

Contribución genética, ambiental y epigenética en la susceptibilidad a los trastornos del espectro autista

Adriana Díaz-Anzaldúa, Alejandro Díaz-Martínez

Departamento de Genética Psiquiátrica; Subdirección de Investigaciones Clínicas; Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (A. Díaz-Anzaldúa). Departamento de Psiquiatría y Salud Mental; Facultad de Medicina; Universidad Nacional Autónoma de México (A. Díaz-Martínez). México DF, México.

Correspondencia:

Dra. Adriana Díaz Anzaldúa.
Instituto Nacional de Psiquiatría
Ramón de la Fuente Muñiz.
Calzada México-Xochimilco, 101.
Col. San Lorenzo Huipulco.
CP 14370. México DF, México.

E-mail:

adiaz2@imp.edu.mx

Aceptado tras revisión externa:
18.06.13.

Cómo citar este artículo:

Díaz-Anzaldúa A, Díaz-Martínez A. Contribución genética, ambiental y epigenética en la susceptibilidad a los trastornos del espectro autista. Rev Neurol 2013; 57: 556-68.

© 2013 Revista de Neurología

Introducción. Los trastornos del espectro autista (TEA) son condiciones neuropsiquiátricas comunes y complejas en las que están involucrados diversos factores.

Objetivo. Revisar el conocimiento actual sobre los posibles factores de riesgo para los TEA.

Desarrollo. Se investigó sobre factores potenciales de riesgo para los TEA, y se recabó información sobre trastornos y genes en las bases de datos de Medline, OMIM y Ensembl.

Conclusiones. En los TEA se presenta una notoria heterogeneidad genética y probablemente distintos modos de transmisión. Además, muchos casos se asocian con mutaciones *de novo* o con alelos raros con un efecto probablemente importante. La heredabilidad en estos trastornos puede ser menor a la estimada anteriormente. Una fracción de ésta puede ser explicada por alelos relativamente comunes con un efecto débil. El ambiente perinatal y posnatal, la epigenética, la edad del padre y, posiblemente, la de los abuelos varones cuando nacieron sus respectivos hijos son relevantes en los TEA. Estos últimos podrían relacionarse con el desarrollo y la conectividad de las sinapsis, la neurotransmisión, la señalización, la neuroplasticidad y la expresión genética. Diversos tipos de estudios han contribuido a entender la etiología de los TEA. Los estudios de enlace genético y asociación no son apropiados cuando hay mutaciones nuevas con efecto importante. Finalmente, el incremento en la prevalencia de los TEA podría deberse a una mayor conciencia sobre los trastornos, a cambios en los criterios diagnósticos y exposiciones ambientales, a modificaciones epigenéticas y a un número creciente de mutaciones *de novo* que incrementan el riesgo a los trastornos.

Palabras clave. Ambiente y autismo. Autismo. Epigenética y autismo. Genética del autismo. Genética de los trastornos del espectro autista. Genética médica. Herencia multifactorial. Trastorno autista. Trastornos del espectro autista.

Introducción

La definición de autismo ha cambiado desde que el término fue empleado por Eugen Bleuler en 1911 [1] y más tarde por Leo Kanner y Hans Asperger. Kanner notó en algunos niños la falta de interés en las interacciones sociales y problemas de comunicación. Más adelante se describió una asociación frecuente con la discapacidad intelectual y se identificaron presentaciones clínicas menos típicas. El autismo, actualmente, se refiere a un trastorno neuropsiquiátrico caracterizado por conductas estereotípicas y un déficit conspicuo en el lenguaje, la comunicación y la conducta social. Hay un fenotipo más amplio, conocido como trastornos del espectro autista (TEA), que incluye el síndrome de Asperger y el trastorno generalizado no específico del desarrollo. Los pacientes con síndrome de Asperger muestran actividades estereotípicas y déficits en la conducta social, pero no en el lenguaje. En general, en los pacientes con TEA, el desarrollo cognitivo varía desde mayor a la media hasta la discapacidad intelectual. El retraso mental se observa

en algunos pacientes, pero no en personas con síndrome de Asperger.

La proporción hombres y mujeres es cercana a 4 a 1 en el autismo y de 8 a 1 en el síndrome de Asperger. En la quinta edición del *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales* se propone usar un fenotipo más amplio y algunos cambios en los criterios diagnósticos [2].

Hay una variación significativa en las estimaciones de la prevalencia de los TEA, que van de 0,7 a 1,8 en 1.000 personas [3], pero hay comunicaciones recientes en las que se sugiere que hasta el 2,64% de los niños de 7-12 años podría tener un TEA. En Estados Unidos, por medio de estimaciones retrospectivas del año 2006, se concluyó que el 1,2% de los niños de 8 años podría tener un TEA. Se ha propuesto que la identificación de prevalencias más altas de estos trastornos podría deberse al empleo de un fenotipo más amplio del autismo, mayor conciencia general sobre estos trastornos, cambios en la reglamentación para la educación especial, aumento en el número de servicios de atención disponibles, diagnósticos a una edad más temprana y di-

seño de los estudios [4]. También se ha sugerido que la exposición a ciertos factores ambientales que incrementan la susceptibilidad a los TEA podría ser más común actualmente.

Debido a la rápida evolución de las técnicas y a la gran cantidad de hallazgos obtenidos recientemente a partir de distintas áreas de la investigación, nuestro objetivo fue revisar el conocimiento actual sobre posibles factores de riesgo para estos trastornos, incluyendo componentes ambientales, genéticos y epigenéticos. También revisamos datos obtenidos con modelos animales, lo cual ha contribuido a obtener información sobre la genética y las interacciones genéticoambientales en los TEA.

Se utilizó la base de datos PubMed para buscar artículos relacionados con posibles factores de riesgo para el autismo y los TEA. El compendio OMIM se empleó para obtener información sobre los trastornos, nombres oficiales de éstos y de los genes. Ensembl permitió obtener descripciones genéticas y genómicas. Se describirá el conocimiento actual sobre la función de los factores genéticos, epigenéticos y ambientales en la etiología de los TEA.

Estudios en familias, pares de gemelos y personas adoptadas

Los familiares de pacientes con TEA tienen mayor probabilidad de presentar este tipo de trastorno que los familiares de personas que no han presentado ningún TEA. La tasa general de recurrencia en hermanos de pacientes es del 2-8%, proporción mayor que la observada en la población general.

Respecto a los gemelos, aunque los monocigóticos se originan a partir de la misma información genética, pueden tener diferencias epigenéticas y empezar a acumular diferencias genéticas *de novo* conforme pasa el tiempo. En cambio, los dicigóticos comparten solamente un 50% de su ADN genómico al provenir de distintas células germinales. Cuando hay un componente genético importante en la susceptibilidad a un trastorno, este último debe coocurrir más frecuentemente en gemelos monocigóticos que en dicigóticos, situación que se ha descrito en gemelos con TEA. En un estudio reciente se evaluaron 202 pares de gemelos nacidos en California; por lo menos, uno de los gemelos de cada par presentaba un TEA. Para el diagnóstico estricto de autismo, se encontró que el 58% de los pares de gemelos monocigóticos hombres y el 60% de mujeres eran concordantes. En cuanto a los dicigóticos, la concordancia en pares de hombres fue del 31% y en pares de mujeres del 27% [5]. Estos resultados se

Tabla I. Tipos de factores de riesgo en los trastornos del espectro autista.

Factores	Ejemplos
Genéticos	Heredados o mutaciones de las células germinales en los padres; comunes, raros o únicos, desde mutaciones puntuales hasta variaciones en el número de copias
Epigenéticos	Metilación de las citosinas, acetilación de las histonas; posiblemente 5-hidroximetilación
Ambientales	Edad del padre y abuelos varones, sustancias empleadas durante el embarazo

incluyen dentro del rango estimado anteriormente, en donde la concordancia para TEA en gemelos monocigóticos varió del 36 al 91%, dependiendo en parte de la definición del fenotipo (más alta para el espectro autista completo). La concordancia en gemelos dicigóticos ha sido menor del 32% [6].

Los niños que fueron tempranamente adoptados por personas no emparentadas a ellos tienen una conexión primariamente genética con sus padres biológicos y completamente ambiental con su familia adoptiva. Si factores genéticos incrementan la vulnerabilidad a un trastorno, los familiares biológicos (y no los adoptivos) estarían en mayor riesgo de presentar también el trastorno. En general, los estudios de adopción han mostrado que los trastornos neuropsiquiátricos, como los TEA, tienen un componente genético muy importante. Sin embargo, se requieren análisis específicos de adopción para condiciones incluidas en el espectro autista.

