνουμε ότι περιοχές που δεν αναδείχθηκαν σημαντικές στην παρούσα μετα-ανάλυση, αλλά ήταν σημαντικές στις επιμέρους γονιδιακές σαρώσεις δεν θα πρέπει να θεωρηθούν ως μη σχετιζόμενες με τις αυτιστικές διαταραχές. Η εφαρμογή HEGESMA αποτελεί μια εξέλιξη της κλασικής μετα-ανάλυσης γονιδιακών σαρώσεων επειδή λαμβάνει υπόψιν και την ετερογένεια μεταξύ των μελετών, προσδίδοντας έτσι στα αποτελέσματα περισσότερη ισχύ. Είναι πιθανό λοιπόν, σημαντικές περιοχές με υπεύθυνα γονίδια να μην έχουν αναδειχθεί ως σημαντικά και αντίστοιχα κάποια από τα αποτελέσματα που προέκυψαν να είναι ψευδώς θετικά. Στόχος είναι οι περιοχές που αναδείχθηκαν ως σημαντικές από την μετα-ανάλυση να αποτελέσουν αντικείμενο μελέτης στο μέλλον και να γίνει περαιτέρω διερεύνηση των υποψήφιων περιοχών.

Αν και το HEGESMA χωρίζει το ανθρώπινο γονιδίωμα σε χρωμοσωμικά τμήματα περίπου των 30 cM, μια ανάλυση χωρίζοντας το γονιδίωμα σε τμήματα με μήκος μικρότερο των 30 cM θα μπορούσε να παρέχει περισσότερες πληροφορίες σε περιοχές που πιθανόν να εμφάνιζαν σύνδεσης. Το HEGESMA προς το παρόν δεν περιλαμβάνει τα φυλετικά χρωμοσώματα X και Y και συνεπώς δεν μπορεί να διερευνηθεί η πιθανή σύνδεση με τα συγκεκριμένα χρωμοσώματα. Στη συγκεκριμένη ανάλυση δεν έγινε προσαρμογή των αποτελεσμάτων για έλεγχο πολλαπλών υποθέσεων, αφού η μέθοδος HEGESMA είναι μια διερευνητική μη παραμετρική διαδικασία που εστιάζει στη σχετική σημασία των περιοχών. Άλλοι περιορισμοί της μεθόδου είναι η πυκνότητα των πολυμορφικών δεικτών που διέφερε τόσο εντός όσο και μεταξύ των μελετών και επίσης η έλλειψη ανάλυσης ισχύος. Επίσης οι πληθυσμοί που συμπεριλήφθηκαν είναι διαφορετικής εθνικότητας, καθώς επίσης και ο αριθμός των οικογενειών σε κάθε μελέτη. Ένας επιπλέον λόγος που αυξάνει την ετερογένεια μεταξύ των μελετών θα μπορούσε να είναι η ύπαρξη σπάνιων *de novo* ή κληρονομικών CNVs. Επίσης η κατηγοριοποίηση του πληθυσμού με βάση φαινοτυπικά χαρακτηριστικά θα μπορούσε να αυξήσει την ισχύ των αποτελεσμάτων

και να μειώσει την ετερογένεια μεταξύ των μελετώμενων πληθυσμών. Συμπερασματικά οι μελέτες σύνδεσης συμπληρώνουν τις μελέτες γενετικής συσχέτισης και χρειάζεται περαιτέρω έλεγχος των περιοχών που αναδείξαμε από την παρούσα μετα-ανάλυση.

.

Ειδικός Σκοπός 2: Σύνοψη πεδίου και μετα-ανάλυση των μελετών γενετικής συσχέτισης με στόχο των προσδιορισμό των σημαντικών γενετικών τόπων συνδεδεμένων με τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.

Εισαγωγή

Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού αποτελούν μια ομάδα νευροαναπτυξιακών διαταραχών με σημαντική κλινική και γενετική ετερογένεια. Χαρακτηρίζονται από σημαντική έκπτωση της επικοινωνίας και της κοινωνικής αλληλεπίδρασης καθώς και από την παρουσία στερεοτυπικών ή επαναλαμβανόμενων συμπεριφορών, ενδιαφερόντων ή δραστηριοτήτων. Εμφανίζονται κατά την πρώιμη αναπτυξιακή περίοδο, πριν την ηλικία των 3 ετών (13). Η Αμερικανική Ακαδημία Παιδιάτρων συστήνει καθολικό ανιχνευτικό έλεγχο σε όλα τα βρέφη και προνήπια, προκειμένου να εντοπιστούν έγκαιρα πρώιμα σημάδια του αυτισμού στην ηλικία των 18 μηνών και στην ηλικία των 2 ετών (14). Ένα από τα βασικά γνωρίσματα της διαταραχής του αυτιστικού φάσματος είναι η νοητική υστέρηση. Περίπου το 50% των ασθενών με ΔΑΦ έχουν διανοητική λειτουργία κάτω του μέσου όρου (197). Τα άτομα με ΔΑΦ με πηλίκo νοημοσύνης (IQ) 70 ή περισσότερο ορίζονται γενικά ως άτομα υψηλής λειτουργικότητας. Επιδημιολογικές μελέτες εκτιμούν ότι πάνω από το 1% του πληθυσμού διαγιγνώσκεται ότι πάσχει από κάποια μορφή αυτισμού (198).

Δεδομένης της μεγάλης γενετικής και αιτιολογικής ετερογένειας της νόσου, ο αυτισμός μπορεί να θεωρηθεί ως συμπεριφορικό σύνδρομο σχετιζόμενο είτε με γνωστές γενετικές διαταραχές (συνδρομικός αυτισμός) είτε με άγνωστες έως τώρα διαταραχές (ιδιοπαθής αυτισμός).

Η αιτιολογία του αυτισμού δεν έχει ωστόσο διευκρινιστεί πλήρως παρά τις εξελίξεις στην γενετική επιδημιολογία, με γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση της νόσου. Οι μελέτες διδύμων και οικογενειών αποδεικνύουν ότι η κληρονομικότητα των αυτιστικών διαταραχών κυμαίνεται από 85-92% (161, 199). Επίσης η γενετική προδιάθεση της πάθησης αποδεικνύεται και από την διαφορά στον επιπολασμό ανάμεσα σε διαφορετικές εθνικότητες. Σήμερα περίπου το 40% των παιδιών που πάσχουν από κάποια μορφή αυτιστικής διαταραχής διαγιγνώσκεται είτε ότι φέρουν κάποια χρωμοσωμική ανωμαλία, συμπεριλαμβανομένων και μικρότερων διαγραφών ή διπλασιασμών τμημάτων DNA είτε πάσχουν από κάποια γνωστή μονογονιδιακή

ασθένεια ή μεταβολική πάθηση (84). Οι μελέτες γονιδιωματικής σύνδεσης και γονιδιωματικής συσχέτισης έχουν εντοπίσει πλήθος υποψήφιων γονιδίων και πολυμορφισμών σε όλα τα χρωμοσώματα που πιθανόν να συνδέονται με τον αυτισμό.

Οι πολυπαραγοντικές ασθένειες, όπως είναι οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού απαιτούν σύνθετες μεθόδους ανάλυσης στις οποίες να εξετάζονται πολλοί γενετικοί πολυμορφισμοί και να εκτιμάται η επίδραση του καθενός ξεχωριστά αλλά και σε συνδυασμό με τους υπολοίπους.

Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης (Genetic association studies -GAS) εξετάζουν την συσχέτιση μεταξύ της ασθένειας και κοινών γενετικών πολυμορφισμών. Οι γενετικοί πολυμορφισμοί μπορεί να είναι είτε κληρονομούμενοι, είτε να πρόκειται για *de novo* αλλαγές του γονιδιώματος (οι *de novo* μεταλλάξεις παρατηρούνται περίπου στο 10% των ατόμων με ASD, (142)). Είναι πλέον γνωστό ότι για την εμφάνιση του αυτισμού ευθύνονται και σπάνιες παραλλαγές μέτριου μεγέθους επίδρασης καθώς και κοινές παραλλαγές, μεμονωμένα μικρού μεγέθους επίδρασης αλλά που αθροιστικά συμβάλλουν στην εμφάνιση του. Η αθροιστική αυτή επίδραση πολλαπλών κοινών γενετικών παραλλαγών, δηλαδή ο πολυγονιδιακός κίνδυνος όπως ονομάζεται, αναγνωρίζεται πλέον ως σημαντικός δείκτης κινδύνου για τις αυτιστικές διαταραχές (76, 200). Την τελευταία δεκαετία, γενετικές μελέτες εντόπισαν σπάνιες γενετικές παραλλαγές, συμπεριλαμβανομένων κληρονομικών και *de novo* μεταλλάξεων και παραλλαγών αριθμού αντιγράφων (CNVs), που σχετίζονται με τον αυτισμό (201). Αρκετές μελέτες CNV (89, 147, 142) εντόπισαν δομικές αλλαγές στο DNA που συμβάλλουν στον κίνδυνο για ASD. Ωστόσο, συγκεκριμένα σπάνια *de novo* και κληρονομικά CNVs έχουν περιοριστεί στο 10% περίπου των παιδιών με ιδιοπαθή αυτισμό (75).

Οι μελέτες υποψήφιων γονιδίων, στην πραγματικότητα περιορίζονται λόγω του ότι δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί οι μοριακοί μηχανισμοί της αιτοπαθογένειας του αυτισμού. Επίσης έχουν περιορισμένη ισχύ για τον προσδιορισμό κοινών γενετικών πολυμορφισμών με μικρή επίδραση στη γενετική προδιάθεση της νόσου. Ένα ακόμη πρόβλημα είναι ότι οι περισσότερες μελέτες διαθέτουν μικρό αριθμό ασθενών-μαρτύρων και έτσι έχουν περιορισμένη ισχύ ώστε να ανιχνεύσουν μια σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών-μαρτύρων. Έτσι μπορεί να προκύψουν ψευδώς θετικά αλλά και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τέλος, τα

αποτελέσματα δεν παρουσιάζουν επαναληψιμότητα σε διαφορετικούς πληθυσμούς-εθνικότητες. Μια προσέγγιση ώστε να ξεπεραστούν οι περιορισμοί αυτοί των μεμονωμένων μελετών και να εκτιμηθεί η συνολική επίδραση του κάθε γενετικού πολυμορφισμού στην αιτιοπαθογένεια των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού είναι να γίνει σύνθεση αποτελεσμάτων πολλών μελετών διαφορετικών εθνικοτήτων.

Υλικά και Μέθοδοι

Βιβλιογραφική αναζήτηση και επιλογή των κατάλληλων μελετών

Έγινε συστηματική αναζήτηση της βιβλιογραφίας στις βάσεις δεδομένων HuGE PubLit και PubMed μέχρι τον Αύγουστο του 2020 ώστε να προσδιοριστούν όλες οι δημοσιευμένες μελέτες συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων. Η αναζήτηση στη βάση δεδομένων PubMed έγινε χρησιμοποιώντας τους κάτωθι όρους: ("genetic association" OR "gene" OR "variant" OR "polymorphism") AND ("autism" OR "Asperger syndrome" OR "autism-spectrum disorder") και αφορούσε μελέτες μόνο για το ανθρώπινο είδος. Επιπλέον, εξετάστηκαν και οι διαθέσιμες μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (MEΓΣ-GWAS) (από τις βάσεις HuGE PubLit και NHGRI Catalog of Published Genome-Wide Association Studies <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>). Εξετάστηκε επίσης η βάση δεδομένων SFARI gene (<https://gene.sfari.org/>). Τέλος εξετάστηκαν οι βιβλιογραφικές αναφορές των συστηματικών ανασκοπήσεων, μετα-αναλύσεων και επιλέξιμων μελετών για την ανεύρεση επιπλέον μελετών. Δεν ζητήθηκαν μη δημοσιευμένα αποτελέσματα από κανέναν συγγραφέα.

Οι επιλέξιμες μελέτες έπρεπε να πληρούν τα ακόλουθα κριτήρια ένταξης: 1) οι πάσχοντες να είναι άτομα που πάσχουν από κάποια μορφή αυτιστικής διαταραχής, μη συνδρομικής (ιδιοπαθής αυτισμός) και να μην πάσχουν από κάποια γνωστή χρωμοσωμική ανωμαλία, γενετική πάθηση, μεταβολική ασθένεια, νευρολογική ή ψυχιατρική διαταραχή, 2) οι ασθενείς να έχουν διαγνωσθεί με διαταραχή στο φάσμα του αυτισμού με κάποια έγκυρη διαγνωστική δοκιμασία (DSM–III, DSM–IV, DSM–5, ICD–10, ADI-R, ADOS), 3) η ομάδα των μαρτύρων να αποτελείται από υγιή ανεξάρτητα άτομα και όχι από συγγενικά άτομα των ασθενών, 4) να είναι διαθέσιμα είτε οι γονότυποι είτε τα αλληλόμορφα των υποψήφιων γονιδίων, 5) να γίνεται χρήση έγκυρων μοριακών μεθόδων για γονοτύπωση, 6) η διεξαγωγή της μελέτης να γίνεται σε ανθρώπινο πληθυσμό, 7) οι μελέτες να είναι δημοσιευμένες στην αγγλική γλώσσα.

Αναφορές περιστατικών, άρθρα ανασκόπησης καθώς και μελέτες που κατηγοριοποιούσαν τον πληθυσμό με βάση συγκεκριμένα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ή με βάση την βαρύτητα της ασθένειας εξαιρέθηκαν, εφόσον δεν έδιναν στοιχεία για το σύνολο των ασθενών.

Εξαγωγή των δεδομένων

Για κάθε μελέτη έγινε εξαγωγή των παρακάτω δεδομένων: πρώτος συγγραφέας, περιοδικό και έτος δημοσίευσης, εθνικότητα του υπό μελέτη πληθυσμού, δημογραφικά στοιχεία, μορφή αυτιστικής διαταραχής και τα διαγνωστικά εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν, κριτήρια εξομοίωσης με τους μάρτυρες, μέθοδος γενοτύπωσης και ο αριθμός ασθενών και μαρτύρων για τον κάθε γονότυπο ή ο αριθμός των αλληλίων για κάθε ομάδα ασθενών-μαρτύρων. Επίσης προσδιορίστηκαν για τους υπό μελέτη πολυμορφισμούς, οι αριθμοί rs-numbers, οι χρωμοσωμικές θέσεις και οι αλλαγές νουκλεοτιδίων.

Στατιστική Ανάλυση

Για κάθε πολυμορφισμό όπου καταγράφηκαν οι γονότυποι ασθενών-μαρτύρων, υπολογίστηκε ο γενικευμένος λόγος αναλογιών (OR_G) με τα αντίστοιχα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% (95% CI), (202, 203). Με βάση τα επιμέρους OR_G υπολογίστηκε ένα αθροιστικό OR_G . Ο ελάχιστος αριθμός μελετών ανά πολυμορφισμό προκειμένου να προχωρήσουμε στην μετα-ανάλυση ήταν δυο μελέτες.

Ο γενικευμένος λόγος αναλογιών είναι ένα μέτρο το οποίο εκφράζει ουσιαστικά την πιθανότητα ένα άτομο να νοσήσει βαρύτερα προς την πιθανότητα ένα άτομο να νοσήσει ελαφρύτερα, δεδομένου ότι το πιο άρρωστο άτομο έχει υψηλότερο μεταλλαγμένο φορτίο. Για έναν πολυμορφισμό με δυο αλληλίες και δυαδικό φαινότυπο, ο γενικευμένος λόγος αναλογιών είναι η πιθανότητα ενός ατόμου το οποίο φέρει το μεταλλαγμένο φορτίο να νοσήσει προς την πιθανότητα ενός ατόμου να είναι υγιές. Όταν ο γενικευμένος λόγος αναλογιών είναι μεγαλύτερος από 1, τότε το μεταλλαγμένο φορτίο θεωρείται ότι αυξάνει τον κίνδυνο για την εμφάνιση της νόσου. Γενικά, ο γενικευμένος λόγος αναλογιών εκφράζεται ως:

$$OR_G = \frac{\text{Probability being diseased, diseased has high mutational load}}{\text{Probability of being non-diseased, non-diseased has low mutational load}}$$

Για κάθε πολυμορφισμό για τον οποίο ήταν διαθέσιμες μόνο οι συχνότητες των αλληλόμορφων εξετάστηκε το μοντέλο αντίθεσης αλληλόμορφων (allele contrast). Πάλι το ελάχιστο όριο για να διεξαχθεί η μετα-ανάλυση ήταν οι 2 μελέτες.

Για τον έλεγχο της ετερογένειας μεταξύ των μελετών εφαρμόστηκε η στατιστική δοκιμασία Q-statistic, το οποίο είναι ένα σταθμισμένο σύνολο των υψωμένων στο τετράγωνο αποκλίσεων των επιμέρους OR από το αθροισμένο OR. Όταν υπάρχει ομοιογένεια μεταξύ των επιμέρους ORs, τότε το Q-statistic ακολουθεί μια κατανομή χ^2 με $r-1$ (r είναι ο αριθμός των μελετών) βαθμούς ελευθερίας. Εάν η τιμή της πιθανότητας p είναι <0.10 , τότε η ετερογένεια θεωρείται στατιστικά σημαντική.

Η ετερογένεια ποσοτικοποιείται με τη μέτρηση I^2 [$I^2=(Q-df)/Q$], η οποία είναι ανεξάρτητη του αριθμού των μελετών που συμπεριελήφθησαν στην μετα-ανάλυση. Η παράμετρος I^2 παίρνει τιμές μεταξύ 0% και 100%, με τις μεγαλύτερες τιμές να δηλώνουν μεγαλύτερο βαθμό ετερογένειας (0% - 25%: δεν υπάρχει ετερογένεια, 25% - 50%: μέτρια ετερογένεια, 50% - 75%: μεγάλη ετερογένεια, 75% - 100%: μέγιστη ετερογένεια).

Το αθροισμένο OR_G υπολογίστηκε με τη χρήση του μοντέλου τυχαίων επιδράσεων [random effects (REs, DerSimonian and Laird)], γιατί το συγκεκριμένο μοντέλο είναι περισσότερο συντηρητικό. Ο υπολογισμός του αθροισμένου OR_G έγινε με τη χρήση ενός παράγοντα στάθμισης (w_i), ο οποίος ορίστηκε ως το αντίστροφο της διακύμανσης του $\ln OR_G$ κάθε μελέτης. Το μοντέλο RE υποθέτει μια αληθή ετερογένεια στα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών. Επομένως, όταν διαπιστώνεται η ύπαρξη στατιστικής ετερογένειας μεταξύ των μελετών, το αθροισμένο OR_G υπολογίζεται με το μοντέλο RE (204, 205).

Η πιθανή ύπαρξη διαφοράς της γενετικής επίδρασης με βάση το μέγεθος του δείγματος εκτιμήθηκε με τη χρήση της δοκιμασίας εξάρτησης Egger με επίπεδο σημαντικότητας p είναι <0.10 .

Επίσης για κάθε μελέτη έγινε έλεγχος για συμφωνία της κατανομής των γονοτύπων στην ομάδα ελέγχου με την προβλεπόμενη υπό την υπόθεση της ισορροπίας Hardy–Weinberg (HWE, $P<0.05$). Ο πάσχων πληθυσμός αναμένεται να μην συμμορφώνεται με την υπόθεση της ισορροπίας Hardy–Weinberg όταν υπάρχει

πραγματική συσχέτιση με τον εξεταζόμενο πολυμορφισμό. Ωστόσο, αναμένεται ανεξαρτησία των αλληλόμορφων στην ομάδα ελέγχου (128, 202). Η επιθεώρηση του κατά πόσον η κατανομή των γονοτύπων στην ομάδα ελέγχου (άτομα χωρίς ασθένεια) συμμορφώνεται με το HWE παρέχει μια ένδειξη της ποιότητας στο σχεδιασμό και τη διεξαγωγή της GAS (128, 202). Οι αποκλίσεις από το HWE μπορεί να οφείλονται είτε σε σφάλματα γενοτύπωσης, είτε στην διαστρωμάτωση του πληθυσμού είτε σε μεροληψία επιλογής κατά την στρατολόγηση της ομάδας ελέγχου (128, 202). Μελέτες που δεν πληρούσαν την ισορροπία HWE ($HWE, P < 0.05$) υποβλήθηκαν σε ανάλυση ευαισθησίας (128, 206), δηλαδή εξετάστηκε η επίδραση στο εκτιμώμενο γενετικό αποτέλεσμα μετά τον αποκλεισμό των συγκεκριμένων μελετών.

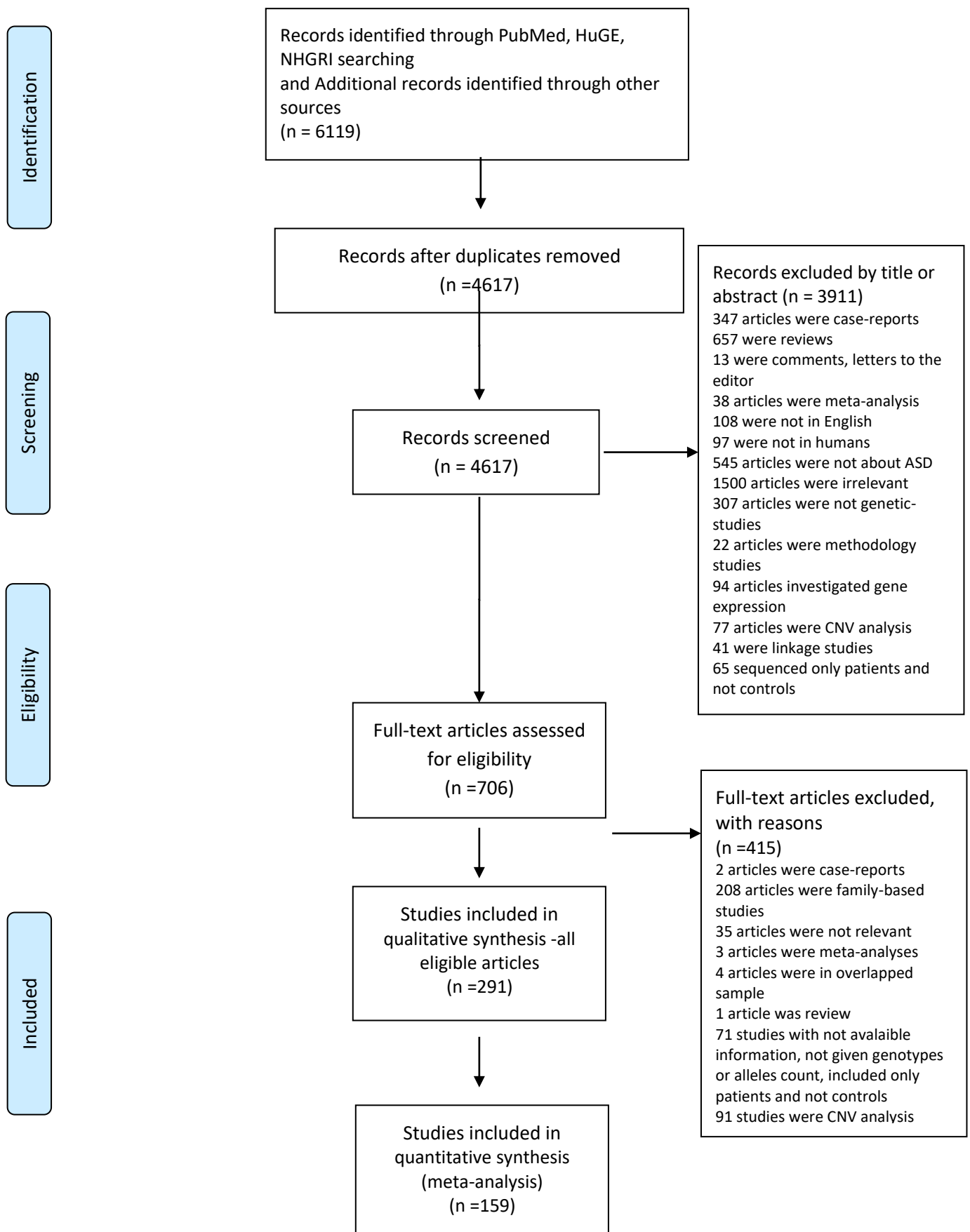
Για τον υπολογισμό του γενικευμένου λόγου αναλογιών χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα ORGGASMA το οποίο είναι ελεύθερα προσβάσιμο στον σύνδεσμο <http://biomath.med.uth.gr/default.aspx?id=232164AC-9C6B-4A27-A595-2A22C35B6260> (202). Οι αναλύσεις έγιναν με τα ακόλουθα λογισμικά: OpenMeta (Lau), Comprehensive Meta[Analyst] και StatsDirect (Microsoft Corp).

Αποτελέσματα

Χαρακτηριστικά διαθέσιμων μελετών

Ύστερα από την βιβλιογραφική αναζήτηση προέκυψαν 4617 άρθρα εκ των οποίων τελικά 159 άρθρα ήταν κατάλληλα για να συμπεριληφθούν στη μετα-ανάλυση. Όταν ένα άρθρο έδινε αποτελέσματα για διαφορετικούς πληθυσμούς, τότε ο κάθε πληθυσμός συμπεριλαμβανόταν ως διαφορετική μελέτη στην μετα-ανάλυση. Στο διάγραμμα ροής (**Διάγραμμα 5**) απεικονίζεται ο λόγος αποκλεισμού των υπόλοιπων μελετών. Συνολικά, 57 γονίδια και 128 πολυμορφισμοί εξετάστηκαν σε 159 ΜΓΣ. Τα χαρακτηριστικά της κάθε μελέτης καταγράφονται στο παράρτημα (**Πίνακας 11**).

Διάγραμμα 5: Διάγραμμα ροής επιλέξιμων μελετών (207)



Αποτελέσματα κύριας μετα-ανάλυσης

Πίνακας 6. Στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα σύγκρισης υγιών έναντι ατόμων με αυτιστικές διαταραχές στις μετα-αναλύσεις του εκάστοτε πολυμορφισμού όσον αφορά το σύνολο των μελετών γενετικής συσχέτισης, με βάση τους γονοτύπους. (207)

GENE	VARIANT	rs number	studies (n)	Cases/controls (n)	REORG (95% CI)	I2 (%)	PQ	PE
ADA	G>A	G22A	2	209/278	3.230(1.949-5.352)	0.00	0.365	NA
CD157/BST1	A>G	rs28532698	2	348/350	9.955(5.279-18.775)	0.00	0.790	NA
DRD1	T>C	rs251937	2	537/600	0.763(0.516-0.947)	0.00	0.617	NA
EN2	C>T	rs1861973	2	377/943	1.755(1.230-2.502)	0.00	0.967	NA
MET	G>C	rs1858830	6	1938/1562	1.320(1.074-1.623)	54.56	0.051	0.356
MTFHR	C>T	rs1801133	19	2897/7910	1.767(1.370 - 2.278)	83.31	0.00	0.030
MTFHR (ALL IN HWE)	C>T	rs1801133	16	2460/2253	1.723(1.321-2.249)	80.04	0.00	0.002
MTFHR	A>C	rs1801131	9	1892/1661	1.535(1.032 - 2.283)	87.07	0.00	0.041
MTFHR (ALL IN HWE)	A>C	rs1801131	8	1754/1523	1.682(1.071-2.640)	88.53	0.00	0.057
SLC6A4	G>T	(3'UTR-SNP) rs3813034	3	252/328	1.365(1.021-1.826)	0.00	0.822	0.939
SNAP25	T>G	rs3746544	2	591/677	1.382(1.115-1.712)	0.00	0.356	NA
VDR	C>T	rs2228570	7	1195/1193	1.173(1.012 - 1.361)	0.00	0.499	0.650
VDR	T>C	rs731276	7	1195/1193	1.266(1.066 - 1.503)	15.73	0.310	0.495

RS: SNP identifier, RE ORG: random effects odds ratio generalized, I2: I2 statistic, NA: non applicable, PQ: P-value from heterogeneity testing, PE: P-value from Egger's test.

Πίνακας 7. Στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα σύγκρισης υγιών έναντι ατόμων με αυτιστικές διαταραχές στις μετα-αναλύσεις του εκάστοτε πολυμορφισμού όσον αφορά το σύνολο των μελετών γενετικής συσχέτισης, με βάση την κατανομή των αλληλομόρφων. (207)

GENE	VARIANT	rs number	studies (n)	Cases/controls (n)	REOR (95% CI)	I2 (%)	PQ	PE
ADRA1B	A>T	rs3020273	2	272/528	10.902(1.977-60.118)	0.00	0.479	NA
ASMT	G>A	rs4446909	5	1066/1074	0.839(0.731-0.963)	0.00	0.662	0.931
ASMT	G>C	rs5989681	5	1066/1074	0.844(0.741-0.961)	0.00	0.487	0.773
C4B	DUPLICATION>NULL		5	314/350	3.881(2.883-5.317)	0.00	0.857	0.076
DRD3	G>A	rs167771	3	598/878	1.731(1.332-2.249)	36.94	0.205	0.337
DRD3	A>G	rs3773678	2	272/528	1.639(1.209-2.221)	0.00	0.866	NA
MET	G>A	rs38845	3	816/867	1.268(1.102-1.460)	0.863	0.365	0.395
NLGN4	G>A	rs3810688	2	487/763	1.340(1.021-1.759)	5.646	0.303	NA
NRXN1	C>T	rs2303298	2	370/729	2.210(1.609-3.037)	0.00	0.444	NA
OXTR	G>A	rs53576	2	398/852	1.255(1.049-1.502)	0.00	0.931	NA
OXTR	T>C	rs2268493	2	203/464	0.656(0.487-0.855)	0.00	0.538	NA
PFTK1	C>T	rs809131	2	272/528	1.278(1.027-1.590)	0.00	0.919	NA
PFTK1	A>G	rs1464000	2	272/528	1.282(1.012-1.625)	13.338	0.283	NA
PFTK1	T>A	rs3802029	2	272/528	1.393(1.114-1.740)	0.00	0.583	NA
RELN	C>A	rs12531131	2	272/528	0.596(0.459-0.774)	0.00	0.669	NA
RELN	T>C	rs1404431	2	272/528	0.578(0.438-0.762)	0.00	0.882	NA
RIT2	T>C	rs16976358	4	1373/1768	1.801(1.466-2.213)	45.341	0.139	0.944

RS: SNP identifier, RE OR: random effects odds ratio, I2: I2 statistic, NA: not applicable, PQ: P-value from heterogeneity testing, PE: P-value from Egger's test.

Πίνακας 8. Αποτελέσματα υπο-ανάλυσης με βάση την εθνικότητα. (207)

GENE	ETHNICITY	VARIANT	rs number	studies (n)	Cases/controls (n)	REORG (95% CI)	I2 (%)	PQ
MET	ALL	G>C	rs1858830	6	1938/1562	1.320(1.074-1.623)	54.56	0.051
	WHITES	G>C	rs1858830	5	1545/992	1.458(1.253-1.695)	0.00	0.715
MTFHR	ALL	C>T	rs1801133	19	2897/7910	1.767(1.370 - 2.278)	83.31	0.00
	WHITES	C>T	rs1801133	6	1243/6191	1.512(1.066-2.144)	79.66	0.00
	ASIANS	C>T	rs1801133	8	1207/1370	1.685(1.140-2.490)	83.99	0.00
	AFRICANS	C>T	rs1801133	4	153/169	3.814(2.092-6.952)	35.07	0.202
MTFHR	ALL	A>C	rs1801131	9	1892/1661	1.535(1.032 - 2.283)	87.07	0.00
	WHITES	A>C	rs1801131	3	1040/748	0.881(0.710-1.093)	33.58	0.222
	ASIANS	A>C	rs1801131	3	501/667	2.224(0.893-5.540)	90.98	0.00001
	AFRICANS	A>C	rs1801131	2	55/69	8.991(3.881-20.828)	0.00	0.389
RELN	ALL	C>T	rs736707	6	871/1093	1.026(0.768 - 1.372)	69.15	0.006
	ASIANS	C>T	rs736707	5	742/885	0.922(0.709-1.197)	53.84	0.07
SLC6A4	ALL	S>L	5-HTTLPR	12	1191/1664	1.065(0.826-1.374)	67.78	0.0003
	ASIANS	S>L	5-HTTLPR	5	469/594	1.431(1.150-1.780)	0.00	0.460
	WHITES	S>L	5-HTTLPR	3	299/370	1.078(0.670-1.734)	67.49	0.04
	AFRICANS	S>L	5-HTTLPR	2	129/362	0.519(0.349-0.772)	0.00	0.39
	AMERICANS	S>L	5-HTTLPR	2	2994/338	0.838(0.619-1.136)	20.48	0.262
VDR	ALL	C>T	rs2228570	7	1195/1193	1.173(1.012 - 1.361)	0.00	0.499
	ASIANS	C>T	rs2228570	4	604/603	1.116(0.903-1.379)	0.00	0.709
	WHITES	C>T	rs2228570	2	208/366	1.282(0.732-2.248)	71.64	0.06
VDR	ALL	T>C	rs731276	7	1195/1193	1.266(1.066 - 1.503)	15.73	0.310
	ASIANS	T>C	rs731276	4	604/603	1.278(1.018-1.604)	0.00	0.555
	WHITES	T>C	rs731276	2	208/366	1.261(0.653-2.435)	79.58	0.02
VDR	ALL	G>A	rs1544410	6	1114/1085	1.01(0.936 - 1.296)	0.00	0.98

	ASIANS	G>A	rs1544410	3	523/495	1.079(0.842-1.383)	0.00	0.925
	WHITES	G>A	rs1544410	2	208/366	1.128(0.825-1.543)	0.00	0.460

RS: SNP identifier, RE ORG: random effects odds ratio generalized, I2: I2 statistic, PQ: P-value from heterogeneity testing.

Οι **Πίνακες 6 και 7** παρουσιάζουν τα στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα σύγκρισης μεταξύ ασθενών και υγιών ατόμων στις μετα-αναλύσεις του εκάστοτε πολυμορφισμού με βάση την κατανομή των γονοτύπων και αλληλομόρφων αντίστοιχα.

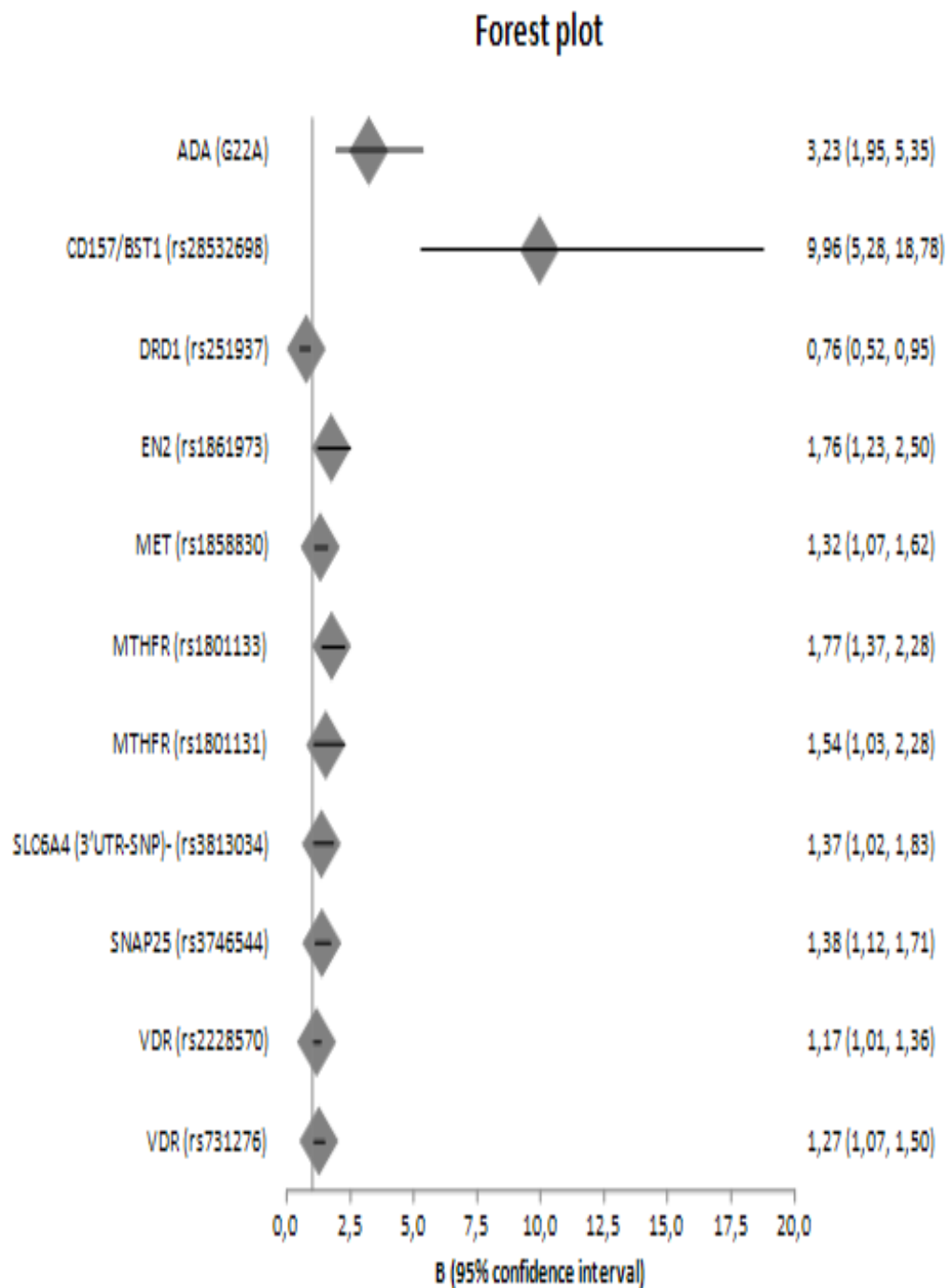
Στις αναλύσεις στις οποίες υπολογίστηκε ο γενικευμένος λόγος αναλογιών (OR_G) στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα προέκυψαν για τους πολυμορφισμούς ADA (G22A), CD157/BST1 (rs28532698), DRD1 (rs251937), EN2 (rs1861973), MET (rs1858830) MTHFR (rs1801133 και rs1801131), SLC6A4 (rs3813034), SNAP25 (rs3746544) και VDR (rs2228570 και rs731276). Τα αποτελέσματα παρέμειναν σημαντικά και μετά την ανάλυση ευαισθησίας. Υπήρχε χαμηλού βαθμού ετερογένεια μεταξύ των μελετών για όλους τους στατιστικά σημαντικούς πολυμορφισμούς, εκτός από MET (rs1858830) και MTHFR (rs1801133 και rs1801131).

