

Współczesne rozumienie zaburzeń ze spektrum autyzmu – epidemiologia, obraz kliniczny i badania genetyczne

Current understanding of autism spectrum disorders – epidemiology, clinical presentation and genetic studies

Filip Rybakowski

STRESZCZENIE

Niedawno opublikowano doniesienia dotyczące możliwego zwiększania się częstości występowania i dokładniejszych opisy zróżnicowanej symptomatologii zaburzeń ze spektrum autyzmu (ASD). Te postępy, wraz z szybkim rozwojem metod analizy molekularnej, spowodowały zainteresowanie genetyczną architekturą tego zaburzenia. W artykule przedstawiono badania nad rzadkimi wariantami genetycznymi związanymi z zaburzeniami neurorozwojowymi prowadzącymi do fenotypów autyzmu. Podsumowano również niejednoznaczne wyniki badań polimorfizmów występujących często, które mogą wpływać na poznanie społeczne (układy wazopresyna/ oksytocyna oraz kwas glutaminowy/ GABA).

Słowa kluczowe: autyzm, zaburzenia ze spectrum autyzmu, epidemiologia, genetyka

SUMMARY

Recently reports of possible increase in prevalence, and more precise description of heterogenous symptomatology of autism spectrum disorders (ASD) were published. These developments, together with rapid progress in molecular analysis methodology brought attention of researchers to the genetic architecture of this disorder. Paper presents studies on rare genetic variants, leading to neurodevelopmental disturbances responsible for autistic phenotypes. Unequivocal results concerning frequently occurring polymorphisms, which may affect social cognition (oxytocin/ vasopressin and glutamate/ GABA systems) were also summarized.

Key words: Autism, Autism spectrum disorders, Epidemiology, Genetics

Wiadomości
Psychiatryczne;
15(4): 145–150

Szkola Wyższa Psychologii Społecznej w Poznaniu
Klinika Psychiatrii Dzieci i Młodzieży, Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

Konflikt interesu/
Conflicts of interest:
Autor pracy nie zgłasza konfliktu interesów

Adres do korespondencji/
Address for correspondence:
Dr hab. Filip Rybakowski
Klinika Psychiatrii Dzieci i Młodzieży
Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie
Katedra Psychologii Klinicznej
Sobieskiego 9
02-957 Warszawa
e-mail:
filrybak@yahoo.com

Wstęp

W latach 40. XX wieku powstały dwa opisy zespołów psychopatologicznych, które dały podstawy do utworzenia we współczesnych klasyfikacjach kategorii diagnostycznych „zaburzeń ze spektrum autyzmu” (*autism spectrum disorders*; ASD). Pierwszy zespół objawów – zdefiniowany przez Kanner [1], dotyczył występowania nasilonych zaburzeń komunikacji i języka oraz stereotypowych zachowań o znaczącym nasileniu. Zgodnie z propozycją Ruttera [2], z lat 70. ubiegłego stulecia oraz kolejnymi klasyfikacjami psychiatrycznymi [3–5] stopniowo poszerzano kryteria diagnostyczne autyzmu, jednocześnie uzupełniając kategorię innymi zaburzeniami pokrewnymi, np. w przypadku niewystępowania upośledzenia umysłowego – „wysokofunkcjonującym autyzmem”, a w przypadku występowania tylko części objawów – całościowymi zaburzeniami rozwoju inaczej nieokreślonymi (PDD-NOS). Niemal jednocześnie z Kan- nerem austriacki psychiatra Hans Asperger opisał dzieci funkcjonujące „jak mali profesorowie” [6], jednakże doniesienie to znalazło drogę do oficjalnej klasyfikacji psychiatrycznej dopiero od lat 80., początkowo jako zaburzenie, a następnie zespół Aspergera [7]. Ze względu na trudności dotyczące diagnozy