Heredabilidad y segregación

La heredabilidad es una estimación de la importancia relativa de los genes en la variación de rasgos en una población, tiempo y ambiente dados. En algunos estudios se ha indicado una heredabilidad hasta del 90% para el autismo. Sin embargo, en una comunicación reciente se sugiere que ésta podría ser del 19-35% en hombres y del 50-63% en mujeres [7]. No se debate que la herencia tenga un papel muy relevante en los TEA, pero mutaciones *de novo* no presentes en las generaciones previas y elementos no genéticos podrían explicar una heredabilidad más baja. En la tabla I se ejemplifican los diferentes grupos de factores de riesgo para los TEA.

En diversos estudios se han descrito pacientes con mutaciones *de novo* o relativamente raras que podrían tener un efecto muy importante en relación con estos trastornos.

Por otra parte, hay una asociación entre los TEA y alelos muy frecuentes que parecen tener un efecto

débil en el fenotipo autista [8]. Cuando la variación en un *locus* genético es muy común en la población, se denomina polimorfismo. La mayoría de las diferencias en el ADN entre las personas se debe a polimorfismos que involucran de uno (polimorfismos de un solo nucleótido) a por lo menos 1.000 pb; este último caso se debe a inserciones, deleciones, inversiones o duplicaciones conocidas como variaciones en el número de copias (CNV) [9].

Las mutaciones, en cambio, son menos frecuentes y representan las únicas modificaciones nuevas en la secuencia del ADN; van de mutaciones puntuales a largos segmentos o cromosomas enteros, y se producen principalmente por errores durante la replicación del ADN o por la exposición a mutágenos, que incluyen químicos y radiación. Cuando las CNV tienen una frecuencia de por lo menos el 1%, se consideran polimorfismos en el número de copias (CNP). Éstos son típicamente pequeños y la mayoría son menores a 10.000 pb; es frecuente que se localicen en regiones ricas en genes que codifican proteínas involucradas en la desintoxicación de sustancias e inmunidad. Las microdeleciones y microduplicaciones son relativamente raras y mucho más largas que los CNP, con un tamaño de cientos de miles de pb a más de un millón de pb; estas variantes pueden haber surgido durante la espermatogénesis u ovogénesis que originaron a una persona en particular, o pueden haberse transmitido en pocas generaciones en una familia; han sido detectadas frecuentemente en pacientes con retraso mental, retraso en el desarrollo, esquizofrenia y TEA [10].

Por otra parte, el análisis de polimorfismos en estudios de enlace genético y de asociación ha sido la primera aproximación para determinar el componente genético específico en los TEA.

Estudios de enlace genético y asociación en los TEA

En los estudios de enlace genético se investigan regiones cromosómicas en las que hay alelos que tienden a compartirse entre familiares afectados. Las regiones cromosómicas en las cuales se ha hallado enlace genético con TEA en por lo menos dos estudios independientes incluyen 2q21-33, 3q25-27, 3p14-25, 4q32, 6q14-21, 7q22, 7q31-36, 10p12-q11.2, 11p12-13, 17q11-21 y 17p11.2-q12 [11-19]. En un metaanálisis en el que se evaluaron nueve estudios del genoma completo sobre autismo o TEA [20], se confirmó un enlace genético significativo en la región 7q22-q32. También se han comunicado otros hallazgos positivos de enlace y asociación, así como

cambios citogenéticos en esa misma región cromosómica en pacientes con TEA.

Por otro lado, se halló un enlace entre una región en el cromosoma X y TEA en una familia extendida que incluía a personas con retraso mental y TEA; en este caso se identificó una mutación funcional en el gen de neuroigina 4 (*NLGN4X*) [21]. Los estudios de enlace también permitieron señalar una mutación rara recesiva en el gen de la proteína 2 similar a la asociada a contractina (*CNTNAP2*) en epilepsia refractaria a tratamiento, retraso mental y TEA en la población de la orden antigua de menonitas [22].

En los estudios de asociación, la frecuencia de las variantes genéticas se compara entre personas no emparentadas que presentan TEA (casos) y personas no emparentadas que no han presentado ninguno de estos trastornos (controles). En otra versión de estos estudios, se comparan los alelos transmitidos a los pacientes con TEA y los que sus padres no les transmitieron. Como se muestra en la tabla II, el gen para reelina (*RELN*) en 7q codifica para una proteína de la matriz extracelular que podría controlar interacciones entre las células que son importantes para la migración neuronal durante el desarrollo cerebral, y podría estar asociada con cambios que afectan el desarrollo cortical y cerebelar [23]; en algunos pacientes con TEA se han encontrado alteraciones en neuronas cerebelares. Por otra parte, la proteína MET participa en el desarrollo cerebral y en la reparación gastrointestinal. Un tercer gen es *CADPS2*, que se relaciona con la liberación de neurotropina-3 y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). *CNTNAP2* es uno de los genes más largos; su proteína se localiza en axones mielinizados y podría ser necesaria para formar circuitos neuronales durante el desarrollo del sistema nervioso central [24]. El gen *Engrailed-2* (*En2*) está involucrado en el control de formación de patrones durante el desarrollo del sistema nervioso central y es un modulador de la regulación del cerebelo [25]. *FOXP2* codifica un factor de transcripción asociado a dispraxia verbal del desarrollo y a alteraciones en el lenguaje. Se expresa en regiones cerebrales que participan en el lenguaje y está involucrado en procesos del desarrollo que posiblemente incluyen la neurogénesis [26].

Como se mencionó anteriormente, el cromosoma X se ha asociado frecuentemente con los TEA. Los genes *NLGN4* y *NLGN3* codifican para neuroiginas, que son moléculas de adhesión celular que interactúan con las neurexinas beta y son relevantes en las sinapsis funcionales. *MECP2* es un regulador epigenético, factor causal del síndrome de Rett y un gen candidato para los TEA [27]. Además,

Tabla II. Genes candidatos para el autismo.

Región cromosómica	Producto del gen	Identificación del gen	Función del gen
2p16.3	Neurexina 1	<i>NRXN1</i>	Se une a neuroliginas para la neurotransmisión y formación de contactos sinápticos
2q24	Transportador mitocondrial de aspartato/glutamato	<i>SLC25A12</i>	Transporte de aspartato de la mitocondria al citosol a cambio de glutamato
3p26.2	Receptor de oxitocina	<i>OXTR</i>	Receptor de hormona relevante en cognición social y conducta
7q22	Reelina	<i>RELN</i>	Activa las vías de señalización durante la migración neuronal
7q31	Protooncogén MET	<i>MET</i>	Protooncogén
7q31	Proteína con dominio similar a cabeza de tenedor P2	<i>FoxP2</i>	Factor de transcripción
7q31.3	Proteína 2 activadora para secreción dependiente de calcio	<i>CADPS2</i>	Involucrada en la exocitosis de vesículas que contienen neurotransmisores y neuropéptidos
7q35-q36	Proteína 2 similar a la asociada a contractina	<i>CNTNAP2</i>	Neurexina, interacciones entre células en el sistema nervioso
7q36	Proteína 2 con muesca (<i>engrailed</i>)	<i>EN2</i>	Factor de transcripción
10q23.31	Homólogo de fosfatasa y tensina	<i>PTEN</i>	Supresor de tumores
11p13	Factor neurotrófico derivado del cerebro	<i>BDNF</i>	Factor de sobrevivencia necesario para las neuronas estriatales en el cerebro
12p13.3	Subunidad α_{1C} de canal de calcio tipo L dependiente de voltaje	<i>CACNA1C</i>	Producción de canales de calcio
12q14-q15	Receptor 1A de arginina vasopresina	<i>AVPR1A</i>	Media la contracción celular y la proliferación
15q11-q13	Proteína ligasa E3A a ubiquitina	<i>UBE3A</i>	Ligasa E3 y coactivador transcripcional
15q11.2-q12	Receptor β_3 del ácido γ -aminobutírico (GABA)	<i>GABRB3</i>	Neurotransmisión gabérgica
17q11.1-q12	Transportador de serotonina	<i>SLC6A4</i>	Recaptación de serotonina a las neuronas presinápticas
Xp22.33	Neuroligina 4	<i>NLGN4</i>	Ligando para la familia de neurexinas de receptores de la superficie celular
Xq13	Neuroligina 3	<i>NLGN3</i>	Ligando para la familia de neurexinas de receptores de la superficie celular
Xq27.3	Proteína de síndrome X frágil y retraso mental	<i>FMR1</i>	Posiblemente involucrada en la traducción
Xq28	Proteína 2 de unión a Metil-CpG	<i>MECP2</i>	Puede activar o reprimir la transcripción

la proteína de *FMR1* se une al ARN y está implicada en la modulación de las conexiones sinápticas [28].