Στο μοντέλο αντίθεσης αλληλομόρφων, σημαντικές συσχετίσεις σημειώθηκαν για τους πολυμορφισμούς ADRA1B (rs3020273), ASMT (rs4446909 και rs5989681), C4B, DRD3 (rs167771 και rs3773678), MET (rs38845), NLGN4 (rs3810688), NRXN1 (rs2303298), OXTR (rs53576 και rs2268493), PFTK1 (rs809131, rs1464000 και rs3802029), RELN (rs12531131 και rs1404431) και RIT2 (rs16976358). Αξίζει να σημειωθεί πως υπήρχε χαμηλή ετερογένεια μεταξύ των μελετών για όλους τους στατιστικά σημαντικούς πολυμορφισμούς.

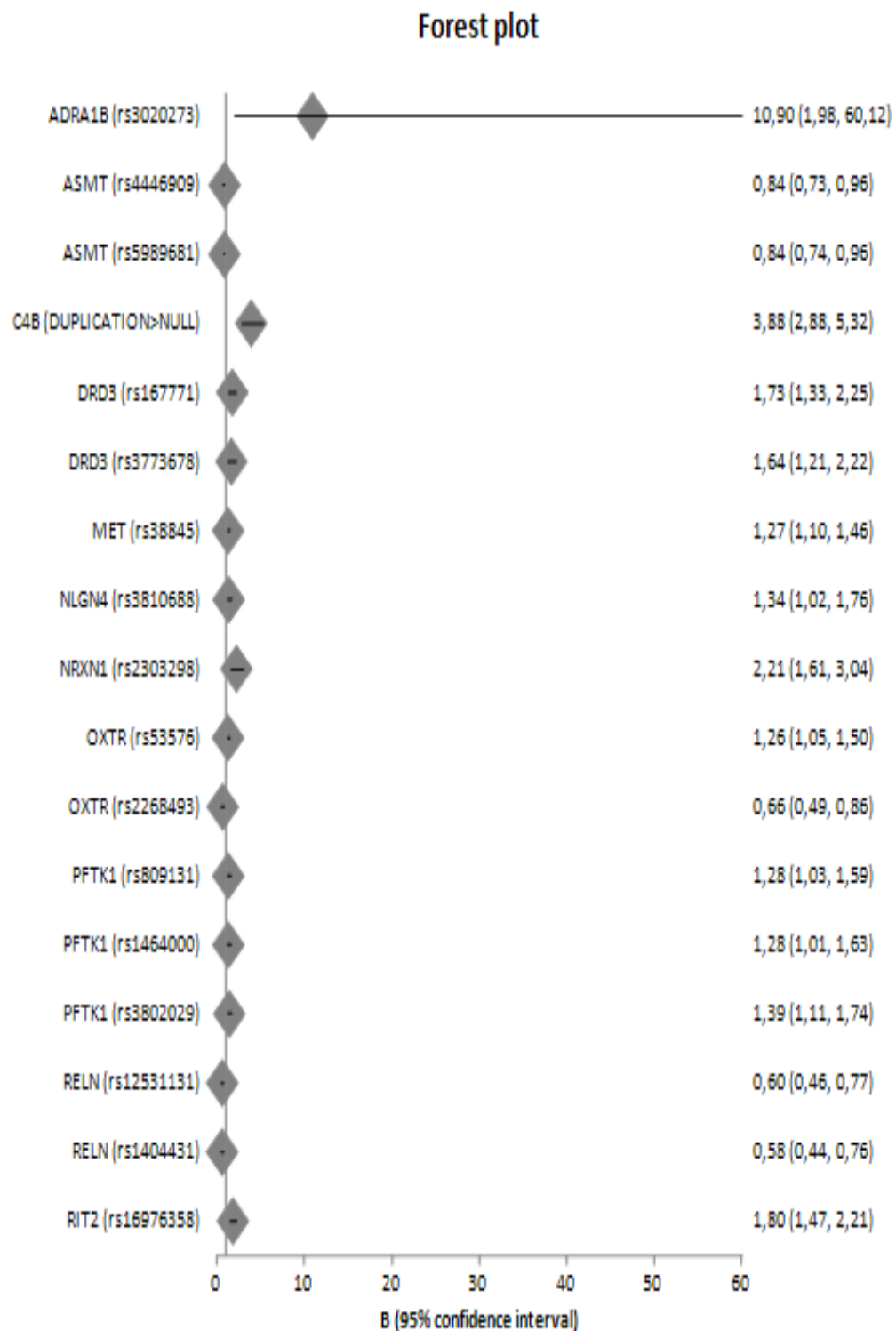
Όταν ήταν διαθέσιμες >5 μελέτες για έναν πολυμορφισμό, τότε πραγματοποιήθηκε υπο-ανάλυση με βάση την εθνικότητα του πληθυσμού. Τα αποτελέσματα της υπο-ανάλυσης παρουσιάζονται στον **πίνακα 8**. Ο 5-HTTLPR πολυμορφισμός του SLC6A4 γονιδίου, αν και δεν αναδείχθηκε στατιστικά σημαντικός στην κύρια ανάλυση, ήταν στατιστικά σημαντικός στην ανάλυση που αφορούσε Ασιάτες και Αφρικανούς.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά διαγράμματα των στατιστικά σημαντικών πολυμορφισμών.

Διάγραμμα 6: Στο παρακάτω διάγραμμα απεικονίζονται όλοι οι πολυμορφισμοί που αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικοί στη σύγκριση ασθενών-υγιών μετά από ανάλυση γονοτύπων. (207)



Διάγραμμα 7: Στο παρακάτω διάγραμμα απεικονίζονται όλοι οι πολυμορφισμοί που αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικοί στη σύγκριση ασθενών-υγιών μετά από ανάλυση των συχνοτήτων των αλληλομόρφων. (207)



Συζήτηση

Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού αποτελούν νευροαναπτυξιακές διαταραχές με ισχυρή γενετική συνιστώσα και οι πολυάριθμες γενετικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί έχουν καταλήξει ότι ο γενετικός κίνδυνος εμφάνισης αυτιστικών διαταραχών αποτελεί έναν συνδυασμό κοινών και σπάνιων γενετικών παραλλαγών (208, 209). Η ακριβής γενετική αιτιολογία δεν έχει ακόμα προσδιοριστεί, οπότε σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η σύνθεση όλων των διαθέσιμων δεδομένων μελετών γενετικής συσχέτισης τόσο υποψήφιων γονιδίων όσο και σε ευρύ γονιδιωματικό επίπεδο για την αναζήτηση των υπεύθυνων γονιδίων που ευθύνονται για την εμφάνιση της αυτιστικής διαταραχής. Τα τελευταία 10 χρόνια έχει αυξηθεί ο αριθμός των δημοσιεύσεων σχετικά με την επικάλυψη της αυτιστικής διαταραχής με άλλες ψυχιατρικές νόσους. Το 2013, η ομάδα Cross-Disorder Group του Psychiatric Genomics Consortium (PGC) έδειξε ότι η πιο συσχετισμένη ασθένεια με τον αυτισμό ήταν η σχιζοφρένεια (210). Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση των Hollocks et al., το 2018 (259) υπολόγισε έναν επιπολασμό από 27% έως 42% για τις αγχώδεις διαταραχές και από 23% έως 37% για τις καταθλιπτικές διαταραχές σε ενήλικες με διαταραχή στο φάσμα του αυτισμού. Μια άλλη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση υπολόγισε ότι οι επιπολασμοί ήταν 28% για τη ΔΕΠΥ, 20% για τις αγχώδεις διαταραχές, 13% για διαταραχές ύπνου-εγρήγορσης, 12% για διαταραχές ελέγχου παρορμήσεων και συμπεριφοράς, 11% για τις καταθλιπτικές διαταραχές, 9% για την ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή, 5% για διπολικές διαταραχές και 4% για τις διαταραχές φάσματος σχιζοφρένειας σε ασθενείς με ASDs (211).

Η παρούσα συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση αποτελεί μία από τις πιο πλήρεις στο πεδίο των αυτιστικών διαταραχών, καθώς συμπεριλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό γονιδίων και πολυμορφισμών και συγκεκριμένα 128 πολυμορφισμούς που εδράζονται σε 57 γονίδια. Αποτέλεσμα αυτής της μετα-ανάλυσης ήταν να αναδειχθούν 28 γενετικοί πολυμορφισμοί, οι οποίοι εδράζονται σε 19 γονίδια ως στατιστικά σημαντικοί στην αιτιοπαθογένεια του αυτισμού. Η γενετική προδιάθεση της νόσου φαίνεται να εμπλέκεται με γενετικά δίκτυα τα οποία αφορούν την νευροανάπτυξη, την συναπτογένεση, την νευρωνική μετανάστευση και την λειτουργία των νευροαξόνων (212).

Φαίνεται λοιπόν ότι επιβεβαιώθηκε η στατιστική σημαντικότητα του πολυμορφισμού rs1801133 του γονιδίου MTHFR, όπως είχε προκύψει και από δύο πρόσφατες μετα-αναλύσεις (213, 214). Ο πολυμορφισμός rs1801131 του γονιδίου επίσης αναδείχθηκε σημαντικός, σε αντίθεση με τις ανωτέρω πρόσφατες μετα-αναλύσεις όπου η σημαντικότητα του ήταν ισχυρή μόνο στον Καυκάσιο πληθυσμό. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο το γονίδιο MTHF εμπλέκεται στην αιτιοπαθογένεια του αυτισμού δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί ακόμη. Ωστόσο έχει φανεί ότι το επίπεδο της μεθυλίωσης και της επιδιόρθωσης του DNA είναι διαταραγμένο σε ασθενείς με αυτιστικές διαταραχές (215). Το γονίδιο MTHFR ως γνωστόν, κωδικοποιεί ένζυμα σημαντικά στο μονοπάτι του μεταβολισμού φολικού οξέος, το οποίο παίζει καθοριστικό ρόλο στις διεργασίες επιδιόρθωσης και μεθυλίωσης του DNA (216).

Το γονίδιο VDR και ο πολυμορφισμός του rs731236 βρέθηκε να έχει σημαντική συσχέτιση με το φάσμα των αυτιστικών διαταραχών, εύρημα σύμφωνο και με την προηγούμενη εργασία των Yang et al, 2020 (217). Στην δική μας ερευνητική εργασία αναδείχθηκε επίσης σημαντικός και ο πολυμορφισμός rs2228570. Οφείλουμε να επισημάνουμε εδώ τον μεγαλύτερο αριθμό μελετών που συμπεριλάβαμε στην δική μας ανάλυση, κάτι το οποίο θα μπορούσε να δίνει μεγαλύτερη αξιοπιστία στα δικά μας αποτελέσματα.

Επίσης τα γονίδια DRD3, ASMT, RELN, OXTR, SLC6A4, MET και EN2 αναδείχθηκαν ως στατιστικά σημαντικά στην δική μας σύνοψη πεδίου, εύρημα σύμφωνο και με την μετα-ανάλυση των Warrier et al, 2015 (218).

Οι νέοι γενετικοί τόποι, τους οποίους ανέδειξε η δική μας εργασία ήταν οι παρακάτω : ADA, ADRA1B, CD157/BST1, DRD1, NLGN4, NRXN1, PFTK1, RIT2, SNAP25. Απαιτούνται λοιπόν, περισσότερες μελέτες γενετικής συσχέτισης προκειμένου να επιβεβαιωθεί η εμπλοκή των ανωτέρω γενετικών τόπων στον γενετικό κίνδυνο των αυτιστικών διαταραχών.

Τα περισσότερα από τα γονίδια, που αναδείχθηκαν ως σημαντικά στη μετα-ανάλυσή μας, εμφανίζονται και σε άλλες ψυχιατρικές ασθένειες. Οι πολυμορφισμοί σε γονίδια που κωδικοποιούν στοιχεία του νοραδρενεργικού και ντοπαμινεργικού συστήματος όπως τα γονίδια ADRA2B, DRD1, DRD3 και SNAP-25, μεμονωμένα ή σε αλληλεπιδράσεις, σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης της σχιζοφρένειας (219).

Το γονίδιο SNAP-25 μπορεί να συνδέεται με μια πληθώρα ψυχιατρικών διαταραχών, όπως η διπολική διαταραχή, η σχιζοφρένεια, η μείζονα καταθλιπτική διαταραχή, η διαταραχή ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας, η διαταραχή χρήσης αλκοόλ και η άνοια (220). Οι παραλλαγές του γονιδίου Reelin βρέθηκαν στη σχιζοφρένεια, τη διπολική διαταραχή και σε άλλες ασθένειες του νευρικού συστήματος όπως η λισεγκεφαλία (221). Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση πρότεινε επίσης ότι ο πολυμορφισμός rs2228570 του γονιδίου VDR μπορεί να χρησιμεύσει ως γενετικός βιοδείκτης της νόσου του Πάρκινσον, ενώ ο πολυμορφισμός rs731236 του γονιδίου VDR μπορεί να χρησιμεύσει ως γενετικός βιοδείκτης της νόσου Alzheimer (222). Μια άλλη μετα-ανάλυση αποκάλυψε επίσης το ρόλο των παραλλαγών του γονιδίου SLC6A4 στη σχιζοφρένεια και ιδιαίτερα τον ρόλο της παραλλαγής 5-HTTLPR (223).

Αρκετά από τα γονίδια που αναδείχθηκαν ως στατιστικά σημαντικά στην παρούσα μετα-ανάλυση παίζουν σημαντικό ρόλο στη νευροδιαβίβαση και στη διαδικασία της συναπτογένεσης. Το σύστημα ντοπαμίνης είναι το κύριο νευροδιαβιβαστικό σύστημα του εγκεφάλου το οποίο σχετίζεται με τις νευρωνικές δραστηριότητες που ορίζουν την κίνηση, την συναισθηματική και νευροενδοκρινική ρύθμιση (195). Πολλές μελέτες έχουν καταλήξει στο ότι η απορρύθμιση της ντοπαμίνης σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου θα μπορούσε να οδηγήσει σε αυτιστικές συμπεριφορές (224). Συγκεκριμένα, μεταβολές στη μεσοκορτικολιμβική οδό σηματοδότησης, όπως η μειωμένη απελευθέρωση ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό και η μειωμένη νευρική απόκριση στον γειτονικό πυρήνα, οδηγούν στα κοινωνικά ελλείμματα που εμφανίζουν τα άτομα με αυτιστικές διαταραχές (225, 226). Αντίστοιχα η δυσλειτουργία του μελανοραβδωτού συστήματος οδηγεί στις στερεοτυπικές συμπεριφορές των αυτιστικών ατόμων (227). Συγκεκριμένα, το γονίδιο VDR, επηρεάζοντας το μεταβολισμό και τη λειτουργία της βιταμίνης D3 (228) εμπλέκεται στη βιοσύνθεση νευροτροφικών παραγόντων και νευροδιαβιβαστών (229). Οι πολυμορφισμοί των γονιδίων DRD1 και DRD3 ρυθμίζουν πολλές από τις συμπεριφορές που σχετίζονται με την ντοπαμίνη και που είναι μη φυσιολογικές στα άτομα με αυτισμό (230). Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου ADA μειώνοντας την καταλυτική δραστηριότητα της ADA, αυξάνουν τα επίπεδα της αδενοσίνης και της δεοξαδενοσίνης. Η αδενοσίνη είναι κύριος ρυθμιστής της ντοπαμινεργικής και σεροτονινεργικής νευροδιαβίβασης στο ΚΝΣ, που είναι γνωστό ότι προσβάλλονται

στον αυτισμό (231, 225). Όσον αφορά το γονίδιο SNAP25, κωδικοποιεί μια προσυναπτική πρωτεΐνη που δεσμεύεται στην κυτταρική μεμβράνη, η οποία εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε νευροενδοκρινικά κύτταρα και συμμετέχει στην απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών (232). Τα μόρια προσκόλλησης των συναπτικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα γονίδια NRXN1 και NLGN4, είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση των λειτουργικών συνάψεων καθώς και για την ισορροπία μεταξύ διεγερτικών και ανασταλτικών σημάτων (233, 234). Το γονίδιο OXTR λειτουργεί ως υποδοχέας για την ωκυτοκίνη, η οποία δρα τόσο ως ορμόνη όσο και ως νευροδιαβιβαστής. Η ωκυτοκίνη εμπλέκεται στην έκφραση μητρικών και κοινωνικών συμπεριφορών (235). Το γονίδιο SLC6A4 εμπλέκεται στη μεταφορά της σεροτονίνης στα νευρικά κύτταρα. Αυτός ο μεταφορέας λοιπόν σχετίζεται με την ανισορροπία της σεροτονίνης, η οποία είναι μια κατάσταση που βρέθηκε ότι συνδέεται με τη ΔΑΦ σε επιγενετικό, γενετικό και βιοχημικό επίπεδα (236). Το γονίδιο ADRA1B έχει επίσης προταθεί ως ρυθμιστής της ντοπαμινεργικής νευροδιαβίβασης (237).

Μια άλλη μοριακή οδός που σχετίζεται με τις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού περιλαμβάνει τη νευροανάπτυξη και τη νευρωνική μετανάστευση. Έτσι τα γονίδια που εμπλέκονται στη μορφογένεση της παρεγκεφαλίδας έχουν συσχετιστεί με τις αυτιστικές διαταραχές (238). Παραλλαγές του γονιδίου EN2 κατά την όψιμη εμβρυϊκή και μεταγεννητική ανάπτυξη της παρεγκεφαλίδας συμβάλλουν στη μείωση του μεγέθους της παρεγκεφαλίδας και του αριθμού των κυττάρων Purkinje (239). Το γονίδιο RELN παίζει βασικό ρόλο στη μετανάστευση αρκετών τύπων νευρωνικών κυττάρων και στην ανάπτυξη νευρικών συνδέσεων (240). Το γονίδιο RIT2, το οποίο εκφράζεται κυρίως στον εγκέφαλο και κατά προτίμηση στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες, έχει σημαντικό ρόλο στη νευροανάπτυξη, τη διαφοροποίηση των νευρωνικών κυττάρων και την επιβίωση (241,242). Το γονίδιο MET εμπλέκεται στην ανάπτυξη των νευρώνων, ειδικά στην ανάπτυξη του εγκεφαλικού φλοιού και της παρεγκεφαλίδας (243,244).

Τα παιδιά με αυτισμό παρουσιάζουν επίσης χαμηλή παραγωγή μελατονίνης και διαταραχές ύπνου με αλλοιωμένους κιρκάδιους ρυθμούς (245). Παραλλαγές στο γονίδιο ASMT, το οποίο εμπλέκεται στο τελικό στάδιο της σύνθεσης μελατονίνης, οδηγούν σε μειωμένα επίπεδα της μελατονίνης (246).

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι ο αυτισμός μπορεί να έχει και ένα αυτοάνοσο υπόβαθρο (247). Υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του μηδενικού αλληλόμορφου C4B και της ανάπτυξης αυτοανοσίας (248). Πρόσφατη έρευνα αποκάλυψε ότι το συμπλήρωμα C4 είναι ένα υποψήφιο γονίδιο ευαισθησίας για τη σχιζοφρένεια (249, 250, 251). Οι δομικές παραλλαγές του γονιδίου C4 θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε υπερβολικό ή ακατάλληλο σχηματισμό συνάψεων κατά τη διάρκεια της νευροανάπτυξης και συνεπώς σε απώλεια σημαντικών συναπτικών συνδέσεων στον εγκέφαλο (252).

Η σύνθεση των δεδομένων στην παρούσα διατριβή έγινε με βάση τον γενικευμένο λόγο αναλογιών (OR_G). Αποτελεί μία προσέγγιση ελεύθερη γενετικού μοντέλου κληρονομής και έτσι η προτίμηση του για την ανάλυση των μελετών γενετικής συσχέτισης υπερνικά όλες τις δυσκολίες και τα μειονεκτήματα του ελέγχου πολλαπλών μοντέλων κληρονομής καθώς και την δυσκολία του ορισμού εκ των προτέρων ενός άγνωστου μοντέλου κληρονομής.

Η ανάλυση που πραγματοποιήθηκε έχει σαφώς κάποιους περιορισμούς τους οποίους θα πρέπει να λάβουμε υπόψιν μας για την σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Καταρχάς υπήρχε ετερογένεια στις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν όσον αφορά την εθνικότητα των ατόμων, την ηλικία, το φύλο και άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Αυτή η ετερογένεια είναι ένας παράγοντας που θα μπορούσε να επηρεάσει την ακρίβεια των αποτελεσμάτων μας. Προκειμένου να ληφθεί υπόψιν η ετερογένεια λόγω διαφορετικής καταγωγής, διενεργήθηκαν και οι σχετικές υπο-αναλύσεις. Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού είναι πολυπαραγοντικό νόσημα και έτσι αναλύσεις για την αλληλεπίδραση μεταξύ των γονιδίων όπως και για την αλληλεπίδραση γονιδίων-περιβάλλοντος θα μπορούσαν να αυξήσουν την ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Ακόμα ένας περιορισμός είναι το σφάλμα δημοσίευσης, δηλαδή ότι συμπεριελήφθηκαν μόνο άρθρα δημοσιευμένα στην Αγγλική γλώσσα, αποκλείοντας έτσι άλλα δεδομένα σε άλλες γλώσσες ή δεδομένα που δεν δημοσιεύτηκαν λόγω του ότι δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Επιπλέον, στις περισσότερες μετα-αναλύσεις συμμετείχε μικρός αριθμός μελετών όπως επίσης και στις περισσότερες μελέτες ήταν μικρό το μέγεθος του δείγματος. Σε αυτές τις περιπτώσεις απαιτούνται και άλλες μελέτες προκειμένου να αυξηθεί η ισχύς των αποτελεσμάτων. Έτσι το γεγονός ότι κάποιος γενετικός τόπος μπορεί να μην αποδείχθηκε σημαντικός, δεν αποκλείει αυτόματα και την συσχέτιση του με την νόσο.

Ο προσδιορισμός των γενετικών πολυμορφισμών που συμβάλλουν στη γενετική προδιάθεση της νόσου θα οδηγήσει σε ανακάλυψη τρόπων προγεννητικής διάγνωσης, πρόληψης εμφάνισης, πρόγνωσης της νόσου και ενδεχομένως και σε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Αυτές οι ανακαλύψεις θα δώσουν νέες προοπτικές στον τομέα της εξατομικευμένης ιατρικής. Αντικείμενο μελλοντικών ερευνών αποτελούν οι πολυμορφισμοί που έχουν αποδειχθεί στατιστικά σημαντικά, όμως οι μελέτες ελεύθερες υποθέσεων οι οποίες εξετάζουν το ολόκληρο το γονιδίωμα είναι οι περισσότερες υποσχόμενες. Μελλοντικές αναλύσεις με περισσότερες μελέτες, με πιο ομοιογενή και πιο μεγάλα δείγματα μπορεί να παρέχουν περισσότερο αξιόπιστα αποτελέσματα.

Ειδικός σκοπός 3: Εφαρμογή τεχνικών γονιδιωματικής σύγκλισης στις σαρώσεις ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης (ΣΕΓΣ) και μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (ΜΕΓΣ) όσον αφορά τις διαταραχές του αυτιστικού φάσματος.

Παρά τις προσπάθειες των ερευνητών για την κατανόηση της γενετικής βάσης σύνθετων, πολυπαραγοντικών νοσημάτων, τα αποτελέσματα δεν έχουν καταλήξει ακόμη σε συγκεκριμένους γενετικούς τόπους ή σε συγκεκριμένα γονίδια με απόλυτη βεβαιότητα. Ωστόσο η πολυπαραγοντική φύση αυτών των νοσημάτων (επιδράσεις μεταξύ γονιδίων, επιδράσεις γονιδίων-περιβάλλοντος) μειώνει τις πιθανότητες μία και μοναδική μέθοδος να μπορέσει να δώσει σαφείς απαντήσεις. Έτσι η τεχνική της γονιδιωματικής σύγκλισης, δηλαδή μία μέθοδος η οποία να συνδυάζει τα αποτελέσματα διαφορετικών ειδών μελετών θα μπορούσε να συμβάλλει στην αποσαφήνιση της γενετικής αιτιολογίας πολυπαραγοντικών ασθενειών (253). Η γενετική συμβολή ενός συγκεκριμένου γενετικού τόπου όταν υποστηρίζεται από διαφορετικά είδη μεθοδολογικής προσέγγισης θεωρείται πιο έγκυρη.

Τα δύο βασικά είδη μελετών για την κατανόηση σύνθετων νοσημάτων είναι οι μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (ΜΕΓΣ) και οι μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης (ΣΕΓΣ). Στην πράξη και τα δύο είδη μελετών χαρακτηρίζονται από ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων και από μη επαναληψιμότητα (254, 255).

Οι ΜΕΓΣ και οι ΣΕΓΣ είναι μέθοδοι «ελεύθερες υποθέσεων» (“hypothesis-free”) ή «αγνωστικές». Στην πραγματικότητα, όμως, οι ΜΕΓΣ βασίζονται κι αυτές σε κάποιες *a priori* υποθέσεις και ίσως αυτός είναι και ο λόγος της περιορισμένης επιτυχίας τους.

Η συμφωνία μεταξύ των ΣΕΓΣ και των ΜΕΓΣ εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το 2009 από το Εργαστήριο Βιομαθηματικών. Στόχος ήταν να προσδιορίσει γενετικούς τόπους που να υποστηρίζονται ως στατιστικά σημαντικοί από 2 ανεξάρτητες μεθόδους με ανομοιογενή αποτελέσματα. Πρόκειται δηλαδή για μια μέθοδο ενοποίησης και συνδυασμού διαφορετικών ειδών πληροφοριών γενετικών αναλύσεων (256). Με την μέθοδο της γονιδιωματικής σύγκλισης ουσιαστικά επιχειρείται να εντοπισθούν γενετικοί τόποι οι οποίοι να υποστηρίζονται και από τις δύο μεθόδους ταυτόχρονα.

Ως σύγκλιση ορίζεται το ποσοστό των στατιστικά σημαντικών γενετικών δεικτών, όπως αυτοί προκύπτουν από τις μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (ΜΕΓΣ), οι οποίοι εδράζονται σε περιοχές που αναδείχθηκαν σημαντικές από τις μελέτες ευρείας γενετικής σύνδεσης.

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την γονιδιωματική σύγκλιση μπορούν να αποτελέσουν μελλοντικά πεδία έρευνας. Ωστόσο, τα αποτελέσματα αυτά θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή, καθώς οι GWLS και GWAS σχεδιάστηκαν να απαντούν διαφορετικά ερωτήματα. Η μεν πρώτη εντοπίζει σπάνιους γενετικούς τύπους με μεγάλη επίδραση στον τελικό φαινότυπο, ενώ η δεύτερη μέθοδος εντοπίζει κοινά αλληλία με μικρότερη επίδραση.

Για τον λόγο αυτό έγινε συστηματική αναζήτηση της βιβλιογραφίας στις παρακάτω βάσεις δεδομένων: HuGE PubLit και PubMed. Η αναζήτηση έγινε χρησιμοποιώντας τους παρακάτω όρους: ("genome wide" OR "linkage" OR "association" OR "gene" OR "polymorphism") AND ("autism" OR "Asperger syndrome" OR "autism-spectrum disorder") και αφορούσε μόνο μελέτες σε ανθρώπους. Επιπλέον, επιπλέον ερευνήθηκε και η βάση δεδομένων NHGRI Catalog of Published Genome-Wide Association Studies <https://www.ebi.ac.uk/gwas/> καθώς και η βάση SFARI gene (<https://gene.sfari.org/>).

Εντοπίστηκαν 5 μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης και 32 μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης οι οποίες συμπεριλήφθηκαν στην τεχνική της γονιδιακής σύγκλισης. Από τις 32 μελέτες ευρείας γονιδιακής σάρωσης κατασκευάστηκαν διαστήματα εμπιστοσύνης σύνδεσης (1.0-LOD-unit-down ή ± 15 centiMorgan) γύρω από κάθε πολυμορφικό δείκτη που εμφάνισε σημαντικότητα σε κάθε μελέτη. Έτσι κατασκευάστηκαν 109 διαστήματα εμπιστοσύνης, τα οποία καλύπτουν το 47.2% του γονιδιώματος (η έκταση της γονιδιωματικής κάλυψης προέκυψε αθροίζοντας τα μη αλληλοεπικαλυπτόμενα διαστήματα σε ένα γονιδίωμα συνολικού μήκος 3487cM σύμφωνα με τον γενετικό χάρτη Marshfield). Από τις 5 μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης οι οποίες αφορούσαν ασθενείς-μάρτυρες, 49 ήταν οι SNPs οι οποίοι ήταν στατιστικά σημαντικοί με $p < 10^{-5}$. Από αυτούς, οι 19 SNPs (ποσοστό γονιδιωματικής σύγκλισης 38.8%) εδράζονται στα διαστήματα σύνδεσης που κατασκευάστηκαν από τις μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης. Το ποσοστό της γονιδιωματικής σύγκλισης που αποδίδεται στην τύχη είναι ίσο με το

ποσοστό γονιδιωματικής κάλυψης. Στην συγκεκριμένη περίπτωση κάθε πολυμορφισμός έχει 47.2% τυχαία πιθανότητα να βρίσκεται εντός κάποιου από τα 109 διαστήματα εμπιστοσύνης LOD-1 intervals. Στη συνέχεια εξετάστηκε η στατιστική σημαντικότητα του ποσοστού γονιδιωματικής σύγκλισης που παρατηρήθηκε ελεγχόμενο με μια δοκιμασία z-test και συγκρινόμενο με τη γονιδιωματική σύγκλιση που αποδίδεται στην τύχη και ισούται με το ποσοστό γονιδιωματικής κάλυψης. Το αποτέλεσμα του z test = 1,177 με P= 0,239 φάνηκε ότι δεν ήταν στατιστικά σημαντικό. Όταν εφαρμόσαμε πιο αυστηρά κριτήρια (για τις μελέτες ευρείας γονιδιακής σάρωσης συμπεριλάβαμε τους πολυμορφικούς δείκτες με LOD score>3.2 και για τις μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης τους SNPs με $p\text{-value}<10^{-8}$), τότε η γονιδιωματική σύγκλιση φάνηκε ότι ήταν στατιστικά σημαντική σε σχέση με αυτή που αναμένονταν με βάση την τυχαιότητα (z test = 2,74 , P= 0,006).

Τα ευρήματα που εμφανίζουν σύγκλιση θα μπορούσαν να εξεταστούν σε μελλοντικές γενετικές μελέτες, καθώς φαίνεται ότι υποστηρίζονται από δύο ανεξάρτητες μεθόδους (256). Παρόλο που η γονιδιωματική σύγκλιση ουσιαστικά καταδεικνύει τρόπους με αληθείς γενετικές επιδράσεις, η συνολικά παρατηρούμενη έλλειψη συμφωνίας μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο αυτών μελετών είναι ενδεικτική ότι οι δύο αυτοί τύποι μελετών σχεδιάστηκαν για να απαντούν σε διαφορετικά ερωτήματα και δεν είναι εξίσου κατάλληλοι για τη διαλεύκανση της γενετικής παθογένειας των πολυπαραγοντικών νοσημάτων (256).

STUDY	JOURNAL	PHENOTYPE	ETHNICITY	CASES/CONTROLS	PLATFORM	No SNPs	rs NUMBER	GHROMOSOME LOCATION	PHYSICAL LOCATION	ANNOTATED GENE	OR (95%CI)	p-VALUE
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs855867	1	159,052,847	AIM2	1.891(1.460-2.449)	1.09 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs2170527	5	113,118,517	YTHDC2	2.602(1.750-3.870)	1.12 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs1864152	16	87,642,073	JPH3	1.846(1.435-2.373)	1.47 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs13020329	2	146,939,193	ZEB2	2.410(1.653-3.513)	2.75 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs17586213	9	94,535,010	ROR2	2.041(1.504-2.769)	3.38 x10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs3802379	9	94,538,304	ROR2	2.041(1.504-2.769)	3.38 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs16976358	18	40,191,571	RIT2	2.246(1.578-3.197)	4.54 x10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs195422	6	37,292,368	TBC1D22B	2.636(1.716-4.050)	4.92 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs17008493	3	2,198,106	CNTN4	0.470(0.338-0.653)	4.99 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs7875560	9	8,160,114	PTPRD	2.385(1.625-3.499)	5.27 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs201503	7	101,759,595	CUX1	2.276(1.584-3.271)	5.58 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs2733052	8	5,454,376	CSMD1	0.463(0.328-0.655)	9.49 x 10 ⁻⁶
Liu, 2016	Autism Research	ASD	JAPANESE	166/642	Affymetrix	561,592	rs2447739	2	38,410,270	CYP1B1-AS1	2.372(1.595-3.526)	1.22 x 10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	546,171	rs12080993	1	54,178,501	GLIS1	1.48(1.23–1.78)	3.57 x 10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	546,171	rs11204613	1	248,379,155	OR2M3	0.58 (0.45–0.75)	4.06x10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	546,171	rs10888329	1	248,404,654	OR2M4	0.55(0.43-0.72)	8.05 x 10 ⁻⁶
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	546,171	rs6672981	1	248,407,200	OR2M4	0.55(0.43-0.72)	9.46 X10 ⁻⁶

Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	547,171	rs4642918	1	248,411,057	OR2M4	0.56 (0.43–0.73)	1.24X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	546,171	rs4397683	1	248,411,089	OR2M4	0.55(0.43–0.72)	9.86 X 10 ⁻⁶
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	547,171	rs3916984	2	157,445,840	GPD2	0.62 (0.49–0.77)	2.25X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	548,171	rs13014164	2	170,271,231	LRP2/BBS5	2.04 (1.45–2.87)	3.23X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	549,171	rs3914502	3	174,564,602	NAALADL2	0.58 (0.45–0.76)	4.09X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	550,171	rs2222447	3	174,580,826	NAALADL2	0.60 (0.47–0.77)	4.81X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	551,171	rs7697680	4	55,245,541	PDGFRA	1.87 (1.38–2.52)	3.41X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	552,171	rs11741756	5	132,579,659	FSTL4	1.67 (1.31–2.13)	3.64X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	553,171	rs13211684	6	51,175,486	NR	1.56 (1.28–1.91)	1.36X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	554,171	rs12543592	8	123,511,652	NR	0.67 (0.56–0.81)	1.63X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	555,171	rs7026342	9	111,280,201	NR	1.86 (1.38–2.52)	4.13X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	556,171	rs7030851	9	111,281,164	NR	1.87 (1.38–2.52)	4.01X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	557,171	rs10966205	9	24,095,607	NR	1.52(1.27–1.83)	6.25 x 10 ⁻⁶
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	558,171	rs10763893	10	33,011,229	C10orf68	2.06 (1.46–2.93)	3.26X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	559,171	rs12366025	11	29,148,890	NR	1.67 (1.31–2.11)	2.49X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	560,171	rs11030597	11	29,190,528	NR	1.65 (1.30–2.10)	3.35X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	561,171	rs7933990	11	29,208,679	NR	1.72(1.35–2.19)	9.40 x 10 ⁻⁶
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	562,171	rs11030606	11	29,214,412	NR	1.65 (1.30–2.10)	3.65X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	563,171	rs7953930	12	10,818,182	STYK1	1.65 (1.30–2.09)	3.83X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANES E	315/1115	Affymetrix	564,171	rs16922945	12	10,819,146	STYK1	1.86(1.43–2.43)	3.43 x 10 ⁻⁶

Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	565,171	rs3741496	12	75,891,253	KRR1	1.49 (1.24–1.78)	1.15X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	566,171	rs1051446	12	75,894,114	KRR1	1.47 (1.23–1.76)	1.77X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	567,171	rs2447097	17	2,278,064	MNT	1.53(1.27-1.85)	9.45 x 10 ⁻⁶
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	568,171	rs2447095	17	2,293,420	MNT	1.52 (1.26–1.84)	1.45X10 ⁻⁵
Kuo, 2015	PLOS ONE	ASD	TAIWANESE	315/1115	Affymetrix	569,171	rs12479663	20	52,708,752	BCAS1/CYP24A1	1.81 (1.38–2.36)	1.08X10 ⁻⁵
Xia, 2013	Molecular Psychiatry	AUTISM	CHINESE	1280/1000	ILLUMINA	702,234	rs1877455	1	114,900,615	TRIM33-BCAS2	0.57	7.40x 10 ⁻⁵
Xia, 2013	Molecular Psychiatry	AUTISM	CHINESE	1280/1000	ILLUMINA	703,234	rs926938	1	115,041,339	AMPD1-NRAS	1.73	8.99x10 ⁻⁵
Xia, 2013	Molecular Psychiatry	AUTISM	CHINESE	1280/1000	ILLUMINA	704,234	rs527162	11	85,393,384	PICALM	1.60	5.33x10 ⁻⁵
Xia, 2013	Molecular Psychiatry	AUTISM	CHINESE	1280/1000	ILLUMINA	705,234	rs669556	11	85,458,970	PICALM	1.56	5.33x10 ⁻⁵
Grove, 2019	Nat Genet.	ASD	DANISH	13076/22664	ILLUMINA	9,112,387	rs910805	20	21,248,116	KIZ, XRN2, NKX2–2, NKX2–4	NA	2.04 x 10 ⁻⁹
Grove, 2019	Nat Genet.	ASD	DANISH	13076/22664	ILLUMINA	9,112,387	rs10099100	8	10,576,775	C8orf74, SOX7, PINX1	NA	1.07 x 10 ⁻⁸
Grove, 2019	Nat Genet.	ASD	DANISH	13076/22664	ILLUMINA	9,112,387	rs71190156	20	14,836,243	MACROD2	NA	2.75 x 10 ⁻⁸

Πίνακας 9. Μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (GWAS) που συμπεριλήφθησαν στην τεχνική της γονιδιωματικής σύγκλισης.