związanej z występowaniem kilku różnorodnych rozpoznań w kategorii całościowych zaburzeń rozwoju, przede wszystkim coraz częstszą praktykę rozpoznawania całościowych zaburzeń rozwojowych inaczej nieokreślonych oraz rozpoznawania u jednej osoby kilku różnorodnych zaburzeń całościowych, twórcy nowej klasyfikacji DSM-V (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V*) podjęli decyzję o scaleniu wszystkich kategorii w dużą grupę zaburzeń ze spektrum autyzmu [8]. Zgodnie z powyższą propozycją klasyfikacji, dla rozpoznania ASD konieczne jest występowanie dwóch osiowych objawów: zaburzeń komunikacji/ interakcji społecznych oraz stereotypowych, powtarzalnych zachowań. Rozpoznanie jest uzupełniane poprzez dokładną ocenę funkcjonowania intelektualnego i językowego danej jednostki.

Epidemiologia

Rozpowszechnienie ASD jest tematem kontrowersyjnym, szczególnie w świetle doniesień o zwiększającej się częstości występowania takich zaburzeń, jak również potencjalnych czynnikach odpowiedzialnych za to zjawisko [9]. Kilka opublikowanych w ostatnim czasie badań epidemiologicznych pozwala jednakże

na względnie wiarygodne oszacowanie rozpowszechnienia ASD. W 26 badaniach opublikowanych w tym stuleciu mediana częstości występowania zaburzenia autystycznego (definiowanego zgodnie z kryteriami DSM-IV) wynosiła 21,6:10 tysięcy, wartość ta wykazywała ujemną korelację z wielkością badanej populacji [10]. Średni odsetek osób z ilorazem inteligencji w zakresie normy wynosił w 24 badaniach, w których oceniano tę cechę, 32%. W każdym z badań stosunek zachorowań mężczyzn do kobiet był większy od 1 i wynosił średnio 4,4:1. Na uwagę zasługuje fakt, że współczynnik korelacji pomiędzy rokiem publikacji badań a opisywaną częstością występowania zaburzeń był wysoki (r Spearmana=0,77) [9]. Doniesienia dotyczące częstości występowania Zespołu Aspergera są znacznie mniej liczne, co wynika po części z późniejszego stworzenia tej kategorii diagnostycznej. Mediana częstości występowania ZA w kilkunastu opublikowanych od lat 90. badaniach wynosiła 21,3:10 tysięcy i była istotnie niższa niż w przypadku zaburzenia autystycznego. Latif i Williams [11] opublikowali pracę, w której częstość występowania ZA była większa niż zaburzenia autystycznego, ponieważ do definicji tego pierwszego włączono również osoby z wysokofunkcjonującym autyzmem. Dziecięce zaburzenie dezintegracyjne występuje około 100 razy rzadziej niż zaburzenie autystyczne, a mediana częstości występowania w dwunastu opublikowanych badaniach wynosiła 1,9:10 tysięcy. Od początku badań epidemiologicznych nad autyzmem zwracano uwagę na liczną grupę osób, która nie spełniała wszystkich kryteriów diagnostycznych, ale która mogła cechować się zbliżonym upośledzeniem funkcjonowania [12]. W tych wczesnych badaniach liczba takich pacjentów mogła 4-krotnie przekraczać liczbę osób ze ściśle zdefiniowanym fenotypem autyzmu (zaburzenia autystycznego). Natomiast od początku XXI wieku większość badań epidemiologicznych podaje rozpowszechnienie szerokiego spektrum autyzmu – ASD. Mediana częstości występowania ASD wynosi w tych badaniach 62:10 tysięcy [10].

Obraz kliniczny

Obowiązujące do tej pory klasyfikacje diagnostyczne zakładały, że osiowe objawy autyzmu stanowią trzy współwystępujące wymiary objawów: zaburzenia rozwoju języka, zaburzenia komunikacji oraz ograniczone i stereotypowe zachowania [5, 13]. Jednakże objawy, takie jak ograniczony kontakt słowny, trudności w aktywnym podtrzymywaniu rozmowy oraz ograniczona gestykulacja, stanowią przejawy deficytów zarówno w sferze komunikacji, jak i w sferze społecznej. Co więcej, u osób z ASD ze względnie niezaburzonymi zdolnościami językowymi występują inne trudności komunikacyjne, takie jak ograniczona gestykulacja i mimika czy zakłócony kontakt wzrokowy, które