Entre los genes que podrían estar implicados en los TEA se incluyen neurexinas, neuroliginas, shanks, reelinas, integrinas, fosfatasas, homólogos de tensina, *MET*, *En2*, *MECP2*, *FMR1*, gen de la esclerosis tuberosa 2 (*TSC2*), *CACNA1C*, *UBE3A*, *CADPS2*, *BDNF*, transportador de serotonina (*SLC6A4*) y receptores de oxitocina, vasopresina y ácido γ -aminobutírico (GABA) [29]. El sistema serotoninérgico modula muchos procesos del desarrollo, la conduc-

ta y la fisiología. En personas con TEA que son portadoras de alelos asociados a baja expresión del transportador de serotonina se ha observado un sobrecrecimiento cerebral y alteraciones conductuales sociales graves. GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central de los mamíferos y controla la excitabilidad en el cerebro adulto; se ha sugerido que déficits en este sistema podrían propiciar anormalidades en el neurodesarrollo. El gen gabérgico más estudiado es *GABRB3*, que se ha asociado repetidamente con TEA y con

alteraciones en la conducta social; se expresa en el desarrollo temprano y su ausencia produce características similares a los TEA en ratones [30].

A pesar de que muchas variantes genéticas pudieran incrementar la susceptibilidad a los TEA, la frecuencia de éstas varía importantemente, de manera que algunas de ellas son raras o nuevas; en estos casos sólo incrementarían el riesgo en un número reducido de personas. Hay trastornos monogénicos asociados a algunos casos de TEA.

Trastornos monogénicos asociados a los TEA

El síndrome X frágil (gen *FMRI*) y la esclerosis tuberosa (genes *TSC1* y *TSC2*) están involucrados en el 10% de los casos de TEA. Por su parte, el gen *FMRI* controla por lo menos 93 genes que se han asociado con estos y otros trastornos [31]. De todos los niños con TEA, el 1-4% presenta esclerosis tuberosa y el 3-5% tiene síndrome X frágil. Estas condiciones médicas podían asociarse también con epilepsia, que es una comorbilidad común en personas con TEA. Se ha estimado que el 25% de los hombres con síndrome X frágil podría tener TEA. Además, el 25-50% de las personas con el complejo de esclerosis tuberosa también podría presentar trastornos autistas. Por ejemplo, en un estudio reciente se mostró que de 103 pacientes con esclerosis tuberosa, el 40% fue diagnosticado con un TEA. Las personas con TEA tenían menos probabilidades de presentar mutaciones en el gen *TSC1* y menor edad cuando iniciaron las crisis [32]. En cualquier caso, niños con mutaciones en los genes *TSC1*, *TSC2* y *PTEN* podrían mostrar síntomas autistas. Junto a esto, el 50% de las personas con síndrome de Smith-Lemli-Opitz (gen *DHCR7*) y el 10% de quienes presentan fenilcetonuria (gen *PAH*) podrían tener TEA. Entre otros trastornos que se han asociado a los TEA está el síndrome de Rett (gen *MECP2*) y la deficiencia de liasa de adenilosuccinato (gen *ADSL*). Algunos pacientes con ictiosis ligada a X (gen *STS*) presentan TEA [33].

Estudios citogenéticos, microarreglos y secuenciación en los TEA

Diversos tipos de anomalías cromosómicas son más frecuentes en niños autistas que en la población general [34]. Se han comunicado deleciones, translocaciones, inversiones o aneuploidías que han contribuido a la identificación de genes relacionados con los TEA. Algunas de las regiones que frecuentemente se han asociado con los TEA se presentan en la

tabla III. Deleciones en la región cromosómica 22q11 (asociada con el síndrome velocardiocéfalo) se han identificado en cerca del 1% de los niños autistas [35]. Duplicaciones invertidas en 15q también se asocian con síntomas autistas. Se ha comprobado que el cromosoma 15 es complejo debido a inestabilidad genómica e impronta, así como por deleciones frecuentes. La región 15q11-q13, importante en el síndrome de Prader-Willi/Angelman, está afectada en el 1-4% de los pacientes autistas [36]. La inestabilidad en esta región podría relacionarse con fragmentos duplicados largos. El fenotipo de un cromosoma 15 supernumerario incluye características autistas, como retraso en el desarrollo, retraso mental, signos neurológicos y alteraciones conductuales; el lenguaje está a veces ausente o es anormal.

Por otro lado, deleciones y duplicaciones de un fragmento de 3,7 Mb en la región 17p11.2 originan dos síndromes recíprocos que se han asociado con los TEA. Una deleción está implicada en el 90% de los casos del síndrome de Smith-Magenis; el resto involucra un gen específico en la misma región, el gen 1 inducido por ácido retinoico (*RAII*). Por otra parte, el síndrome de Potocki-Lupski es una condición del desarrollo causada por una duplicación en esta región. Se ha mostrado que el 70-90% de las personas con este síndrome desarrolla un TEA [37].

La región 16p11.2 también se ha asociado a los TEA [38]. En esta región se han comunicado duplicaciones y deleciones [39]. También se han descrito deleciones o duplicaciones en el cromosoma X que se asocian a los TEA e involucran el gen *NLGN4* [40] o al *NLGN3* [39]. Otros ejemplos incluyen una inversión en el brazo largo del cromosoma 7, con un sitio de ruptura en sitios comúnmente frágiles [41] y duplicaciones en la región 1q21 [42]. Algunos de estos cambios cromosómicos son *de novo* y otros fueron transmitidos.

En un estudio del genoma completo, se analizaron CNV raros (con frecuencia < 1%) en 996 individuos con TEA y 1.287 controles descendientes de europeos. Había una gran carga de variantes raras en el número de copias ($p = 0,012$), especialmente en *loci* previamente implicados en TEA o incapacidad intelectual ($p = 0,00034$). Las variantes genómicas *de novo* y heredadas implicaron a los genes *SHANK2*, *SYNGAP1*, *DLGAP2* y *PTCHD1*; hubo un enriquecimiento de CNV en genes involucrados en la proliferación celular, proyección, motilidad y señalización de GTPasa/Ras [43]. En otro estudio se sugirió que la vía de señalización de la GTPasa podría relacionarse con los TEA, así como la vía del metabolismo de nucleótidos trifosfatados y genes relacionados con el citoesqueleto y la fibra contráctil [44].

Por otra parte, algunos genes que se han asociado con los TEA podrían ser hipermutables; entre éstos, los que codifican para neurexina 1 (*NRXN1*), candidato 2 de susceptibilidad a autismo (*AUTS2*), *GABRB3*, *SHANK2* y *KCNMA1* (canal de potasio, activado por calcio, de conductancia larga, subfamilia M, miembro $\alpha 1$). En gemelos monocigóticos concordantes y en casos esporádicos de TEA, se confirmó que dos genes estaban mutados, *KIRREL3* y el del receptor acoplado a proteína G (*GPR98*) [45].

Los hallazgos que se citan aquí muestran que la detección de variantes de ADN a través de las tecnologías de microarreglos y secuenciación ha contribuido a comprender parte de la etiología de los TEA. La secuenciación de la siguiente generación es una estrategia robusta que ha permitido detectar variantes de ADN comunes, raras o *de novo*, que se asocian con los TEA. La secuenciación en algunas ocasiones se ha realizado a lo largo de todo el genoma, o en todo el exoma, o en los exones de genes candidatos. Se ha descrito una estrategia para detectar mutaciones *de novo* en autismo y en otros trastornos relativamente comunes en los que la capacidad reproductiva puede estar reducida y el fenotipo puede asociarse con la edad del padre. La muestra más adecuada para este tipo de estudios incluye a pacientes autistas que tuvieron un inicio temprano de la enfermedad, que tienen sintomatología grave, con un padre relativamente mayor en el momento de la concepción y sin historia familiar de autismo. De manera contraria, las variaciones transmitidas tienden a identificarse en familias con múltiples miembros afectados. La muestra de ambos padres debe estar disponible para poder determinar si las mutaciones fueron heredadas o son *de novo*. Una vez que se encontraron mutaciones, se debe analizar un grupo adicional de personas autistas y un grupo control [46]. Una estrategia de secuenciación que involucre a distintos grupos de investigación y cuente con muestras más grandes podría ofrecer la posibilidad de identificar o confirmar genes involucrados en los TEA [47].