STUDY	JOURNAL	PHENOTYPE	ETHNICITY	No of Families	No MARKERS	LINKAGE PEAK MARKER	PHYSICAL LOCATION	GHROMOSOME LOCATION	LINKAGE INTERVAL (CM)	LINKAGE STATISTIC SCORE
Risch, 1999	Am. J. Hum. Genet	Autism	USA	90 (FS1)-49 (FS2)	149/519	D1S1675	149.20 (CM)	1p13.2-1q23.2	134.2-164.2	MLS=2.15
Philippe, 1999	Human Molecular Genetics	Autism	mixed	51	264	D6S283	132.8 (CM)	6q23.1-6q25.3	117.8-147.8	MLS = 2.23
Yonan, 2003	Am. J. Hum. Genet	ASD	USA (AGRE 1)	345	408	D17S1800 (broad)	52 (CM)	17q11.2	37-67	MLS = 2.83
						D5S2494 (broad)	58 (CM)	5p13.1	43-73	MLS = 2.54
						D11S1392-D11S1993 (broad)	45 (CM)	11p13-11.2	30-60	MLS = 2.24
Ylisaukko-oja, 2004	Molecular Psychiatry	Asperger syndrome	Finnish	17	415 (+54 fine-mapping)	D1S484	170 (CM)	1q21-22	164-176	Z (dominant)=3.58
						D3S2432	58 (CM)	3p14-24	43-73	NPL=3.32/Z (dominant)=2.50
						D13S793-D13S1271	76-79 (CM)	13q31-33	61-91	NPL=2.86/Z(dominant)=1.6
						D4S2368	168(CM)	4q32.1-4q35.1	153-183	Z=2.82
						D7S2462	169.81(CM)	7q34-7q36.3	154.81-181.97	NPL=2.42
Cantor, 2005	Am. J. Hum. Genet	ASD	USA (AGRE 2)	91	401	D3S2406	105 (CM)	3p14-p12	12	MLS = 1.8

						D17S1299	61 (CM)	17q11-23	25	MLS (fine-mapping) = 3.6/ MLS=1.9
IMGSAC, 2001	Am. J. Hum. Genet	ASD	Global (IMGSAC)	149	119/394	D2S2188	206.39 (CM)	2q24-q33	191.39- 221.39	MLS = 3.74
						D7S477	119.60 (CM)	7q11.23-7q22.3	104.6- 134.6	MLS = 3.20
						D16S3102	23.10 (CM)	16p13.3	8.10- 38.10	MLS = 2.93
						HTTINT2	45.37 (CM)	17p12-17q21.2	30.37- 60.37	MLS = 2.34
CLSA, 2001	American Journal of Medical Genetics	Autism	USA	75	416	D13S800	55 (CM)	13q13.3-13q22.1	40.0-70.0	MLS = 3.0
						D13S217- D13S1229	19 (CM)	13q12.11-13q13.3	4.0-34.0	MLS = 2.3
						D7S1813	104 (CM)	7q31-33	89.0- 119.0	MLS = 2.2
Auranen, 2002	Molecular Psychiatry	ASD	Finnish	19	369	D3S3037	190.43 (CM)	3q25-27	175.43- 205.3	Z(dom)=4.31
						D3S3715- D3S3037	190.43(CM)	3q25-27	175.43- 205.43	MLS= 4.81
						D1S1675	149.20 (CM)	1q21-22	134.20- 164.20	Z(dom)= 2.63
						D1S1653	164.09 (CM)	1p13.2-1q23.2	149.09- 179.09	MLS=2.63

						D7S2462	169.81(CM)	7q34-7q36.3	154.81-184.81	MLS=3.62/Z (dom)= 3.04
						DXS7132	52.50(CM)		37.50-67.50	MLS=2.75/Z (dom)=1.89
Schellenberg,2006	Molecular Psychiatry	ASD	USA	222	410	D7S530 (strict)	133.16(CM)	7q22.3-7q34	118.16-148.16	P=0.0006
						D10S591 (broad)	13.3(CM)	10p15.3-10p14	0.0-28.3	P=0.0014
Kilpinen,2009	Human Molecular Genetics, 2009, Vol. 18, No. 15 2912–2921	ASD	Finland	20	1109	D1S2707	156.1(CM)	1q23.2	141.10-171.10	LOD=3.09
						D13S232	8.7(CM)	13q12	0.0-23.7	LOD=3.01
						D14S283	14.7(CM)	14q11	0.0-29.70	LOD=2.96
						D15S156	15.1(CM)	15q12	0.0-30.1	LOD=3.09
						D8S1132	113.1(CM)	8q23	98.10-128.10	LOD=2.68
						D6S1279	30(CM)	6p24	15.0-45.0	LOD=2.66
						D6S422	42.8(CM)	6p22	27.80-57.80	LOD=2.51
						D6S958	143.40(CM)	6q23.1-6q25.3	128.40-158.40	NPL=2.15
						D5S2090	150(CM)	5q32	135.0-165.0	LOD=2.62

						D5S2006	205.7(CM)	5q35	190.70-220.70	LOD=2.56
						D19S591	9.84(CM)	19p13.3	0.0-24.84	NPL=3.57
Liu, 2008	BIOL PSYCHIATRY 2008;64:561–570	ASD	EUROPE/NORTH AMERICA	976	5371 SNPs	rs1394119	11,130,773(bp)/11.13(CM)	11p15.4-p15.3	19-26	LOD=2.18
						rs2421826	35,209,058(bp)/35.21(CM)	11p13	20.21-50.21	LOD=2.55
						rs1544105	127,800,446 (bp)/127.80 (CM)	9q34	112.80-142.80	LOD=2.22
Ma, 2007	Molecular Psychiatry (2007) 12, 376–384	ASD	USA	26	9505 SNPs	rs2877739	20.870(CM)	14q	5.87-35.87	HLOD (dom)=2.82
						RS2369611	156.380(CM)	1q23.2–23.3	156-160	HLOD (dom)=2.402
						RS956133	211.470(CM)	2q35–36.3	211-230	HLOD (dom)=2.153
						RS1917126	230.490(CM)	2q35–36.3	211-230	HLOD (dom)=2.185
						RS2078477	127 (CM)	5q23.2	112-142	HLOD (rec)=2.117
						RS1902946	16(CM)	6p25.3	1.0-31.0	HLOD (rec)=2.618
						RS654559	93.377(CM)	6q15	78.377-108.377	HLOD (rec)=2.488
						RS1986446	100.930(CM)	11q22.1	85.930-115.930	HLOD (dom)=2.652
						RS722918	76.720(CM)	12q14.2–14.3	76-80	HLOD (rec)=2.540
						RS1515561	102.346(CM)	12q22	87.346-	HLOD (rec)=2.102

									117.346	
						rs1445442	64,897,514 (bp)/64.90(CM)	12q13.13-q15	67-84	LOD=3.02
						NR	63-64 (CM)	7p14.1	63-64	LOD>2
Allen-Brady, 2010	Mol Psychiatry 15(10): 1006–1015	ASD	UTAH	70	6090 SNPs	rs8033248	29,459,872 (bp)/29.50 (CM)	15q13.1-q14	27.4- 32.79	HLOD (rec)=4.09
						rs723049	36,837,208 (bp)/36.84(CM)	15q14-q21.1	32.79- 43.26	HLOD (rec)=3.59
						rs11856	55,629,733 (bp)/55.63(CM)	15q21.1-q22.2	50.77- 56.8	HLOD (rec)=5.31
						rs792065	5,434,974 (bp)/5.43(CM)	2p25.3-p24.1	2.96- 10.66	HLOD (rec)=1.87
						rs1990790	129,820,866 (bp)/129.82(CM)	7q31.31-q32.3	114.82- 144.82	HLOD (rec)=1.97
						rs6490970	24,132,738 (bp)/24.133(CM)	13q12.11-q12.3	9.133- 39.133	HLOD (rec)=1.93
Shao, 2002		AUTISM	USA	99	352	DXS6789	62.5 (CM)		47.5-77.5	MLS=2.54
						D3S3680	36.1(CM)	3p25.3-3p23	21.1-51.1	MLS=2.02
Woodbury-Smith, 2018	Journal of Neurodevelopmental Disorders (2018) 10:20	ASD	EUROPEAN	28	22004	NA	26(CM)	1p36.22	0.0-34	PPL=34%
						NA	250(CM)	2q37.2	244-256	PPL=25%
						NA	182(CM)	6q27	178-188	PPL=21%

						NA	148(CM)	8q24.22	144-150	PPL=27%
						NA	20(CM)	12p13.31	10.0-28.0	PPL=29%
						NA	24(CM)	16p13.2	8.0-28.0	PPL=33%
						NA	50(CM)	22q13.1	42-64	PPL=45%
Werling, 2014	Molecular Autism 2014,	ASD	Mixed (AGRE 3)	847	57929 SNPs	rs2128887	64,243,211 (bp)/64.24(CM)	4q13.1	63.94- 88.45	LOD=2.30
						RS4708676	190.611(CM)	6q27	158.26- 189.82	LOD=3.22
						rs13257637	26,816,385 (bp)/26.816(CM)	8p21.2	11.816- 41.816	LOD=2.55
						rs2244817	69,464,590(bp)/69.465(CM)	8q13.2	54.465- 84.465	LOD=2.50
						rs6139007	1.613(CM)	20p13	7.1	LOD=3.02
IMGSAC, 1998	Human Molecular Genetics	ASD	Caucasian	99	175/354	D7S530- D7S684	144.7(CM)	7q22.3-7q34	136.4- 149.6	MLS=2.53
Buxbaum, 2001	Am. J. Hum. Genet	ASD	AGRE	95	382	D2S364	186.2(CM)	2q24.1-2q32.1	171.2- 201.2	HLOD (dominant) = 2.25/NPL= 2.45
Buxbaum, 2004	Molecular Psychiatry	ASD	AGRE	115	335	D4S1647	104.9 (CM)	4q24	89.9- 119.9	NPL=2.87/HLOD=2.52
						D4S3250	126.2(CM)	4q28.1	111.2- 141.2	NPL=2.65/HLOD=1.74
						D5S2494	58.1(CM)	5p13.1	43.1-73.1	NPL=2.18

						D16S2619	28.3(CM)	16p13	13.3-43.3	NPL=2.17
						D19S714	42.3(CM)	19p13.12	27.3-57.3	NPL=2.31(OC SET)
Liu, 2001	Am. J. Hum. Genet	ASD	AGRE(1)	110	335	D5S2494 (broad)	58.9(CM)	5p15.1-5q11.2	43.9-73.9	MLS= 2.55
						D19S714 (narrow)	32.0(CM)	19p13.2-19q12	17-47	MLS= 2.53
						DXS1047 (both)	82.07(CM)			MLS= 2.67
Stone, 2004	Am. J. Hum. Genet	ASD	AGRE	257	408	D17S1294- D17S798	53(CM)	17q11	38-68	MLS=3.2
McCauley, 2005	BMC Medical Genetics	ASD	CLSA/AGRE	158	500	D3S2691	25(CM)	3p25.3	10.0-40.0	HLOD= 1.8, LOD= 2.2
						D17S1294	53(CM)	17q11.2	38-68	HLOD= 2.9, LOD= 2.1
						D19S930	40(CM)	19p13	25-55	HLOD= 2.6, LOD= 1.9
						D19S113	56(CM)	19p13	41-71	HLOD= 2.2, LOD= 1.4
Fradin,2010	PLoS ONE	ASD	AGRE/NIHM	1216	16311		164.99(CM)	1p13.2-1q23.2	149.99- 179.99	HLOD= 2.54
						rs6826933- rs17088473	67.85(CM)	4q12-4q13.2	52.85- 82.85	HLOD=3.79
							175.93(CM)	6q25.3-6q27	160.93- 190.93	HLOD=2.72
						rs11855650- rs10520676	64.61(CM)	15q23-15q25.3	49.61- 79.61	HLOD=3.09

						rs16999397- rs200888	0.40(CM)	20p13-20p12.2	0.0-15.40	HLOD=3.36
Molloy, 2005	Molecular Psychiatry	ASD	AGRE	34	417	D21S1437	13.05(CM)	21p11.2-21q22.11	0.0-28.05	LOD=3.4/NPL=3
						D7S483	165.18(CM)	7q34-7q36.3	150.18- 180.18	LOD=2.0/NPL=3.7
Bartlett, 2005	Am. J. Hum. Genet	ASD	AGRE	303	481	NA	183(CM)	1q23-24	168-198	PPL=55%
						NA	45(CM)	17q11	30-60	PPL=15%
Allen-Brady, 2009	Molecular Psychiatry	ASD	Utah	1 EXTENDED- PEDIGREE	8012 SNPs	NA	45.45(CM)	3q13.2-q13.31	30.45- 60.45	NPL=5.58
						NA	43.42(CM)	3q26.31-q27.3	28.42- 58.42	NPL=4.85
						NA	38.07(CM)	7p14.1-p11.22	23.07- 53.07	NPL=3.18
						NA	8.81(CM)	9p24.3	0.0-23.81	NPL=3.44
						NA	23.13(CM)	20q11.21-q13.12	8.13- 38.13	NPL=5.56
Wassink, 2008	Psychiatric Genetics	Autism	CLSA (USA)	114	401	NA	173(CM)	1q	158-188	PPL=12%
						NA	21(CM)	13p	6.0-36.0	PPL=16%
						NA	63(CM)	16q	48-78	PPL=36%
						NA	40(CM)	Xq	25-55	PPL=11%
Piven, 2013	Journal of Neurodevelopmental	ASD	European	19 extended	11442	NA	12(CM)	1p36.32	0.0-27.0	PPL=30%

	Disorders			pedigrees						
						NA	254(CM)	2q37.2	239-269	PPL=26%
						NA	12(CM)	15q12	0.0-27.0	PPL=22%
						NA	58(CM)	22q13.31	43-73	PPL=41%
Philippi, 2005	Molecular Psychiatry	Autism	AGRE	116	214	NA	133-136(CM)	5q23.2-5q34	118-151	p=6.4 x 10 ⁻⁷
						NA	105-110(CM)	13q33.1-13q34	90-125	p=7.6 x 10 ⁻⁷
						NA	32-35(CM)	17p12-17q21.2	17-50	p=7.3 x 10 ⁻⁸
Weiss, 2009	Nature		AGRE/NIMH	1031	16311	rs4708679	190.431(CM)	6q27	175.431-193.14	LOD=2.94
						rs1377095	93.209(CM)	15q23-25	78.209-108.209	LOD=2.057
						rs10491104	41.93(CM)	17p12-17q21.2	26.93-56.93	LOD=2.048
						rs723477	0.54(CM)	20p13	0.0-15.54	LOD=3.81
Szatmari, 2007	Nature Genetics	ASD	AGRE	1181	6126	rs2421826	35.2(CM)	11p12-p13	20.2-50.2	LOD=2.77
						rs1372828	69,302,220	15q21.2-22.1	56.6-87-5	LOD=3.19
						s1433452	85,395,878	15q21.2-22.1	56.6-87-5	LOD=3.41

Πίνακας 10. Μελέτες ευρείας γονιδιακής σύνδεσης (GWLS) που συμπεριλήφθησαν στην τεχνική της γονιδιωματικής σύγκλισης.

Μέρος των αποτελεσμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής έχει δημοσιευθεί σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά

1. Mpoulimari I, Zintzaras E. Identification of Chromosomal Regions Linked to Autism-Spectrum Disorders: A Meta-Analysis of Genome-Wide Linkage Scans. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2022;26(2):59-69. doi:10.1089/gtmb.2021.0236
2. Mpoulimari I, Zintzaras E. Synthesis of genetic association studies on autism spectrum disorders using a genetic model-free approach. *Psychiatr Genet*. 2022;32(3):91-104. doi:10.1097/YPG.0000000000000316

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 11: Κατάλογος μελετών ανά εξεταζόμενο πολυμορφισμό των μετα-αναλύσεων του ειδικού σκοπού 2(207)

Gene, Variant	Author, year	Journal	Ethnicity	Type of ASD	Diagnostic criteria of ASD	Sample size		Matching criteria	Genotyping method
						cases	controls		
ADA G22A (G>A)	Bottini,2001	Neurogenetics	Europe	AD	DSM-IV	118	126	NA	PCR-RFLP
	Persico,2000	American Journal of Medical Genetics	Caucasian	ASD	DSM-IV	91	152	ethnicity	TaqMan-PCR
ADRA1B rs3020273	deKrom, 2009	BIOL. PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-10	128	124	ethnicity	Illumina assay
	deKrom, 2009	BIOL. PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-10	144	404	ethnicity	Illumina assay
AIM2 rs855867 (A>G)	Mo, 2018	NORDIC JOURNAL OF PSYCHIATRY	Chinese	ASD	DSM-IV	201	200	sex,age	TaqMan
	Liu, 2016	Autism Research	East Asian	ASD	DSM-IV	166	642	ethnicity	Affymetrix Genome-Wide Human SNP array 6.0

APOE E3>E2, E4	Giunco, 2009	Psychiatric Genetics	mixed	ASD	DSM-IV	67	67	ETHNICITY	PCR-RFLP
	Persico, 2004	Psychiatric Genetics	Caucasian	ASD	DSM-IV	235	182	NA	PCR
ASMT rs4446909 (G>A)	Wang, 2013	PLOS ONE	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV	398	437	Ethnicity	Sequencing
	Melke, 2008	Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R	278	255	NA	direct sequencing/TaqMan
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	Finnish	ASD	DSM-IV, ICD10	127	100	NA	direct sequencing
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	Italian(Cauca sian)	ASD	DSM-IV, ICD10	69	90	NA	direct sequencing
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	European	ASD	DSM-IV, ICD10	194	192	NA	direct sequencing
ASMT	Wang, 2013	PLOS ONE	Chinese(Asia	ASD	DSM-IV	398	437	Ethnicity	Sequencing

rs5989681 (G>C)			n)						
	Melke, 2008	Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R	278	255	NA	direct sequencing/TaqMan
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	Finnish	ASD	DSM-IV,ICD10	127	100	NA	direct sequencing
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV,ICD10	69	90	NA	direct sequencing
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	European	ASD	DSM-IV,ICD10	194	192	NA	direct sequencing
ASMT rs6644635 (C>T)	Wang, 2013	PLOS ONE	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV	398	437	Ethnicity	Sequencing
	Melke, 2008	Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R	278	255	NA	direct sequencing/TaqMan
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	Finnish	ASD	DSM-IV,ICD10	127	100	NA	direct sequencing
	Toma, 2007	Molecular	Italian	ASD	DSM-IV,ICD10	69	90	NA	direct sequencing

		Psychiatry	(Caucasian)						
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	European	ASD	DSM-IV,ICD10	194	192	NA	direct sequencing
ASMT P1BC (G>A)	Melke, 2008	Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R	278	255	NA	direct sequencing/TaqMan
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	Finnish	ASD	DSM-IV,ICD10	127	100	NA	direct sequencing
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV,ICD10	69	90	NA	direct sequencing
	Toma, 2007	Molecular Psychiatry	European	ASD	DSM-IV,ICD10	194	192	NA	direct sequencing
BDNF rs6265 (G>A)	Cheng, 2009	Int. J. Mol. Sci	Chinese	AD	DSM-IV, ADI-R	124	120	sex, age, ethnicity	polyacrylamide gel-based microarray
	Maussion, 2019	Behavioural Brain Research	NA	ASD	NA	9	9		Taqman SNP genotyping

CD157/BST 1 rs4301112 (T>C)	Yokoyama, 2015	brain sciences	Japanese	ASD	DSM-IV	147	150	ethnicity	(SSP)-PCR
	Mo, 2018	NORDIC JOURNAL OF PSYCHIATRY	Chinese	ASD	DSM-IV	201	200	sex,age	TaqMan
CD157/BST 1 rs28532698 (T>C)	Yokoyama, 2015	brain sciences	Japanese	ASD	DSM-IV	147	150	ethnicity	(SSP)-PCR
	Mo, 2018	NORDIC JOURNAL OF PSYCHIATRY	Chinese	ASD	DSM-IV	201	200	sex,age	TaqMan
CHRM5 rs4779656	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-14	128	124	ethnicity	Illumina aasay
CHRM5 rs522397	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay

	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-14	128	124	ethnicity	Illumina aasay
C4A (DUP>NUL L)	Warren, 1991	Clin. exp. Immunol	European	ASD	DSM-III	19	62	ETHNICITY	PCR
	Odell, 2005	Human Immunology	Northern European	ASD	DSM-IV, ADOS	85	69	Ethnicity	PCR-RFLP
	Warren, 1996	Journal of Neuroimmunolo gy	European	ASD	DSM-III	50	79	ETHNICITY	PCR
C4B (DUP>NUL L)	Warren, 1991	Clin..exp. Immunol	European	ASD	DSM-III	19	62	ETHNICITY	PCR
	Odell, 2005	Human Immunology	Northern European	ASD	DSM-IV, ADOS	85	69	Ethnicity	PCR-RFLP
	Warren, 1996	Journal of Neuroimmunolo gy	European	ASD	DSM-III	50	79	ETHNICITY	PCR
	Mostafa, 2010	Journal of	Egyptian	ASD	DSM-IV	80	80	ETHNICITY	REAL TIME-PCR

		Neuroimmunology						,AGE,SEX	
	Sweeten, 2008	BMC Medical Genetics	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	80	60	NA	PCR-RFLP
CLN8 g.1719291G >A (G>A)	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Nagoya)	ASD	DSM-IV	312	352	ethnicity	TaqMan
	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Niigata)	ASD	DSM-IV	256	667	ethnicity	TaqMan
CLN8 rs201670636 (T>G)	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Niigata)	ASD	DSM-IV	256	667	ethnicity	TaqMan
	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Nagoya)	ASD	DSM-IV	312	352	ethnicity	TaqMan
CLN8 rs116605307 (G>A)	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Nagoya)	ASD	DSM-IV	312	352	ethnicity	TaqMan
	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Niigata)	ASD	DSM-IV	256	667	ethnicity	TaqMan

CLN8 rs143701028 (C>T)	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Niigata)	ASD	DSM-IV	256	667	ethnicity	TaqMan
	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Nagoya)	ASD	DSM-IV	312	352	ethnicity	TaqMan
CLN8 rs138581191 (A>G)	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Nagoya)	ASD	DSM-IV	312	352	ethnicity	TaqMan
	Inoue, 2015	PLOS ONE	Japanese (Niigata)	ASD	DSM-IV	256	667	ethnicity	TaqMan
CNTNAP2 rs7794745 (A>T)	Nascimento, 2016	Genetics and Molecular Research	Brazil	ASD	DSM-V	212	200	ethnicity	PCR-RFLP
	Zare, 2017	Journal of Clinical Neuroscience	Iran	ASD	DSM-IV	200	260	ethnicity	PCR-RFLP
	Werling, 2016	J Neural Transm	Caucasian	ASD	ADOS, ADI-R, ICD-10	105	133	ethnicity	TaqMan

CNTNAP2 rs2710102 (A>G)	Toma, 2013b	Psychiatric Genetics	Caucasian	ASD	DSM-IV	322	524	sex	PCR-RFLP
	Poot, 2014	Mol Syndromol	Dutch	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	67	117	ethnicity	Illumina Infinium HumanHap303
	Nascimento, 2016	Genetics and Molecular Research	Brazil	ASD	DSM-V	212	200	ethnicity	PCR-RFLP
	Werling, 2016	J Neural Transm	Caucasian	ASD	ADOS, ADI-R, ICD-10	105	133	ethnicity	TaqMan
COMT rs4680 (VAL158MET)	Guo, 2013	Journal of International Medical Research	Chinese	ASD	DSM-IV, ADI-R	186	186	age, sex, ethnicity	PCR-RFLP
	James, 2006	Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.	American	ASD	DSM-IV	360	205	ethnicity	PCR-RFLP
	Karam, 2013	Research in Developmental	Egypt	ASD	DSM-IV	80	100	age, sex	ARMS-PCR

		Disabilities							
	Limprasert, 2014	Psychiatric Genetics	Thai	ASD	DSM-IV	188	250	ethnicity	direct sequencing
	Yirmiya, 2001	American Journal of Medical Genetics	Israel	ASD	DSM-III, DSM-IV, ADI-R	34	34	NA	PCR-RFLP
DDC rs6592961 (G>A)	Yu, 2016	Journal of Child Neurology	Chinese	ASD	DSM-V	211	250	sex, age	TaqMan probe-based real-time PCR
	Toma, 2013a	The World Journal of Biological Psychiatry	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADOS, ADI-R	326	350	sex	SNPlex technology
DRD1 rs251937 (T>C)	Yu, 2016	Journal of Child Neurology	Chinese	ASD	DSM-V	211	250	sex, age	TaqMan probe-based real-time PCR
	Toma, 2013a	The World Journal of Biological	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADOS, ADI-R	326	350	sex	SNPlex technology

		Psychiatry							
DRD3 rs167771 (G>A)	Toma, 2013a	The World Journal of Biological Psychiatry	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADOS, ADI-R	326	350	sex	SNPlex technology
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	ADI-R, ADOS, ICD-10	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS,	144	404	ethnicity	Illumina aasay
DRD3 rs3773678 (A>G)	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	ADI-R, ADOS, ICD-10	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS,	144	404	ethnicity	Illumina aasay
EN2 rs1861972 (A>G)	Yang, 2008	Neuropsychobio logy	Chinese	AD	DSM-IV	184	634	ethnicity	TaqMan SNP genotyping assay
	Yang, 2010	Neuropsychobio	Chinese	AD	DSM-IV	193	309	ethnicity	TaqMan SNP genotyping

		logy							assay
EN2 rs1861973 (C>T)	Yang, 2008	Neuropsychobio logy	Chinese	AD	DSM-IV	184	634	ethnicity	tetra-primer amplification refractory mutation system PCR
	Yang, 2010	Neuropsychobio logy	Chinese	AD	DSM-IV	193	309	ethnicity	TaqMan SNP genotyping assay
ESR1 rs11155819 (T>C)	Wang, 2016	Neuroendocrinol ogy Letters	Chinese	ASD	DSM-IV	125	116	sex, age, ethnicity	TaqMan technology
	Chakrabarti, 2009	Autism Research,	Caucasian	ASD	DSM-IV, ICD-10	174	155	ethnicity	TaqMan
FOXP2 rs10228350	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-24	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	Toma, 2013b	Psychiatric Genetics	Caucasian	ASD	DSM-IV	322	524	sex	SNPlex assay

FOXP2 rs936146	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-24	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	Toma, 2013b	Psychiatric Genetics	Caucasian	ASD	DSM-IV	322	524	sex	SNPlex assay
GABRB3 rs4906902 (A>G)	Noroozi, 2018	Basal Ganglia	Iranian	ASD	DSM-V, ADI-R	518	472	ethnicity,sex, age	PCR-RFLP
	Thongpiboon, 2009		Tahi	ASD	DSM-IV	144	251	ethncity	PCR-RFLP
	Sesarini, 2014	Autism Res	Argentinean	ASD	DSM-IV	136	150	ethnicity,sex	PCR-RFLP
	Chen, 2014	Molecular Autism	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV, ADI-R	356	386	ethnicity	Sanger sequencing
	Sesarini, 2015	Psychiatry Research	Argentinean	ASD	DSM-IV	153	164	ethnicity	DNA capillary sequencing

GABRB3 rs20317 (C>G)	Thongpiboon, 2009		Tahi	ASD	DSM-IV	144	251	ethncity	PCR-RFLP
	Chen, 2014	Molecular Autism	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV, ADI-R	356	386	ethnicity	Sanger sequencing
	Sesarini, 2014	Autism Res	Argentinean	ASD	DSM-IV	136	150	ethnicity,sex	PCR-RFLP
GABRB3 rs8179184 (G>A)	Chen, 2014	Molecular Autism	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV, ADI-R	356	386	ethnicity	Sanger sequencing
	Tochigi, 2007	J Hum Genet	Japanese	AD	DSM-IV	166	412	ethnicity	ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System
GABRB3 rs1426217 (A>G)	Yang, 2017(b)	Scientific Reports	Chinese	ASD	DSM-IV,CARS	99	231	sex,age	TaqMan
	Sesarini, 2015	Psychiatry Research	Argentinean	ASD	DSM-IV	153	164	ethnicity	DNA capillary sequencing
GABRB3 rs3212337	Sesarini, 2014	Autism Res	Argentinean	ASD	DSM-IV	136	150	ethnicity, sex	PCR-RFLP
	Sesarini, 2015	Psychiatry	Argentinean	ASD	DSM-IV	153	164	ethnicity	DNA capillary sequencing

(G>A)		Research							
	Tochigi, 2007	J Hum Genet	Japanese	AD	DSM-IV	166	412	ethnicity	ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System
GABRB3 rs2081648 (C>T)	Yoo, 2009 (b)	Yonsei Med J	Korean	ASD	DSM-IV	58	86	ethnicity	PCR-RFLP
	Yang, 2017 (b)	Scientific Reports	Chinese	ASD	DSM-IV,CARS	99	231	sex,age	TaqMan
GABRD rs140480490 (no INS>INS C)	Sesarini, 2014	Autism Res	Argentinean	ASD	DSM-IV	136	150	ethnicity,sex	PCR-RFLP
	Sesarini, 2015	Psychiatry Research	Argentinean	ASD	DSM-IV	153	164	ethnicity	DNA capillary sequencing
GABRG2 rs211037 (C>T)	Sesarini, 2014	Autism Res	Argentinean	ASD	DSM-IV	136	150	ethnicity,sex	PCR-RFLP
	Sesarini, 2015	Psychiatry Research	Argentinean	ASD	DSM-IV	153	164	ethnicity	DNA capillary sequencing
GLO1 rs2736654	Rehnstrom, 2008	American Journal of Medical	Finnish	ASD	DSM-IV,ICD-10	123	746	ethnicity	Sequenom

(A>C)		Genetics							
	Junaid, 2004	American Journal of Medical Genetics	Mixed	ASD	DSM-IV	71	50	NA	PCR-RFLP
	Wu, 2008	Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Chinese	ASD	DSM-IV	272	310	ethnicity	ABI Prism TM BigDye TM Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction
	Sacco, 2007	BMC Medical Genetics	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV	191	171	NA	PCR-RFLP
GRIN2A rs1014531 (A>G)	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-46	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-30	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	Barnby, 2005	Am. J. Hum.	Caucasian	ASD	ADI-R, ADOS	239	192	NA	Sequenom SNP

		Genet							
GRIN2A rs10492827	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-47	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-31	128	124	ethnicity	Illumina aasay
GRIN2A rs1362319	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-48	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-32	128	124	ethnicity	Illumina aasay
GRIN2A rs1875209	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-48	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-32	128	124	ethnicity	Illumina aasay
GRIN2A rs2267770	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-48	144	404	ethnicity	Illumina aasay

	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-32	128	124	ethnicity	Illumina aasay
GRIN2A rs4782041	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-48	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-32	128	124	ethnicity	Illumina aasay
GRIN2B rs1806201 (G>A)	Pan, 2015	SCIENTIFIC REPORTS	Chinese	ASD	DSM-IV	275	286	NA	Sequencing
	Poot, 2014	Mol Syndromol	Dutch	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	67	117	NA	Illumina Infinium HumanHap300
GRM7 rs779867 (G>A)	Noroozi, 2016	Autism Research	Asian	ASD	DSM-V, ADI-R	518	472	age, sex, ethncity	Tetra-Primer ARMS-PCR
	Yang, 2013	Life Sciences	Israel	ASD	DSM-IV	22	18	NA	Affymetrix SNP microarrays

GRM7 rs6782011 (C>T)	Noroozi, 2016	Autism Research	Asian	ASD	DSM-V, ADI-R	518	472	age, sex, ethnicity	Tetra-Primer ARMS-PCR
	Yang, 2013	Life Sciences	Israel	ASD	DSM-IV	22	18	NA	Affymetrix SNP microarrays
GLUR6 rs2227281 (C>T)	Dutta, 2007a	Cell Mol Neurobiol	India (eastern)	ASD	DSM-IV, CARS/ADI-R	76	95	ethnicity	PCR-RFLP
	Dutta, 2007a	Cell Mol Neurobiol	India (northeaster)	ASD	DSM-IV, CARS/ADI-R	16	57	ethnicity	PCR-RFLP
GLUR6 rs2227283 (G>A)	Dutta, 2007a	Cell Mol Neurobiol	India (eastern)	ASD	DSM-IV, CARS/ADI-R	76	95	ethnicity	PCR-RFLP
	Dutta, 2007a	Cell Mol Neurobiol	India (northeaster)	ASD	DSM-IV, CARS/ADI-R	16	57	ethnicity	PCR-RFLP
GLUR6 rs2235076 (G>A)	Dutta, 2007a	Cell Mol Neurobiol	India (eastern)	ASD	DSM-IV, CARS/ADI-R	76	95	ethnicity	PCR-RFLP
	Dutta, 2007a	Cell Mol Neurobiol	India (northeaster)	ASD	DSM-IV, CARS/ADI-R	16	57	ethnicity	PCR-RFLP

HOPA (Dodecamer Duplication)	Michaelis, 2000	Journal of Autism and Developmental Disorders	Caucasian	ASD	ADI-R, CARS	131	296	sex, race	Direct sequencing
	Michaelis, 2000	Journal of Autism and Developmental Disorders	Black	ASD	ADI-R, CARS	64	208	sex, race	Direct sequencing
	Beyer,2002	American Journal of Medical Genetics	Caucasian	ASD	ADI-R, ADOS	155	157	NA	PCR
HOXA1 A218G (A>G)	Ingram, 2000	Teratology	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, CARS	57	119	ethnicity	PCR-RFLP
	Talebizadeh, 2002	J Med Genet	Mixed	ASD	DSM-IV,CARS	35	35	ethnicity,sex	PCR-RFLP
	Collins, 2003	Journal of Autism and	Caucasian	ASD	DSM-IV	128	132	ethnicity	PCR-RFLP

		Developmental Disorders,							
	Collins, 2003	Journal of Autism and Developmental Disorders,	Black	ASD	DSM-IV	64	127	ethnicity	PCR-RFLP
	Romano, 2003	Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	DSM-IV	85	132	ethnicity	PCR-RFLP
	Conciatori,2004	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV	127	174	ethnicity	PCR-RFLP
	Sen, 2007	Psychiatric Genetics	India (northeaster)	ASD	DSM-IV	16	60	ethnicity	PCR-RFLP
	Sen, 2007	Psychiatric Genetics	India (eastern)	ASD	DSM-IV	62	89	ethnicity	PCR-RFLP
HOXB1 (noINS>INS)	Sen, 2007	Psychiatric Genetics	India (northeaster)	ASD	DSM-IV	16	60	ethnicity	PCR-RFLP
	Sen, 2007	Psychiatric Genetics	India (eastern)	ASD	DSM-IV	62	89	ethnicity	PCR-RFLP

	Talebizadeh, 2002	J Med Genet	Mixed	ASD	DSM-IV,CARS	35	35	ethnicity,sex	PCR-RFLP
	Ingram, 2000	Teratology	Caucasian	ASD	DSM-IV,ADI-R, ADOS,CARS	57	119	ethnicity	PCR-RFLP
	Romano, 2003	Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	DSM-IV	80	80	ethnicity	PCR-RFLP
	Muscarella, 2010	Molecular Autism	Caucasian	ASD	DSM-IV	169	184	ethnicity	PCR-RFLP
HTR2A rs6311 (A>G)	Guhathakurta, 2009	Neurochemistry International	Indian	ASD	DSM-IV	120	101	ethnicity	PCR-RFLP
	Hranilovic, 2010	Psychiatry Research	Europe	AD	DSM-IV	103	214	ethnicity	PCR
	Nyffeler, 2014	Journal of Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	ADI-R,ADOS,ICD-10	76	99	NA	TaqMan® SNP Genotyping Assays
HTR2A	Guhathakurta,	Neurochemistry	Indian	ASD	DSM-IV	120	101	ethnicity	PCR-RFLP

rs6313 (T>C)	2009	International							
	Herault, 1996	Psychiatry Research	Caucasian	AD	DSM-III	65	105	ethnicity	PCR-RFLP
HTR2A rs6314 (C>T)	Guhathakurta, 2009	Neurochemistry International	Indian	ASD	DSM-IV	120	101	ethnicity	PCR-RFLP
	Hranilovic, 2010	Psychiatry Research	Europe	AD	DSM-IV	103	214	ethnicity	PCR
JARID2 rs2237126 (T>C)	Liu, 2016	Autism Research	Japanese	ASD	DSM-IV	205	184	ethnicity	TaqMan
	Mo, 2018	NORDIC JOURNAL OF PSYCHIATRY	Chinese	ASD	DSM-IV	201	200	sex,age	TaqMan
LEPR rs10493380	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-22	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R,	144	404	ethnicity	Illumina aasay

		PSYCHIATRY			ADOS, ICD-58				
MACROD2 rs4141463 (C>T)	Curran, 2011	AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS	UK	ASD	DSM-IV, ADOS, ADI-R	324	820	ethnicity	TaqMan
	Curran, 2011	AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS	Germany	ASD	DSM-IV, ADOS, ADI-R	236	1145	ethnicity	TaqMan
	Curran, 2011	AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS	Netherlands	ASD	DSM-IV, ADOS, ADI-R	184	628	ethnicity	TaqMan
	Curran, 2011	AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS	Italy	ASD	DSM-IV, ADOS, ADI-R	98	89	ethnicity	TaqMan
	Torrico, 2017	Autism Research	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADOS, ADI-R, ICD-10	2203	2732	sex, ethnicity	TaqMan

MAOA Uvntr (3R>4R)	Tassone, 2011	Autism Research	USA (MIXED)	ASD	ADOS,ADI-R	189	167	age,sex	PCR
	Salem, 2013	The ScientificWorld Journal	Egyptian	ASD	DSM-IV	53	30	age	PCR
	Yoo, 2009 (a)	Neuroscience Research	Korean(Asian)	ASD	ADI-R,ADOS	151	193	ethnicity, sex	TaqMan
	Yirmiya, 2002	American Journal of Medical Genetics	Israel	ASD	DSM-III, DSM-IV, ADI-R	43	108	NA	NA
	Verma,2014	Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Asian	ASD	DSM-IV	194	227	ethnicity	PCR/RFLP
MAOA	Yoo, 2009 (a)	Neuroscience	Korean	ASD	ADI-R,ADOS	151	193	ethnicity, sex	TaqMan

rs5906883 (A>C)		Research	(Asian)						
	Verma,2014	Progress in Neuro- Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Asian	ASD	DSM-IV	194	227	ethnicity	PCR/RFLP
MAOA rs1137070 (A>G)	Yoo, 2009 (a)	Neuroscience Research	Korean (Asian)	ASD	ADI-R,ADOS	151	193	ethnicity, sex	TaqMan
	Verma,2014	Progress in Neuro- Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Asian	ASD	DSM-IV	194	227	ethnicity	PCR/RFLP
MAOB rs1799836 (A>G)	Salem, 2013	The ScientificWorld Journal	Egyptian	ASD	DSM-IV	53	30	age	PCR-based RFLP

	Perfilyeva, 2019	Disease Markers	Mixed	ASD	CARS	262	126	ethnicity	PCR-RFLP
	Perkovic, 2014	Psychiatry Research	Caucasian	ASD	DSM-IV	80	128	ethnicity	TaqMan-PCR
MET rs38845 (G>A)	Zhou, 2011	PLoS ONE	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV,CARS	401	594	ethnicity	ABI PRISM
	Sousa, 2009	European Journal of Human Genetics	European	ASD	ADI-R, ADOS	333	185	ethnicity	PCR-RFLP
	Sousa, 2009	European Journal of Human Genetics	Italian (Caucasian)	ASD	ADI-R, ADOS	82	88	ethnicity	PCR-RFLP
MET rs1858830 (G>C)	Zhou, 2011	PLoS ONE	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV,CARS	393	570	ethnicity	ABI PRISM
	Jackson, 2009	Autism Research	South Carolina (mixed)	AD	ADI-R,CARS	174	369	ethnicity	PCR-RFLP

	Jackson, 2009	Autism Research	Italian (Caucasian)	ASD	ADI-R, ADOS	65	126	ethnicity	PCR-RFLP
	Campbell, 2006	PNAS	Caucasian	ASD	DSM-IV	702	189	ethnicity	TaqMan
	Campbell, 2008	Autism Res.	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R	596	300	ethnicity	TaqMan
	Campbell, 2007	American Neurological Association	Caucasian	ASD	DSM-IV	8	8	age,sex	Direct sequencing
MTHFR rs1801133 (677C>T)	Boris, 2004	Journal of American Physicians and Surgeons	Caucasian	ASD	DSM-IV	168	5389	NA	PCR-RFLP
	James, 2006	Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.	American	ASD	DSM-IV	360	205	ethnicity	PCR-RFLP
	Mohammad,	Psychiatric	India	AD	DSM-IV	138	138	sex,age,ethni	PCR-RFLP

	2009	Genetics						city	
	Pasca,2009	Foundation for Cellular and Molecular Medicine	Europe	ASD	DSM-IV	39	80	sex,age	QIAamp
	Santos,2010	Psychiatr Genet	Brazil	ASD	DSM-IV,CARS	151	100	NA	SSCP-PCR
	Liu, 2011	J Autism Dev Disord	Canada (Caucasian)	ASD	ADOS, ADI-R	512	384	ethnicity	TaqMan
	Schimdt, 2011	Epidemiology.	Mixed	ASD	ADOS, ADI-R	294	180	ethnicity, sex, age	TaqMan
	Guo, 2012	GENETIC TESTING AND MOLECULAR BIOMARKERS	Chinese	ASD	DSM-IV,ADI-R	186	186	ethnicity	PCR-RFLP
	Divyakolu, 2013	Neurological Disorders	India	ASD	DSM-IV, CARS	50	50	age	PCR-RFLP.
	Park, 2014	Psychiatry Research	korea (Asian)	ASD	DSM-IV,CARS	251	425	ethnicity	PCR-RFLP.