Se ha demostrado que las variantes raras que se transmiten son con mayor frecuencia duplicaciones, y que las variantes *de novo* son más comúnmente deleciones. Se ha sugerido que las mujeres pueden ser más resistentes al desarrollo de TEA, ya que en ellas se pueden detectar deleciones o duplicaciones que a veces son más largas [39]. La secuenciación también ha permitido señalar genes autosómicos raros y genes no funcionales ligados al X como posibles factores de riesgo para los TEA [48]. En genes ligados al X, como *GABRA3* y *GABRQ*, se han identificado mutaciones potencialmente pa-

Tabla III. Regiones cromosómicas asociadas con los trastornos del espectro autista (TEA) de acuerdo con estudios citogenéticos, microarreglos y secuenciación

Región	Fenotipos asociados a los TEA o a otras condiciones
22q11	Síndrome de DiGeorge, síndromes de duplicaciones o deleciones cromosómicas, síndrome velocardiofacial, síndrome de Opitz G/BBB
15q11-q13	Síndrome de duplicación, síndrome de Angelman, síndrome de Prader-Willi
17p11.2	Síndrome de Smith-Magenis, síndrome de Potocki-Lupski
16p11.2	Síndrome de deleción, síndrome de duplicación
1q21	Síndrome de duplicación, síndrome de deleción, trombocitopenia con ausencia de radio, psoriasis
Cromosoma X, Xp22, Xq13	Síndrome de deleción, condrodisplasia <i>punctata</i> 1, síndrome de Asperger, autismo
Cromosoma 7, q22-q31	Retraso mental, autismo

tológicas en pacientes con este tipo de trastornos [49]. También se ha descrito que la frecuencia de mutaciones en las que se pierde la función es más alta en casos con TEA que en controles, y el 50% de las mutaciones *de novo* con pérdida de función involucra genes relacionados con estos trastornos. Entre los genes que se han identificado con la secuenciación completa del exoma se hallan *CHD8*, *DYRK1A*, *GRON2B*, *KATNAL2* y *SNCN2A* [50-52].

Aunque la mayoría de los análisis de secuenciación se llevan a cabo con ADN genómico, también se ha notificado mayor variación mitocondrial en personas con TEA [53].

En otro ámbito, los modelos animales con los que se tiene el potencial de reproducir características de los TEA han contribuido a proponer o a confirmar genes candidatos.

Modelos animales

Los modelos animales se refieren a ensayos empleados para probar una conducta o el animal mismo que ha sido genéticamente manipulado o seleccionado. Las características de estos modelos deben ser muy similares a las presentes en los TEA, y deben involucrar la misma disfunción biológica o una respuesta similar al tratamiento. Los modelos con validez de constructo son útiles para evaluar polimorfismos de un solo nucleótido, CNV, distintos genes de riesgo, interacciones gen-ambiente, modificaciones epigenéticas, toxinas ambientales, infecciones

prenatales, alteraciones inmunológicas y anormalidades mitocondriales. Se han generado modelos en ratón, con deleciones cromosómicas, con mutaciones que provocan la ausencia del producto de un gen (*knock-out*) o con mutaciones humanas (*knock-in*) de diversos genes candidatos para los TEA [29]. Como ejemplo, se ha mostrado que un modelo en ratón con una mutación que provoca pérdida de la función del gen *nlg4* se asocia a cambios selectivos en la conducta social y la vocalización; los machos adultos mostraron un interés menor en otros ratones y menos vocalizaciones ultrasónicas cuando entraban en contacto con una hembra [54]. Por su parte, el *knock-out* para *nlg3* también presentaba menos sonidos vocales de lo esperado y ninguna preferencia ante la novedad social, posiblemente en relación con una deficiencia olfativa, característica que se ha descrito en algunos pacientes con TEA [55].

En otros modelos, la deleción del gen *pten* en neuronas de la corteza cerebral y el hipocampo de ratones resultó en interacciones sociales anormales y una respuesta excesiva a los estímulos sensoriales [56]. En hembras mutantes para *pten* (*pten +/-*), que portaban una deleción en el exón 5, hubo alteraciones en la conducta social. Por otra parte, cuando un segmento genómico que contenía el codón de inicio del gen *slc6a4* del ratón fue reemplazado por una secuencia que impide la expresión del gen en células madre embrionarias, los ratones macho mostraron significativamente menor sociabilidad que los ratones comunes.

En estudios recientes se mostró que los ratones *knock-out* para *en2*, *en2(-/-)*, presentaban cambios neuropatológicos en el cerebelo similares a los observados en pacientes con TEA, así como déficits en la conducta social, incluyendo menor tiempo destinado al juego, al olfateo y al acicalamiento de tipo social, así como menor conducta agresiva [57].

En otra investigación se generó una duplicación de 6,3 Mb en el cromosoma 7 del ratón, que es equivalente a la duplicación frecuente en la región 15q11-13 en personas con TEA. Los animales que portaban la duplicación paterna presentaban poca interacción social, conducta inflexible, vocalizaciones ultrasónicas anormales y conducta asociada con ansiedad [58].

Un grupo distinto mostró que ratones *gabbr3 (-/-)* presentaban déficits en actividades como la socialización, la novedad social y la anidación. Estos ratones presentaban una conducta de exploración distinta y menos y más cortos episodios de cuidado de las crías [30].

En otro modelo se encontró que ratones con una producción incrementada del factor de iniciación

4E (*eif4e*) traducían más de lo esperado ARN mensajeros específicos, tenían alteraciones en la corteza media prefrontal, estriado e hipocampo, y presentaban conductas repetitivas y persistentes, así como déficits en interacciones sociales. Sin embargo, las conductas podían revertirse con infusiones intracerebroventriculares del inhibidor de la traducción 4EGI-1 y podían corregirse hacia la edad adulta [59]. Además, en ratones en los que el represor de eIF4E (4E-BP2) está inactivo, hay un incremento en la traducción de neuroleptinas, asociadas frecuentemente con los TEA. Estos ratones *knock-out* muestran mayor proporción de aferentes sinápticas excitatorias respecto a las inhibitorias y características similares al autismo, como déficits en la interacción social, comunicación alterada y conductas repetitivas [60].

En un modelo en ratón del síndrome de Potocki-Lupski, si los animales eran criados en un ambiente enriquecido, algunas de las anormalidades conductuales se reducían o desaparecían, lo que sugiere que las interacciones gen-ambiente son muy importantes [37]. Además del ambiente de crianza, otros factores no genéticos se han asociado a los TEA.

Factores no genéticos de riesgo

Las factores no genéticos que se han asociado con los TEA incluyen el uso de ácido valproico, etanol, talidomida y misoprostol durante el embarazo, el peso bajo al nacer (o el retraso del crecimiento intrauterino), rubéola congénita y otras infecciones, así como parálisis cerebral. Aproximadamente el 2% de las personas con parálisis cerebral puede tener un TEA. Se considera que en muchos casos la parálisis cerebral se asocia con daños provocados por hipoxia [61,62].

Hay diversas notificaciones sobre la asociación entre el uso de ácido valproico durante el embarazo y los TEA en los hijos. La exposición prenatal a este medicamento puede inducir síndrome fetal por ácido valproico posiblemente asociado con un incremento en la frecuencia de problemas del desarrollo y la comunicación en algunos pacientes autistas. Éstos frecuentemente presentan macrocefalia y una densidad neuronal elevada, que podría relacionarse con alteraciones en los procesos del desarrollo [63]. Se ha sugerido que la exposición al ácido valproico durante el embarazo podría inducir defectos del tubo neural y alteraciones en las conductas sociales. En un modelo en rata, el día embrionario 12 fue crítico para la exposición a ácido valproico, la cual se asoció con actitudes sociales alteradas similares a las conductas humanas autistas [64]. En humanos, el perio-

do más delicado para la exposición a ácido valproico comprende los días 20 a 24 de la embriogénesis. La exposición a ácido valproico y a otras sustancias, como etanol, talidomida y misoprostol, podría modular la expresión de diversos genes, algunos de los cuales participan en la diferenciación y migración celular, la sinaptogénesis y la apoptosis [62].

Por otro lado, haber sido prematuro, haber tenido bajo peso al nacer o haber sido el primer hijo podría ser más prevalente en personas con TEA [65]; estos hechos podrían relacionarse con alteraciones sensoriales, lesiones tempranas en la sustancia blanca causadas por hipoxia, hemorragia, exposición a sustancias tóxicas, inflamación, metabolismo, infecciones o anormalidades cerebelares; además, se ha descrito que el crecimiento del cerebelo durante el tercer trimestre del embarazo podría estar afectado en bebés prematuros [66].