	Shawky, 2014	The Egyptian Journal of Medical Human Genetics	Egyptian	ASD	DSM-IV	20	20	ethnicity,age,sex	ASO-PCR
	Sener, 2014	Genetics Research International	Turkish	ASD	DSM-IV , DSM-V	98	70	ethnicity,sex, age	PCR-RFLP
	Meguid, 2015b	Journal of Psychiatry	Egypt (African Arab)	ASD	DSM-IV, CARS, ADI-R	24	30	ethnicity,sex, age	PCR-RFLP
	El-baz, 2017	Electronic Physician	Egyptian	ASD	DSM-V,CARS	31	39	age,sex	PCR-RFLP.
	Zhang, 2018 (b)	Med Sci Monit,	China (East Asian)	ASD	DSM-V	201	199	age,sex	TaqMan
	Arab, 2019	Neuropsychiatric Disease and Treatment	Saudi	ASD	DSM -V	112	104	ethnicity,sex,age	TaqMan
	Delshadpour, 2017	Caspian J Neurol Sci	Iran	ASD	DSM-IV	171	198	ethnicity	PCR-RFLP

	Ismail, 2019	Am J Med Genet.	Egypt (African)	ASD	DSM-V	78	80	age,sex	PCR-RFLP
	Agam, 2014	PLOSONE	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	13	33	NA	TaqMan
MTHFR rs1801131 (1298A>C)	Boris, 2004	Journal of American Physicians and Surgeons	Caucasian	ASD	DSM-IV	168	159	NA	PCR-RFLP
	Mohammad,2009	Psychiatric Genetics	India	AD	DSM-IV	138	138	sex,age,ethnicity	PCR-RFLP
	Liu, 2011	J Autism Dev Disord	Canada (Caucasian)	ASD	ADOS, ADI-R	512	384	ethnicity	TaqMan
	Schimdt, 2011	Epidemiology.	Mixed	ASD	ADOS, ADI-R	296	177	ethnicity, sex, age	TaqMan
	Park, 2014	Psychiatry Research	korea (Asian)	ASD	DSM-IV,CARS	251	425	ethnicity	PCR-RFLP.
	El-baz, 2017	Electronic Physician	Egyptian	ASD	DSM-V,CARS	31	39	age,sex	PCR-RFLP.

	Meguid, 2015b	Journal of Psychiatry	Egypt (African Arab)	ASD	DSM-IV, CARS, ADI-R	24	30	ethnicity, sex, age	PCR-RFLP
	Arab, 2019	Neuropsychiatric Disease and Treatment	Saudi	ASD	DSM -V	112	104	ethnicity,sex, age	TaqMan
	James, 2006	Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.	American	ASD	DSM-IV	360	205	ethnicity	PCR-RFLP
MTRRs1801394 (66A>G)	Mohammad,2009	Psychiatric Genetics	India	AD	DSM-IV	138	138	sex,age,ethnicity	PCR-RFLP
	James, 2006	Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.	American	ASD	DSM-IV	360	205	ethnicity	PCR-RFLP
	Zhang, 2018(b)	Med Sci Monit,	China (East Asian)	ASD	DSM-V	201	199	age,sex	TaqMan

MTR rs1805087 (A2756G)	Zhang, 2018(b)	Med Sci Monit,	China (East Asian)	ASD	DSM-V	201	199	age,sex	TaqMan
	Mohammad,20 09	Psychiatric Genetics	India	AD	DSM-IV	138	138	sex,age,ethni city	PCR-RFLP
	Haghiri, 2016	Acta Neurobiol Exp	Asian	ASD	DSM-V	108	130	ethnicity	PCR-RFLP
NF1 AAAT repeat	Mbarek, 1999	American Journal of Medical Genetics	French	ASD	DSM IV	85	90	ethnicity	PCR-RFLP
	Marui, 2004	American Journal of Medical Genetics	Japanese	ASD	DSM-IV	74	122	ETHNICITY	PCR
	Plank, 2001	American Journal of Medical	USA	ASD	ADI-R,CARS	204	200	ETHNICITY	PCR

		Genetics							
NLGN4 rs3810688 (G>A)	Liu, 2013	PLoS ONE	Chinese	ASD	DSM-IV	285	384	ethnicity	NA
	Landini, 2016	Int. J. Mol. Sci.	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	202	379	Ethnicity	HRM
NLGN4 rs3810686 (G>A)	Liu, 2013	PLoS ONE	Chinese	ASD	DSM-IV	285	384	ethnicity	NA
	Landini, 2016	Int. J. Mol. Sci.	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	202	379	Ethnicity	HRM
NLGN4 rs5916269 (C>T)	Liu, 2013	PLoS ONE	Chinese	ASD	DSM-IV	285	384	ethnicity	NA
	Landini, 2016	Int. J. Mol. Sci.	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	202	379	Ethnicity	HRM
NLGN4 rs1882260 (C>T)	Liu, 2013	PLoS ONE	Chinese	ASD	DSM-IV	285	384	ethnicity	NA
	Landini, 2016	Int. J. Mol. Sci.	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	202	379	Ethnicity	HRM

NLGN3 rs11795613 (A>G)	Landini, 2016	Int. J. Mol. Sci.	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	202	379	Ethnicity	HRM
	Yu, 2011	Behavioral and Brain Functions	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV, ICD-10	229	191	ethnicity	MALDI-TOF
NLGN3 rs4844285 (G>A)	Landini, 2016	Int. J. Mol. Sci.	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	202	379	Ethnicity	HRM
	Yu, 2011	Behavioral and Brain Functions	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV, ICD-10	229	191	ethnicity	MALDI-TOF
NLGN3 rs4844286 (G>T)	Landini, 2016	Int. J. Mol. Sci.	Italian (Caucasian)	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	202	379	Ethnicity	HRM
	Yu, 2011	Behavioral and Brain Functions	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV, ICD-10	229	191	ethnicity	MALDI-TOF
NRXN1 rs2303298 (C>T)	Kim, 2008	The American Journal of Human Genetics	Mixed	ASD	NA	57	229	NA	direct sequencing
	Liu, 2012	Journal of	Chinese	ASD	DSM-IV	313	500	ethnicity	direct sequencing

		Psychiatric Research							
OXTR rs53576 (G>A)	Parker, 2014	PNAS	Mixed	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	79	62	ethnicity	TaqMan-PCR
	Liu, 2010	Journal of Human Genetics	Japanese	ASD	DSM-IV	280	440	ethnicity	TaqMan
	Nyffeler, 2014	Journal of Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	ADI-R, ADOS, ICD-10	76	99	NA	TaqMan® SNP Genotyping Assays
	Di Napoli, 2015	Molecular Autism	Caucasian	ASD	DSM-IV	118	412	ethnicity	TaqMan
OXTR rs2254298 (G>A)	Liu, 2010	Journal of Human Genetics	Japanese	ASD	DSM-IV	280	440	ethnicity	TaqMan
	Parker, 2014	PNAS	Mixed	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	79	62	ethnicity	TaqMan-PCR
	Di Napoli,	Molecular	Caucasian	ASD	DSM-IV	118	412	ethnicity	TaqMan

	2015	Autism							
	Yang,2017(a)	Frontiers in Neuroscience	Chinese (Asian)	ASD	DSM-IV	100	232	age,sex	PCR-RFLP
	Nyffeler, 2014	Journal of Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	ADI-R,ADOS,ICD-10	76	99	NA	TaqMan® SNP Genotyping Assays
OXTR rs2301261 (G>A)	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-45	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	Di Napoli, 2015	Molecular Autism	Caucasian	ASD	DSM-IV	118	412	ethnicity	TaqMan
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-38	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	Nyffeler, 2014	Journal of Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	ADI-R,ADOS,ICD-10	76	99	NA	TaqMan® SNP Genotyping Assays
	Liu, 2010	Journal of Human Genetics	Japanese	ASD	DSM-IV	280	440	ethnicity	TaqMan

OXTR rs35062132 (C>G)	Ma, 2013	Molecular Autism	Japanese	ASD	DSM-IV	132	248	ethnicity	Real-time PCR
	Egawa, 2015	Psychiatry and Clinical Neurosciences	Japanese	ASD	DSM-IV	213	667	ethnicity	TaqMan
OXTR rs35062132 (C>T)	Ma, 2013	Molecular Autism	Japanese	ASD	DSM-IV	132	248	ethnicity	Real-time PCR
	Egawa, 2015	Psychiatry and Clinical Neurosciences	Japanese	ASD	DSM-IV	213	667	ethnicity	TaqMan
OXTR rs2268490 (C>T)	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-44	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-37	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	Di Napoli, 2015	Molecular Autism	Caucasian	ASD	DSM-IV	118	412	ethnicity	TaqMan

OXTR rs2268493 (T>C)	Di Napoli, 2015	Molecular Autism	Caucasian	ASD	DSM-IV	118	412	ethnicity	TaqMan
	Bozdogan, 2017	Clinical Psychopharmacology and Neuroscience	Turkish	ASD	DSM-V	85	52	age,gender	RT-PCR
OXTR rs1042778 (G>T)	Liu, 2010	Journal of Human Genetics	Japanese	ASD	DSM-IV	280	440	ethnicity	TaqMan
	Bozdogan, 2017	Clinical Psychopharmacology and Neuroscience	Turkish	ASD	DSM-V	85	52	age,gender	RT-PCR
OXTR rs237885	Liu, 2010	Journal of Human Genetics	Japanese	ASD	DSM-IV	280	440	ethnicity	TaqMan

(T>G)	Di Napoli, 2015	Molecular Autism	Caucasian	ASD	DSM-IV	118	412	ethnicity	TaqMan
OXTR rs151257822 (C>T)	Egawa, 2015	Psychiatry and Clinical Neurosciences	Japanese	ASD	DSM-IV	213	667	ethnicity	TaqMan
	Ma, 2013	Molecular Autism	Japanese	ASD	DSM-IV	59	30	ethnicity	Real-time PCR
OXTR rs2228485 (T>C)	Kelemenova, 2010	Psychiatric Genetics	Europe	ASD	DSM-IV	90	85	ethnicity	PCR-RFLP
	Ocakoğlu, 2018	Asian Journal of Psychiatry	Turkish	ASD	DSM-V	100	100	ethnicity	PCR
OXTR rs4686302	Ocakoğlu, 2018	Asian Journal of Psychiatry	Turkish	ASD	DSM-V	100	100	ethnicity	PCR

(C>T)	Ma, 2013	Molecular Autism	Japanese	ASD	DSM-IV	59	30	ethnicity	Real-time PCR
PFTK1 rs10487995	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-22	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
PFTK1 rs802403	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-22	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
PFTK1 rs809131	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-22	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
PFTK1	deKrom, 2009	BIOL	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R,	128	124	ethnicity	Illumina aasay

rs1464000		PSYCHIATRY			ADOS, ICD-22				
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
PFTK1 rs3802029	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-22	128	124	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
PON1 Q192R	Pasca, 2010	J. Cell. Mol. Med.	Europe	ASD	DSM-IV	50	85	age, sex	Light Cyclor real-time PCR.
	D'Amelio, 2005	Molecular Psychiatry	Italian(Cauca sian)	ASD	DSM-IV	177	180	ethnicity	PCR-RFLP
	D'Amelio, 2005	Molecular Psychiatry	American	ASD	DSM-IV	107	376	ethnicity	PCR-RFLP
PON1 L55M	Pasca, 2010	J. Cell. Mol. Med.	Europe	ASD	DSM-IV	50	85	age, sex	Light Cyclor real-time PCR.

	D'Amelio, 2005	Molecular Psychiatry	Italian(Caucasian)	ASD	DSM-IV	177	180	ethnicity	PCR-RFLP
	D'Amelio, 2005	Molecular Psychiatry	American	ASD	DSM-IV	107	376	ethnicity	PCR-RFLP
PON1 C-108T	D'Amelio, 2005	Molecular Psychiatry	Italian(Caucasian)	ASD	DSM-IV	177	180	ethnicity	PCR-RFLP
	D'Amelio, 2005	Molecular Psychiatry	American	ASD	DSM-IV	107	376	ethnicity	PCR-RFLP
RELNs2229864 (C>T)	Dutta, 2007b	American Journal of Medical Genetics	Indian	ASD	DSM-IV	55	80	ethnicity	PCR-RFLP
	He, 2011	Psychiatry Research	Chinese(Asian)	ASD	DSM-IV	221	278	ethnicity,sex	TaqMan-PCR
	Wang, 2018	Behavioural Brain Research	Chinese	ASD	DSM-IV	157	256	sex, age, ethnicity	TaqMan technology

	Li,2008	American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)	Chinese	ASD	DSM-IV	213	160	NA	SNPstream technology
RELNs736707 (C>T)	Dutta, 2008	Neuroscience Letters	India	ASD	DSM-IV	77	101	ethnicity	PCR-RFLP
	He, 2011	Psychiatry Research	Chinese(Asian)	ASD	DSM-IV	221	282	ethnicity,sex	TaqMan-PCR
	Wang, 2018	Behavioural Brain Research	Chinese	ASD	DSM-IV	157	256	sex, age, ethnicity	TaqMan technology
	Sharma, 2013	GENETIC TESTING AND MOLECULAR BIOMARKERS	South African	AD	DSM-IV	129	208	ethnicity	TaqMan Real-Time polymerase chain reaction
	Li,2008	American Journal of Medical Genetics Part B	Chinese	ASD	DSM-IV	213	160	NA	SNPstream technology

		(Neuropsychiatric Genetics)							
	Fanid, 2015	Int J Pediatr	Iranian-Azeri	ASD	DSM-IV	74	86	ethnicity	PCR-RFLP
RELNs362691 (C>G)	Dutta, 2008	Neuroscience Letters	India	ASD	DSM-IV	77	101	ethnicity	PCR-RFLP
	He, 2011	Psychiatry Research	Chinese(Asian)	ASD	DSM-IV	219	277	ethnicity,sex	TaqMan-PCR
	Sharma, 2013	GENETIC TESTING AND MOLECULAR BIOMARKERS	South African	AD	DSM-IV	136	193	ethnicity	TaqMan Real-Time polymerase chain reaction
	Li,2008	American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)	Chinese	ASD	DSM-IV	213	160	NA	SNPstream technology
	Fanid, 2016	Int J Pediatr	Iranian-Azeri	ASD	DSM-IV	74	88	ethnicity	PCR-RFLP

RELN rs607755 (C>T)	Dutta, 2007b	American Journal of Medical Genetics	Indian	ASD	DSM-IV	55	80	ethnicity	PCR-RFLP
	Li,2008	American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)	Chinese	ASD	DSM-IV	213	160	NA	SNPstream technology
RELN rs2072403 (A>G)	Dutta, 2008	Neuroscience Letters	India	ASD	DSM-IV	77	101	ethnicity	PCR-RFLP
	Li,2008	American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)	Chinese	ASD	DSM-IV	213	160	NA	SNPstream technology

RELN rs12531131 (C>A)	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-12	128	124	ethnicity	Illumina aasay
RELN rs1404431 (T>C)	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-58	144	404	ethnicity	Illumina aasay
	deKrom, 2009	BIOL PSYCHIATRY	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS, ICD-13	128	124	ethnicity	Illumina aasay
RELN rs2073559 (C>T)	He, 2011	Psychiatry Research	Chinese(Asia n)	AD	DSM-IV	232	283	Ethnicity	TaqMan-PCR
	Fu, 2013	Genetics and Molecular Biology,	Chinese(Asia n)	ASD	DSM-IV	205	210	ethnicity,sex, age	CRS-PCR
RELN CGG repeat	Persico, 2001	Molecular Psychiatry	Italian	ASD	DSM-IV	95	186	ethnicity	PCR-RFLP

	Dutta, 2007b	American Journal of Medical Genetics	Indian	ASD	DSM-IV	55	80	ethnicity	PCR-RFLP
	Zhang, 2002	Molecular Psychiatry	USA	ASD	ADI-R,ADOS	126	347	NA	PCR
RIT2 rs16976358 (T>C)	Emamalizadeh , 2017	Mol Neurobiol	Asian	AD	NA	470	470	sex,age, ethnicity	PCR-RFLP
	Liu, 2016	Autism Research	Japanese	ASD	DSM-IV	205	184	ethnicity	TaqMan
	Liu, 2016	Autism Research	East Asian	ASD	DSM-IV	166	642	ethnicity	Affymetrix Genome-Wide Human SNP array 6.0
	Hamedani, 2017	Metab Brain Dis	Asian	ASD	DSM-V,ADI -R	532	472	sex,age	ARMS-PCR
SHANK3 rs9616915 (T>C)	Waga, 2011	Psychiatric Genetics	Japanese	ASD	DSM-IV	128	228	Ethnicity	Sequencing
	Shao,2014	Mol Biol Rep	Chinese	ASD	DSM-IV	212	636	gender	PCR-RFLP

	Qiu,2018	Gene 651	Chinese	ASD	DSM-V	229	241	sex,age	iMLDR
SLC25A12 rs2056202 (G>A)	Chien,2010	Progress in Neuro- Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Chinese	AD	DSM-IV,ADI-R	465	450	NA	ABI Prism
	Blasi, 2006	European Journal of Human Genetics	Caucasian	ASD	ADI- R/VABS/ADOS/	261	174	ethnicity	LDR
	Lepagnol- Bestel, 2008	Molecular Psychiatry	NA	ASD	NA	9	8	NA	RT-PCR
SLC25A12 rs2292813 (G>A)	Chien,2010	Progress in Neuro- Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Chinese	AD	DSM-IV,ADI-R	465	450	NA	ABI Prism

	Blasi, 2006	European Journal of Human Genetics	Caucasian	ASD	ADI-R/VABS/ADOS/	261	174	ethnicity	LDR
	Lepagnol-Bestel, 2008	Molecular Psychiatry	NA	ASD	NA	9	8	NA	RT-PCR
SLC19A1 rs1023159 (G>A)	Liu, 2017	J Mol Neurosci	Chinese	ASD	DSM-V	201	200	sex, age	TaqMan probe-based real-time PCR
	Mahmuda, 2016	Int. J. Mol. Sci.	Asian	ASD	DSM-IV	147	150	ethnicity	SSP-PCR
SLC6A4 5-HTTLPR (S>L)	Meguid, 2015a	Advanced Biomedical Research	Egyptian	ASD	DSM-IV	20	20	NA	PCR
	Jaiswal, 2015	Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Indian	ASD	DSM-IV,CARS	169	168	ethnicity	PCR-RFLP

	Nyffeler, 2014	Journal of Molecular Psychiatry	Caucasian	ASD	ADI-R, ADOS, ICD-10	76	99	NA	PCR-RFLP
	Tassone, 2011	Autism Research	USA (MIXED)	ASD	ADOS, ADI-R	189	167	age, sex	PCR
	Arief, 2010	Human Biology	South African	ASD	NA	109	342	ethnicity	PCR
	Longo, 2009	B R A I N R E S E A R C H	European	ASD	DSM-IV, CARS	151	179	ethnicity	PCR-RFLP
	Zhong, 1999	Neurogenetics	Caucasian	AD	DSM-IV	72	92	ethnicity	PCR-RFLP
	Núñez-Ríos, 2020	PLOS ONE	Colombian	ASD	DSM-V, ADOS, ADI-R	105	171	ethnicity	PCR
	Wongpaiboonwattana, 2020	Medicine	Thai	ASD	DSM-IV	188	250	ethnicity	PCR
	Guhathakurta, 2006	B R A I N R E S E A R C H	India (eastern)	AD	DSM-IV	63	87	ethnicity	ABI PRISM
	Guhathakurta, 2006	B R A I N R E S E A R C H	India (northeastern)	AD	DSM-IV	16	56	ethnicity	ABI PRISM

			)						
	Yirmiya, 2001	American Journal of Medical Genetics	Israel	ASD	DSM-III, DSM-IV, ADI-R	33	33	NA	PCR-RFLP
SLC6A4 STin2 (VNTR) (12R>10R)	Guhathakurta, 2008	B R A I N R E S E A R C H	India (eastern)	AD	DSM-IV	67	104	ethnicity	PCR-RFLP
	Guhathakurta, 2008	B R A I N R E S E A R C H	India (northeastern)	AD	DSM-IV	16	56	ethnicity	PCR-RFLP
	Jaiswal, 2015	Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Indian	ASD	DSM-IV,CARS	169	168	ethnicity	PCR-RFLP
SLC6A4 HTT-3'UTR	Guhathakurta, 2008	B R A I N R E S E A R C H	India (eastern)	AD	DSM-IV	67	104	ethnicity	PCR-RFLP

(G>T)	Jaiswal, 2015	Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry	Indian	ASD	DSM-IV,CARS	169	168	ethnicity	PCR-RFLP
	Guhathakurta, 2008	B R A I N R E S E A R C H	India (northeastern)	AD	DSM-IV	16	56	ethnicity	PCR-RFLP
SNAP25 rs3746544 (T>G)	Safari, 2017	J Mol Neurosci	Iran	ASD	DSM-V, ADI-R	524	472	sex, age,ethnicity	ARMS-PCR
	Guerini, 2011	Pharmacological Research	Caucasian	ASD	DSM-IV	67	205	age,sex, ethnicity	taqMan
SNAP25 rs1051312 (T>C)	Safari, 2017	J Mol Neurosci	Iran	ASD	DSM-V, ADI-R	524	472	sex, age,ethnicity	ARMS-PCR
	Guerini, 2011	Pharmacological Research	Caucasian	ASD	DSM-IV	67	205	age,sex, ethnicity	taqMan

TCN2 rs1801198 C776G	James, 2006	Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.	American	ASD	DSM-IV	360	205	ethnicity	PCR-RFLP
	Zhang, 2018(b)	Med Sci Monit,	China (East Asian)	ASD	DSM-V	201	199	age,sex	TaqMan
TPH2 rs7305115 (G>A)	Coon, 2005	American Journal of Medical Genetics	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	88	95	ethnicity	Sequencing
	Singh, 2013	Progress in Neuro- Psychopharmacology & Biological Psychiatry 45	Indian	ASD	DSM-IV	165	165	Ethnicity	PCR-RFLP
TPH2 rs11179000	Coon, 2005	American Journal of Medical	Caucasian	ASD	DSM-IV, ADI-R, ADOS	88	95	ethnicity	Sequencing

(A>T)		Genetics							
	Singh, 2013	Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 45	Indian	ASD	DSM-IV	165	165	Ethnicity	PCR-RFLP
VDR rs2228570 (C>T)	Coskun,2016	Gene	Asian	ASD	DSM-V	237	243	age,sex	TaqMan probe-based real-time PCR
	Mobasheri, 2020	Gene	Asian	ASD	DSM-V	81	108	age,sex	PCR-RFLP
	Zhang,2018 (a)	Disease Markers	Chinese	ASD	DSM-V	201	200	age,gender	TaqMan probe-based real-time PCR
	Bozdogan, 2017	Clinical Psychopharmacology and Neuroscience	Turkish	ASD	DSM-V	85	52	age,gender	RT-PCR
	Cieslinska,	Brain Sci.	Poland	ASD	ICD-10	108	196	NA	PCR-RFLP

	2017								
	Schmidt, 2015	Early Hum Dev.	Mixed	ASD	ADI-R,ADOS	383	224	age,sex	TaqMan probe-based real-time PCR
	Guerini, 2020	Autism Research	Italian	ASD	DSM-V	100	170	ethnicity	RT-PCR
VDR rs731276 (T>C)	Zhang,2018(a)	Disease Markers	Chinese	ASD	DSM-V	201	200	age,gender	TaqMan probe-based real-time PCR
	Mobasheri, 2020	Gene	Asian	ASD	DSM-V	81	108	age,sex	PCR-RFLP
	Coskun,2016	Gene	Asian	ASD	DSM-V	237	243	age,sex	TaqMan probe-based real-time PCR
	Bozdogan, 2017	Clinical Psychopharmacology and Neuroscience	Turkish	ASD	DSM-V	85	52	age,sex	RT-PCR
	Cieslinska, 2017	Brain Sci. 2	Poland	ASD	ICD-10	108	196	NA	PCR-RFLP

	Schmidt, 2015	Early Hum Dev.	Mixed	ASD	ADI-R,ADOS	383	224	age,sex	TaqMan probe-based real-time PCR
	Guerini, 2020	Autism Research	Italian	ASD	DSM-V	100	170	ethnicity	RT-PCR
VDR rs1544410 (G>A)	Bozdogan, 2017	Clinical Psychopharmacology and Neuroscience	Turkish	ASD	DSM-V	85	52	age,gender	RT-PCR
	Zhang,2018(a)	Disease Markers	Chinese	ASD	DSM-V	201	200	age,gender	TaqMan probe-based real-time PCR
	Coskun,2016	Gene	Asian	ASD	DSM-V	237	243	age,sex	TaqMan probe-based real-time PCR
	Cieslinska, 2017	Brain Sci. 2	Poland	ASD	ICD-10	108	196	NA	PCR-RFLP
	Schmidt, 2015	Early Hum Dev.	Mixed	ASD	ADI-R,ADOS	383	224	age,sex	TaqMan probe-based real-time PCR
	Guerini, 2020	Autism Research	Italian	ASD	DSM-V	100	170	ethnicity	RT-PCR

VDR rs7975232 (T>G)	Coskun,2016	Gene	Asian	ASD	DSM-V	237	243	age,sex	TaqMan probe-based real-time PCR
	Bozdogan, 2017	Clinical Psychopharmacology and Neuroscience	Turkish	ASD	DSM-V	85	52	age,sex	RT-PCR
	Cieslinska, 2017	Brain Sci. 2	Poland	ASD	ICD-10	108	196	NA	PCR-RFLP
	Guerini, 2020	Autism Research	Italian	ASD	DSM-V	100	170	ethnicity	RT-PCR
VDR rs11568820 (G>A)	Balta,2018	Molecular Biology Reports	Asian	AD	DSM-IV	30	30	age,gender	Snpsig Real-time PCR
	Zhang,2018(a)	Disease Markers	Chinese	ASD	DSM-V	201	200	age,gender	TaqMan probe-based real-time PCR
	Coskun,2016	Gene	Asian	ASD	DSM-V	237	243	age,sex	TaqMan probe-based real-time PCR
	Schmidt, 2015	Early Hum Dev.	Mixed	ASD	ADI-R,ADOS	383	224	age,sex	TaqMan probe-based real

									time PCR
--	--	--	--	--	--	--	--	--	----------

Πίνακας 12 . Μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης των διαθέσιμων μελετών γενετικής συσχέτισης υγιών έναντι ασθενών με βάση την κατανομή γενοτύπων. (207)

GENE	VARIANT	rs number	studies (n)	Cases/controls(n)	REORG (95% CI)	I2 (%)	PQ	PE
APOE	E3>E2,E4		2	302/249	1.863(0.851-4.076)	76.08	0.041	NA
BDNF	G>A	rs6265	2	133/129	0.921(0.605-1.404)	0.00	0.718	NA
CD157/BST1	A>G	rs4301112	2	348/350	2.643(0.343-20.342)	85.24	0.009	NA
CLN8	G>A	g.1719291G>A	2	568/1019	1.868(0.323-10.805)	0.00	0.648	NA
CLN8	T>G	rs201670636	2	568/1019	1.619(0.333-7.885)	0.00	0.956	NA
CLN8	G>A	rs116605307	2	568/1019	2.572(0.429-15.416)	0.00	0.649	NA
CLN8	C>T	rs143701028	2	568/1019	1.718(0.287-10.299)	0.00	0.369	NA
CLN8	A>G	rs138581191	2	568/1019	1.859(0.321-10.747)	0.00	0.653	NA
CNTNAP2	A>T	rs7794745	3	517/593	1.161(0.789-1.711)	69.43	0.038	0.501
CNTNAP2	T>C	rs2710102	2	317/333	0.837(0.574-1.220)	29.77	0.233	NA
COMT	G>A	rs4680	5	848/775	1.182(0.990-1.412)	4.33	0.382	0.240
DDC	G>A	rs6592961	2	537/600	1.441(0.982-2.115)	60.25	0.113	NA
EN2	A>G	rs1861972	2	377/943	1.342(0.957-1.882)	0.00	0.784	NA
ESR1	T>C	rs11155819	2	299/271	1.105(0.647-1.886)	63.82	0.09	NA
GABRB3	A>G	rs4906902	5	1307/1423	1.049(0.904-1.219)	10.93	0.344	0.801
GABRB3	C>G	rs20317	3	636/787	0.891(0.739-1.074)	0.00	0.907	0.605
GABRB3	C>T	rs2081648	2	157/317	0.909(0.644-1.282)	0.00	0.845	NA

GLO1	A>C	rs2736654	4	657/1277	0.879(0.644-1.201)	58.69	0.064	0.315
GLUR6	C>T	rs2227281	2	92/152	1.046(0.657-1.666)	0.00	0.978	NA
GLUR6	G>A	rs2227283	2	92/152	1.274(0.801-2.026)	0.00	0.379	NA
GLUR6	G>A	rs2235076	2	92/152	1.558(0.146-16.572)	46.65	0.171	NA
HOXA1	A>G	A218G	5	411/587	0.858(0.5162-1.424)	69.25	0.011	0.944
HOXA1 (ALL IN HWE)	A>G	A218G	4	347/460	0.848(0.420-1.709)	76.89	0.004	0.914
HOXB1	Nins>ins	rs72338773	3	261/338	1.342(0.974-1.848)	0.00	0.798	0.264
HTR2A (serotonin receptor 2A)	A>G	rs6311	3	299/414	1.263(0.793-2.014)	65.86	0.053	0.137
HTR2A (serotonin receptor 2A)	T>C	rs6313	2	185/206	1.054(0.741-1.499)	0.00	0.928	NA
HTR2A (serotonin receptor 2A)	C>T	rs6314	2	223/315	0.666(0.402- 1.102)	0.01	0.788	NA
MACROD2	C>T	rs4141463	5	3045/5414	0.988(0.846-1.155)	58.83	0.046	0.697
MTR	A>G	rs1805087	3	447/467	1.053(0.698 - 1.589)	57.83	0.09	0.555
MTRR	A>G	rs1801394	3	699/542	1.113(0.682 - 1.816)	79.34	0.007	0.040
OXTR	G>A	rs53576	2	155/161	1.310(0.883-1.943)	0.00	0.727	NA
OXTR	G>A	rs2254298	3	255/393	1.001(0.726-1.379)	0.00	0.523	0.216
OXTR	C>G	rs35062132	2	345/915	1.946(0.272 - 13.933)	75.47	0.043	NA
OXTR	C>T	rs35062132	2	345/915	0.982(0.223-4.315)	0.00	0.796	NA
OXTR	C>T	rs151257822	2	272/697	0.510(0.120 - 2.166)	0.00	0.689	NA
OXTR	C>T	rs4686302	2	159/130	1.094(0.262 - 4.567)	85.93	0.007	NA
OXTR	T>C	rs2228485	2	190/185	0.929(0.626-1.379)	0.00	0.628	NA
PON1	Q>R	Q192R	3	334/641	1.336(0.998-1.789)	20.73	0.283	0.523
PON1	L>M	L55M	3	334/641	0.871(0.684-1.110)	0.00	0.565	0.300
PON1	C>T	C108T	2	284/556	1.005(0.707-1.429)	47.037	0.169	NA
RELN	C>T	rs 2229864	4	646/774	0.825 (0.524 - 1.299)	76.36	0.005	0.673
RELN (ALL IN HWE)	C>T	rs 2229864	3	489/518	1.044(0.819-1.331)	0.00	0.996	0.222
RELN	C>T	rs736707	6	871/1093	1.026(0.768 - 1.372)	69.15	0.006	0.069

RELN	C>G	rs362691	5	719/819	1.125(0.857 - 1.477)	16.93	0.308	0.144
RELN (ALLIN HWE)	C>G	rs362691	4	500/542	1.310(0.976-1.757)	0.00	0.881	0.343
RELN	C>T	rs607755	2	268/240	0.792(0.582 - 1.079)	0	0.88	NA
RELN	A>G	rs2072403	2	290/261	0.914(0.603 - 1.386)	0	0.501	NA
RELN	G>A	rs2073559	2	437/493	1.248(0.871 - 1.789)	61.30	0.108	NA
RELN	CGG repeats (10 repeats>others)		3	276/613	1.002(0.737-1.363)	30.40	0.238	0.987
SHANK3	T>C	rs9616915	3	569/1105	0.901(0.574-1.413)	64.71	0.059	0.310
SLC19A1	G>A	rs1023159	2	348/350	0.885(0.552-1.419)	65.36	0.089	NA
SLC25A12	G>A	rs2056202	3	735/632	0.995(0.643-1.539)	46.31	0.155	0.643
SLC25A12	G>A	rs2292813	3	735/632	0.908(0.540-1.527)	49.63	0.137	0.880
SLC6A4	S>L	5-HTTLPR	12	1191/1664	1.065(0.826-1.374)	67.78	0.0003	0.856
SLC6A4	12>10	STin2 (VNTR)	3	252/328	1.150(0.845-1.566)	0.00	0.909	0.205
SNAP25	T>C	rs1051312	2	591/677	0.897(0.722-1.115)	0.00	0.346	NA
TCN2	C>G	rs1801198	2	561/404	1.005(0.607-1.665)	80.51	0.024	NA
TPH2	A>T	rs11179000	2	253/260	1.146(0.821-1.598)	0.00	0.396	NA
VDR	G>A	rs11568820	4	851/697	1.043(0.816 - 1.334)	35.05	0.202	0.969
VDR-ALL IN HWE	G>A	rs11568820	3	614/454	0.915(0.733-1.114)	0.00	0.966	0.269
VDR	G>A	rs1544410	6	1114/1085	1.01(0.936 - 1.296)	0.00	0.98	0.763
VDR (ALL IN HWE)	G>A	rs1544410	4	906/719	1.091(0.902-1.320)	0.00	0.982	0.851
VDR	T>G	rs7975232	4	530/661	0.860(0.578 - 1.279)	68.57	0.023	0.879
VDR (ALL IN HWE)	T>G	rs7975232	2	337/413	1.062(0.715-1.576)	56.99	0.127	NA

RS: SNP identifier, RE ORG: random effects odds ratio generalized, I2: I2 statistic, NA: not applicable, PQ: P-value from heterogeneity testing, PE: P-value from Egger's test.