La autoinmunidad inducida por virus podría también asociarse con los TEA. Los hallazgos de un estudio en 243 niños con rubéola congénita mostraron que el 7% de ellos tenía autismo típico o atípico [67]; la vacunación ha prevenido la rubéola y probablemente al mismo tiempo ha contribuido a la disminución en el riesgo de TEA en algunos casos. Se ha sugerido que otras infecciones virales también podrían relacionarse con estos trastornos, como la infección intrauterina por citomegalovirus y la encefalitis por el virus de herpes simple.

La exposición a xenobióticos, químicos como los metales pesados en el aire, agua y fuentes alimenticias, también ha sido asociada a los TEA. Al evaluar recientemente la concentración de 26 elementos traza en el cabello cercano a la piel cabelluda de 1.967 niños con TEA, se determinaron deficiencias en cinc (29,7% de la muestra), magnesio (17,6%) y calcio (5,8%). Además, se detectaron concentraciones elevadas de aluminio (17,2%), cadmio (8,5%) y plomo (4,8%) [68].

Por otra parte, la edad del padre es un factor no genético (con implicaciones genéticas) que se ha asociado con los TEA, especialmente en casos esporádicos. En los hombres, con la edad aumentan las mutaciones *de novo* en sus células germinales y hay mayor posibilidad de que los hijos porten una mutación perjudicial que pudiera incrementar la susceptibilidad a estos trastornos. Con un meta-análisis se pudo determinar que el riesgo de TEA se incrementaba de acuerdo con la edad de los padres mayores de 29 años [69]. En Islandia, en un estudio reciente se analizaron 45 familias nucleares en las que había un niño autista. Cuando la edad promedio de los padres era de 29,7, la tasa media de mutación *de novo* fue de $1,2 \times 10^{-8}$ por nucleótido por

generación. Hubo un incremento cercano a dos mutaciones por año más de edad del padre. Se estimó que el número de mutaciones paternas se duplicaba cada 16,5 años. El efecto de la edad del padre fue estadísticamente significativo para 14 de los 22 cromosomas. Aunque la tasa de recombinación es más alta en las mujeres que en los hombres, éstos últimos transmiten un número mucho mayor de mutaciones a sus hijos que las mujeres. También se detectaron mutaciones maternas *de novo*, pero el factor dominante para determinar el número de mutaciones *de novo* en los hijos fue la edad del padre [70]. En un estudio reciente se confirmó la asociación entre una mayor edad en los padres y el autismo. Además, se identificó una asociación entre la edad avanzada (50 años o más) de los abuelos varones cuando tuvieron a sus hijos y el diagnóstico de autismo en los nietos. Los abuelos con 50 años o más cuando nacieron sus hijos (hijos o hijas) presentaban mayor probabilidad (1,67-1,79 veces más) de tener un nieto autista, si se comparaban con abuelos que tuvieron hijos entre los 20 y los 24 años [71].

Otro aspecto que se ha estudiado se relaciona con el ácido fólico, necesario para el neurodesarrollo adecuado de los bebés. En el Estudio de Riesgos Genéticos y Ambientales para el Autismo Infantil, llevado a cabo de 2003 a 2009, se investigó el promedio diario de ácido fólico que tomaron durante el embarazo las madres de 429 niños con TEA; estos valores se compararon con los de madres de 278 niños con un desarrollo típico. En el primer mes de embarazo, las madres del grupo con desarrollo típico tuvieron una ingesta significativamente más alta de ácido fólico respecto a las madres de los niños con TEA ($779 \pm 36,1$ μg frente a $655 \pm 28,7$ μg ; $p < 0,01$) [72]. El ácido fólico y otros nutrientes están implicados en la metilación del ADN, que es el mecanismo epigenético más estudiado.

Epigenética

La epigenética está involucrada en el desarrollo, función y plasticidad neuronal, ya que participa en el proceso fuertemente regulado de la expresión de los genes. Los cambios epigenéticos no alteran la secuencia del ADN y son modificaciones químicas que ocurren principalmente sobre algunas citosinas del ADN y sobre las proteínas cromosómicas llamadas histonas. Las modificaciones en estas proteínas incluyen la metilación, acetilación, fosforilación, sumoilación, ubiquitinación y modificaciones por la ribosa-ADP, cada una de las cuales podría participar en el control de la expresión genética. La

metilación de las citosinas en el ADN y la desacetilación de las histonas tienden a estar presentes en la cromatina condensada cuando la expresión de los genes está silenciada.

Se ha propuesto que los cambios epigenéticos, como la metilación en las citosinas y la acetilación en las histonas, podrían estar involucrados en los TEA. Estos últimos son frecuentes en pacientes con trastornos causados por mutaciones epigenéticas (síndrome X frágil) u otros que involucran factores de regulación epigenética, como *MECP2* (síndrome de Rett). *MECP2* se expresa abundantemente en las neuronas maduras en el cerebro; puede activar o reprimir la transcripción de ADN a ARN; se une a citosinas metiladas e interactúa con complejos que remodelan la cromatina. Un grupo de investigadores comunicó que el 79% de muestras cerebrales *post mortem* de individuos con TEA presentaba una expresión reducida de *MECP2* en comparación con muestras controles [73]. Además, los ratones que no expresaban *mecp2* mostraron déficits funcionales en circuitos del cerebro anterior a las 6 semanas de edad; sin embargo, estos cambios fueron revertidos por tratamiento con quetamina [74].

De acuerdo con algunas investigaciones, hay genes no improntados que están regulados por la metilación del ADN, incluyendo el gen *RELN*. La metilación del ADN puede ser modificada por mutaciones, exposiciones de la madre durante el embarazo y experiencias posnatales. Hay evidencias que indican que algunas etapas críticas del desarrollo cerebral podrían estar alteradas en los pacientes autistas. El desarrollo cerebral tras el nacimiento es más sensible a las experiencias y hasta cierto punto menos determinado por la genética. La información en el ADN contribuye a las conexiones neuronales generales, pero las conexiones más precisas se presentan en respuesta a estímulos sensoriales [75].

Como se mencionó antes, daños provocados por factores ambientales incrementan el riesgo de TEA en personas genéticamente susceptibles, posiblemente al promover el estrés oxidativo celular y por respuestas adaptativas que podrían incluir una reducción en la actividad de metilación. Alteraciones en este proceso podrían relacionarse con retrasos y déficits en la atención y en la sincronización neuronal observada en los TEA. La región cromosómica 15q11-13, que ya se describió, está sujeta a impronta genómica dependiente de metilación. Se describieron fallos en la regulación de los genes gabérgicos en esta región, *GABRB3*, *GABRA5* y *GABRG3*, en un subgrupo de pacientes autistas [76].

En un metaanálisis reciente se confirmó que muchas de las mutaciones *de novo* identificadas por

secuenciación de todo el genoma se localizan en genes relacionados con la regulación epigenética. Por ejemplo, los genes que codifican para la proteína ARID1B, el regulador de cromatina SMARCC2 y el neuroprotector ADNP son parte de los complejos dependientes de ATP que remodelan histonas, vitales para el desarrollo neural. Otros genes relevantes en la regulación transcripcional, como *MLL3*, *MBD5* y *MBD6*, así como *SETDB1*, se han asociado con los TEA [77,78]. En otro estudio se identificó una mutación en el gen de la desacetilasa 6 de histonas (*HDAC6*). Las desacetilasas de histonas participan en la regulación del crecimiento dendrítico y coordinan la actividad de factores de transcripción asociados con los TEA [49]. Es posible que un mecanismo epigenético relativamente poco estudiado, la 5-hidroximetilación, constituyera una modificación epigenética relevante en las citosinas; fallos en su regulación podrían contribuir a trastornos del neurodesarrollo, de acuerdo con una investigación reciente [79].

Discusión

Existe heterogeneidad genética y fenotípica en los TEA y se ha demostrado que algunos de los genes que se asocian a estos trastornos son pleiotrópicos. Por ejemplo, mutaciones en el gen *MECP2* no sólo se identifican en pacientes con el síndrome de Rett, sino también en personas con retraso leve, autismo, un fenotipo similar al síndrome de Angelman y encefalopatía grave en algunos pacientes [80]. Por otra parte, incluso en condiciones monogénicas como el síndrome de Rett, se ha notificado que el fenotipo no sólo resulta del efecto del gen *MECP2*, sino del estado de inactivación del cromosoma X y otras variantes de otros genes, lo que está a favor de una complejidad etiológica general en los TEA [81].

Algunos pacientes con TEA portan mutaciones *de novo*, que surgieron en los gametos que los originaron y que podrían tener un efecto determinante en el fenotipo; otros portan alelos que sí están presentes en generaciones previas, pero que son raros a nivel poblacional, aun cuando pueden tener un efecto individual fuerte. También hay mutaciones que se asocian a trastornos monogénicos, pero los TEA, además, se relacionan con variantes comunes en diversos genes. Aunque estos alelos frecuentes pudieran tener menor influencia, es probable que participen en distintas características de los trastornos que están moduladas por las interacciones gen-gen y gen-ambiente, así como por factores epigenéticos. De esta manera, es necesario utilizar

distintos métodos, en muestras grandes y bien definidas de pacientes, familiares y controles sin TEA para confirmar o identificar los genes que realmente son relevantes en estos trastornos.

Aunque la genética tiene una función muy importante en los TEA, la heredabilidad a estos trastornos en sí podría ser más baja de lo que se pensaba anteriormente. En cualquier caso, la estimación de la heredabilidad sólo se aplica de manera estricta a la población, características y medio en el que se desarrolla cada estudio. Por ejemplo, si en un análisis de heredabilidad sólo se valoraran personas con TEA esporádicos que portaran mutaciones *de novo* con un fuerte impacto en el fenotipo, posiblemente se obtendría un resultado muy distinto al encontrado en familias con múltiples miembros con TEA. Además, la heredabilidad está basada en resultados de estudios en gemelos, en los que se considera que las diferencias entre pares monocigóticos y dicigóticos son sólo de tipo genético, pero la epigenética y la posibilidad de un ambiente más compartido entre los monocigóticos tienden a ignorarse. Se requieren aún estudios de adopción para los TEA.

La edad avanzada en los padres y abuelos hombres se relaciona con mutaciones *de novo*. Estos cambios nuevos en el ADN, que se asocian con los TEA en el paciente, pero que no se presentan en las generaciones previas de su familia, no pueden detectarse con análisis de enlace genético o estudios de asociación [46]. Este tipo de estudios ha ayudado a mapear y descubrir genes que incrementan la susceptibilidad a los TEA [82], pero no pueden detectar mutaciones *de novo* relacionadas con los trastornos.

Por otro lado, considerando que la frecuencia de algunos alelos de riesgo que ya se conocen varía entre las poblaciones, es importante tomar en cuenta hallazgos de muestras de distintos grupos étnicos, en especial para estudios de enlace y de asociación.

El incremento que se ha observado en la prevalencia de los TEA podría no sólo relacionarse con mayor conciencia sobre estos trastornos, cambios en los criterios diagnósticos y exposiciones ambientales. También podría deberse a un número creciente de mutaciones *de novo* y factores epigenéticos relevantes.

Se ha mostrado que el embarazo y los primeros años de vida son períodos cruciales para los TEA. Sustancias como el ácido valproico podrían afectar el desarrollo temprano. Además, el inicio de los síntomas autistas en los primeros años de vida sugiere que ciertas etapas críticas del desarrollo cerebral posnatal podrían estar afectadas en los pacientes. El desarrollo cerebral en esa etapa podría ser más sensible a factores ambientales. Los primeros años

se caracterizan por una máxima plasticidad neuronal y, en esa etapa, tanto los factores ambientales como los epigenéticos podrían tener un impacto importante en la expresión de los genes y en la producción y función de algunas proteínas [83]. Los genes que frecuentemente se han asociado o ligado a los TEA se relacionan, en gran medida, con el desarrollo y la conectividad de sinapsis, neurotransmisión, señalización, neuroplasticidad y expresión de los genes. Se ha descrito que algunos de estos genes codifican para proteínas que participan en la regulación de las respuestas sinápticas a experiencias sensoriales, a través de fosforilación y regulación de los procesos de transcripción y traducción. Al mismo tiempo, estas proteínas están afectadas por la actividad neuronal. De esta manera, los TEA podrían resultar de procesos alterados del desarrollo de sinapsis dependiente de actividad [84].

El conocimiento sobre factores que incrementan la susceptibilidad a los TEA contribuye a considerar medidas preventivas. Es posible seguir a familias con mayor susceptibilidad para evitar posibles riesgos ambientales en las nuevas generaciones. También es probable que se puedan identificar nuevos blancos terapéuticos y que pronto haya incluso tratamientos personalizados disponibles, en los que las variantes genéticas de riesgo específicas y otros factores se tomen en cuenta.

En los modelos animales, algunas de las conductas similares al autismo han logrado ser controladas o revertidas de manera exitosa, lo que indica que algunos tratamientos específicos para los TEA potencialmente podrían revertir las alteraciones en los pacientes. La información sobre otras variables, como la edad avanzada de los padres y abuelos hombres, especialmente en casos esporádicos de TEA, podría conducir al descubrimiento de mutaciones *de novo*, algunas de las cuales podrían estar asociadas realmente con los TEA.

Conclusión

En general, los TEA son condiciones multifactoriales en las que diversos factores genéticos, ambientales y epigenéticos pueden contribuir al fenotipo. En estos trastornos hay heterogeneidad genética y fenotípica, y diversos mecanismos subyacentes podrían estar involucrados en su etiología. Estos mecanismos parecen estar relacionados con el desarrollo y conectividad sináptica, neurotransmisión, señalización, neuroplasticidad y expresión genética.

Una fracción de la heredabilidad de los TEA podría explicarse por alelos relativamente comunes que

tienden a tener un efecto sutil; otros alelos transmitidos menos comunes suelen tener un efecto individual más importante. También hay mutaciones *de novo* que en algunos casos se relacionan con una edad avanzada de los padres y abuelos y que se han descrito en un subgrupo de pacientes.

Aunque hay diversos genes asociados a los TEA y se conocen distintos factores ambientales y epigenéticos que podrían incrementar el riesgo a estos trastornos neuropsiquiátricos, cada paciente podría tener variantes de susceptibilidad hasta cierto punto específicas, de manera que la contribución genética, ambiental y epigenética al fenotipo podría variar de alguna manera entre uno y otro paciente. También es posible que los alelos de riesgo tuvieran una influencia distinta en el fenotipo dependiendo de otros factores genéticos y no genéticos que también incrementan el riesgo.

Técnicas como la secuenciación permiten identificar mutaciones *de novo* implicadas en los TEA. Distintos métodos, incluyendo secuenciación, genotipificación, análisis citogenéticos, modelos animales, análisis de las interacciones gen-ambiente y estudios epigenéticos, hasta ahora han contribuido y son necesarios para entender la etiología de los TEA.