Πίνακας 13. Μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης των διαθέσιμων μελετών γενετικής συσχέτισης υγιών έναντι ασθενών με βάση την κατανομή των αλληλομόρφων. (207)

GENE	VARIANT	rs number	studies (n)	Cases/controls (n)	REOR (95% CI)	I2 (%)	PQ	PE
AIM2	A>G	rs855867	2	367/842	1.381(0.750-2.543)	90.163	0.001	NA
ASMT	C>T	rs6644635	5	1066/1074	0.937(0.818-1.074)	6.856	0.368	0.245
ASMT	G>A	P1BC	4	668/637	1.084(0.841-1.396)	0.00	0.664	0.642
C4A	DUPLICATION>NULL		3	154/210	1.333(0.804-2.210)	41.844	0.179	0.436
CHRM5	A>G	rs4779656	2	272/528	0.847(0.385-1.864)	84.567	0.011	NA
CHRM5	A>C	rs522397	2	272/528	1.004(0.400-2.523)	92.735	<0.001	NA
CNTNAP2	T>C	rs2710102	2	389/641	0.919(0.765-1.104)	0.00	0.910	NA
FOXP2	A>G	rs10228350	3	594/1052	0.841(0.639-1.106)	64.718	0.059	0.608
FOXP2	G>A	rs936146	3	594/1052	1.064(0.691-1.639)	80.074	0.007	0.788
GABRB3	G>A	rs8179184	2	522/798	0.925(0.783-1.092)	0.00	0.475	NA
GABRB3	A>G	rs1426217	2	252/395	1.080(0.833-1.402)	0.00	0.540	NA
GABRB3	G>A	rs3212337	3	455/726	1.059(0.885-1.267)	0.00	0.721	0.801
GABRD	noINS>INS	rs140480490	2	289/314	1.035(0.800-1.340)	0.00	0.388	NA
GABRG2	C>T	rs211037	2	289/314	1.189(0.915-1.545)	0.00	0.762	NA
GRIN2A	A>G	rs1014531	3	511/720	1.133(0.802-1.600)	74.692	0.019	0.442
GRIN2A	A>G	rs10492827	2	272/528	0.749(0.334-1.678)	85.675	0.008	NA
GRIN2A	A>C	rs1362319	2	272/528	0.837(0.507-1.383)	79.354	0.028	NA
GRIN2A	C>A	rs1875209	2	272/528	1.311(0.671-2.563)	85.927	0.008	NA
GRIN2A	C>A	rs2267770	2	272/528	1.082(0.678-1.729)	76.801	0.038	NA
GRIN2A	C>G	rs4782041	2	272/528	1.228(0.655-2.300)	84.659	0.011	NA
GRIN2B	G>A	rs1806201	2	342/403	0.958(0.776-1.183)	0.00	0.916	NA
GRM7	G>A	rs779867	2	540/490	1.427(0.296-6.893)	87.077	0.005	NA

GRM7	C>T	rs6782011	2	540/490	1.256(0.728-2.169)	46.947	0.170	NA
HOPA	no DUP>DUP		3	350/661	1.158(0.560-2.393)	0.00	0.831	0.916
HOXA1	A>G	A218G	3	163/281	0.864(0.539-1.386)	0.00	0.432	0.087
HOXB1	noINS>INS	rs72338773	3	158/229	0.998(0.469-2.123)	68.412	0.042	0.554
JARID2	T>C	rs2237126	2	406/384	0.995(0.779-1.270)	0.00	0.349	NA
LEPR	A>C	rs10493380	2	272/528	1.437(0.981-2.105)	48.679	0.163	NA
MAOA	3R>4R	Uvntr	5	630/725	1.427(0.689-2.953)	89.591	<0.001	0.530
MAOA	A>C	rs5906883	2	345/420	0.940(0.541-1.632)	76.47	0.039	NA
MAOA	A>G	rs1137070	2	345/420	1.236(0.951-1.608)	0.00	0.452	NA
MAOB	A>G	rs1799836	3	395/284	2.144(0.602-7.638)	92.558	<0.001	0.227
NF1	AAAT repeat (9>others)		3	363/412	0.907(0.532-1.546)	83.889	0.002	0.557
NLGN3	G>T	rs4844286	2	431/570	1.301(0.909-1.862)	51.343	0.152	NA
NLGN3	G>A	rs4844285	2	431/570	0.769(0.388-1.522)	86.971	0.006	NA
NLGN3	A>G	rs11795613	2	431/570	0.817(0.410-1.630)	87.316	0.005	NA
NLGN4	G>A	rs3810686	2	487/763	1.026(0.823-1.280)	0.00	0.780	NA
NLGN4	G>A	rs5916269	2	487/763	1.089(0.786-1.509)	0.00	0.582	NA
NLGN4	G>A	rs1882260	2	487/763	0.860(0.566-1.308)	60.935	0.110	NA
OXTR	G>A	rs2254298	2	398/852	0.986(0.432-2.252)	88.861	0.003	NA
OXTR	G>A	rs2301261	5	746/1479	1.319(0.865-2.012)	64.765	0.023	0.976
OXTR	C>T	rs2268490	3	390/940	1.226(0.655-2.296)	83.38	0.002	0.455
OXTR	G>T	rs1042778	2	365/492	1.081(0.808-1.446)	0.00	0.574	NA
OXTR	T>G	rs237885	2	398/852	0.869(0.705-1.070)	19.704	0.264	NA
PFTK1	A>G	rs10487995	2	272/528	2.067(0.881-4.850)	57.834	0.124	NA
PFTK1	G>C	rs802403	2	272/528	1.386(0.961-1.998)	59.83	0.115	NA
TPH2	G>A	rs7305115	2	253/260	0.875(0.676-1.135)	0.00	0.803	NA

RS: SNP identifier, RE ORG: random effects odds ratio generalized, I2: I2 statistic, NA:nonapplicable,PQ: P-value from heterogeneity testing, PE: P-value from Egger's test.

Πίνακας 14: Επεξήγηση των ακρονυμίων των στατιστικά σημαντικών γονιδίων του ειδικού σκοπού 2 (207)

Gene symbol	Chromosome Band	Official full name	Gene function
ADA	20q13.12	adenosine deaminase	The encoded protein catalyzes the hydrolysis of adenosine to inosine.
ADRA1B	5q33.3	Adrenoceptor Alpha 1B	ADRA1B (Adrenoceptor Alpha 1B) is a Protein Coding gene. Among its related pathways are Signaling by GPCR and Activation of cAMP-Dependent PKA. Gene Ontology (GO) annotations related to this gene include <i>G protein-coupled receptor activity and alpha1-adrenergic receptor activity</i> .
ASMT	Xp22.33	acetylserotonin O-methyltransferase	melatonin biosynthesis
C4B	6p21.33	complement component 4B	The encoded protein is part of the classical pathway of the complement system.
CD157/BST1	4p15.32	bone marrow stromal cell antigen 1	Bone marrow stromal cell antigen-1 is a stromal cell line-derived glycosylphosphatidylinositol-anchored molecule that facilitates pre-B-cell growth
DRD1	5q35.2	Dopamine receptor D1	This gene encodes the D1 subtype of the dopamine receptor, the most abundant dopamine receptor in the central nervous system. This G-protein coupled receptor stimulates adenylyl cyclase and activates cyclic AMP-dependent protein kinases. D1 receptors regulate neuronal growth and development, mediate some behavioral responses, and modulate dopamine receptor D2-mediated events

DRD3	3q13.31	dopamine receptor D3	This gene encodes the D3 subtype of dopamine receptor
EN2	7q36.3	engrailed homolog 2	The encoded protein is a transcription factor.
MET	7q31.2	met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor)	The encoded protein is the hepatocyte growth factor receptor with tyrosine-kinase activity. The primary single chain precursor protein is post-translationally cleaved to produce the alpha and beta subunits, which are disulfide linked to form the mature receptor.
MTHFR	1p36.22	methylenetetrahydrofolate reductase	catalyzes the conversion of 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate, a co-substrate for homocysteine remethylation to methionine
NLGN4	Xp22.32-p22.31	neuroligin 4, X-linked	Neuroligins are cell-adhesion molecules at the postsynaptic side of the synapse .
NRXN1	2p16.3	neurexin 1	Neurexins function in the vertebrate nervous system as cell adhesion molecules and receptors.
OXTR	3p25.3	oxytocin receptor	The protein encoded by this gene belongs to the G-protein coupled receptor family and acts as a receptor for oxytocin. Its activity is mediated by G proteins which activate a phosphatidylinositol-calcium second messenger system.
PFTK1/ CDK14	7q21.13	Serine/Threonine-Protein Kinase PFTAIRE-1	Serine/threonine-protein kinase PFTAIRE-1 is an enzyme that in humans is encoded by the <i>PFTK1</i> gene. PFTK1 is a Cdc2-related protein kinase, also named as PFTAIRE1. The gene is highly expressed in the brain, pancreas, kidney, heart, testis, and ovary and minimally

			expressed in the spleen and thymus.
RELN	7q22.1	Reelin	This gene encodes a large secreted extracellular matrix protein thought to control cell-cell interactions critical for cell positioning and neuronal migration during brain development.
RIT2	18q12.3	Ras-like without CAAX 2	This gene belongs to the RAS superfamily of small GTPases and demonstrates neuron-specific tissue expression
SLC6A4	17q11.2	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, serotonin), member 4	The encoded protein has serotonin transporter activity, serotonin: sodium symport err activity.
SNAP25	20p12.2	Synaptosomal-associated protein, 25kDa	This gene encodes a t-SNARE involved in the molecular regulation of neurotransmitter release that associates with proteins involved in vesicle docking and membrane fusion and may play an important role in the synaptic function of specific neuronal systems.
VDR	12q13.11	vitamin D receptor	Nuclear receptor for calcitriol, the active form of vitamin D3 which mediates the action of this vitamin on cells. Enters the nucleus upon vitamin D3 binding where it forms heterodimers with the retinoid X receptor/RXR. The VDR-RXR heterodimers bind to specific response elements on DNA and activate the transcription of vitamin D3-responsive target genes. Recruited to promoters via its interaction with BAZ1B/WSTF which mediates the interaction with acetylated histones, an essential step for VDR-promoter association. Plays a central role in calcium homeostasis.

**Βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που συμπεριελήφθησαν στην μετα-
ανάλυση των μελετών ευρείας γονιδιωματικής σύνδεσης του ειδικού σκοπού 1**

Allen-Brady, K., Robison, R., Cannon, D., Varvil, T., Villalobos, M., Pingree, C., Leppert, M. F., Miller, J., McMahon, W. M., & Coon, H. (2010). Genome-wide linkage in Utah autism pedigrees. *Molecular Psychiatry*, 15, 1006–1015. <https://doi.org/10.1038/mp.2009.42>

Auranen, M., Vanhala, R., Varilo, T., Ayers, K., Kempas, E., Ylisaukko-oja, T., Sinsheimer, J. S., Peltonen, L., & Järvelä, I. (2002). A genomewide screen for autism-spectrum disorders: evidence for a major susceptibility locus on chromosome 3q25-27. *American Journal of Human Genetics*, 71(4), 777–790. <https://doi.org/10.1086/342720>

Cantor, R. M., Kono, N., Duvall, J. A., Alvarez-Retuerto, A., Stone, J. L., Alarcón, M., Nelson, S. F., & Geschwind, D. H. (2005). Replication of autism linkage: Fine-mapping peak at 17q21. *American Journal of Human Genetics*, 76(6), 1050–1056. <https://doi.org/10.1086/430278>

Collaborative Linkage Study of Autism. (2001). An autosomal genomic screen for autism. *Am J Med Genet*, 105(8):609-15. PMID: 11811142.

IMGSAC (2001). A genomewide screen for autism: Strong evidence for linkage to chromosomes 2q, 7q, and 16p: International molecular genetic study of autism consortium. *American Journal of Human Genetics*, 69(3), 570–581. <https://doi.org/10.1086/323264>

Kilpinen, H., Ylisaukko-Oja, T., Rehnström, K., Gaál, E., Turunen, J. A., Kempas, E., Von Wendt, L., Varilo, T., & Peltonen, L. (2009). Linkage and linkage disequilibrium scan for autism loci in an extended pedigree from Finland. *Human Molecular Genetics*, 18(15), 2912–2921. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp229>

Liu, X. Q., Paterson, A. D., & Szatmari, P. (2008). Genome-wide Linkage Analyses of Quantitative and Categorical Autism Subphenotypes. *Biological Psychiatry*, 64(7), 561–570. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.05.023>

Ma, D. Q., Cuccaro, M. L., Jaworski, J. M., Haynes, C. S., Stephan, D. A., Parod, J., Abramson, R. K., Wright, H. H., Gilbert, J. R., Haines, J. L., & Pericak-

Vance, M. A. (2007). Dissecting the locus heterogeneity of autism: Significant linkage to chromosome 12q14. *Molecular Psychiatry*, 12(4), 376–384. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001927>

Philippe, A., Martinez M., Guilloud-Bataille M., Gillberg C., Råstam M., Sponheim E., Coleman M., Zappella M., Aschauer H., Van Maldergem (1999). Genome-wide scan for autism susceptibility genes. Paris Autism Research International Sibpair Study. *Human Molecular Genetics*, 8(5), 805–812. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.5.805>

Risch, N., Spiker, D., Lotspeich, L., Nouri, N., Hinds, D., Hallmayer, J., Kalaydjieva, L., McCague, P., Dimiceli, S., Pitts, T., Nguyen, L., Yang, J., Harper, C., Thorpe, D., Vermeer, S., Young, H., Hebert, J., Lin, A., Ferguson, J., ... Myers, R. M. (1999). A genomic screen of autism: Evidence for a multilocus etiology. *American Journal of Human Genetics*, 65(2), 493–507. <https://doi.org/10.1086/302497>

Schellenberg, G. D., Dawson, G., Sung, Y. J., Estes, A., Munson, J., Rosenthal, E., Rothstein, J., Flodman, P., Smith, M., Coon, H., Leong, L., Yu, C. E., Stodgell, C., Rodier, P. M., Spence, M. A., Minshew, N., McMahon, W. M., & Wijsman, E. M. (2006). Evidence for multiple loci from a genome scan of autism kindreds. *Molecular Psychiatry*, 11(11), 1049–1060. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001874>

Werling, D. M., Lowe, J. K., Luo, R., Cantor, R. M., & Geschwind, D. H. (2014). Replication of linkage at chromosome 20p13 and identification of suggestive sex-differential risk loci for autism spectrum disorder. *Molecular Autism*, 5(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-5-13>

Woodbury-Smith, M., Paterson, A. D., O'Connor, I., Zarrei, M., Yuen, R. K. C., Howe, J. L., Thompson, A., Parlier, M., Fernandez, B., Piven, J., Scherer, S. W., Vieland, V., & Szatmari, P. (2018). A genome-wide linkage study of autism spectrum disorder and the broad autism phenotype in extended pedigrees. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s11689-018-9238-9>

Ylisaukko-Oja, T., Nieminen-Von Wendt, T., Kempas, E., Sarenius, S., Varilo, T., Von Wendt, L., Peltonen, L., & Järvelä, I. (2004). Genome-wide scan for

loci of Asperger syndrome. *Molecular Psychiatry*, 9(2), 161–168.
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001385>

Yonan, A. L., Alarcón, M., Cheng, R., Magnusson, P. K. E., Spence, S. J., Palmer, A. A., Grunn, A., Juo, S. H. H., Terwilliger, J. D., Liu, J., Cantor, R. M., Geschwind, D. H., & Gilliam, T. C. (2003). A Genomewide Screen of 345 Families for Autism-Susceptibility Loci. *American Journal of Human Genetics*, 73(4), 886–897. <https://doi.org/10.1086/378778>

**Βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που συμπεριελήφθησαν στην μετα-
ανάλυση των μελετών γονιδιωματικής συσχέτισης του ειδικού σκοπού 2**

Agam, Y., Vangel, M., Roffman, J. L., Gallagher, P. J., Chaponis, J., Haddad, S., Goff, D. C., Greenberg, J. L., Wilhelm, S., Smoller, J. W., & Manoach, D. S. (2014). Dissociable genetic contributions to error processing: A multimodal neuroimaging study. *PLoS ONE*, 9(7), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101784>

Arab, A. H., & Elhawary, N. A. (2019). Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants confer potential vulnerability to autism spectrum disorder in a Saudi community. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 15, 3569–3581. <https://doi.org/10.2147/NDT.S230348>

Arieff, Z., Kaur, M., Gameeldien, H., van der Merwe, L., & Bajic, V. B. (2010). 5-HTTLPR polymorphism: analysis in South African autistic individuals. *Human biology*, 82(3), 291–300. <https://doi.org/10.3378/027.082.0303>

Balta, B., Gumus, H., Bayramov, R., Korkmaz Bayramov, K., Erdogan, M., Oztop, D. B., Dogan, M. E., Taheri, S., & Dundar, M. (2018). Increased vitamin D receptor gene expression and rs11568820 and rs4516035 promoter polymorphisms in autistic disorder. *Molecular Biology Reports*, 45(4), 541–546. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4191-y>

Barnby, G., Abbott, A., Sykes, N., Morris, A., Weeks, D. E., Mott, R., Lamb, J., Bailey, A. J., & Monaco, A. P. (2005). Candidate-gene screening and association analysis at the autism-susceptibility locus on chromosome 16p: Evidence of association at GRIN2A and ABAT. *American Journal of Human Genetics*, 76(6), 950–966. <https://doi.org/10.1086/430454>

Beyer, K. S., Klauck, S. M., Benner, A., Poustka, F., & Poustka, A. (2002). Association studies of the HOPA dodecamer duplication variant in different subtypes of autism. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 114(1), 110–115. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1613>

Blasi, F., Bacchelli, E., Carone, S., Toma, C., Monaco, A. P., Bailey, A. J., & Maestrini, E. (2006). SLC25A12 and CMYA3 gene variants are not associated with

autism in the IMGSAC multiplex family sample. *European Journal of Human Genetics*, 14(1), 123–126. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201444>

Boris, M., Goldblatt, A., Galanko, J., Ph, D., & James, S. J. (2004). Association of MTHFR Gene Variants with Autism. *Journal of American Physicians and Surgeons*, 9(4), 2–4. <http://www.jpands.org/vol9no4/boris.pdf>

Bottini, N., De Luca, D., Saccucci, P., Fiumara, A., Elia, M., Porfirio, M. C., Lucarelli, P., & Curatolo, P. (2001). Autism: Evidence of association with adenosine deaminase genetic polymorphism. *Neurogenetics*, 3(2), 111–113. <https://doi.org/10.1007/s100480000104>

Bozdogan, S. T., Kutuk, M. O., Tufan, E., Altıntaş, Z., Temel, G. O., & Toros, F. (2018). No association between polymorphisms of Vitamin D and oxytocin receptor genes and autistic spectrum disorder in a sample of Turkish Children. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 16(4), 415–421. <https://doi.org/10.9758/cpn.2018.16.1.415>

Campbell, D. B., Sutcliffe, J. S., Ebert, P. J., Militeri, R., Bravaccio, C., Trillo, S., Elia, M., Schneider, C., Melmed, R., Sacco, R., Persico, A. M., & Levitt, P. (2006). A genetic variant that disrupts MET transcription is associated with autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(45), 16834–16839. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605296103>

Campbell, D. B., D’Oronzio, R., Garbett, K., Ebert, P. J., Mirnics, K., Levitt, P., & Persico, A. M. (2007). Disruption of cerebral cortex MET signaling in autism spectrum disorder. *Annals of Neurology*, 62(3), 243–250. <https://doi.org/10.1002/ana.21180>

Campbell, D. B., Li, C., Sutcliffe, J. S., Persico, A. M., & Levitt, P. (2008). Genetic evidence implicating multiple genes in the MET receptor tyrosine kinase pathway in autism spectrum disorder. *Autism research: official journal of the International Society for Autism Research*, 1(3), 159–168. <https://doi.org/10.1002/aur.27>

Chakrabarti, B., Dudbridge, F., Kent, L., Wheelwright, S., Hill-Cawthorne, G., Allison, C., Banerjee-Basu, S., & Baron-Cohen, S. (2009). Genes related to sex

steroids, neural growth, and social-emotional behavior are associated with autistic traits, empathy, and asperger syndrome. *Autism Research*, 2(3), 157–177. <https://doi.org/10.1002/aur.80>

Chen, C. H., Huang, C. C., Cheng, M. C., Chiu, Y. N., Tsai, W. C., Wu, Y. Y., Liu, S. K., & Gau, S. S. F. (2014). Genetic analysis of GABRB3 as a candidate gene of autism spectrum disorders. *Molecular Autism*, 5(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-5-36>

Cheng, L., Ge, Q., Xiao, P., Sun, B., Ke, X., Bai, Y., & Lu, Z. (2009). Association study between BDNF gene polymorphisms and autism by three-dimensional gel-based microarray. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6), 2487–2500. <https://doi.org/10.3390/ijms10062487>

Chien, W. H., Wu, Y. Y., Gau, S. S. F., Huang, Y. S., Soong, W. T., Chiu, Y. N., & Chen, C. H. (2010). Association study of the SLC25A12 gene and autism in Han Chinese in Taiwan. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(1), 189–192. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.11.004>

Cieślińska, A., Kostyra, E., Chwała, B., Moszyńska-Dumara, M., Fiedorowicz, E., Teodorowicz, M., & Savelkoul, H. F. J. (2017). Vitamin D receptor gene polymorphisms associated with childhood autism. *Brain Sciences*, 7(9). <https://doi.org/10.3390/brainsci7090115>

Collins, J. S., Schroer, R. J., Bird, J., & Michaelis, R. C. (2003). The HOXA1 A218G polymorphism and autism: Lack of association in white and black patients from the South Carolina Autism Project. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 33(3), 343–348. <https://doi.org/10.1023/A:1024414803151>

Conciatori, M., Stodgell, C. J., Hyman, S. L., O'Bara, M., Militeri, R., Bravaccio, C., Trillo, S., Montecchi, F., Schneider, C., Melmed, R., Elia, M., Crawford, L., Spence, S. J., Muscarella, L., Guarnieri, V., D'Agruma, L., Quattrone, A., Zelante, L., Rabinowitz, D., ... Persico, A. M. (2004). Association between the HOXA1 A218G polymorphism and increased head circumference in patients with autism. *Biological Psychiatry*, 55(4), 413–419. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2003.10.005>

Coon, H., Dunn, D., Lainhart, J., Miller, J., Hamil, C., Battaglia, A., Tancredi, R., Leppert, M. F., Weiss, R., & McMahon, W. (2005). Possible association between autism and variants in the brain-expressed tryptophan hydroxylase gene (TPH2). *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 135 B(1), 42–46.

Coşkun, S., Şimşek, Ş., Camkurt, M. A., Çim, A., & Çelik, S. B. (2016). Association of polymorphisms in the vitamin D receptor gene and serum 25-hydroxyvitamin D levels in children with autism spectrum disorder. *Gene*, 588(2), 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.05.004>

Curran, S., Bolton, P., Rozsnyai, K., Chiocchetti, A., Klauck, S. M., Duketis, E., Poustka, F., Schlitt, S., Freitag, C. M., Lee, I., Muglia, P., Poot, M., Staal, W., de Jonge, M. V., Ophoff, R. A., Lewis, C., Skuse, D., Mandy, W., Vassos, E., ... Collier, D. (2011). No association between a common single nucleotide polymorphism, rs4141463, in the MACROD2 gene and autism spectrum disorder. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 156(6), 633–639. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31201>

D'Amelio, M., Ricci, I., Sacco, R., Liu, X., D'Agruma, L., Muscarella, L. A., Guarnieri, V., Militeri, R., Bravaccio, C., Elia, M., Schneider, C., Melmed, R., Trillo, S., Pascucci, T., Puglisi-Allegra, S., Reichelt, K. L., Macciardi, F., Holden, J. J. A., & Persico, A. M. (2005). Paraoxonase gene variants are associated with autism in North America, but not in Italy: Possible regional specificity in gene-environment interactions. *Molecular Psychiatry*, 10(11), 1006–1016. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001714>

de Krom, M., Staal, W. G., Ophoff, R. A., Hendriks, J., Buitelaar, J., Franke, B., de Jonge, M. V., Bolton, P., Collier, D., Curran, S., van Engeland, H., & van Ree, J. M. (2009). A Common Variant in DRD3 Receptor Is Associated with Autism Spectrum Disorder. *Biological Psychiatry*, 65(7), 625–630. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.09.035>

Delshadpour, M., Mashayekhi, F., Bidabadi, E., & Salehi, Z. (2017). MTHFR rs1801133 Gene Polymorphism and Autism Susceptibility. *Caspian Journal of Neurological Sciences*, 3(8), 39–45. <https://doi.org/10.18869/acadpub.cjns.3.8.39>

Di Napoli, A., Warrier, V., Baron-Cohen, S., & Chakrabarti, B. (2015).

Genetic variant rs17225178 in the ARNT2 gene is associated with Asperger Syndrome. *Molecular Autism*, 6(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13229-015-0009-0>

Divyakolu, S. (2013). Evaluation of C677T Polymorphism of the Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene in various Neurological Disorders. *Journal of Neurological Disorders*, 02(01), 2–5. <https://doi.org/10.4172/2329-6895.1000142>

Dutta, S., Das, S., Guhathakurta, S., Sen, B., Sinha, S., Chatterjee, A., Ghosh, S., Ahmed, S., Ghosh, S., & Usha, R. (2007a). Glutamate receptor 6 gene (GluR6 or GRIK2) polymorphisms in the Indian population: A genetic association study on autism spectrum disorder. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 27(8), 1035–1047. <https://doi.org/10.1007/s10571-007-9193-6>

Dutta, S., Guhathakurta, S., Sinha, S., Chatterjee, A., Ahmed, S., Ghosh, S., Gangopadhyay, P. K., Singh, M., & Usha, R. (2007b). Reelin gene polymorphisms in the Indian population: A possible paternal 5'UTR-CGG-repeat-allele effect on autism. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 144(1), 106–112. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30419>

Dutta, S., Sinha, S., Ghosh, S., Chatterjee, A., Ahmed, S., & Usha, R. (2008). Genetic analysis of reelin gene (RELN) SNPs: No association with autism spectrum disorder in the Indian population. *Neuroscience Letters*, 441(1), 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.06.022>

Egawa, J., Watanabe, Y., Shibuya, M., Endo, T., Sugimoto, A., Igeta, H., Nunokawa, A., Inoue, E., & Someya, T. (2015). Resequencing and association analysis of OXTR with autism spectrum disorder in a Japanese population. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 69(3), 131–135. <https://doi.org/10.1111/pcn.12205>

El-baz, F., Abd El-Aal, M., Moustafa Kamal, T., Abdrabou Sadek, A., & Othman, A. A. (2017). Study of the C677T and 1298AC polymorphic genotypes of MTHFR Gene in autism spectrum disorder. *Electronic Physician*, 9(9), 5287–5293. <https://doi.org/10.19082/5287>

Emamalizadeh, B., Jamshidi, J., Movafagh, A., Ohadi, M., khaniani, M. S., Kazeminasab, S., Biglarian, A., Taghavi, S., Motallebi, M., Fazeli, A., Ahmadifard,

A., Shahidi, G. A., Petramfar, P., Shahmohammadibeni, N., Dadkhah, T., Khademi, E., Tafakhori, A., Khaligh, A., Safaralizadeh, T., ... Darvish, H. (2017). RIT2 Polymorphisms: Is There a Differential Association? *Molecular Neurobiology*, 54(3), 2234–2240. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9815-4>

Fanid, L. M., Feizi, M. A. H., Zare, M. A., & Shahrokhi, H. (2016). An Association Analysis of Reelin Gene (RELN) exon 22 (G/C), Rs.362691, polymorphism with autism spectrum disorder among Iranian-Azeri population. *International Journal of Pediatrics*, 4(7), 2027–2033. <https://doi.org/10.22038/ijp.2016.6856>

Fanid, L. M., Shahrokhi, H., Adampourezare, M., Feizi, M. A. H., Bonyadi, M., & Eslami, A. (2015). Association between common single- nucleotide polymorphism of reelin gene, rs736707 (C/T) with autism spectrum disorder in Iranian-Azeri patients. *International Journal of Pediatrics*, 3(6), 1065–1071. <https://doi.org/10.22038/ijp.2015.5668>

Fu, X., Mei, Z., & Sun, L. (2013). Association between the g.296596G > A genetic variant of RELN gene and susceptibility to autism in a Chinese Han population. *Genetics and Molecular Biology*, 36(4), 486–489. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572013005000037>

Giunco, C. T., De Oliveira, A. B., Carvalho-Salles, A. B., Souza, D. S. R., Silva, A. E., Da Rocha, S. S., & Fett-Conte, A. C. (2009). Association between APOE polymorphisms and predisposition for autism. *Psychiatric Genetics*, 19(6), 338. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e3283328e41>

Guerini, Franca R., Bolognesi, E., Chiappedi, M., Manca, S., Ghezzi, A., Agliardi, C., Sotgiu, S., Usai, S., Matteoli, M., & Clerici, M. (2011). SNAP-25 single nucleotide polymorphisms are associated with hyperactivity in autism spectrum disorders. *Pharmacological Research*, 64(3), 283–288. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.03.015>

Guerini, Franca Rosa, Bolognesi, E., Chiappedi, M., Mensi, M. M., Fumagalli, O., Rogantini, C., Zanzottera, M., Ghezzi, A., Zanette, M., Agliardi, C., Costa, A. S., Sotgiu, S., Carta, A., Al Daghri, N., & Clerici, M. (2020). Vitamin D Receptor Polymorphisms Associated with Autism Spectrum Disorder. *Autism Research*, 13(5),

680–690. <https://doi.org/10.1002/aur.2279>

Guhathakurta, S., Ghosh, S., Sinha, S., Chatterjee, A., Ahmed, S., Chowdhury, S. R., Gangopadhyay, P. K., Ghosh, S., Singh, M., & Usha, R. (2006). Serotonin transporter promoter variants: Analysis in Indian autistic and control population. *Brain Research*, 1092(1), 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.03.078>

Guhathakurta, S., Sinha, S., Ghosh, S., Chatterjee, A., Ahmed, S., Gangopadhyay, P. K., & Usha, R. (2008). Population-based association study and contrasting linkage disequilibrium pattern reveal genetic association of SLC6A4 with autism in the Indian population from West Bengal. *Brain Research*, 1240, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.08.063>

Guhathakurta, S., Singh, A. S., Sinha, S., Chatterjee, A., Ahmed, S., Ghosh, S., & Usha, R. (2009). Analysis of serotonin receptor 2A gene (HTR2A): Association study with autism spectrum disorder in the Indian population and investigation of the gene expression in peripheral blood leukocytes. *Neurochemistry International*, 55(8), 754–759. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2009.07.008>

Guo, T., Chen, H., Liu, B., Ji, W., & Yang, C. (2012). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms C677T and risk of autism in the Chinese han population. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 16(8), 968–973. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2012.0091>

Guo, T., Wang, W., Liu, B., Chen, H., & Yang, C. (2013). Catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism and risk of autism spectrum disorders. *Journal of International Medical Research*, 41(3), 725–734. <https://doi.org/10.1177/0300060513479871>

Haghiri, R., Mashayekhi, F., Bidabadi, E., & Salehi, Z. (2016). Analysis of methionine synthase (rs1805087) gene polymorphism in autism patients in northern Iran. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 76(4), 318–323. <https://doi.org/10.21307/ane-2017-030>

Hamedani, S. Y., Gharesouran, J., Noroozi, R., Sayad, A., Omrani, M. D., Mir, A., Afjeh, S. S. A., Toghi, M., Manoochehrabadi, S., Ghafouri-Fard, S., & Taheri, M. (2017). Ras-like without CAAX 2 (RIT2): a susceptibility gene for autism

spectrum disorder. *Metabolic Brain Disease*, 32(3), 751–755.
<https://doi.org/10.1007/s11011-017-9969-4>

He, Y., Xun, G., Xia, K., Hu, Z., Lv, L., Deng, Z., & Zhao, J. (2011). No significant association between RELN polymorphism and autism in case-control and family-based association study in Chinese Han population. *Psychiatry Research*, 187(3), 462–464. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2010.04.051>

Hérault, J., Petit, E., Martineau, J., Cherpi, C., Perrot, A., Barthélémy, C., Lelord, G., & Müh, J. P. (1996). Serotonin and autism: Biochemical and molecular biology features. *Psychiatry Research*, 65(1), 33–43. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(96\)02882-X](https://doi.org/10.1016/0165-1781(96)02882-X)

Hranilovic, D., Blazevic, S., Babic, M., Smurinic, M., Bujas-Petkovic, Z., & Jernej, B. (2010). 5-HT_{2A} receptor gene polymorphisms in Croatian subjects with autistic disorder. *Psychiatry Research*, 178(3), 556–558.
<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2010.04.007>

Ingram, J. L., Stodgell, C. J., Hyman, S. L., Figlewicz, D. A., Weitkamp, L. R., & Rodier, P. M. (2000). Discovery of allelic variants of HOXA1 and HOXB1: Genetic susceptibility to autism spectrum disorders. *Teratology*, 62(6), 393–405.
[https://doi.org/10.1002/1096-9926\(200012\)62:6<393::AID-TERA6>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1096-9926(200012)62:6<393::AID-TERA6>3.0.CO;2-V)

Inoue, E., Watanabe, Y., Xing, J., Kushima, I., Egawa, J., Okuda, S., Hoya, S., Okada, T., Uno, Y., Ishizuka, K., Sugimoto, A., Igeta, H., Nunokawa, A., Sugiyama, T., Ozaki, N., & Someya, T. (2015). Resequencing and association analysis of *cln8* with autism spectrum disorder in a Japanese population. *PLoS ONE*, 10(12), 1–9.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144624>

Ismail, S., Senna, A. A., Behiry, E. G., Ashaat, E. A., Zaki, M. S., Ashaat, N. A., & Salah, D. M. (2019). Study of C677T variant of methylene tetrahydrofolate reductase gene in autistic spectrum disorder Egyptian children. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 180(5), 305–309.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32729>

Jackson, P. B., Boccuto, L., Skinner, C., Collins, J. S., Neri, G., Gurrieri, F., & Schwartz, C. E. (2009). Further evidence that the rs1858830 C variant in the promoter

region of the MET gene is associated with autistic disorder. *Autism Research*, 2(4), 232–236. <https://doi.org/10.1002/aur.87>

Jaiswal, P., Guhathakurta, S., Singh, A. S., Verma, D., Pandey, M., Varghese, M., Sinha, S., Ghosh, S., Mohanakumar, K. P., & Rajamma, U. (2015). SLC6A4 markers modulate platelet 5-HT level and specific behaviors of autism: A study from an Indian population. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 56, 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.09.004>

James, S. J., Melnyk, S., Jernigan, S., Cleves, M. A., Halsted, C. H., Wong, D. H., Cutler, P., Bock, K., Boris, M., Bradstreet, J. J., Baker, S. M., & Gaylor, D. W. (2006). Metabolic endophenotype and related genotypes are associated with oxidative stress in children with autism. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics: the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 141B(8), 947–956. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30366>

Junaid, M. A., Kowal, D., Barua, M., Pullarkat, P. S., Brooks, S. S., & Pullarkat, R. K. (2004). Proteomic studies identified a single nucleotide polymorphism in glyoxalase I as autism susceptibility factor. *American Journal of Medical Genetics*, 131 A(1), 11–17. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30349>

Karam, R. A., Rezk, N. A., Abdelrahman, H. M., Hassan, T. H., Mohammad, D., Hashim, H. M., & Fattah, N. R. A. A. (2013). Catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism and hyperactivity symptoms in Egyptian children with autism spectrum disorder. *Research in Developmental Disabilities*, 34(7), 2092–2097. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2013.04.002>

Kelemenova, S., Schmidtova, E., Ficek, A., Celec, P., Kubranska, A., & Ostatnikova, D. (2010). Polymorphisms of candidate genes in Slovak autistic patients. *Psychiatric Genetics*, 20(4), 137–139. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e32833a1eb3>

Kim, H. G., Kishikawa, S., Higgins, A. W., Seong, I. S., Donovan, D. J., Shen, Y., Lally, E., Weiss, L. A., Najm, J., Kutsche, K., Descartes, M., Holt, L., Braddock, S., Troxell, R., Kaplan, L., Volkmar, F., Klin, A., Tsatsanis, K., Harris, D. J., ... Gusella, J. F. (2008). Disruption of Neurexin 1 Associated with Autism Spectrum Disorder. *American Journal of Human Genetics*, 82(1), 199–207.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.09.011>

Landini, M., Merelli, I., Raggi, M. E., Galluccio, N., Ciceri, F., Bonfanti, A., Camposeo, S., Massagli, A., Villa, L., Salvi, E., Cusi, D., Molteni, M., Milanesi, L., Marabotti, A., & Mezzelani, A. (2016). Association analysis of noncoding variants in neurologins 3 and 4X genes with autism spectrum disorder in an Italian cohort. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(10), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms17101765>

Lepagnol-Bestel, A. M., Maussion, G., Boda, B., Cardona, A., Iwayama, Y., Delezoide, A. L., Moalic, J. M., Muller, D., Dean, B., Yoshikawa, T., Gorwood, P., Buxbaum, J. D., Ramoz, N., & Simonneau, M. (2008). SLC25A12 expression is associated with neurite outgrowth and is upregulated in the prefrontal cortex of autistic subjects. *Molecular Psychiatry*, 13(4), 385–397. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002120>

Li, H., Li, Y., Shao, J., Li, R., Qin, Y., Xie, C., & Zhao, Z. (2008). The association analysis of RELN and GRM8 genes with autistic spectrum disorder in Chinese Han population. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 147(2), 194–200. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30584>

Limprasert, P., Maisrikhaw, W., Sriapo, T., Wirojanan, J., Hansakunachai, T., Roongpraiwan, R., Sombuntham, T., Ruangdaraganon, N., & Guo, X. (2014). No association of Val158Met variant in the COMT gene with autism spectrum disorder in Thai children. *Psychiatric Genetics*, 24(5), 230–231. <https://doi.org/10.1097/YPG.0000000000000046>

Liu, Xiaoxi, Kawamura, Y., Shimada, T., Otowa, T., Koishi, S., Sugiyama, T., Nishida, H., Hashimoto, O., Nakagami, R., Tochigi, M., Umekage, T., Kano, Y., Miyagawa, T., Kato, N., Tokunaga, K., & Sasaki, T. (2010). Association of the oxytocin receptor (OXTR) gene polymorphisms with autism spectrum disorder (ASD) in the Japanese population. *Journal of Human Genetics*, 55(3), 137–141. <https://doi.org/10.1038/jhg.2009.140>

Liu, Xudong, Solehdin, F., Cohen, I. L., Gonzalez, M. G., Jenkins, E. C., Lewis, M. E. S., & Holden, J. J. A. (2011). Population- and family-based studies associate the MTHFR gene with idiopathic autism in simplex families. *Journal of*

Autism and Developmental Disorders, 41(7), 938–944.
<https://doi.org/10.1007/s10803-010-1120-x>

Liu, Yalan, Hu, Z., Xun, G., Peng, Y., Lu, L., Xu, X., Xiong, Z., Xia, L., Liu, D., Li, W., Zhao, J., & Xia, K. (2012). Mutation analysis of the NRXN1 gene in a Chinese autism cohort. *Journal of Psychiatric Research*, 46(5), 630–634.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2011.10.015>

Liu, Yanyan, Du, Y., Liu, W., Yang, C., Liu, Y., Wang, H., & Gong, X. (2013). Lack of Association between NLGN3, NLGN4, SHANK2 and SHANK3 Gene Variants and Autism Spectrum Disorder in a Chinese Population. *PLoS ONE*, 8(2), 4–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056639>

Liu, Xiaoxi, Shimada, T., Otowa, T., Wu, Y. Y., Kawamura, Y., Tochigi, M., Iwata, Y., Umekage, T., Toyota, T., Maekawa, M., Iwayama, Y., Suzuki, K., Kakiuchi, C., Kuwabara, H., Kano, Y., Nishida, H., Sugiyama, T., Kato, N., Chen, C. H., ... Gau, S. S. F. (2016). Genome-wide Association Study of Autism Spectrum Disorder in the East Asian Populations. *Autism Research*, 9(3), 340–349.
<https://doi.org/10.1002/aur.1536>

Liu, J., Mo, W., Zhang, Z., Yu, H., Yang, A., Qu, F., Hu, P., Liu, Z., & Wang, S. (2017). Single Nucleotide Polymorphisms in SLC19A1 and SLC25A9 Are Associated with Childhood Autism Spectrum Disorder in the Chinese Han Population. *Journal of Molecular Neuroscience*, 62(2), 262–267.
<https://doi.org/10.1007/s12031-017-0929-6>

Longo, D., Schöler-Faccini, L., Brandalize, A. P. C., dos Santos Riesgo, R., & Bau, C. H. D. (2009). Influence of the 5-HTTLPR polymorphism and environmental risk factors in a Brazilian sample of patients with autism spectrum disorders. *Brain Research*, 1267, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.02.072>

Ma, W. J., Hashii, M., Munesue, T., Hayashi, K., Yagi, K., Yamagishi, M., Higashida, H., & Yokoyama, S. (2013). Non-synonymous single-nucleotide variations of the human oxytocin receptor gene and autism spectrum disorders: A case-control study in a Japanese population and functional analysis. *Molecular Autism*, 4(1), 1.
<https://doi.org/10.1186/2040-2392-4-22>

Mahmuda, N. A., Yokoyama, S., Huang, J. J., Liu, L., Munesue, T., Nakatani, H., Hayashi, K., Yagi, K., Yamagishi, M., & Higashida, H. (2016). A Study of Single Nucleotide Polymorphisms of the SLC19A1/RFC1 Gene in Subjects with Autism Spectrum Disorder. *International journal of molecular sciences*, 17(5), 772. <https://doi.org/10.3390/ijms17050772>

Marui, T., Hashimoto, O., Nanba, E., Kato, C., Tochigi, M., Umekage, T., Ishijima, M., Kohda, K., Kato, N., & Sasaki, T. (2004). Association between the neurofibromatosis-1 (NF1) locus and autism in the Japanese population. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 131 B(1), 43–47. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.20119>

Maussion, G., Moalic, J. M., Simonneau, M., Gorwood, P., & Ramoz, N. (2019). Increased expression of BDNF mRNA in the frontal cortex of autistic patients. *Behavioural Brain Research*, 359, 903–909. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.06.023>

Mbarek, O., Marouillat, S., Martineau, J., Barthélémy, C., Müh, J. P., & Andres, C. (1999). Association study of the NF1 gene and autistic disorder. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 88(6), 729–732. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(19991215\)88:6<729::AID-AJMG26>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(19991215)88:6<729::AID-AJMG26>3.0.CO;2-Q)

Meguid, N. A., Gebril, O. H., & Khalil, R. O. (2015a). A study of blood serotonin and serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR) polymorphism in Egyptian autistic children. *Advanced biomedical research*, 4, 94. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.156658>

Meguid NA, Khalil RO, Gebril OH, El- Fishawy P (2015b) Evaluation of MTHFR Genetic Polymorphism as a Risk Factor in Egyptian Autistic Children and Mothers. *J Psychiatry* 18: 179. doi:10.4172/2378-5756.1000179

Melke, J., Goubran Botros, H., Chaste, P., Betancur, C., Nygren, G., Anckarsäter, H., Rastam, M., Ståhlberg, O., Gillberg, I. C., Delorme, R., Chabane, N., Mouren-Simeoni, M. C., Fauchereau, F., Durand, C. M., Chevalier, F., Drouot, X., Collet, C., Launay, J. M., Leboyer, M., ... Van Maldergem, L. (2008). Abnormal melatonin synthesis in autism spectrum disorders. *Molecular Psychiatry*, 13(1), 90–

98. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002016>

Michaelis, R. C., Copeland-Yates, S. A., Sossey-Alaoui, K., Skinner, C., Friez, M. J., Longshore, J. W., Simensen, R. J., Schroer, R. J., & Stevenson, R. E. (2000). The HOPA gene dodecamer duplication is not a significant etiological factor in autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 30(4), 355–358. <https://doi.org/10.1023/A:1005583517994>

Mo, W., Liu, J., Zhang, Z., Yu, H., Yang, A., Qu, F., Hu, P., Liu, Z., & Hu, F. (2018). A study of single nucleotide polymorphisms in CD157, AIM2 and JARID2 genes in Han Chinese children with autism spectrum disorder. *Nordic Journal of Psychiatry*, 72(3), 179–183. <https://doi.org/10.1080/08039488.2017.1410570>

Mobasheri, L., Moossavi, S. Z., Esmaeili, A., Mohammadoo-khorasani, M., & Sarab, G. A. (2020). Association between vitamin D receptor gene FokI and TaqI variants with autism spectrum disorder predisposition in Iranian population. *Gene*, 723, 144133. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144133>

Mohammad, N. S., Jain, J. M. N., Chintakindi, K. P., Singh, R. P., Naik, U., & Akella, R. R. D. (2009). Aberrations in folate metabolic pathway and altered susceptibility to autism. *Psychiatric Genetics*, 19(4), 171–176. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e32832cebd2>

Mostafa, G. A., & Shehab, A. A. (2010). The link of C4B null allele to autism and to a family history of autoimmunity in Egyptian autistic children. *Journal of Neuroimmunology*, 223(1–2), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.03.025>

Muscarella, L. A., Guarnieri, V., Sacco, R., Curatolo, P., Manzi, B., Alessandrelli, R., Giana, G., Militerni, R., Bravaccio, C., Lenti, C., Saccani, M., Schneider, C., Melmed, R., D'Agruma, L., & Persico, A. M. (2010). Candidate gene study of HOXB1 in autism spectrum disorder. *Molecular Autism*, 1(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-1-9>

Nascimento, P. P., Bossolani-Martins, A. L., Rosan, D. B. A., Mattos, L. C., Brandão-Mattos, C., & Fett-Conte, A. C. (2016). Single nucleotide polymorphisms in the CNTNAP2 gene in Brazilian patients with autistic spectrum disorder. *Genetics*

and Molecular Research, 15(1), 1–8. <https://doi.org/10.4238/gmr.15017422>

Nikolac Perkovic, M., Nedic Erjavec, G., Stefulj, J., Muck-Seler, D., Pivac, N., Kocijan Hercigonja, D., Hranilovic, D., Curkovic, M., & Dodig-Curkovic, K. (2014). Association between the polymorphisms of the selected genes encoding dopaminergic system with ADHD and autism. *Psychiatry Research*, 215(1), 260–261. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.10.018>

Noroozi, R., Taheri, M., Movafagh, A., Mirfakhraie, R., Solgi, G., Sayad, A., Mazdeh, M., & Darvish, H. (2016). Glutamate receptor, metabotropic 7 (GRM7) gene variations and susceptibility to autism: A case–control study. *Autism Research*, 9(11), 1161–1168. <https://doi.org/10.1002/aur.1640>

Noroozi, R., Taheri, M., Movafagh, A., Ghafouri-Fard, S., Sayad, A., Mirfakhraie, R., Ayatollahi, S. A., Inoko, H., Noroozi, H., Do, A. A., & Soureshjani, A. A. (2018). Association analysis of the GABRB3 promoter variant and susceptibility to autism spectrum disorder. *Basal Ganglia*, 11(October 2017), 4–7. <https://doi.org/10.1016/j.baga.2017.11.002>

Nuñez-Rios, D. L., Chaskel, R., Lopez, A., Galeano, L., & Lattig, M. C. (2020). The role of 5-HTTLPR in autism spectrum disorder: New evidence and a meta-analysis of this polymorphism in Latin American population with psychiatric disorders. *PLoS ONE*, 15(7), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235512>

Nyffeler, J., Walitza, S., Bobrowski, E., Gundelfinger, R., & Grünblatt, E. (2014). Association study in siblings and case-controls of serotonin- and oxytocin-related genes with high functioning autism. *Journal of Molecular Psychiatry*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2049-9256-2-1>

Ocakoğlu, F. T., Köse, S., Özbaran, B., & Onay, H. (2018). The oxytocin receptor gene polymorphism -rs237902- is associated with the severity of autism spectrum disorder: A pilot study. *Asian Journal of Psychiatry*, 31(January), 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2018.01.002>

Odell, D., Maciulis, A., Cutler, A., Warren, L., McMahon, W. M., Coon, H., Stubbs, G., Henley, K., & Torres, A. (2005). Confirmation of the association of the C4B null allele in autism. *Human Immunology*, 66(2), 140–145.

<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2004.11.002>

Pan, Y., Chen, J., Guo, H., Ou, J., Peng, Y., Liu, Q., Shen, Y., Shi, L., Liu, Y., Xiong, Z., Zhu, T., Luo, S., Hu, Z., Zhao, J., & Xia, K. (2015). Association of genetic variants of GRIN2B with autism. *Scientific Reports*, 5, 1–5. <https://doi.org/10.1038/srep08296>

Park, J. W., Ro, M. J., Pyun, J. A., Nam, M., Bang, H. J., Yang, J. W., Choi, K. S., Kim, S. K., Chung, J. H., & Kwack, K. B. (2014). MTHFR 1298A>C is a risk factor for autism spectrum disorder in the Korean population. *Psychiatry Research*, 215(1), 258–259. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.11.006>

Parker, K. J., Garner, J. P., Libove, R. A., Hyde, S. A., Hornbeak, K. B., Carson, D. S., Liao, C. P., Phillips, J. M., Hallmayer, J. F., & Hardan, A. Y. (2014). Plasma oxytocin concentrations and OXTR polymorphisms predict social impairments in children with and without autism spectrum disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(33), 12258–12263. <https://doi.org/10.1073/pnas.1402236111>

Paşca, S. P., Dronca, E., Kaucsár, T., Crăciun, E. C., Endreffy, E., Ferencz, B. K., Iftene, F., Benga, I., Cornean, R., Banerjee, R., & Dronca, M. (2009). One carbon metabolism disturbances and the C677T MTHFR gene polymorphism in children with autism spectrum disorders. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 13(10), 4229–4238. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00463.x>

Paşca, S. P., Dronca, E., Nemeş, B., Kaucsár, T., Endreffy, E., Iftene, F., Benga, I., Cornean, R., & Dronca, M. (2010). Paraoxonase 1 activities and polymorphisms in autism spectrum disorders. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(3), 600–607. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00414.x>

Perfilyeva, A. V., Bepalova, K. B., Skvortsova, L. A., Surdeanu, A., Garshin, A. A., Perfilyeva, Y. V., Khamdiyeva, O. K., Bekmanov, B. O., & Djansugurova, L. B. (2019). No association between the rs1799836 polymorphism of the monoamine oxidase B gene and the risk of autism spectrum disorders in the Kazakhstani population. *Disease Markers*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2846394>

Persico, Antonio M., Militerni, R., Bravaccio, C., Schneider, C., Melmed, R.,

Trillo, S., Montecchi, F., Palermo, M. T., Pascucci, T., Puglisi-Allegra, S., Reichelt, K. L., Conciatori, M., Baldi, A., & Keller, F. (2000). Adenosine deaminase alleles and autistic disorder: Case-control and family-based association studies. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 96(6), 784–790. [https://doi.org/10.1002/1096-8628\(20001204\)96:6<784::aid-ajmg18>3.0.co;2-7](https://doi.org/10.1002/1096-8628(20001204)96:6<784::aid-ajmg18>3.0.co;2-7)

Persico, A. M., D'agruma, L., Maiorano, N., Totaro, A., Militeri, R., Bravaccio, C., Wassink, T. H., Schneider, C., Melmed, R., Trillo, S., Montecchi, F., Palermo, M., Pascucci, T., Puglisi-Allegra, S., Reichelt, K. L., Conciatori, M., Marino, R., Quattrocchi, C. C., Baldi, A., ... Keller, F. (2001). Reelin gene alleles and haplotypes as a factor predisposing to autistic disorder. *Molecular Psychiatry*, 6(2), 150–159. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000850>

Persico, A. M., D'Agruma, L., Zelante, L., Militeri, R., Bravaccio, C., Schneider, C., Melmed, R., Trillo, S., Montecchi, F., Elia, M., Palermo, M., Rabinowitz, D., Pascucci, T., Puglisi-Allegra, S., Reichelt, K. L., Muscarella, L., Guarnieri, V., Melgari, J. M., Conciatori, M., & Keller, F. (2004). Enhanced APOE2 transmission rates in families with autistic probands. *Psychiatric Genetics*, 14(2), 73–82. <https://doi.org/10.1097/01.ypg.0000128768.37838.17>

Plank, S. M., Copeland-Yates, S. A., Sossey-Alaoui, K., Bell, J. M., Schroer, R. J., Skinner, C., & Michaelis, R. C. (2001). Brief research communication: Lack of association of the (AAAT)6 allele of the GXA_{lu} tetranucleotide repeat in intron 27b of the NF1 gene with Autism. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 105(5), 404–405. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1432>

Poot, M. (2014). A candidate gene association study further corroborates involvement of contactin genes in autism. *Molecular Syndromology*, 5(5), 229–235. <https://doi.org/10.1159/000362891>

Qiu, S., Li, Y., Li, Y., Zhong, W., Shi, M., Zhao, Q., Zhang, K., Wang, Y., Lu, M., Zhu, X., Jiang, H., Yu, Y., Cheng, Y., & Liu, Y. (2018). Association between SHANK3 polymorphisms and susceptibility to autism spectrum disorder. *Gene*, 651(October 2017), 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.01.078>

Rehnström, K., Ylisaukko-oja, T., Vanhala, R., Von Wendt, L., Peltonen, L., & Hovatta, I. (2008). No association between common variants in glyoxalase 1 and

autism spectrum disorders. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 147(1), 124–127. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30582>

Romano, V., Calì, F., Mirisola, M., Gambino, G., D'Anna, R., Di Rosa, P., Seidita, G., Chiavetta, V., Aiello, F., Canziani, F., De Leo, G., Ayala, G. F., & Elia, M. (2003). Lack of association of HOXA1 and HOXB1 mutations and autism in Sicilian (Italian) patients. *Molecular Psychiatry*, 8(8), 716-717+713. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001285>

Sacco, R., Papaleo, V., Hager, J., Rousseau, F., Moessner, R., Militeri, R., Bravaccio, C., Trillo, S., Schneider, C., Melmed, R., Elia, M., Curatolo, P., Manzi, B., Pascucci, T., Puglisi-Allegra, S., Reichelt, K. L., & Persico, A. M. (2007). Case-control and family-based association studies of candidate genes in autistic disorder and its endophenotypes: TPH2 and GLO1. *BMC Medical Genetics*, 8, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-8-11>

Safari, M. reza, Omrani, M. D., Noroozi, R., Sayad, A., Sarrafzadeh, S., Komaki, A., Manjili, F. A., Mazdeh, M., Ghaleiha, A., & Taheri, M. (2017). Synaptosome-Associated Protein 25 (SNAP25) Gene Association Analysis Revealed Risk Variants for ASD, in Iranian Population. *Journal of Molecular Neuroscience*, 61(3), 305–311. <https://doi.org/10.1007/s12031-016-0860-2>

Salem, A. M., Ismail, S., Zarouk, W. A., Abdul Baky, O., Sayed, A. A., Abd El-Hamid, S., & Salem, S. (2013). Genetic variants of neurotransmitter-related genes and miRNAs in egyptian autistic patients. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/670621>

Santos, P. A. C. Dos, Longo, D., Brandalize, A. P. C., & Schüller-Faccini, L. (2010). MTHFR C677T is not a risk factor for autism spectrum disorders in South Brazil. *Psychiatric Genetics*, 20(4), 187–189. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e32833a2220>

Schmidt, R. J., Hansen, R. L., Hartiala, J., Allayee, H., Schmidt, L. C., Tancredi, D. J., Tassone, F., & Hertz-Picciotto, I. (2011). Prenatal vitamins, one-carbon metabolism gene variants, and risk for autism. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 22(4), 476–485. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e31821d0e30>

Schmidt, R. J., Hansen, R. L., Hartiala, J., Allayee, H., Sconberg, J. L., Schmidt, L. C., Volk, H. E., & Tassone, F. (2015). Selected vitamin D metabolic gene variants and risk for autism spectrum disorder in the CHARGE Study. *Early Human Development*, 91(8), 483–489. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.05.008>

Sen, B., Sinha, S., Ahmed, S., Ghosh, S., Gangopadhyay, P. K., & Usha, R. (2007). Lack of association of HOXA1 and HOXB1 variants with autism in the Indian population [1]. *Psychiatric Genetics*, 17(1), 1. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e328010de0d>

Sener, E. F., Oztop, D. B., & Ozkul, Y. (2014). MTHFR gene C677T polymorphism in autism spectrum disorders. *Genetics Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/698574>

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*, 7(1), 162–166. <https://doi.org/10.1002/aur.1353>

Sesarini, C. V., Costa, L., Grañana, N., Coto, M. G., Pallia, R. C., & Argibay, P. F. (2015). Association between GABA(A) receptor subunit polymorphisms and autism spectrum disorder (ASD). *Psychiatry Research*, 229(1–2), 580–582. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.07.077>

Shao, S., Xu, S., Yang, J., Zhang, T., He, Z., Sun, Z., & Song, R. (2014). A commonly carried genetic variant, rs9616915, in SHANK3 gene is associated with a reduced risk of autism spectrum disorder: Replication in a Chinese population. *Molecular Biology Reports*, 41(3), 1591–1595. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-3005-5>

Sharma, J. R., Arieff, Z., Gameeldien, H., Davids, M., Kaur, M., & Van Der Merwe, L. (2013). Association analysis of two single-nucleotide polymorphisms of the RELN gene with autism in the South African population. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 17(2), 93–98. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2012.0212>

Shawky, R. M., El-baz, F., Kamal, T. M., Elhossiny, R. M., Ahmed, M. A., &

El Nady, G. H. (2014). Study of genotype-phenotype correlation of methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms in a sample of Egyptian autistic children. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 15(4), 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2014.05.004>

Singh, A. S., Chandra, R., Guhathakurta, S., Sinha, S., Chatterjee, A., Ahmed, S., Ghosh, S., & Rajamma, U. (2013). Genetic association and gene-gene interaction analyses suggest likely involvement of ITGB3 and TPH2 with autism spectrum disorder (ASD) in the Indian population. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 45, 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.04.015>

Sousa, I., Clark, T. G., Toma, C., Kobayashi, K., Choma, M., Holt, R., Sykes, N. H., Lamb, J. A., Bailey, A. J., Battaglia, A., Maestrini, E., & Monaco, A. P. (2009). MET and autism susceptibility: Family and case-control studies. *European Journal of Human Genetics*, 17(6), 749–758. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.215>

Sweeten, T. L., Odell, D. W., Odell, J. D., & Torres, A. R. (2008). C4B null alleles are not associated with genetic polymorphisms in the adjacent gene CYP21A2 in autism. *BMC Medical Genetics*, 9, 1–6. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-9-1>

Talebizadeh, Z., Bittel, D. C., Miles, J. H., Takahashi, N., Wang, C. H., Kibiryeve, N., & Butler, M. G. (2002). No association between HOXA1 and HOXB1 genes and autism spectrum disorders (ASD). *Journal of medical genetics*, 39(11), e70. <https://doi.org/10.1136/jmg.39.11.e70>

Tassone, F., Qi, L., Zhang, W., Hansen, R. L., Pessah, I. N., & Hertz-Picciotto, I. (2011). MAOA, DBH, and SLC6A4 variants in CHARGE: A case-control study of autism spectrum disorders. *Autism Research*, 4(4), 250–261. <https://doi.org/10.1002/aur.196>

Thongpiboon, K. 2009. An association study of the GABRB3 in Thai children with AUTISM. Case control study, Prince of Songkla University

Tochigi, M., Kato, C., Koishi, S., Kawakubo, Y., Yamamoto, K., Matsumoto, H., Hashimoto, O., Kim, S. Y., Watanabe, K., Kano, Y., Nanba, E., Kato, N., & Sasaki, T. (2007). No evidence for significant association between GABA receptor

genes in chromosome 15q11-q13 and autism in a Japanese population. *Journal of Human Genetics*, 52(12), 985–989. <https://doi.org/10.1007/s10038-007-0207-5>

Toma, C., Rossi, M., Sousa, I., Blasi, F., Bacchelli, E., Alen, R., Vanhala, R., Monaco, A. P., Järvelä, I., & Maestrini, E. (2007). Is ASMT a susceptibility gene for autism spectrum disorders? A replication study in European populations [2]. *Molecular Psychiatry*, 12(11), 977–979. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002069>

Toma, Claudio, Hervás, A., Balmaña, N., Salgado, M., Maristany, M., Vilella, E., Aguilera, F., Orejuela, C., Cuscó, I., Gallastegui, F., Pérez-Jurado, L. A., Caballero-Andaluz, R., Diego-Otero, Y. De, Guzmán-Alvarez, G., Ramos-Quiroga, J. A., Ribasés, M., Bayés, M., & Cormand, B. (2013a). Neurotransmitter systems and neurotrophic factors in autism: Association study of 37 genes suggests involvement of DDC. *World Journal of Biological Psychiatry*, 14(7), 516–527. <https://doi.org/10.3109/15622975.2011.602719>

Toma, Claudio, Hervás, A., Torrico, B., Balmaña, N., Salgado, M., Maristany, M., Vilella, E., Martínez-Leal, R., Planelles, M. I., Cuscó, I., Del Campo, M., Pérez-Jurado, L. A., Caballero-Andaluz, R., De Diego-Otero, Y., Pérez-Costillas, L., Ramos-Quiroga, J. A., Ribasés, M., Bayés, M., & Cormand, B. (2013b). Analysis of two language-related genes in Autism: A case-control association study of FOXP2 and CNTNAP2. *Psychiatric Genetics*, 23(2), 82–85. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e32835d6fc6>

Torrico, B., Chiocchetti, A. G., Bacchelli, E., Trabetti, E., Hervás, A., Franke, B., Buitelaar, J. K., Rommelse, N., Yousaf, A., Duketis, E., Freitag, C. M., Caballero-Andaluz, R., Martinez-Mir, A., Scholl, F. G., Ribasés, M., Battaglia, A., Malerba, G., Delorme, R., Benabou, M., ... Toma, C. (2017). Lack of replication of previous autism spectrum disorder GWAS hits in European populations. *Autism Research*, 10(2), 202–211. <https://doi.org/10.1002/aur.1662>

Verma, D., Chakraborti, B., Karmakar, A., Bandyopadhyay, T., Singh, A. S., Sinha, S., Chatterjee, A., Ghosh, S., Mohanakumar, K. P., Mukhopadhyay, K., & Rajamma, U. (2014). Sexual dimorphic effect in the genetic association of monoamine oxidase A (MAOA) markers with autism spectrum disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 50, 11–20.

<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.11.010>

Waga, C., Okamoto, N., Ondo, Y., Fukumura-Kato, R., Goto, Y. I., Kohsaka, S., & Uchino, S. (2011). Novel variants of the SHANK3 gene in Japanese autistic patients with severe delayed speech development. *Psychiatric Genetics*, 21(4), 208–211. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e328341e069>

Wang, L., Li, J., Ruan, Y., Lu, T., Liu, C., Jia, M., Yue, W., Liu, J., Bourgeron, T., & Zhang, D. (2013). Sequencing ASMT Identifies Rare Mutations in Chinese Han Patients with Autism. *PLoS ONE*, 8(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053727>

Wang, X., Liang, S., Fujisawa, T. X., Nishitani, S., Tomoda, A., Zou, M., Li, Y., Wu, L., & Shinohara, K. (2016). Association of estrogen receptor alpha polymorphisms with symptoms of autism among Chinese Han children. *Neuroendocrinology letters*, 37(6), 439–444.

Wang, G. fu, Ye, S., Gao, L., Han, Y., Guo, X., Dong, X. peng, Su, Y. yuan, & Zhang, X. (2018). Two single-nucleotide polymorphisms of the RELN gene and symptom-based and developmental deficits among children and adolescents with autistic spectrum disorders in the Tianjin, China. *Behavioural Brain Research*, 350, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.04.048>

WARREN, R. P., SINGH, V. K., COLE, P., ODELL, J. D., PINGREE, C. B., WARREN, W. L., & WHITE, E. (1991). Increased frequency of the null allele at the complement C4b locus in autism. *Clinical & Experimental Immunology*, 83(3), 438–440. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1991.tb05657.x>

Warren, R. P., Odell, J. D., Warren, W. L., Burger, R. A., Maciulis, A., Daniels, W. W., & Torres, A. R. (1996). Strong association of the third hypervariable region of HLA-DR β 1 with autism. *Journal of Neuroimmunology*, 67(2), 97–102. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(96\)00052-5](https://doi.org/10.1016/0165-5728(96)00052-5)

Werling, A. M., Bobrowski, E., Taurines, R., Gundelfinger, R., Romanos, M., Grünblatt, E., & Walitza, S. (2016). CNTNAP2 gene in high functioning autism: no association according to family and meta-analysis approaches. *Journal of Neural Transmission*, 123(3), 353–363. <https://doi.org/10.1007/s00702-015-1458-5>

Wongpaiboonwattana, W., Plong-On, O., Hnoonual, A., & Limprasert, P. (2020). Significant associations between 5-hydroxytryptaminetransporter-linked promoter region polymorphisms of the serotonin transporter (solute carrier family 6 member 4) gene and Thai patients with autism spectrum disorder. *Medicine*, 99(36), e21946. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000021946>

Wu, Y. Y., Chien, W. H., Huang, Y. S., Gau, S. S. F., & Chen, C. H. (2008). Lack of evidence to support the glyoxalase 1 gene (GLO1) as a risk gene of autism in Han Chinese patients from Taiwan. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(7), 1740–1744. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.07.019>

Yang, P., Lung, F. W., Jong, Y. J., Hsieh, H. Y., Liang, C. L., & Juo, S. H. H. (2008). Association of the homeobox transcription factor gene ENGRAILED 2 with autistic disorder in Chinese children. *Neuropsychobiology*, 57(1–2), 3–8. <https://doi.org/10.1159/000123115>

Yang, P., Shu, B. C., Hallmayer, J. F., & Lung, F. W. (2010). Intronic single nucleotide polymorphisms of engrailed homeobox 2 modulate the disease vulnerability of autism in a han chinese population. *Neuropsychobiology*, 62(2), 104–115. <https://doi.org/10.1159/000315441>

Yang, Y., & Pan, C. (2013). Role of metabotropic glutamate receptor 7 in autism spectrum disorders: A pilot study. *Life Sciences*, 92(2), 149–153. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.11.010>

Yang, S., Dong, X., Guo, X., Han, Y., Song, H., Gao, L., Dai, W., Su, Y., & Zhang, X. (2017a). Serum oxytocin levels and an oxytocin receptor gene polymorphism (rs2254298) indicate social deficits in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Frontiers in Neuroscience*, 11(APR), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00221>

Yang, S., Guo, X., Dong, X., Han, Y., Gao, L., Su, Y., Dai, W., & Zhang, X. (2017b). GABAA receptor subunit gene polymorphisms predict symptom-based and developmental deficits in Chinese Han children and adolescents with autistic spectrum disorders. *Scientific Reports*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03666-0>

Yirmiya, N., Pilowsky, T., Nemanov, L., Arbelle, S., Feinsilver, T., Fried, I., & Ebstein, R. P. (2001). Evidence for an association with the serotonin transporter promoter region polymorphism and autism. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 105(4), 381–386. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1365>

Yirmiya, N., Pilowsky, T., Tidhar, S., Nemanov, L., Altmark, L., & Ebstein, R. P. (2002). Brief research communication: Family-based and population study of a functional promoter-region monoamine oxidase A polymorphism in autism: Possible association with IQ. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 114(3), 284–287. <https://doi.org/10.1002/ajmg.10189>

Yokoyama, S., Al Mahmuda, N., Munesue, T., Hayashi, K., Yagi, K., Yamagishi, M., & Higashida, H. (2015). Association study between the CD157/BST1 gene and autism spectrum disorders in a Japanese population. *Brain Sciences*, 5(2), 188–200. <https://doi.org/10.3390/brainsci5020188>

Yoo, H. J., Lee, S. K., Park, M., Cho, I. H., Hyun, S. H., Lee, J. C., Yang, S. Y., & Kim, S. A. (2009a). Family- and population-based association studies of monoamine oxidase A and autism spectrum disorders in Korean. *Neuroscience Research*, 63(3), 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2008.11.007>

Yoo, H. K., Chung, S., Hong, J. P., Kim, B. N., & Cho, S. C. (2009b). Microsatellite marker in gamma-aminobutyric acid-A receptor beta 3 subunit gene and autism spectrum disorders in Korean trios. *Yonsei Medical Journal*, 50(2), 304–306. <https://doi.org/10.3349/ymj.2009.50.2.304>

Yu, J., He, X., Yao, D., Li, Z., Li, H., & Zhao, Z. (2011). A sex-specific association of common variants of neuroligin genes (NLGN3 and NLGN4X) with autism spectrum disorders in a Chinese Han cohort. *Behavioral and Brain Functions*, 7. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-7-13>

Yu, H., Liu, J., Yang, A., Yang, G., Yang, W., Lei, H., Quan, J., & Zhang, Z. (2016). Lack of Association between Polymorphisms in Dopa Decarboxylase and Dopamine Receptor-1 Genes with Childhood Autism in Chinese Han Population. *Journal of Child Neurology*, 31(5), 560–564. <https://doi.org/10.1177/0883073815601496>

Zare, S., Mashayekhi, F., & Bidabadi, E. (2017). The association of CNTNAP2 rs7794745 gene polymorphism and autism in Iranian population. *Journal of Clinical Neuroscience*, 39, 189–192. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2017.01.008>

Zhang, H., Liu, X., Zhang, C., Mundo, E., Macciardi, F., Grayson, D. R., Guidotti, A. R., & Holden, J. J. A. (2002). Reelin gene alleles and susceptibility to autism spectrum disorders. *Molecular Psychiatry*, 7(9), 1012–1017. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001124>

Zhang, Z., Li, S., Yu, L., & Liu, J. (2018a). Polymorphisms in Vitamin D Receptor Genes in Association with Childhood Autism Spectrum Disorder. *Disease Markers*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7862892>

Zhang, Z., Yu, L., Li, S., & Liu, J. (2018). Association study of polymorphisms in genes relevant to vitamin B12 and folate metabolism with childhood autism spectrum disorder in a han chinese population. *Medical Science Monitor*, 24, 370–376. <https://doi.org/10.12659/MSM.905567>

Zhong, N., Ye, L., Ju, W., Tsiouris, J., Cohen, I., & Brown, W. T. (1999). 5-HTTLPR variants not associated with autistic spectrum disorders. *Neurogenetics*, 2(2), 129–131. <https://doi.org/10.1007/s100480050064>

Zhou, X., Xu, Y., Wang, J., Zhou, H., Liu, X., Ayub, Q., Wang, X., Tyler-Smith, C., Wu, L., & Xue, Y. (2011). Replication of the association of a MET variant with autism in a Chinese Han population. *PLoS ONE*, 6(11), 2–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027428>

**Βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που συμπεριελήφθησαν στην μετα-
ανάλυση των μελετών γονιδιωματικής συσχέτισης του ειδικού σκοπού 3**

Allen-Brady, K., Miller, J., Matsunami, N., Stevens, J., Block, H., Farley, M., Krasny, L., Pingree, C., Lainhart, J., Leppert, M., McMahon, W. M., & Coon, H. (2009). A high-density SNP genome-wide linkage scan in a large autism extended pedigree. *Molecular psychiatry*, 14(6), 590–600.

<https://doi.org/10.1038/mp.2008.14> Allen-Brady, K., Robison, R., Cannon, D., Varvil, T., Villalobos, M., Pingree, C., Leppert, M. F., Miller, J., McMahon, W. M., & Coon, H. (2010). Genome-wide linkage in Utah autism pedigrees. *Molecular Psychiatry*, 15, 1006–1015. <https://doi.org/10.1038/mp.2009.42>

Auranen, M., Vanhala, R., Varilo, T., Ayers, K., Kempas, E., Ylisaukko-oja, T., Sinsheimer, J. S., Peltonen, L., & Järvelä, I. (2002). A genomewide screen for autism-spectrum disorders: evidence for a major susceptibility locus on chromosome 3q25-27. *American Journal of Human Genetics*, 71(4), 777–790. <https://doi.org/10.1086/342720>

Bartlett, C. W., Goedken, R., & Vieland, V. J. (2005). Effects of updating linkage evidence across subsets of data: Reanalysis of the autism genetic resource exchange data set. *American Journal of Human Genetics*, 76(4), 688–695. <https://doi.org/10.1086/429345>

Buxbaum, J. D., Silverman, J. M., Smith, C. J., Kilifarski, M., Reichert, J., Hollander, E., Lawlor, B. A., Fitzgerald, M., Greenberg, D. A., & Davis, K. L. (2001). Evidence for a susceptibility gene for autism on chromosome 2 and for genetic heterogeneity. *American journal of human genetics*, 68(6), 1514–1520. <https://doi.org/10.1086/320588>

Buxbaum, J. D., Silverman, J., Keddache, M., Smith, C. J., Hollander, E., Ramoz, N., & Reichert, J. G. (2004). Linkage analysis for autism in a subset families with obsessive-compulsive behaviors: evidence for an autism susceptibility gene on chromosome 1 and further support for susceptibility genes on chromosome 6 and 19. *Molecular psychiatry*, 9(2), 144–150. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001465>

Cantor, R. M., Kono, N., Duvall, J. A., Alvarez-Retuerto, A., Stone, J. L., Alarcón, M., Nelson, S. F., & Geschwind, D. H. (2005). Replication of autism

linkage: Fine-mapping peak at 17q21. *American Journal of Human Genetics*, 76(6), 1050–1056. <https://doi.org/10.1086/430278>

Collaborative Linkage Study of Autism. (2001). An autosomal genomic screen for autism. *Am J Med Genet*, 105(8):609-15. PMID: 11811142.