Bibliografía

- Neumarker KJ. Classification matters for catatonia and autism in children. *Int Rev Neurobiol* 2006; 72: 3-19.
- Volkmar FR, Reichow B, McPartland J. Classification of autism and related conditions: progress, challenges, and opportunities. *Dialogues Clin Neurosci* 2012; 14: 229-37.
- Stankovic M, Lalic A, Ilic N. Autism and autistic spectrum disorders in the context of new DSM-V classification, and clinical and epidemiological data. *Srp Arh Celok Lek* 2012; 140: 236-43.
- Kim YS, Leventhal BL, Koh YJ, Fombonne E, Laska E, Lim EC, et al. Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry* 2011; 168: 904-12.
- Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, Phillips J, Cohen B, Torigoe T, et al. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch Gen Psychiatry* 2011; 68: 1095-102.
- Folstein SE, Rosen-Sheidley B. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 943-55.
- Liu K, Zerubavel N, Bearman P. Social demographic change and autism. *Demography* 2010; 47: 327-43.
- Virkud YV, Todd RD, Abbacchi AM, Zhang Y, Constantino JN. Familial aggregation of quantitative autistic traits in multiplex versus simplex autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2009; 150B: 328-34.
- Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altschuler DM, et al. Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Res* 2006; 16: 949-61.
- Morrow EM. Genomic copy number variation in disorders of cognitive development. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010; 49: 1091-104.
- IMGSAC. A genomewide screen for autism: strong evidence for linkage to chromosomes 2q, 7q, and 16p. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 570-81.
- Buxbaum JD, Silverman JM, Smith CJ, Kilifarski M, Reichert J, Hollander E, et al. Evidence for a susceptibility gene for autism on chromosome 2 and for genetic heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1514-20.
- Auranen M, Vanhala R, Varilo T, Ayers K, Kempas E, Ylisaukko-Oja T, et al. A genomewide screen for autism-spectrum disorders: evidence for a major susceptibility locus on chromosome 3q25-27. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 777-90.
- Shao Y, Raiford KL, Wolpert CM, Cope HA, Ravan SA, Ashley-Koch AA, et al. Phenotypic homogeneity provides increased support for linkage on chromosome 2 in autistic disorder. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 1058-61.
- Ylisaukko-oja T, Nieminen-Von Wendt T, Kempas E, Sarenius S, Varilo T, Von Wendt L, et al. Genome-wide scan for loci of Asperger syndrome. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 161-8.
- Philippe A, Martínez M, Guillaud-Bataille M, Gillberg C, Rastam M, Sponheim E, et al. Genome-wide scan for autism susceptibility genes. Paris Autism Research International Sibpair Study. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 805-12.
- Chapman NH, Estes A, Munson J, Bernier R, Webb SJ, Rothstein JH, et al. Genome-scan for IQ discrepancy in autism: evidence for loci on chromosomes 10 and 16. *Hum Genet* 2011; 129: 59-70.
- Risch N, Spiker D, Lotspeich L, Nouri N, Hinds D, Hallmayer J, et al. A genomic screen of autism: evidence for a multilocus etiology. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 493-507.
- Yonan AL, Alarcon M, Cheng R, Magnusson PK, Spence SJ, Palmer AA, et al. A genomewide screen of 345 families for autism-susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 886-97.
- Trikalinos TA, Karvouni A, Zintzaras E, Ylisaukko-oja T, Peltonen L, Jarvela I, et al. A heterogeneity-based genome search meta-analysis for autism-spectrum disorders. *Mol Psychiatry* 2006; 11: 29-36.
- Laumonnier F, Bonnet-Brilhault F, Gomot M, Blanc R, David A, Moizard MP, et al. X-linked mental retardation and autism are associated with a mutation in the NLGN4 gene, a member of the neuroligin family. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 552-7.
- Strauss KA, Puffenberger EG, Huentelman MJ, Gottlieb S, Dobrin SE, Parod JM, et al. Recessive symptomatic focal epilepsy and mutant contactin-associated protein-like 2. *N Engl J Med* 2006; 354: 1370-7.
- Impagnatiello F, Guidotti AR, Pesold C, Dwivedi Y, Caruncho H, Pisu MG, et al. A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 15718-23.
- Anderson GR, Galfin T, Xu W, Aoto J, Malenka RC, Sudhof TC. Candidate autism gene screen identifies critical role for cell-adhesion molecule CASPR2 in dendritic arborization and spine development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109: 18120-5.
- Sillitoe RV, Vogel MW, Joyner AL. Engrailed homeobox genes regulate establishment of the cerebellar afferent circuit map. *J Neurosci* 2010; 30: 10015-24.
- Tsui D, Vessey JP, Tomita H, Kaplan DR, Miller FD. FoxP2 regulates neurogenesis during embryonic cortical development. *J Neurosci* 2013; 33: 244-58.
- Carney RM, Wolpert CM, Ravan SA, Shahbazian M, Ashley-Koch A, Cuccaro ML, et al. Identification of MeCP2 mutations in a series of females with autistic disorder. *Pediatr Neurol* 2003; 28: 205-11.
- Hogan-Brown AL, Losh M, Martin GE, Mueffelmann DJ. An investigation of narrative ability in boys with autism and fragile X syndrome. *Am J Intellect Dev Disabil* 2013; 118: 77-94.
- Silverman JL, Yang M, Lord C, Crawley JN. Behavioural phenotyping assays for mouse models of autism. *Nat Rev Neurosci* 2010; 11: 490-502.
- DeLorey TM, Sahbaie P, Hashemi E, Homanics GE, Clark JD. Gabrb3 gene deficient mice exhibit impaired social and exploratory behaviors, deficits in non-selective attention and hypoplasia of cerebellar vermal lobules: a potential model of autism spectrum disorder. *Behav Brain Res* 2008; 187: 207-20.
- Ascano M Jr, Mukherjee N, Bandaru P, Miller JB, Nusbaum JD, Corcoran DL, et al. FMRP targets distinct mRNA sequence elements to regulate protein expression. *Nature* 2012; 492: 382-6.

32. Numis AL, Major P, Montenegro MA, Muzykewicz DA, Pulsifer MB, Thiele EA. Identification of risk factors for autism spectrum disorders in tuberous sclerosis complex. *Neurology* 2011; 76: 981-7.
33. Carrascosa-Romero MC, Suela J, Alfaro-Ponce B, Cepillo-Boluda AJ. Ictiosis ligada al cromosoma X asociada a epilepsia, hiperactividad, autismo y retraso mental, por microdelección Xp22.31. *Rev Neurol* 2012; 54: 241-8.
34. Xu J, Zwaigenbaum L, Szatmari P, Scherer SW. Molecular cytogenetics of autism. *Current Genomics* 2004; 5: 18.
35. Vorstman JA, Breetvelt EJ, Thode KI, Chow EW, Bassett AS. Expression of autism spectrum and schizophrenia in patients with a 22q11.2 deletion. *Schizophr Res* 2013; 143: 55-9.
36. Artigas-Pallarés J, Gabau-Vila E, Guitard-Feliubadaló M. El autismo síndrome: II. Síndromes de base genética asociados a autismo. *Rev Neurol* 2005; 40 (Supl 1): S151-62.
37. Lacaria M, Spencer C, Gu W, Paylor R, Lupski JR. Enriched rearing improves behavioral responses of an animal model for CNV-based autistic-like traits. *Hum Mol Genet* 2012; 21: 3083-96.
38. Weiss LA, Shen Y, Korn JM, Arking DE, Miller DT, Fossdal R, et al. Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism. *N Engl J Med* 2008; 358: 667-75.
39. Levy D, Ronemus M, Yamrom B, Lee YH, Leotta A, Kendall J, et al. Rare de novo and transmitted copy-number variation in autistic spectrum disorders. *Neuron* 2011; 70: 886-97.
40. Li F, Shen Y, Kohler U, Sharkey FH, Menon D, Coulleaux L, et al. Interstitial microduplication of Xp22.31: Causative of intellectual disability or benign copy number variant? *Eur J Med Genet* 2010; 53: 93-9.
41. Cukier HN, Skaar DA, Rayner-Evans MY, Konidari I, Whitehead PL, Jaworski JM, et al. Identification of chromosome 7 inversion breakpoints in an autistic family narrows candidate region for autism susceptibility. *Autism Res* 2009; 2: 258-66.
42. Girirajan S, Dennis MY, Baker C, Malig M, Coe BP, Campbell CD, et al. Refinement and discovery of new hotspots of copy-number variation associated with autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet* 2013; 92: 221-37.
43. Pinto D, Pagnamenta AT, Klei L, Anney R, Merico D, Regan R, et al. Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature* 2010; 466: 368-72.
44. Prasad A, Merico D, Thiruvahindrapuram B, Wei J, Lionel AC, Sato D, et al. A discovery resource of rare copy number variations in individuals with autism spectrum disorder. *G3 (Bethesda)* 2012; 2: 1665-85.
45. Michaelson JJ, Shi Y, Gujral M, Zheng H, Malhotra D, Jin X, et al. Whole-genome sequencing in autism identifies hot spots for de novo germline mutation. *Cell* 2012; 151: 1431-42.
46. Julie G, Hamdan FF, Rouleau GA. A strategy to identify de novo mutations in common disorders such as autism and schizophrenia. *J Vis Exp*. 2011; Jun 15. [Epub ahead of print].
47. Buxbaum JD, Daly MJ, Devlin B, Lehner T, Roeder K, State MW. The autism sequencing consortium: large-scale, high-throughput sequencing in autism spectrum disorders. *Neuron* 2012; 76: 1052-6.
48. Lim ET, Raychaudhuri S, Sanders SJ, Stevens C, Sabo A, MacArthur DG, et al. Rare complete knockouts in humans: population distribution and significant role in autism spectrum disorders. *Neuron* 2013; 77: 235-42.
49. Piton A, Jouan L, Rochefort D, Dobrzyniecka S, Lachapelle K, Dion PA, et al. Analysis of the effects of rare variants on splicing identifies alterations in GABA(A) receptor genes in autism spectrum disorder individuals. *Eur J Hum Genet* 2013; 21: 749-56.
50. O'Roak BJ, Vives L, Fu W, Egerton JD, Stanaway IB, Phelps IG, et al. Multiplex targeted sequencing identifies recurrently mutated genes in autism spectrum disorders. *Science* 2012; 338: 1619-22.
51. Neale BM, Kou Y, Liu L, Ma'ayan A, Samocha KE, Sabo A, et al. Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature* 2012; 485: 242-5.
52. Sanders SJ, Murtha MT, Gupta AR, Murdoch JD, Raubeson MJ, Willsey AJ, et al. De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature* 2012; 485: 237-41.
53. Piryaei F, Houshmand M, Aryani O, Dadgar S, Soheili ZS. Investigation of the mitochondrial ATPase 6/8 and tRNA(Lys) genes mutations in autism. *Cell J* 2012; 14: 98-101.
54. Jamain S, Radyushkin K, Hammerschmidt K, Granon S, Boretius S, Varoquaux F, et al. Reduced social interaction and ultrasonic communication in a mouse model of monogenic heritable autism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 1710-5.
55. Radyushkin K, Hammerschmidt K, Boretius S, Varoquaux F, El-Kordi A, Ronnenberg A, et al. Neuroligin-3-deficient mice: model of a monogenic heritable form of autism with an olfactory deficit. *Genes Brain Behav* 2009; 8: 416-25.
56. Kwon CH, Luikart BW, Powell CM, Zhou J, Matheny SA, Zhang W, et al. Pten regulates neuronal arborization and social interaction in mice. *Neuron* 2006; 50: 377-88.
57. Cheh MA, Millonig JH, Roselli LM, Ming X, Jacobsen E, Kamdar S, et al. En2 knockout mice display neurobehavioral and neurochemical alterations relevant to autism spectrum disorder. *Brain Res* 2006; 1116: 166-76.
58. Nakatani J, Tamada K, Hatanaka F, Ise S, Ohta H, Inoue K, et al. Abnormal behavior in a chromosome-engineered mouse model for human 15q11-13 duplication seen in autism. *Cell* 2009; 137: 1235-46.
59. Santini E, Huynh TN, MacAskill AF, Carter AG, Pierre P, Ruggero D, et al. Exaggerated translation causes synaptic and behavioural aberrations associated with autism. *Nature* 2013; 493: 411-5.
60. Gkogkas CG, Khoutorsky A, Ran I, Rampakakis E, Nevarko T, Weatherill DB, et al. Autism-related deficits via dysregulated eIF4E-dependent translational control. *Nature* 2013; 493: 371-7.
61. Freitag CM, Staal W, Klauck SM, Duketis E, Waltes R. Genetics of autistic disorders: review and clinical implications. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2010; 19: 169-78.
62. Dufour-Rainfray D, Vour'h P, Tourlet S, Guilloteau D, Chalou S, Andres CR. Fetal exposure to teratogens: evidence of genes involved in autism. *Neurosci Biobehav Rev* 2011; 35: 1254-65.
63. Go HS, Kim KC, Choi CS, Jeon SJ, Kwon KJ, Han SH, et al. Prenatal exposure to valproic acid increases the neural progenitor cell pool and induces macrocephaly in rat brain via a mechanism involving the GSK-3beta/beta-catenin pathway. *Neuropharmacology* 2012; 63: 1028-41.
64. Kim KC, Kim P, Go HS, Choi CS, Yang SI, Cheong JH, et al. The critical period of valproate exposure to induce autistic symptoms in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Lett* 2011; 201: 137-42.
65. Schrieken M, Visser J, Oosterling I, Van Steijn D, Bons D, Draaisma J, et al. Head circumference and height abnormalities in autism revisited: the role of pre- and perinatal risk factors. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2013; 22: 35-43.
66. Ouss-Ryngaert L, Álvarez L, Boissel A. Autism and prematurity: state of the art. *Arch Pediatr* 2012; 19: 970-5.
67. Chess S. Follow-up report on autism in congenital rubella. *J Autism Child Schizophr* 1977; 7: 69-81.
68. Yasuda H, Kobayashi M, Yasuda Y, Tsutsui T. Estimation of autistic children by metallomics analysis. *Sci Rep* 2013; 3: 1199.
69. Hultman CM, Sandin S, Levine SZ, Lichtenstein P, Reichenberg A. Advancing paternal age and risk of autism: new evidence from a population-based study and a meta-analysis of epidemiological studies. *Mol Psychiatry* 2011; 16: 1203-12.
70. Kong A, Frigge ML, Masson G, Besenbacher S, Sulem P, Magnusson G, et al. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature* 2012; 488: 471-5.
71. Frans EM, Sandin S, Reichenberg A, Langstrom N, Lichtenstein P, McGrath JJ, et al. Autism risk across generations: a population-based study of advancing grandpaternal and paternal age. *JAMA Psychiatry* 2013; 70: 516-21.
72. Schmidt RJ, Tancredi DJ, Ozonoff S, Hansen RL, Hartiala J, Allayee H, et al. Maternal periconceptional folic acid intake and risk of autism spectrum disorders and developmental delay in the CHARGE (Childhood Autism Risks from