Fradin, D., Cheslack-Postava, K., Ladd-Acosta, C., Newschaffer, C., Chakravarti, A., Arking, D. E., Feinberg, A., & Fallin, M. D. (2010). Parent-of-origin effects in autism identified through genome-wide linkage analysis of 16,000 SNPs. *PloS one*, 5(9), e12513. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012513>

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>

IMGSAC (2001). A genomewide screen for autism: Strong evidence for linkage to chromosomes 2q, 7q, and 16p: International molecular genetic study of autism consortium. *American Journal of Human Genetics*, 69(3), 570–581. <https://doi.org/10.1086/323264>

Kilpinen, H., Ylisaukko-Oja, T., Rehnström, K., Gaál, E., Turunen, J. A., Kempas, E., Von Wendt, L., Varilo, T., & Peltonen, L. (2009). Linkage and linkage disequilibrium scan for autism loci in an extended pedigree from Finland. *Human Molecular Genetics*, 18(15), 2912–2921. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp229>

Kuo, P. H., Chuang, L. C., Su, M. H., Chen, C. H., Chen, C. H., Wu, J. Y., Yen, C. J., Wu, Y. Y., Liu, S. K., Chou, M. C., Chou, W. J., Chiu, Y. N., Tsai, W. C., & Gau, S. S. (2015). Genome-Wide Association Study for Autism Spectrum Disorder in Taiwanese Han Population. *PloS one*, 10(9), e0138695. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138695>

Liu, J., Nyholt, D. R., Magnussen, P., Parano, E., Pavone, P., Geschwind, D., Lord, C., Iversen, P., Hoh, J., Ott, J., Gilliam, T. C., & Autism Genetic Resource Exchange Consortium (2001). A genomewide screen for autism susceptibility

loci. *American journal of human genetics*, 69(2), 327–340.
<https://doi.org/10.1086/321980>

Liu, X. Q., Paterson, A. D., & Szatmari, P. (2008). Genome-wide Linkage Analyses of Quantitative and Categorical Autism Subphenotypes. *Biological Psychiatry*, 64(7), 561–570. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.05.023>

Liu, X., Shimada, T., Otowa, T., Wu, Y. Y., Kawamura, Y., Tochigi, M., Iwata, Y., Umekage, T., Toyota, T., Maekawa, M., Iwayama, Y., Suzuki, K., Kakiuchi, C., Kuwabara, H., Kano, Y., Nishida, H., Sugiyama, T., Kato, N., Chen, C. H., Mori, N., ... Gau, S. S. (2016). Genome-wide Association Study of Autism Spectrum Disorder in the East Asian Populations. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 9(3), 340–349.
<https://doi.org/10.1002/aur.1536>

Ma, D. Q., Cuccaro, M. L., Jaworski, J. M., Haynes, C. S., Stephan, D. A., Parod, J., Abramson, R. K., Wright, H. H., Gilbert, J. R., Haines, J. L., & Pericak-Vance, M. A. (2007). Dissecting the locus heterogeneity of autism: Significant linkage to chromosome 12q14. *Molecular Psychiatry*, 12(4), 376–384.
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001927>

McCauley, J. L., Li, C., Jiang, L., Olson, L. M., Crockett, G., Gainer, K., Folstein, S. E., Haines, J. L., & Sutcliffe, J. S. (2005). Genome-wide and Ordered-Subset linkage analyses provide support for autism loci on 17q and 19p with evidence of phenotypic and interlocus genetic correlates. *BMC medical genetics*, 6,1.
<https://doi.org/10.1186/1471-2350-6-1>

Molloy, C. A., Keddache, M., & Martin, L. J. (2005). Evidence for linkage on 21q and 7q in a subset of autism characterized by developmental regression. *Molecular psychiatry*, 10(8), 741–746.
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001691>

Philippe, A., Martinez M., Guilloud-Bataille M., Gillberg C., Råstam M., Sponheim E., Coleman M., Zappella M., Aschauer H., Van Maldergem (1999). Genome-wide scan for autism susceptibility genes. Paris Autism Research International Sibpair Study. *Human Molecular Genetics*, 8(5), 805–812.
<https://doi/10.1093/hmg/8.5.805>

Philippi, A., Roschmann, E., Tores, F., Lindenbaum, P., Benajou, A., Germain-Leclerc, L., Marcaillou, C., Fontaine, K., Vanpeene, M., Roy, S., Maillard, S., Decaulne, V., Saraiva, J. P., Brooks, P., Rousseau, F., & Hager, J. (2005). Haplotypes in the gene encoding protein kinase c-beta (PRKCB1) on chromosome 16 are associated with autism. *Molecular psychiatry*, 10(10), 950–960. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001704>

Piven, J., Vieland, V. J., Parlier, M., Thompson, A., O'Conner, I., Woodbury-Smith, M., Huang, Y., Walters, K. A., Fernandez, B., & Szatmari, P. (2013). A molecular genetic study of autism and related phenotypes in extended pedigrees. *Journal of neurodevelopmental disorders*, 5(1), 30. <https://doi.org/10.1186/1866-1955-5-30>

Risch, N., Spiker, D., Lotspeich, L., Nouri, N., Hinds, D., Hallmayer, J., Kalaydjieva, L., McCague, P., Dimiceli, S., Pitts, T., Nguyen, L., Yang, J., Harper, C., Thorpe, D., Vermeer, S., Young, H., Hebert, J., Lin, A., Ferguson, J., ... Myers, R. M. (1999). A genomic screen of autism: Evidence for a multilocus etiology. *American Journal of Human Genetics*, 65(2), 493–507. <https://doi.org/10.1086/302497>

Schellenberg, G. D., Dawson, G., Sung, Y. J., Estes, A., Munson, J., Rosenthal, E., Rothstein, J., Flodman, P., Smith, M., Coon, H., Leong, L., Yu, C. E., Stodgell, C., Rodier, P. M., Spence, M. A., Minshew, N., McMahon, W. M., & Wijsman, E. M. (2006). Evidence for multiple loci from a genome scan of autism kindreds. *Molecular Psychiatry*, 11(11), 1049–1060. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001874>

Shao, Y., Wolpert, C. M., Raiford, K. L., Menold, M. M., Donnelly, S. L., Ravan, S. A., Bass, M. P., McClain, C., Von Wendt, L., Vance, J. M., Abramson, R. H., Wright, H. H., Ashley-Koch, A., Gilbert, J. R., DeLong, R. G., Cuccaro, M. L., & Pericak-Vance, M. A. (2002). Genomic screen and follow-up analysis for autistic disorder. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 114(1), 99–105. <https://doi.org/10.1002/ajmg.10153>

Stone, J. L., Merriman, B., Cantor, R. M., Yonan, A. L., Gilliam, T. C., Geschwind, D. H., & Nelson, S. F. (2004). Evidence for sex-specific risk alleles in autism spectrum disorder. *American journal of human genetics*, 75(6), 1117–1123.

<https://doi.org/10.1086/426034>

Szatmari, P., Paterson, A. D., Zwaigenbaum, L., Roberts, W., Brian, J., Liu, X. Q., Vincent, J. B., Skaug, J. L., Thompson, A. P., Senman, L., Feuk, L., Qian, C., Bryson, S. E., Jones, M. B., Marshall, C. R., Scherer, S. W., Vieland, V. J., Bartlett, C., Mangin, L. V., ... Meyer, K. J. (2007). Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements. *Nature genetics*, 39(3), 319–328. <https://doi.org/10.1038/ng1985>

Wang, K., Zhang, H., Ma, D., Bucan, M., Glessner, J. T., Abrahams, B. S., Salyakina, D., Imielinski, M., Bradfield, J. P., Sleiman, P. M., Kim, C. E., Hou, C., Frackelton, E., Chiavacci, R., Takahashi, N., Sakurai, T., Rappaport, E., Lajonchere, C. M., Munson, J., Estes, A., ... Hakonarson, H. (2009). Common genetic variants on 5p14.1 associate with autism spectrum disorders. *Nature*, 459(7246), 528–533. <https://doi.org/10.1038/nature07999>

Wassink, T. H., Vieland, V. J., Sheffield, V. C., Bartlett, C. W., Goedken, R., Childress, D., & Piven, J. (2008). Posterior probability of linkage analysis of autism dataset identifies linkage to chromosome 16. *Psychiatric genetics*, 18(2), 85–91. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e3282f9b48e>

Werling, D. M., Lowe, J. K., Luo, R., Cantor, R. M., & Geschwind, D. H. (2014). Replication of linkage at chromosome 20p13 and identification of suggestive sex-differential risk loci for autism spectrum disorder. *Molecular Autism*, 5(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-5-13>

Weiss, L. A., Arking, D. E., Gene Discovery Project of Johns Hopkins & the Autism Consortium, Daly, M. J., & Chakravarti, A. (2009). A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature*, 461(7265), 802–808. <https://doi.org/10.1038/nature08490>

Woodbury-Smith, M., Paterson, A. D., O'Connor, I., Zarrei, M., Yuen, R. K. C., Howe, J. L., Thompson, A., Parlier, M., Fernandez, B., Piven, J., Scherer, S. W., Vieland, V., & Szatmari, P. (2018). A genome-wide linkage study of autism spectrum disorder and the broad autism phenotype in extended pedigrees. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s11689-018-9238-9>

Ylisaukko-Oja, T., Nieminen-Von Wendt, T., Kempas, E., Sarenius, S., Varilo, T., Von Wendt, L., Peltonen, L., & Järvelä, I. (2004). Genome-wide scan for loci of Asperger syndrome. *Molecular Psychiatry*, 9(2), 161–168. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001385>

Yonan, A. L., Alarcón, M., Cheng, R., Magnusson, P. K. E., Spence, S. J., Palmer, A. A., Grunn, A., Juo, S. H. H., Terwilliger, J. D., Liu, J., Cantor, R. M., Geschwind, D. H., & Gilliam, T. C. (2003). A Genomewide Screen of 345 Families for Autism-Susceptibility Loci. *American Journal of Human Genetics*, 73(4), 886–897. <https://doi.org/10.1086/378778>

Xia, K., Guo, H., Hu, Z., Xun, G., Zuo, L., Peng, Y., Wang, K., He, Y., Xiong, Z., Sun, L., Pan, Q., Long, Z., Zou, X., Li, X., Li, W., Xu, X., Lu, L., Liu, Y., Hu, Y., Tian, D., ... Zhang, F. (2014). Common genetic variants on 1p13.2 associate with risk of autism. *Molecular psychiatry*, 19(11), 1212–1219. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.146>

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. American Psychiatric Association. (2000). Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR (4th ed., text revision). Washington, DC: Author.
2. Lai, M.-C., Lombardo, M. V., and Baron-Cohen, S. (2014). Autism. *Lancet* 383, 896 -910. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61539-1
3. Dawson, G., Rogers, S., Munson, J., Smith, M., Winter, J., Greenson, J., Donaldson, A., & Varley, J. (2010). Randomized, controlled trial of an intervention for toddlers with autism: the Early Start Denver Model. *Pediatrics*, 125(1), e17–e23. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-0958>
4. Rogers, S. J., & Vismara, L. A. (2008). Evidence-based comprehensive treatments for early autism. *Journal of clinical child and adolescent psychology : the official journal for the Society of Clinical Child and Adolescent Psychology, American Psychological Association, Division 53*, 37(1), 8–38. <https://doi.org/10.1080/15374410701817808>
5. Vismara, L. A., & Rogers, S. J. (2010). Behavioral treatments in autism spectrum disorder: what do we know?. *Annual review of clinical psychology*, 6, 447–468. <https://doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.121208.131151>
6. Korf B.R. & Irons M.B. (2013). *Human Genetics and Genomics*-4th Edition-Wiley-Blackwell.
7. Reich, D. E., Gabriel, S. B., & Altshuler, D. (2003). Quality and completeness of SNP databases. *Nature genetics*, 33(4), 457–458. <https://doi.org/10.1038/ng1133>
8. Khoury, M.J. et al (2013). *Human Genome Epidemiology-Building the Evidence for Using Genetic Information to Improve Health and Prevent Disease*, 2nd Edition, Oxford University Press.
9. Συνοδινού, Κ. (1999). Παιδικός Αυτισμός ,Θεραπευτική προσέγγιση. Εκδόσεις Καστανιώτη, Αθήνα.
10. Happé F. (2003). Theory of mind and the self. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1001, 134–144. <https://doi.org/10.1196/annals.1279.008>
11. Καραντάνος, Γ. & Φρανσίζ, Κ. (2003). Αυτισμός-Διάχυτες Αναπτυξιακές Διαταραχές. Ίδρυμα παιδί «Η Παμμακάριστος». Διαθέσιμο στο διαδικτυακό

ιστότοπο:http://repository.edulll.gr/edulll/bitstream/10795/786/25/786_04_02_autism_karadanos_francis.pdf, πρόσβαση 29-02-2020.

12. Παπαγάλου, Α. (2014). Θεραπευτικές παρεμβάσεις στη Διαταραχή του Αυτιστικού Φάσματος: βιβλιογραφική ανασκόπηση.
13. American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5)*, 5th ed.; American Psychiatric Association: Washington, DC, USA.
14. Hyman S. L., Levy S. E., & Myers S. M. (2020). Identification, Evaluation, and Management of Children With Autism Spectrum Disorder. *Pediatrics*, 145(1), e20193447. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-3447>
15. Frith, U. (1999). Paradoxes in the definition of dyslexia. *Dyslexia: An International Journal of Research and Practice*, 5, 192–214.
16. Goldman, S., & DeNigris, D. (2015). Parents' strategies to elicit autobiographical memories in autism spectrum disorders, developmental language disorders and typically developing children. *Journal of autism and developmental disorders*, 45(5), 1464–1473. <https://doi.org/10.1007/s10803-014-2271-y>
17. Leekam, S. R., & Ramsden, C. A. (2006). Dyadic orienting and joint attention in preschool children with autism. *Journal of autism and developmental disorders*, 36(2), 185–197. <https://doi.org/10.1007/s10803-005-0054-1>
18. Mundy, P., Sigman, M., Ungerer, J., & Sherman, T. (1986). Defining the social deficits of autism: the contribution of non-verbal communication measures. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 27(5), 657–669. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1986.tb00190.x>
19. Baron-Cohen, S. (2008). *Facts: Autism and Asperger syndrome* (2nd ed.). Oxford: Oxford University Press.
20. Hobson, P. (2005). Autism and emotion. In F. R. Volkmar, R. Paul, A. Klin, & D. Cohen (Eds.), *Handbook of autism and pervasive developmental disorders* (3rd ed., 406–422). Hoboken, NJ: Wiley.
21. Klin, A., Lin, D. J., Gorrindo, P., Ramsay, G., & Jones, W. (2009). Two-year-olds with autism orient to non-social contingencies rather than biological motion. *Nature*, 459(7244), 257–261. <https://doi.org/10.1038/nature07868>
22. Shaked, M., Yirmiya, N. (2003). Understanding social difficulties. In Prior, M. (Eds.), *Learning and behavior problems in Asperger syndrome* (pp. 126–147). New York, NY: Guilford Press.

23. Estes, A., Olson, E., Sullivan, K., Greenson, J., Winter, J., Dawson, G., & Munson, J. (2013). Parenting-related stress and psychological distress in mothers of toddlers with autism spectrum disorders. *Brain & development*, 35(2), 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2012.10.004>
24. Hall, H. R., & Graff, J. C. (2012). Maladaptive behaviors of children with autism: parent support, stress, and coping. *Issues in comprehensive pediatric nursing*, 35(3-4), 194–214. <https://doi.org/10.3109/01460862.2012.734210>
25. Keen, D., Rodger, S., Doussin, K., & Braithwaite, M. (2007). A pilot study of the effects of a social-pragmatic intervention on the communication and symbolic play of children with autism. *Autism : the international journal of research and practice*, 11(1), 63–71. <https://doi.org/10.1177/1362361307070901>
26. McStay, R. L., Dissanayake, C., Scheeren, A., Koot, H. M., & Begeer, S. (2014). Parenting stress and autism: the role of age, autism severity, quality of life and problem behaviour of children and adolescents with autism. *Autism : the international journal of research and practice*, 18(5), 502–510. <https://doi.org/10.1177/1362361313485163>
27. Oono, I. P., Honey, E. J., & McConachie, H. (2013). Parent-mediated early intervention for young children with autism spectrum disorders (ASD). *The Cochrane database of systematic reviews*, (4), CD009774. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009774.pub2>
28. Doussard-Roosevelt, J. A., Joe, C. M., Bazhenova, O. V., & Porges, S. W. (2003). Mother-child interaction in autistic and nonautistic children: characteristics of maternal approach behaviors and child social responses. *Development and psychopathology*, 15(2), 277–295. <https://doi.org/10.1017/s0954579403000154>
29. Howlin, P., & Rutter, M. (1989). Mothers' speech to autistic children: a preliminary causal analysis. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 30(6), 819–843. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1989.tb00285.x>
30. Watson L. R. (1998). Following the child's lead: mothers' interactions with children with autism. *Journal of autism and developmental disorders*, 28(1), 51–59. <https://doi.org/10.1023/a:1026063003289>
31. Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2008 Principal Investigators, & Centers for Disease Control and Prevention (2012). Prevalence of autism spectrum disorders--Autism and

Developmental Disabilities Monitoring Network, 14 sites, United States, 2008. *Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries (Washington, D.C. : 2002)*, 61(3), 1–19.

32. Roth, I. & Rezaie, P. (2011). Introduction. In I. Roth & P. Rezaie (Eds.), *Researching the autism spectrum*.

33. Κασίδης, Δ. (2016). Η δυνατότητα εκπαίδευσης παιδιών στο φάσμα του αυτισμού στο γενικό πρωτοβάθμιο σχολείο. *Μειονεκτήματα-Πλεονεκτήματα-Προκλήσεις-Προοπτικές*. Πανελλήνιο Συνέδριο Επιστημών Εκπαίδευσης.

34. Peeters, T. (2000). Αυτισμός: Από τη θεωρητική κατανόηση στην εκπαιδευτική παρέμβαση

35. Happe, F. (1998). Αυτισμός. Εξηγώντας Το Αίνιγμα (3η έκδοση), *Ελληνικά Γράμματα*, Αθήνα.

36. Κωνστανταρέα, Μ. (1986). Παιδικός αυτισμός στο, Τσιάντης Ι., *Σύγχρονα Θέματα Παιδοψυχιατρικής*, β' Εκδόσεις Καστανιώτη, Αθήνα.

37. Huguet, G., Ey, E., & Bourgeron, T. (2013). The genetic landscapes of autism spectrum disorders. *Annual review of genomics and human genetics*, 14, 191–213. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-091212-153431>

38. 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>

39. Lord, C., Rutter, M., & Le Couteur, A. (1994). Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *Journal of autism and developmental disorders*, 24(5), 659–685. <https://doi.org/10.1007/BF02172145>

40. Wing, L., Leekam, S. R., Libby, S. J., Gould, J., & Larcombe, M. (2002). The Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders: background, inter-rater reliability and clinical use. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 43(3), 307–325. <https://doi.org/10.1111/1469-7610.00023>

41. Παπαγεωργίου ΒΑ. Εκτεταμένες Διαταραχές της Ανάπτυξης: Πλαίσιο Διάγνωσης και Αξιολόγησης – Διαγνωστικές Δοκιμασίες. *Νέα Παιδιατρικά Χρονικά* 2001;1(2):141-149.

42. Cumine, V., Leach, J., & Stevenson, G. (2000). *Autism in the early years*. New York: David Fulton.
43. Παπαγεωργίου ΒΑ. Ψυχιατρική παιδιών και εφήβων. University Studio Press, Θεσσαλονίκη, Ελλάς, 2005:123-142.
44. Kuhn, R. (2004). Eugen Bleuler's concepts of psychopathology. *History of Psychiatry* 15(3), 361–366.
45. Asperger, H. (1944). Die “Autistischen Psychopathen” im Kindesalter. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 117, 76–136; translated and annotated as: Autistic psychopathy in childhood. In: Frith, U (ed.) *Autism and Asperger Syndrome* (1991). Cambridge: Cambridge University Press, 37–92
46. Kanner, L. (1943) Autistic disturbances of affective contact. *The Nervous Child*, 2, 217–250.
47. Wing, L. (1997). The history of ideas on autism: legends, myths and reality. *Autism*, 1, 13–23.
48. Lotter V. (1978). Childhood autism in africa. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 19(3), 231–244.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1978.tb00466.x>
49. Bakare, M. O., & Munir, K. M. (2011). Autism spectrum disorders (ASD) in Africa: a perspective. *African journal of psychiatry*, 14(3), 208–210.
<https://doi.org/10.4314/ajpsy.v14i3.3>
50. Γκόγκου, Ρ. (2016). Κώστας Καλαντζής (1911-1988): Παιδαγωγός, δάσκαλος, μεταρρυθμιστής της Ειδικής Αγωγής στην Ελλάδα. Διπλωματική Εργασία, Φιλοσοφική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
51. Moreno S. J. & Donellan, A. M. (2001). Άτομα με αυτισμό υψηλής λειτουργικότητας: συμβουλές και πληροφορίες για τους γονείς και άλλους που νοιάζονται, σ.σ. 17-18. Εκδόσεις Ελληνικά Γράμματα, Αθήνα.
52. Eysenck, H. J. (1990). *Rebel with a Cause: The Autobiography of H. J. Eysenck*. London: W. H. Allen.
53. ΔΙ.ΚΕ.Ψ.Υ. (2010). Μετεκπαίδευση στην Πρώιμη παρέμβαση σε Παιδιά με Δ.Α.Δ.
54. Μπεζεβέγκης, Η. (1989). Θέματα Εξελικτικής Ψυχολογίας. Αθήνα.
55. Κυπριωτάκης, Β. (1995). Τα Αυτιστικά Παιδιά και η Αγωγή τους. Ηράκλειο.

56. Wing, L. (2000). Το Αυτιστικό Φάσμα. Μετάφραση: Παντελής, Πρώιος. (2000). Εκδόσεις Ελληνική Εταιρία Προστασίας Αυτιστικών Ατόμων, Αθήνα.
57. Baxter, A. J., Brugha, T. S., Erskine, H. E., Scheurer, R. W., Vos, T., & Scott, J. G. (2015). The epidemiology and global burden of autism spectrum disorders. *Psychological medicine*, 45(3), 601–613. <https://doi.org/10.1017/S003329171400172X>
58. Elsabbagh, M., Divan, G., Koh, Y. J., Kim, Y. S., Kauchali, S., Marcin, C., Montiel-Nava, C., Patel, V., Paula, C. S., Wang, C., Yasamy, M. T., & Fombonne, E. (2012). Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 5(3), 160–179. <https://doi.org/10.1002/aur.239>
59. Kim, Y. S., Leventhal, B. L., Koh, Y. J., Fombonne, E., Laska, E., Lim, E. C., Cheon, K. A., Kim, S. J., Kim, Y. K., Lee, H., Song, D. H., & Grinker, R. R. (2011). Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *The American journal of psychiatry*, 168(9), 904–912. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.10101532>
60. Atladóttir, H. Ó., Henriksen, T. B., Schendel, D. E., & Parner, E. T. (2012). Autism after infection, febrile episodes, and antibiotic use during pregnancy: an exploratory study. *Pediatrics*, 130(6), e1447–e1454. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1107>
61. Idring, S., Lundberg, M., Sturm, H., Dalman, C., Gumpert, C., Rai, D., Lee, B. K., & Magnusson, C. (2015). Changes in prevalence of autism spectrum disorders in 2001-2011: findings from the Stockholm youth cohort. *Journal of autism and developmental disorders*, 45(6), 1766–1773. <https://doi.org/10.1007/s10803-014-2336-y>
62. Hansen, S. N., Schendel, D. E., & Parner, E. T. (2015). Explaining the increase in the prevalence of autism spectrum disorders: the proportion attributable to changes in reporting practices. *JAMA pediatrics*, 169(1), 56–62. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2014.1893>
63. McDonald, M. E., & Paul, J. F. (2010). Timing of increased autistic disorder cumulative incidence. *Environmental Science & Technology*, 44(6), 2112–2118. <https://doi.org/10.1021/es902057k>

64. Zaroff, C. M., & Uhm, S. Y. (2012). Prevalence of autism spectrum disorders and influence of country of measurement and ethnicity. *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, 47(3), 395–398. <https://doi.org/10.1007/s00127-011-0350-3>
65. Brugha, T. S., McManus, S., Bankart, J., Scott, F., Purdon, S., Smith, J., Bebbington, P., Jenkins, R., & Meltzer, H. (2011). Epidemiology of autism spectrum disorders in adults in the community in England. *Archives of general psychiatry*, 68(5), 459–465. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.38>
66. Colvert, E., Tick, B., McEwen, F., Stewart, C., Curran, S. R., Woodhouse, E., Gillan, N., Hallett, V., Lietz, S., Garnett, T., Ronald, A., Plomin, R., Rijsdijk, F., Happé, F., & Bolton, P. (2015). Heritability of Autism Spectrum Disorder in a UK Population-Based Twin Sample. *JAMA psychiatry*, 72(5), 415–423. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2014.3028>
67. Hallmayer, J., Cleveland, S., Torres, A., Phillips, J., Cohen, B., Torigoe, T., Miller, J., Fedele, A., Collins, J., Smith, K., Lotspeich, L., Croen, L. A., Ozonoff, S., Lajonchere, C., Grether, J. K., & Risch, N. (2011). Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Archives of general psychiatry*, 68(11), 1095–1102. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.76>
68. Folstein, S., & Rutter, M. (1977). Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 18(4), 297–321. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1977.tb00443.x>
69. Tick, B., Bolton, P., Happé, F., Rutter, M., & Rijsdijk, F. (2016). Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 57(5), 585–595. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12499>
70. Rosenberg, R. E., Law, J. K., Yenokyan, G., McGready, J., Kaufmann, W. E., & Law, P. A. (2009). Characteristics and concordance of autism spectrum disorders among 277 twin pairs. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 163(10), 907–914. <https://doi.org/10.1001/archpediatrics.2009.98>
71. Grønberg, T. K., Schendel, D. E., & Parner, E. T. (2013). Recurrence of autism spectrum disorders in full-and half-siblings and trends over time: A population-based cohort study. *JAMA pediatrics*, 167(10), 947–953. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2013.2259>

72. Sandin, S., Lichtenstein, P., Kuja-Halkola, R., Larsson, H., Hultman, C. M., & Reichenberg, A. (2014). The familial risk of autism. *JAMA*, 311(17), 1770–1777. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.4144>
73. Ozonoff, S., Young, G. S., Carter, A., Messinger, D., Yirmiya, N., Zwaigenbaum, L., Bryson, S., Carver, L. J., Constantino, J. N., Dobkins, K., Hutman, T., Iverson, J. M., Landa, R., Rogers, S. J., Sigman, M., & Stone, W. L. (2011). Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study. *Pediatrics*, 128(3), e488–e495. <https://doi.org/10.1542/peds.2010-2825>
74. Bourgeron T. (2015). From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nature reviews. Neuroscience*, 16(9), 551–563. <https://doi.org/10.1038/nrn3992>
75. de la Torre-Ubieta, L., Won, H., Stein, J. L., & Geschwind, D. H. (2016). Advancing the understanding of autism disease mechanisms through genetics. *Nature medicine*, 22(4), 345–361. <https://doi.org/10.1038/nm.4071>
76. 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>
77. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2013). Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet (London, England)*, 381(9875), 1371–1379. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)62129-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)62129-1)
78. Γενά, Α. (2002). Αυτισμός και Διάχυτες Αναπτυξιακές Διαταραχές: Αξιολόγηση – διάγνωση – αντιμετώπιση. Αθήνα.
79. Frith, U. (2009). Αυτισμός. Εξηγώντας το αίνιγμα. 7^η Έκδοση, Ελληνικά Γράμματα, Αθήνα.
80. Wing, L. (1988). The continuum of autistic disorders. In E. Schopler & G.M. Mesihov (Eds.), *Diagnosis and Assessment In Autism*, .91-110. New York: Plenu
81. Δροσινού, Μ. (2000). Μουσικοκινητική διδακτική παρέμβαση στο ειδικό σχολείο. Α' Μέρος. Θέματα ειδικής αγωγής.

82. Yeh E, Weiss LA, If genetic variation could talk: What genomic data may teach us about the importance of gene expression regulation in the genetics of autism, *Molecular and Cellular Probes* (2016), doi: 10.1016/j.mcp.2016.10.007
83. Bodmer, W., & Bonilla, C. (2008). Common and rare variants in multifactorial susceptibility to common diseases. *Nature genetics*, 40(6), 695–701. <https://doi.org/10.1038/ng.f.136>
84. Genovese, A., & Butler, M. G. (2020). Clinical Assessment, Genetics, and Treatment Approaches in Autism Spectrum Disorder (ASD). *International journal of molecular sciences*, 21(13), 4726. <https://doi.org/10.3390/ijms21134726>
85. Geschwind, D. H., & State, M. W. (2015). Gene hunting in autism spectrum disorder: on the path to precision medicine. *The Lancet. Neurology*, 14(11), 1109–1120. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00044-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00044-7)
86. Rosti, R. O., Sadek, A. A., Vaux, K. K., & Gleeson, J. G. (2014). The genetic landscape of autism spectrum disorders. *Developmental medicine and child neurology*, 56(1), 12–18. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12278>
87. Chaste, P., & Leboyer, M. (2012). Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions. *Dialogues in clinical neuroscience*, 14(3), 281–292. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2012.14.3/pchaste>
88. Marshall, C. R., Noor, A., Vincent, J. B., Lionel, A. C., Feuk, L., Skaug, J., Shago, M., Moessner, R., Pinto, D., Ren, Y., Thiruvahindrapduram, B., Fiebig, A., Schreiber, S., Friedman, J., Ketelaars, C. E., Vos, Y. J., Ficicioglu, C., Kirkpatrick, S., Nicolson, R., Sloman, L., ... Scherer, S. W. (2008). Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. *American journal of human genetics*, 82(2), 477–488. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.12.009>
89. 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>
90. Miles J. H. (2011). Autism spectrum disorders--a genetics review. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 13(4), 278–294. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181ff67ba>

91. Castermans, D., Wilquet, V., Steyaert, J., Van de Ven, W., Fryns, J. P., & Devriendt, K. (2004). Chromosomal anomalies in individuals with autism: a strategy towards the identification of genes involved in autism. *Autism : the international journal of research and practice*, 8(2), 141–161. <https://doi.org/10.1177/1362361304042719>
92. Leblond, C. S., Heinrich, J., Delorme, R., Proepper, C., Betancur, C., Huguet, G., Konyukh, M., Chaste, P., Ey, E., Rastam, M., Anckarsäter, H., Nygren, G., Gillberg, I. C., Melke, J., Toro, R., Regnault, B., Fauchereau, F., Mercati, O., Lemièrre, N., Skuse, D., ... Bourgeron, T. (2012). Genetic and functional analyses of SHANK2 mutations suggest a multiple hit model of autism spectrum disorders. *PLoS genetics*, 8(2), e1002521. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002521>
93. Thomas, J. A., Johnson, J., Peterson Kraai, T. L., Wilson, R., Tartaglia, N., LeRoux, J., Beischel, L., McGavran, L., & Hagerman, R. J. (2003). Genetic and clinical characterization of patients with an interstitial duplication 15q11-q13, emphasizing behavioral phenotype and response to treatment. *American journal of medical genetics. Part A*, 119A(2), 111–120. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.10176>
94. Buxbaum, J. D., Silverman, J. M., Smith, C. J., Greenberg, D. A., Kilifarski, M., Reichert, J., Cook, E. H., Jr, Fang, Y., Song, C. Y., & Vitale, R. (2002). Association between a GABRB3 polymorphism and autism. *Molecular psychiatry*, 7(3), 311–316. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001011>
95. Menold, M. M., Shao, Y., Wolpert, C. M., Donnelly, S. L., Raiford, K. L., Martin, E. R., Ravan, S. A., Abramson, R. K., Wright, H. H., Delong, G. R., Cuccaro, M. L., Pericak-Vance, M. A., & Gilbert, J. R. (2001). Association analysis of chromosome 15 gabaa receptor subunit genes in autistic disorder. *Journal of neurogenetics*, 15(3-4), 245–259. <https://doi.org/10.3109/01677060109167380>
96. Bucan, M., Abrahams, B. S., Wang, K., Glessner, J. T., Herman, E. I., Sonnenblick, L. I., Alvarez Retuerto, A. I., Imielinski, M., Hadley, D., Bradfield, J. P., Kim, C., Gidaya, N. B., Lindquist, I., Hutman, T., Sigman, M., Kustanovich, V., Lajonchere, C. M., Singleton, A., Kim, J., Wassink, T. H., ... Hakonarson, H. (2009). Genome-wide analyses of exonic copy number variants in a family-based study point to novel autism susceptibility genes. *PLoS genetics*, 5(6), e1000536. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000536>
97. Puffenberger, E. G., Jinks, R. N., Wang, H., Xin, B., Fiorentini, C., Sherman, E. A., Degrazio, D., Shaw, C., Sougnez, C., Cibulskis, K., Gabriel, S.,

Kelley, R. I., Morton, D. H., & Strauss, K. A. (2012). A homozygous missense mutation in HERC2 associated with global developmental delay and autism spectrum disorder. *Human mutation*, 33(12), 1639–1646. <https://doi.org/10.1002/humu.22237>

98. Nishimura, Y., Martin, C. L., Vazquez-Lopez, A., Spence, S. J., Alvarez-Retuerto, A. I., Sigman, M., Steindler, C., Pellegrini, S., Schanen, N. C., Warren, S. T., & Geschwind, D. H. (2007). Genome-wide expression profiling of lymphoblastoid cell lines distinguishes different forms of autism and reveals shared pathways. *Human molecular genetics*, 16(14), 1682–1698. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm116>

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

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

101. Berg, J. S., Brunetti-Pierri, N., Peters, S. U., Kang, S. H., Fong, C. T., Salamone, J., Freedenberg, D., Hannig, V. L., Prock, L. A., Miller, D. T., Raffalli, P., Harris, D. J., Erickson, R. P., Cunniff, C., Clark, G. D., Blazo, M. A., Peiffer, D. A., Gunderson, K. L., Sahoo, T., Patel, A., ... Cheung, S. W. (2007). Speech delay and autism spectrum behaviors are frequently associated with duplication of the 7q11.23 Williams-Beuren syndrome region. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 9(7), 427–441. <https://doi.org/10.1097/gim.0b013e3180986192>

102. van Rijn, S., Swaab, H., Aleman, A., & Kahn, R. S. (2008). Social behavior and autism traits in a sex chromosomal disorder: Klinefelter (47XXY) syndrome. *Journal of autism and developmental disorders*, 38(9), 1634–1641. <https://doi.org/10.1007/s10803-008-0542-1>

103. Vorstman, J., Morcus, M., Duijff, S. N., Klaassen, P., Heineman-de Boer, J. A., Beemer, F. A., Swaab, H., Kahn, R. S., & van Engeland, H. (2006). The 22q11.2 deletion in children: high rate of autistic disorders and early onset of

psychotic symptoms. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 45(9), 1104–1113. <https://doi.org/10.1097/01.chi.0000228131.56956.c1>

104. Carter, M. T., & Scherer, S. W. (2013). Autism spectrum disorder in the genetics clinic: a review. *Clinical genetics*, 83(5), 399–407. <https://doi.org/10.1111/cge.12101>

105. Bailey, A., Bolton, P., Butler, L., Le Couteur, A., Murphy, M., Scott, S., Webb, T., & Rutter, M. (1993). Prevalence of the fragile X anomaly amongst autistic twins and singletons. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 34(5), 673–688. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1993.tb01064.x>

106. James, S. J., Melnyk, S., Jernigan, S., Cleves, M. A., Halsted, C. H., Wong, D. H., Cutler, P., Bock, K., Boris, M., Bradstreet, J. J., Baker, S. M., & Gaylor, D. W. (2006). Metabolic endophenotype and related genotypes are associated with oxidative stress in children with autism. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 141B(8), 947–956. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30366>

107. Frye, R. E., & Rossignol, D. A. (2011). Mitochondrial dysfunction can connect the diverse medical symptoms associated with autism spectrum disorders. *Pediatric research*, 69(5 Pt 2), 41R–7R. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318212f16b>

108. Butler, M. G., Rafi, S. K., & Manzardo, A. M. (2015). High-resolution chromosome ideogram representation of currently recognized genes for autism spectrum disorders. *International journal of molecular sciences*, 16(3), 6464–6495. <https://doi.org/10.3390/ijms16036464>

109. Volk HE, Kerin T, Lurmann F, Hertz-Picciotto I, McConnell R, Campbell DB. Autism spectrum disorder: interaction of air pollution with the MET receptor tyrosine kinase gene. *Epidemiology*. 2014 Jan;25(1):44-7. doi: 10.1097/EDE.0000000000000030. PMID: 24240654; PMCID: PMC4019012.

110. Schmidt, R. J., Hansen, R. L., Hartiala, J., Allayee, H., Schmidt, L. C., Tancredi, D. J., Tassone, F., & Hertz-Picciotto, I. (2011). Prenatal vitamins, one-carbon metabolism gene variants, and risk for autism. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 22(4), 476–485. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e31821d0e30>

111. Mukherjee, R.A.S., Wray, E., Commers, M., Hollins, S. & Curfs, L. (2013). The impact of raising a child with FASD upon carers: Findings from a mixed methodology study in the UK. *Journal of Adoption and Fostering*, 37, 43-56.

112. Mazina, V., Gerds, J., Trinh, S., Ankenman, K., Ward, T., Dennis, M. Y., Girirajan, S., Eichler, E. E., & Bernier, R. (2015b). Epigenetics of autism-related impairment: copy number variation and maternal infection. *Journal of developmental and behavioral pediatrics* : *JDBP*, 36(2), 61–67. <https://doi.org/10.1097/DBP.0000000000000126>
113. Guinchat, V., Thorsen, P., Laurent, C., Cans, C., Bodeau, N., & Cohen, D. (2012). Pre-, peri- and neonatal risk factors for autism. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 91(3), 287–300. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0412.2011.01325.x>
114. Tordjman, S., Somogyi, E., Coulon, N., Kermarrec, S., Cohen, D., Bronsard, G., Bonnot, O., Weismann-Arcache, C., Botbol, M., Lauth, B., Ginchat, V., Roubertoux, P., Barburth, M., Kovess, V., Geoffray, M. M., & Xavier, J. (2014). Gene × Environment interactions in autism spectrum disorders: role of epigenetic mechanisms. *Frontiers in psychiatry*, 5, 53. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2014.00053>
115. Ladd-Acosta, C., & Fallin, M. D. (2016). The role of epigenetics in genetic and environmental epidemiology. *Epigenomics*, 8(2), 271–283. <https://doi.org/10.2217/epi.15.102>
116. Liu, X., & Takumi, T. (2014). Genomic and genetic aspects of autism spectrum disorder. *Biochemical and biophysical research communications*, 452(2), 244–253. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.08.108>
117. Ladd-Acosta, C., Shu, C., Lee, B. K., Gidaya, N., Singer, A., Schieve, L. A., Schendel, D. E., Jones, N., Daniels, J. L., Windham, G. C., Newschaffer, C. J., Croen, L. A., Feinberg, A. P., & Daniele Fallin, M. (2016). Presence of an epigenetic signature of prenatal cigarette smoke exposure in childhood. *Environmental research*, 144(Pt A), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.11.014>
118. Joubert, B. R., Felix, J. F., Yousefi, P., Bakulski, K. M., Just, A. C., Breton, C., Reese, S. E., Markunas, C. A., Richmond, R. C., Xu, C. J., Küpers, L. K., Oh, S. S., Hoyo, C., Gruzieva, O., Söderhäll, C., Salas, L. A., Baiz, N., Zhang, H., Lepeule, J., Ruiz, C., ... London, S. J. (2016). DNA Methylation in Newborns and Maternal Smoking in Pregnancy: Genome-wide Consortium Meta-analysis. *American journal of human genetics*, 98(4), 680–696. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.02.019>
119. Pieretti, M., Zhang, F. P., Fu, Y. H., Warren, S. T., Oostra, B. A., Caskey, C. T., & Nelson, D. L. (1991). Absence of expression of the FMR-1 gene in

fragile X syndrome. *Cell*, 66(4), 817–822. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90125-i](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90125-i)

120. Ladd-Acosta, C., Hansen, K. D., Briem, E., Fallin, M. D., Kaufmann, W. E., & Feinberg, A. P. (2014). Common DNA methylation alterations in multiple brain regions in autism. *Molecular psychiatry*, 19(8), 862–871. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.114>

121. Shulha, HP, Cheung, I, Whittle, C, Wang, J, Virgil, D, et al. (2012). Epigenetic signatures of autism: trimethylated H3K4 landscapes in prefrontal neurons. *Archives of General Psychiatry*, 69, 314–324.

122. Mbadiwe, T., & Millis, R. M. (2013). Epigenetics and autism. *Autism research and treatment*, 2013, 826156. <https://doi.org/10.1155/2013/826156>

123. Freitag, C. M., Staal, W., Klauck, S. M., Duketis, E., & Waltes, R. (2010). Genetics of autistic disorders: review and clinical implications. *European child & adolescent psychiatry*, 19(3), 169–178. <https://doi.org/10.1007/s00787-009-0076-x>

124. Weiss, L. A., Arking, D. E., Gene Discovery Project of Johns Hopkins & the Autism Consortium, Daly, M. J., & Chakravarti, A. (2009). A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature*, 461(7265), 802–808. <https://doi.org/10.1038/nature08490>

125. Badner, J. A., & Gershon, E. S. (2002). Regional meta-analysis of published data supports linkage of autism with markers on chromosome 7. *Molecular psychiatry*, 7(1), 56–66. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000922>

126. Trikalinos, T. A., Karvouni, A., Zintzaras, E., Ylisaukko-oja, T., Peltonen, L., Järvelä, I., & Ioannidis, J. P. (2006). A heterogeneity-based genome search meta-analysis for autism-spectrum disorders. *Molecular psychiatry*, 11(1), 29–36. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001750>

127. Freitag C. M. (2007). The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. *Molecular psychiatry*, 12(1), 2–22. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001896>

128. Zintzaras, E., & Lau, J. (2008a). Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches. *Journal of clinical epidemiology*, 61(7), 634–645. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2007.12.011>

129. Balding D. J. (2006). A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nature reviews. Genetics*, 7(10), 781–791. <https://doi.org/10.1038/nrg1916>
130. Liu, X., Kawamura, Y., Shimada, T., Otowa, T., Koishi, S., Sugiyama, T., Nishida, H., Hashimoto, O., Nakagami, R., Tochigi, M., Umekage, T., Kano, Y., Miyagawa, T., Kato, N., Tokunaga, K., & Sasaki, T. (2010). Association of the oxytocin receptor (OXTR) gene polymorphisms with autism spectrum disorder (ASD) in the Japanese population. *Journal of human genetics*, 55(3), 137–141. <https://doi.org/10.1038/jhg.2009.140>
131. Arking, D. E., Cutler, D. J., Brune, C. W., Teslovich, T. M., West, K., Ikeda, M., Rea, A., Guy, M., Lin, S., Cook, E. H., & Chakravarti, A. (2008). A common genetic variant in the neurexin superfamily member CNTNAP2 increases familial risk of autism. *American journal of human genetics*, 82(1), 160–164. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.09.015>
132. Durand, C. M., Betancur, C., Boeckers, T. M., Bockmann, J., Chaste, P., Fauchereau, F., Nygren, G., Rastam, M., Gillberg, I. C., Anckarsäter, H., Sponheim, E., Goubran-Botros, H., Delorme, R., Chabane, N., Mouren-Simeoni, M. C., de Mas, P., Bieth, E., Rogé, B., Héron, D., Burglen, L., ... Bourgeron, T. (2007). Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nature genetics*, 39(1), 25–27. <https://doi.org/10.1038/ng1933>
133. 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>
134. Skol, A. D., Scott, L. J., Abecasis, G. R., & Boehnke, M. (2006). Joint analysis is more efficient than replication-based analysis for two-stage genome-wide association studies. *Nature genetics*, 38(2), 209–213. <https://doi.org/10.1038/ng1706>
135. Lauritsen, M. B., Als, T. D., Dahl, H. A., Flint, T. J., Wang, A. G., Vang, M., Kruse, T. A., Ewald, H., & Mors, O. (2006). A genome-wide search for alleles and haplotypes associated with autism and related pervasive developmental disorders on the Faroe Islands. *Molecular psychiatry*, 11(1), 37–46. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001754>

136. Wang, K., Zhang, H., Ma, D., Bucan, M., Glessner, J. T., Abrahams, B. S., Salyakina, D., Imielinski, M., Bradfield, J. P., Sleiman, P. M. A., Kim, C. E., Hou, C., Frackelton, E., Chiavacci, R., Takahashi, N., Sakurai, T., Rappaport, E., Lajonchere, C. M., Munson, J., ... Hakonarson, H. (2009). Common genetic variants on 5p14.1 associate with autism spectrum disorders. *Nature*, 459(7246), 528–533. <https://doi.org/10.1038/nature07999>
137. Anney, R., Klei, L., Pinto, D., Regan, R., Conroy, J., Magalhaes, T. R., Correia, C., Abrahams, B. S., Sykes, N., Pagnamenta, A. T., Almeida, J., Bacchelli, E., Bailey, A. J., Baird, G., Battaglia, A., Berney, T., Bolshakova, N., Bölte, S., Bolton, P. F., Bourgeron, T., ... Hallmayer, J. (2010). A genome-wide scan for common alleles affecting risk for autism. *Human molecular genetics*, 19(20), 4072–4082. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq307>
138. Anney, R., Klei, L., Pinto, D., Almeida, J., Bacchelli, E., Baird, G., Bolshakova, N., Bölte, S., Bolton, P. F., Bourgeron, T., Brennan, S., Brian, J., Casey, J., Conroy, J., Correia, C., Corsello, C., Crawford, E. L., de Jonge, M., Delorme, R., Duketis, E., ... Devlin, B. (2012). Individual common variants exert weak effects on the risk for autism spectrum disorders. *Human molecular genetics*, 21(21), 4781–4792. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds301>
139. Sebat, J., Lakshmi, B., Troge, J., Alexander, J., Young, J., Lundin, P., Månér, S., Massa, H., Walker, M., Chi, M., Navin, N., Lucito, R., Healy, J., Hicks, J., Ye, K., Reiner, A., Gilliam, T. C., Trask, B., Patterson, N., Zetterberg, A., ... Wigler, M. (2004). Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science (New York, N.Y.)*, 305(5683), 525–528. <https://doi.org/10.1126/science.1098918>
140. Glessner, J. T., Wang, K., Cai, G., Korvatska, O., Kim, C. E., Wood, S., Zhang, H., Estes, A., Brune, C. W., Bradfield, J. P., Imielinski, M., Frackelton, E. C., Reichert, J., Crawford, E. L., Munson, J., Sleiman, P. M., Chiavacci, R., Annaiah, K., Thomas, K., Hou, C., ... Hakonarson, H. (2009). Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes. *Nature*, 459(7246), 569–573. <https://doi.org/10.1038/nature07953>
141. Kumar, R. A., KaraMohamed, S., Sudi, J., Conrad, D. F., Brune, C., Badner, J. A., Gilliam, T. C., Nowak, N. J., Cook, E. H., Jr, Dobyns, W. B., & Christian, S. L. (2008). Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism. *Human molecular genetics*, 17(4), 628–638. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm376>

142. Sebat, J., Lakshmi, B., Malhotra, D., Troge, J., Lese-Martin, C., Walsh, T., Yamrom, B., Yoon, S., Krasnitz, A., Kendall, J., Leotta, A., Pai, D., Zhang, R., Lee, Y. H., Hicks, J., Spence, S. J., Lee, A. T., Puura, K., Lehtimäki, T., Ledbetter, D., ... Wigler, M. (2007). Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science* (New York, N.Y.), 316(5823), 445–449. <https://doi.org/10.1126/science.1138659>
143. Weiss, L. A., Shen, Y., Korn, J. M., Arking, D. E., Miller, D. T., Fossdal, R., Saemundsen, E., Stefansson, H., Ferreira, M. A., Green, T., Platt, O. S., Ruderfer, D. M., Walsh, C. A., Altshuler, D., Chakravarti, A., Tanzi, R. E., Stefansson, K., Santangelo, S. L., Gusella, J. F., Sklar, P., ... Autism Consortium (2008). Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism. *The New England journal of medicine*, 358(7), 667–675. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa075974>
144. Dong, S., Walker, M. F., Carriero, N. J., DiCola, M., Willsey, A. J., Ye, A. Y., Waqar, Z., Gonzalez, L. E., Overton, J. D., Frahm, S., Keaney, J. F., 3rd, Teran, N. A., Dea, J., Mandell, J. D., Hus Bal, V., Sullivan, C. A., DiLullo, N. M., Khalil, R. O., Gockley, J., Yuksel, Z., ... Sanders, S. J. (2014). De novo insertions and deletions of predominantly paternal origin are associated with autism spectrum disorder. *Cell reports*, 9(1), 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.068>
145. Iossifov, I., Ronemus, M., Levy, D., Wang, Z., Hakker, I., Rosenbaum, J., Yamrom, B., Lee, Y. H., Narzisi, G., Leotta, A., Kendall, J., Grabowska, E., Ma, B., Marks, S., Rodgers, L., Stepansky, A., Troge, J., Andrews, P., Bekritsky, M., Pradhan, K., ... Wigler, M. (2012). De novo gene disruptions in children on the autistic spectrum. *Neuron*, 74(2), 285–299. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.009>
146. Neale, B. M., Kou, Y., Liu, L., Ma'ayan, A., Samocha, K. E., Sabo, A., Lin, C. F., Stevens, C., Wang, L. S., Makarov, V., Polak, P., Yoon, S., Maguire, J., Crawford, E. L., Campbell, N. G., Geller, E. T., Valladares, O., Schafer, C., Liu, H., Zhao, T., ... Daly, M. J. (2012). Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature*, 485(7397), 242–245. <https://doi.org/10.1038/nature11011>
147. 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>

148. 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>

149. 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>

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

151. Willsey, A. J., Sanders, S. J., Li, M., Dong, S., Tebbenkamp, A. T., Muhle, R. A., Reilly, S. K., Lin, L., Fertuzinhos, S., Miller, J. A., Murtha, M. T., Bichsel, C., Niu, W., Cotney, J., Ercan-Sencicek, A. G., Gockley, J., Gupta, A. R., Han, W., He, X., Hoffman, E. J., ... State, M. W. (2013). Coexpression networks implicate human midfetal deep cortical projection neurons in the pathogenesis of autism. *Cell*, 155(5), 997–1007. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.020>

152. Gupta, S., Ellis, S. E., Ashar, F. N., Moes, A., Bader, J. S., Zhan, J., West, A. B., & Arking, D. E. (2014). Transcriptome analysis reveals dysregulation of innate immune response genes and neuronal activity-dependent genes in autism. *Nature communications*, 5, 5748. <https://doi.org/10.1038/ncomms6748>

153. Mancia M. (2006). Implicit memory and early unrepressed unconscious: their role in the therapeutic process (how the neurosciences can contribute to psychoanalysis). *The International journal of psycho-analysis*, 87(Pt 1), 83–103

154. Pally, R. (2000). The mind-brain relationship. London: Karnac Books. International Journal of Psychoanalysis Key Papers Series, 1ST edition.
155. Solms, M & Turnbull, O. (2002). The brain and the inner world: An introduction to the neuroscience of subjective experience. New York, NY: Other Press /Karnac.
156. Rhode M. (2012). Whose memories are they and where do they go? Problems surrounding internalization in children on the autistic spectrum. *The International journal of psycho-analysis*, 93(2), 355–376. <https://doi.org/10.1111/j.1745-8315.2011.00507.x>
157. Crane, L., & Goddard, L. (2008). Episodic and semantic autobiographical memory in adults with autism spectrum disorders. *Journal of autism and developmental disorders*, 38(3), 498–506. <https://doi.org/10.1007/s10803-007-0420-2>
158. Hare, D. J., Mellor, C., & Azmi, S. (2007). Episodic memory in adults with autistic spectrum disorders: recall for self- versus other-experienced events. *Research in developmental disabilities*, 28(3), 317–329. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2006.03.003>
159. Huguet, G., Benabou, M., & Bourgeron, T. (2016). The Genetics of Autism Spectrum Disorders. In P. Sassone-Corsi (Eds.) et. al., *A Time for Metabolism and Hormones*. (pp. 101–129). Springer.
160. Steffenburg, S., Gillberg, C., Hellgren, L., Andersson, L., Gillberg, I. C., Jakobsson, G., & Bohman, M. (1989). A twin study of autism in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 30(3), 405–416. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1989.tb00254.x>
161. Bailey, A., Le Couteur, A., Gottesman, I., Bolton, P., Simonoff, E., Yuzda, E., & Rutter, M. (1995). Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychological medicine*, 25(1), 63–77. <https://doi.org/10.1017/s0033291700028099>
162. Lauritsen, M., & Ewald, H. (2001). The genetics of autism. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 103(6), 411–427. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0447.2001.00086.x>
163. Bolton, P., Macdonald, H., Pickles, A., Rios, P., Goode, S., Crowson, M., Bailey, A., & Rutter, M. (1994). A case-control family history study of

autism. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 35(5), 877–900. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1994.tb02300.x>

164. Lamb, J. A., Moore, J., Bailey, A., & Monaco, A. P. (2000). Autism: recent molecular genetic advances. *Human molecular genetics*, 9(6), 861–868. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.6.861>

165. Risch, N., Spiker, D., Lotspeich, L., Nouri, N., Hinds, D., Hallmayer, J., Kalaydjieva, L., McCague, P., Dimiceli, S., Pitts, T., Nguyen, L., Yang, J., Harper, C., Thorpe, D., Vermeer, S., Young, H., Hebert, J., Lin, A., Ferguson, J., Chiotti, C., ... Myers, R. M. (1999). A genomic screen of autism: evidence for a multilocus etiology. *American journal of human genetics*, 65(2), 493–507. <https://doi.org/10.1086/302497>

166. Folstein, S. E., & Rosen-Sheidley, B. (2001). Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nature reviews. Genetics*, 2(12), 943–955. <https://doi.org/10.1038/35103559>

167. Muhle, R, Trentacoste, SV & Rapin, I. (2004). The genetics of autism. *Pediatrics.*, 113, e472–e486

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

169. Koziol, J. A., & Feng, A. C. (2004). A note on the genome scan meta-analysis statistic. *Annals of human genetics*, 68(Pt 4), 376–380. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2004.00103.x>

170. Zintzaras, E., & Ioannidis, J. P. (2005). Heterogeneity testing in meta-analysis of genome searches. *Genetic epidemiology*, 28(2), 123–137. <https://doi.org/10.1002/gepi.20048>

171. Mpoulimari, I., & Zintzaras, E. (2022, a). Identification of Chromosomal Regions Linked to Autism-Spectrum Disorders: A Meta-Analysis of Genome-Wide Linkage Scans. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 26(2), 59–69. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2021.0236>

172. He, Y., Xun, G., Xia, K., Hu, Z., Lv, L., Deng, Z., & Zhao, J. (2011). No significant association between RELN polymorphism and autism in case-control and family-based association study in Chinese Han population. *Psychiatry research*, 187(3), 462–464. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2010.04.051>

173. Wang, G. fu, Ye, S., Gao, L., Han, Y., Guo, X., Dong, X. peng, Su, Y. yuan, & Zhang, X. (2018). Two single-nucleotide polymorphisms of the RELN gene and symptom-based and developmental deficits among children and adolescents with autistic spectrum disorders in the Tianjin, China. *Behavioural Brain Research*, 350, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.04.048>
174. Hernández-García, I., Chamorro, A. J., Ternavasio-de la Vega, H. G., Carbonell, C., Marcos, M., & Mirón-Canelo, J. A. (2020). Association of Allelic Variants of the Reelin Gene with Autistic Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis of Candidate Gene Association Studies. *International journal of environmental research and public health*, 17(21), 8010. <https://doi.org/10.3390/ijerph17218010>
175. Sousa, I., Clark, T. G., Toma, C., Kobayashi, K., Choma, M., Holt, R., Sykes, N. H., Lamb, J. A., Bailey, A. J., Battaglia, A., Maestrini, E., & Monaco, A. P. (2009). MET and autism susceptibility: Family and case-control studies. *European Journal of Human Genetics*, 17(6), 749–758. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.215>
176. Zhou, X., Xu, Y., Wang, J., Zhou, H., Liu, X., Ayub, Q., Wang, X., Tyler-Smith, C., Wu, L., & Xue, Y. (2011). Replication of the association of a MET variant with autism in a Chinese Han population. *PLoS ONE*, 6(11), 2–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027428>
177. Campbell, D. B., Sutcliffe, J. S., Ebert, P. J., Militeri, R., Bravaccio, C., Trillo, S., Elia, M., Schneider, C., Melmed, R., Sacco, R., Persico, A. M., & Levitt, P. (2006). A genetic variant that disrupts MET transcription is associated with autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(45), 16834–16839. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605296103>
178. Campbell, D. B., Li, C., Sutcliffe, J. S., Persico, A. M., & Levitt, P. (2008). Genetic evidence implicating multiple genes in the met receptor tyrosine kinase pathway in autism spectrum disorder. *Autism Research*, 1(3), 159–168. <https://doi.org/10.1002/aur.27>
179. Wassink, T. H., Piven, J., Vieland, V. J., Pietila, J., Goedken, R. J., Folstein, S. E., & Sheffield, V. C. (2002). Evaluation of FOXP2 as an autism susceptibility gene. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 114(5), 566–569. <https://doi.org/10.1002/ajmg.10415>
180. Gauthier, J., Joobert, R., Mottron, L., Laurent, S., Fuchs, M., De Kimpe, V., & Rouleau, G. A. (2003). Mutation screening of FOXP2 in individuals

diagnosed with autistic disorder. *American Journal of Medical Genetics*, 118A(2), 172–175. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.10105>

181. Marui, T., Koishi, S., Funatogawa, I., Yamamoto, K., Matsumoto, H., Hashimoto, O., Nanba, E., Kato, C., Ishijima, M., Watanabe, K., Kasai, K., Kato, N., & Sasaki, T. (2005). No association of FOXP2 and PTPRZ1 on 7q31 with autism from the Japanese population. *Neuroscience Research*, 53(1), 91–94. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.05.003>

182. Gong, X., Jia, M., Ruan, Y., Shuang, M., Liu, J., Wu, S., Guo, Y., Yang, J., Ling, Y., Yang, X., & Zhang, D. (2004). Association between the FOXP2 gene and autistic disorder in Chinese population. *American Journal of Medical Genetics*, 127B(1), 113–116. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.20162>

183. Philippe, A., Martinez M., Guilloud-Bataille M., Gillberg C., Råstam M., Sponheim E., Coleman M., Zappella M., Aschauer H., Van Maldergem (1999). Genome-wide scan for autism susceptibility genes. Paris Autism Research International Sibpair Study. *Human Molecular Genetics*, 8(5), 805–812. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.5.805>

184. Yonan, A. L., Alarcón, M., Cheng, R., Magnusson, P. K. E., Spence, S. J., Palmer, A. A., Grunn, A., Juo, S. H. H., Terwilliger, J. D., Liu, J., Cantor, R. M., Geschwind, D. H., & Gilliam, T. C. (2003). A Genomewide Screen of 345 Families for Autism-Susceptibility Loci. *American Journal of Human Genetics*, 73(4), 886–897. <https://doi.org/10.1086/378778>

185. Bowton, E., Saunders, C., Reddy, I. A., Campbell, N. G., Hamilton, P. J., Henry, L. K., Coon, H., Sakrikar, D., Veenstra-VanderWeele, J. M., Blakely, R. D., Sutcliffe, J., Matthies, H. J., Erreger, K., & Galli, A. (2014). SLC6A3 coding variant Ala559Val found in two autism probands alters dopamine transporter function and trafficking. *Translational psychiatry*, 4(10), e464. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.90>

186. Grünhage, F., Schulze, T. G., Müller, D. J., Lanczik, M., Franzek, E., Albus, M., Borrmann-Hassenbach, M., Knapp, M., Cichon, S., Maier, W., Rietschel, M., Propping, P., & Nöthen, M. M. (2000). Systematic screening for DNA sequence variation in the coding region of the human dopamine transporter gene (DAT1). *Molecular Psychiatry*, 5(3), 275–282. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000711>

187. Mazei-Robison, M. S., Couch, R. S., Shelton, R. C., Stein, M. A., & Blakely, R. D. (2005). Sequence variation in the human dopamine transporter gene in

children with attention deficit hyperactivity disorder. *Neuropharmacology*, 49(6), 724–736. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.08.003>

188. Warrier, V., Baron-Cohen, S., & Chakrabarti, B. (2013). Genetic variation in GABRB3 is associated with Asperger syndrome and multiple endophenotypes relevant to autism. *Molecular Autism*, 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-4-48>

189. Bartlett, C. W., Goedken, R., & Vieland, V. J. (2005). Effects of updating linkage evidence across subsets of data: reanalysis of the autism genetic resource exchange data set. *American journal of human genetics*, 76(4), 688–695. <https://doi.org/10.1086/429345>

190. Brzustowicz, L. M., Simone, J., Mohseni, P., Hayter, J. E., Hodgkinson, K. A., Chow, E. W., & Bassett, A. S. (2004). Linkage disequilibrium mapping of schizophrenia susceptibility to the CAPON region of chromosome 1q22. *American journal of human genetics*, 74(5), 1057–1063. <https://doi.org/10.1086/420774>

191. Werling, D. M., Lowe, J. K., Luo, R., Cantor, R. M., & Geschwind, D. H. (2014). Replication of linkage at chromosome 20p13 and identification of suggestive sex-differential risk loci for autism spectrum disorder. *Molecular Autism*, 5(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-5-13>

192. Zhang, K. -z. (2000). Stanniocalcin: A molecular guard of neurons during cerebral ischemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(7), 3637–3642. <https://doi.org/10.1073/pnas.070045897>

193. Brownlees, J., Ackerley, S., Grierson, A. J., Jacobsen, N. J., Shea, K., Anderton, B. H., Leigh, P. N., Shaw, C. E., & Miller, C. C. (2002). Charcot-Marie-Tooth disease neurofilament mutations disrupt neurofilament assembly and axonal transport. *Human molecular genetics*, 11(23), 2837–2844. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.23.2837>

194. Morrow, E. M., Yoo, S. Y., Flavell, S. W., Kim, T. K., Lin, Y., Hill, R. S., Mukaddes, N. M., Balkhy, S., Gascon, G., Hashmi, A., Al-Saad, S., Ware, J., Joseph, R. M., Greenblatt, R., Gleason, D., Ertelt, J. A., Apse, K. A., Bodell, A., Partlow, J. N., Barry, B., ... Walsh, C. A. (2008). Identifying autism loci and genes by tracing recent shared ancestry. *Science (New York, N.Y.)*, 321(5886), 218–223. <https://doi.org/10.1126/science.1157657>

195. Nguyen, M., Roth, A., Kyzar, E. J., Poudel, M. K., Wong, K., Stewart, A. M., & Kalueff, A. V. (2014). Decoding the contribution of dopaminergic genes and pathways to autism spectrum disorder (ASD). *Neurochemistry international*, 66, 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.01.002>
196. Kovač, J., Macedoni Lukšič, M., Trebušak Podkrajšek, K., Klančar, G., & Battelino, T. (2014). Rare single nucleotide polymorphisms in the regulatory regions of the superoxide dismutase genes in autism spectrum disorder. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 7(1), 138–144. <https://doi.org/10.1002/aur.1345>
197. Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2010 Principal Investigators, & Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2014). Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. *Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries (Washington, D.C. : 2002)*, 63(2), 1–21
198. Tordjman, S., Cohen, D., Anderson, G. M., Botbol, M., Canitano, R., Coulon, N., & Roubertoux, P. L. (2018). Repint of "Reframing autism as a behavioral syndrome and not a specific mental disorder: Implications of genetic and phenotypic heterogeneity". *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 89, 132–150. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.01.014>
199. Monaco A. P., & Bailey A. J. (2001). Autism. The search for susceptibility genes. *Lancet (London, England)*, 358 Suppl, S3. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(01\)07016-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(01)07016-7)
200. Lyall, K., Croen, L., Daniels, J., Fallin, M. D., Ladd-Acosta, C., Lee, B. K., Park, B. Y., et al (2017). The Changing Epidemiology of Autism Spectrum Disorders. *Annual review of public health*, 38, 81–102. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031816-044318>
201. Bourgeron T. (2016). Current knowledge on the genetics of autism and propositions for future research. *Comptes rendus biologies*, 339(7-8), 300–307. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2016.05.004>
202. Zintzaras, E. (2010). The generalized odds ratio as a measure of genetic risk effect in the analysis and meta-Analysis of association studies. *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology*, 9(1). <https://doi.org/10.2202/1544-6115.1542>

203. Zintzaras, E. (2012). The power of generalized odds ratio in assessing association in genetic studies with known mode of inheritance. *Journal of Applied Statistics*, 39(12), 2569–2581. <https://doi.org/10.1080/02664763.2012.722611>
204. Kitsios, G., & Zintzaras, E. (2007). Genetic variation associated with ischemic heart failure: a HuGE review and meta-analysis. *American journal of epidemiology*, 166(6), 619–633. <https://doi.org/10.1093/aje/kwm129>
205. Kitsios, G. D., & Zintzaras, E. (2009). Genome-wide association studies: hypothesis-“free” or “engaged”? *Translational Research*, 154(4), 161–164.
206. Zintzaras, E., & Lau, J. (2008b). Trends in meta-analysis of genetic association studies. *Journal of human genetics*, 53(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10038-007-0223-5>
207. Mpoulimari, I., & Zintzaras, E. (2022, b). Synthesis of genetic association studies on autism spectrum disorders using a genetic model-free approach. *Psychiatric genetics*, 32(3), 91–104. <https://doi.org/10.1097/YPG.0000000000000316>
208. 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>
209. Weiner D. J., Wigdor E. M., Ripke S., Walters R. K., Kosmicki J. A., Grove J., et al., 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>
210. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium, Lee, S. H., Ripke, S., Neale, B. M., Faraone, S. V., Purcell, S. M., International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium (IIBDGC) (2013). Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. *Nature genetics*, 45(9), 984–994. <https://doi.org/10.1038/ng.2711>
211. Lai, M. C., Kasse, C., Besney, R., Bonato, S., Hull, L., Mandy, W., Szatmari, P., & Ameis, S. H. (2019). Prevalence of co-occurring mental health diagnoses in the autism population: a systematic review and meta-analysis. *The lancet. Psychiatry*, 6(10), 819–829. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(19\)30289-5](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(19)30289-5)
212. Geschwind, D. H., & Levitt, P. (2007). Autism spectrum disorders:

developmental disconnection syndromes. *Current opinion in neurobiology*, 17(1), 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2007.01.009>

213. Razi B., Imani D., Hassanzadeh Makoui M., Rezaei R., & Aslani S. (2020). Association between MTHFR gene polymorphism and susceptibility to autism spectrum disorders: Systematic review and meta-analysis. *Research in Autism Spectrum Disorders*, 70(June 2019), 101473. <https://doi.org/10.1016/j.rasd.2019.101473>

214. Sadeghiyeh T., Dastgheib S. A., Mirzaee-Khoramabadi K., Morovati-Sharifabad M., Akbarian-Bafghi M. J., Poursharif Z., et al (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>

215. Berry, R. J., Li, Z., Erickson, J. D., Li, S., Moore, C. A., Wang, H., Mulinare, J., Zhao, P., Wong, L. Y., Gindler, J., Hong, S. X., & Correa, A. (1999). Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. China-U.S. Collaborative Project for Neural Tube Defect Prevention. *The New England journal of medicine*, 341(20), 1485–1490. <https://doi.org/10.1056/NEJM199911113412001>

216. Pu D., Shen Y., & Wu J. (2013). Association between MTHFR gene polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 6(5), 384–392. <https://doi.org/10.1002/aur.1300>

217. Yang H., & Wu X. (2020). The Correlation Between Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms and Autism: A Meta-analysis. *Journal of molecular neuroscience : MN*, 70(2), 260–268. <https://doi.org/10.1007/s12031-019-01464-z>

218. Warrier V., Chee V., Smith P., Chakrabarti B., & Baron-Cohen S. (2015). A comprehensive meta-analysis of common genetic variants in autism spectrum conditions. *Molecular autism*, 6, 49. <https://doi.org/10.1186/s13229-015-0041-0>

219. Lochman, J., Balcar, V. J., Sťastný, F., & Serý, O. (2013). Preliminary evidence for association between schizophrenia and polymorphisms in the regulatory Regions of the ADRA2A, DRD3 and SNAP-25 Genes. *Psychiatry research*, 205(1-2), 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.08.003>

220. Najera, K., Fagan, B. M., & Thompson, P. M. (2019). SNAP-25 in Major Psychiatric Disorders: A Review. *Neuroscience*, 420, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.02.008>
221. Chen, N., Bao, Y., Xue, Y., Sun, Y., Hu, D., Meng, S., et al (2017). Meta-analyses of RELN variants in neuropsychiatric disorders. *Behavioural brain research*, 332, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.028>
222. Geng, J., Zhang, J., Yao, F., Liu, X., Liu, J., & Huang, Y. (2020). A systematic review and meta-analysis of the associations of vitamin D receptor genetic variants with two types of most common neurodegenerative disorders. *Aging clinical and experimental research*, 32(1), 21–27. <https://doi.org/10.1007/s40520-019-01135-4>
223. Xu, F. L., Wang, B. J., & Yao, J. (2018). Association between the *SLC6A4* gene and schizophrenia: an updated meta-analysis. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 15, 143–155. <https://doi.org/10.2147/NDT.S190563>
224. Dichter, G. S., Damiano, C. A., & Allen, J. A. (2012). Reward circuitry dysfunction in psychiatric and neurodevelopmental disorders and genetic syndromes: animal models and clinical findings. *Journal of neurodevelopmental disorders*, 4(1), 19. <https://doi.org/10.1186/1866-1955-4-19>
225. Ernst, M., Zametkin, A. J., Matochik, J. A., Pascualvaca, D., & Cohen, R. M. (1997). Low medial prefrontal dopaminergic activity in autistic children. *Lancet (London, England)*, 350(9078), 638. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)63326-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)63326-0)
226. Chevallier, C., Kohls, G., Troiani, V., Brodtkin, E. S., & Schultz, R. T. (2012). The social motivation theory of autism. *Trends in cognitive sciences*, 16(4), 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2012.02.007>
227. Pavál D. (2017). A Dopamine Hypothesis of Autism Spectrum Disorder. *Developmental neuroscience*, 39(5), 355–360. <https://doi.org/10.1159/000478725>
228. Cieślińska, A., Kostyra, E., Chwała, B., Moszyńska-Dumara, M., Fiedorowicz, E., Teodorowicz, M., & Savelkoul, H. (2017). Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Associated with Childhood Autism. *Brain sciences*, 7(9), 115. <https://doi.org/10.3390/brainsci7090115>
229. Saad, K., Abdel-Rahman, A. A., Elserogy, Y. M., Al-Atram, A. A., Cannell, J. J., Bjørklund, G., et al (2016). Vitamin D status in autism spectrum disorders and the efficacy of vitamin D supplementation in autistic

children. *Nutritional neuroscience*, 19(8), 346–351.
<https://doi.org/10.1179/1476830515Y.0000000019>

230. Light, K. J., Joyce, P. R., Luty, S. E., Mulder, R. T., Frampton, C. M., Joyce, L. R., et al (2006). Preliminary evidence for an association between a dopamine D3 receptor gene variant and obsessive-compulsive personality disorder in patients with major depression. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 141B(4), 409–413. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30308>

231. Cook, E. H., & Leventhal, B. L. (1996). The serotonin system in autism. *Current opinion in pediatrics*, 8(4), 348–354.
<https://doi.org/10.1097/00008480-199608000-00008>

232. Yamamori, S., Itakura, M., Sugaya, D., Katsumata, O., Sakagami, H., & Takahashi, M. (2011). Differential expression of SNAP-25 family proteins in the mouse brain. *The Journal of comparative neurology*, 519(5), 916–932.
<https://doi.org/10.1002/cne.22558>

233. Bemben, M. A., Shipman, S. L., Nicoll, R. A., & Roche, K. W. (2015). The cellular and molecular landscape of neuroligins. *Trends in neurosciences*, 38(8), 496–505. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.06.004>

234. Graf, E. R., Zhang, X., Jin, S. X., Linhoff, M. W., & Craig, A. M. (2004). Neurexins induce differentiation of GABA and glutamate postsynaptic specializations via neuroligins. *Cell*, 119(7), 1013–1026.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.11.035>

235. Heinrichs, M., & Domes, G. (2008). Neuropeptides and social behaviour: effects of oxytocin and vasopressin in humans. *Progress in brain research*, 170, 337–350. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00428-7](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00428-7)

236. Jaiswal, P., Guhathakurta, S., Singh, A. S., Verma, D., Pandey, M., Varghese, M., et al (2015). SLC6A4 markers modulate platelet 5-HT level and specific behaviors of autism: a study from an Indian population. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 56, 196–206.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.09.004>

237. Auclair, A., Drouin, C., Cotecchia, S., Glowinski, J., & Tassin, J. P. (2004). 5-HT_{2A} and α_{1b}-adrenergic receptors entirely mediate dopamine release, locomotor response and behavioural sensitization to opiates and

psychostimulants. *The European journal of neuroscience*, 20(11), 3073–3084.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03805.x>

238. Allen, G., & Courchesne, E. (2003). Differential effects of developmental cerebellar abnormality on cognitive and motor functions in the cerebellum: an fMRI study of autism. *The American journal of psychiatry*, 160(2), 262–273. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.160.2.262>

239. Baader, S. L., Sanlioglu, S., Berrebi, A. S., Parker-Thornburg, J., & Oberdick, J. (1998). Ectopic overexpression of engrailed-2 in cerebellar Purkinje cells causes restricted cell loss and retarded external germinal layer development at lobule junctions. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 18(5), 1763–1773. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-05-01763.1998>

240. Fatemi, S. H., Snow, A. V., Sary, J. M., Araghi-Niknam, M., Reutiman, T. J., Lee, S., et al (2005). Reelin signaling is impaired in autism. *Biological psychiatry*, 57(7), 777–787.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.12.018>

241. Shao, H., Kadono-Okuda, K., Finlin, B. S., & Andres, D. A. (1999). Biochemical characterization of the Ras-related GTPases Rit and Rin. *Archives of biochemistry and biophysics*, 371(2), 207–219.
<https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1448>

242. Zhou, Q., Li, J., Wang, H., Yin, Y., & Zhou, J. (2011). Identification of nigral dopaminergic neuron-enriched genes in adult rats. *Neurobiology of aging*, 32(2), 313–326. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.02.009>

243. Elsen, G. E., Choi, L. Y., Prince, V. E., & Ho, R. K. (2009). The autism susceptibility gene met regulates zebrafish cerebellar development and facial motor neuron migration. *Developmental biology*, 335(1), 78–92.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.08.024>

244. Campbell, D. B., D'Oronzio, R., Garbett, K., Ebert, P. J., Mirnics, K., Levitt, P., & Persico, A. M. (2007). Disruption of cerebral cortex MET signaling in autism spectrum disorder. *Annals of neurology*, 62(3), 243–250.
<https://doi.org/10.1002/ana.21180>

245. Kulman, G., Lissoni, P., Rovelli, F., Roselli, M. G., Brivio, F., & Sequeri, P. (2000). Evidence of pineal endocrine hypofunction in autistic children. *Neuro endocrinology letters*, 21(1), 31–34.

246. Ackermann, K., & Stehle, J. H. (2006). Melatonin synthesis in the human pineal gland: advantages, implications, and difficulties. *Chronobiology international*, 23(1-2), 369–379. <https://doi.org/10.1080/07420520500464379>
247. Cohly, H. H., & Panja, A. (2005). Immunological findings in autism. *International review of neurobiology*, 71, 317–341. [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(05\)71013-8](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(05)71013-8)
248. Torres, A. R., Maciulis, A., & Odell, D. (2001). The association of MHC genes with autism. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 6, D936–D943. <https://doi.org/10.2741/torres>
249. Johnson, M. B., & Stevens, B. (2018). Pruning hypothesis comes of age. *Nature*, 554(7693), 438–439. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-02053-7>
250. Presumey, J., Bialas, A. R., & Carroll, M. C. (2017). Complement System in Neural Synapse Elimination in Development and Disease. *Advances in immunology*, 135, 53–79. <https://doi.org/10.1016/bs.ai.2017.06.004>
251. Sellgren, C. M., Gracias, J., Watmuff, B., Biag, J. D., Thanos, J. M., Whittredge, P. B., et al (2019). Increased synapse elimination by microglia in schizophrenia patient-derived models of synaptic pruning. *Nature neuroscience*, 22(3), 374–385. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0334-7>
252. Sekar, A., Bialas, A. R., de Rivera, H., Davis, A., Hammond, T. R., Kamitaki, N., et al (2016). Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4. *Nature*, 530(7589), 177–183. <https://doi.org/10.1038/nature16549>
253. Hauser, M. A., Li, Y. J., Takeuchi, S., Walters, R., Nouredine, M., Maready, M., Darden, T., Hulette, C., Martin, E., Hauser, E., Xu, H., Schmechel, D., Stenger, J. E., Dietrich, F., & Vance, J. (2003). Genomic convergence: identifying candidate genes for Parkinson's disease by combining serial analysis of gene expression and genetic linkage. *Human molecular genetics*, 12(6), 671–677.
254. Altmüller, J., Palmer, L. J., Fischer, G., Scherb, H., & Wjst, M. (2001). Genomewide scans of complex human diseases: true linkage is hard to find. *American journal of human genetics*, 69(5), 936–950. <https://doi.org/10.1086/324069>
255. Ioannidis J. P. (2007). Non-replication and inconsistency in the genome-wide association setting. *Human heredity*, 64(4), 203–213. <https://doi.org/10.1159/000103512>

256. Kitsios, G. D., & Zintzaras, E. (2009b). Genomic convergence of genome-wide investigations for complex traits. *Annals of human genetics*, 73(Pt 5), 514–519. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2009.00533.x>
257. Alarcón, M., Cantor, R. M., Liu, J., Gilliam, T. C., Geschwind, D. H., & Autism Genetic Research Exchange Consortium (2002). Evidence for a language quantitative trait locus on chromosome 7q in multiplex autism families. *American journal of human genetics*, 70(1), 60–71. <https://doi.org/10.1086/338241>
258. Erskine, H. E., Ferrari, A. J., Nelson, P., Polanczyk, G. V., Flaxman, A. D., Vos, T., Whiteford, H. A., & Scott, J. G. (2013). Epidemiological modelling of attention-deficit/hyperactivity disorder and conduct disorder for the Global Burden of Disease Study 2010. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 54(12), 1263–1274. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12144>
259. Hollocks, M. J., Lerh, J. W., Magiati, I., Meiser-Stedman, R., & Brugha, T. S. (2019). Anxiety and depression in adults with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Psychological medicine*, 49(4), 559–572. <https://doi.org/10.1017/S0033291718002283>