- Genetics and Environment) case-control study. *Am J Clin Nutr* 2012; 96: 80-9.
73. Nagarajan RP, Hogart AR, Gweye Y, Martin MR, LaSalle JM. Reduced MeCP2 expression is frequent in autism frontal cortex and correlates with aberrant MECP2 promoter methylation. *Epigenetics* 2006; 1: e1-11.
 74. Kron M, Howell CJ, Adams IT, Ransbottom M, Christian D, Ogier M, et al. Brain activity mapping in Mecp2 mutant mice reveals functional deficits in forebrain circuits, including key nodes in the default mode network, that are reversed with ketamine treatment. *J Neurosci* 2012; 32: 13860-72.
 75. Fagiolini M, Jensen CL, Champagne FA. Epigenetic influences on brain development and plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 2009; 19: 207-12.
 76. Deth R, Muratore C, Benzecry J, Power-Charnitsky VA, Waly M. How environmental and genetic factors combine to cause autism: a redox/methylation hypothesis. *Neurotoxicology* 2008; 29: 190-201.
 77. Ben-David E, Shifman S. Combined analysis of exome sequencing points toward a major role for transcription regulation during brain development in autism. *Mol Psychiatry* 2012; Nov 13. [Epub ahead of print].
 78. Cukier HN, Lee JM, Ma D, Young JJ, Mayo V, Butler BL, et al. The expanding role of MBD genes in autism: identification of a MECP2 duplication and novel alterations in MBD5, MBD6, and SETDB1. *Autism Res* 2012; 5: 385-97.
 79. Wang T, Pan Q, Lin L, Szulwach KE, Song CX, He C, et al. Genome-wide DNA hydroxymethylation changes are associated with neurodevelopmental genes in the developing human cerebellum. *Hum Mol Genet* 2012; 21: 5500-10.
 80. Gonzales ML, LaSalle JM. The role of MeCP2 in brain development and neurodevelopmental disorders. *Curr Psychiatry Rep* 2010; 12: 127-34.
 81. Grillo E, Lo Rizzo C, Bianciardi L, Bizzarri V, Baldassarri M, Spiga O, et al. Revealing the complexity of a monogenic disease: Rett syndrome exome sequencing. *PLoS One* 2013; 8: e56599.
 82. Bayés M, Ramos JA, Cormand B, Hervás-Zúñiga A, Del Campo M, Durán-Taulería E, et al. Genotipado a gran escala en la investigación del trastorno del espectro autista y el trastorno por déficit de atención con hiperactividad. *Rev Neurol* 2005; 40 (Supl 1): S187-90.
 83. Crews D. Epigenetics and its implications for behavioral neuroendocrinology. *Front Neuroendocrinol* 2008; 29: 344-57.
 84. Ebert DH, Greenberg ME. Activity-dependent neuronal signalling and autism spectrum disorder. *Nature* 2013; 493: 327-37.

Genetic, environmental, and epigenetic contribution to the susceptibility to autism spectrum disorders

Introduction. Autism spectrum disorders (ASD) are common and complex neuropsychiatric disorders in which multiple factors may contribute to the phenotype.

Aim. To review current knowledge about possible risk factors for ASD.

Development. Medline, OMIM and Ensembl databases were searched for possible risk factors, disease and gene information.

Conclusions. There is genetic heterogeneity and probably different modes of transmission in ASD. In addition, many cases are related with non-inherited de novo mutations or uncommon alleles with a large effect. The general heritability in these disorders may be lower than previously reported. Some fraction of it may be explained by relatively common alleles that tend to have a small effect. To some extent, susceptibility alleles may have a different influence on the phenotype depending on other genetic or non-genetic factors. Non-genetic factors in the perinatal and postnatal period, including epigenetics, the age of the father and possibly the age of grandparents at conception may be relevant for ASD. The mechanisms involved in the etiology of ASD may be related with synaptic development and connectivity, neurotransmission, signaling, neuroplasticity, and gene expression. Different methods have contributed to understand the etiology of ASD. Linkage and association studies are not appropriate for ASD cases with de novo mutations with a strong effect. The observed increase in ASD prevalence may be related not only with more awareness, changing diagnostic criteria, and environmental exposures, but also with epigenetic changes, and an increasing number of de novo mutations.

Key words. Autism. Autistic disorder. Autism spectrum disorders. Environment and autism. Epigenetics and autism. Genetics of autism. Genetics of autism spectrum disorders. Medical genetics. Multifactorial inheritance.