utrudniają lub całkowicie uniemożliwiają budowanie relacji społecznych. Z tego względu w najnowszej propozycji amerykańskiej klasyfikacji psychiatrycznej zaburzenia językowe i zaburzenia społeczne postrzegane są jako dysfunkcje w obrębie jednego wymiaru psychopatologicznego. Natomiast do ograniczonych, stereotypowych zachowań zalicza się kilka rodzajów objawów – skrajnie nasilone dziwaczne zainteresowania, przywiązanie do nietypowych, niecelowych schematów zachowań, manieryzmy ruchowe oraz skupienie na częściach złożonych przedmiotów [8]. W analizie czynnikowej w powtarzalnych zachowaniach można wyróżnić dwa wymiary – powtarzalnych czynności czuciowo-ruchowych oraz przywiązania do stałości (trudności ze zmianą schematów postępowania, rytuały, nienaturalne przywiązanie do obiektów) [14]. W niedawnych badaniach zaobserwowano, że do stereotypowych zachowań może zaliczać się również trzeci wymiar, który w przeciwieństwie do dwóch powyższych, występujących również w innych zaburzeniach neurorozwojowych jest względnie swoisty dla ASD – skrajnie nasilone ograniczone zainteresowania. Wskazuje się, że ASD może współwystępować z cechami dysmorfii, zaburzeniami układu ruchu, zaburzeniami metabolicznymi jak i innymi przewlekłymi chorobami somatycznymi, co skłania niektórych badaczy do wyróżniania, podobnie jak w przypadku niepełnosprawności intelektualnej, tzw. postaci zespołowych i niespełnowych ASD [15]. Jak wynika z powyższego opisu, obraz kliniczny ASD może istotnie różnić się pomiędzy poszczególnymi chorymi, co wraz z różnicami dotyczącymi nasilenia współwystępującej niepełnosprawności intelektualnej, jak również przebiegu (występowanie lub brak regresji rozwoju), może wskazywać na istotną zmienność etiologiczną. Może to sugerować, że u poszczególnych pacjentów istnieje heterogenność genetyczna wymagająca odmiennych procedur diagnostycznych, co z kolei może wymagać zróżnicowanych oddziaływań terapeutycznych.

Badania genetyczne

Diagnoza ASD, podobnie jak innych zaburzeń psychicznych, opiera się na występowaniu określonych objawów psychopatologicznych, ponieważ do tej pory nie odnaleziono markerów genetycznych, biochemicznych i neurobiologicznych, które w rzetelny sposób potwierdzałyby rozpoznanie. Udział czynników genetycznych w ryzyku zachorowania, który określa się mianem dziedziczności, może być w przypadku ASD najwyższy spośród wszystkich zaburzeń psychicznych i wynosić ok. 0,8–0,9 [16], choć niedawne analizy wskazują na wartości w zakresie 0,4–0,7 [17]. Zmienność genetyczną odpowiedzialną za zachorowanie udaje się ustalić w około 20% przypadków. Gwałtowny rozwój metod genetyki molekularnej, takich jak analiza mikromacierzy, wskazuje, że do zachorowania

na autyzm mogą przyczyniać się występujące rzadko warianty znacząco zwiększające ryzyko zachorowania. Nieco mniej wiemy na temat częstych wariantów (polimorfizmów), w niewielki sposób zwiększających ryzyko wystąpienia ASD. W tym przypadku badania nie przynoszą spójnych wyników i nie można wykluczyć, że do odnalezienia genów rzeczywiście związanych z chorobą konieczne będą analizy obejmujące znacznie większe niż dotychczas grupy chorych.

W mniej niż 5% przypadków za fenotyp autyzmu odpowiedzialne są aberracje chromosomalne widoczne w badaniu kariotypu – najczęściej duplikacje w obrębie regionu 15q11-q13 (imprinting pochodzenia matczyngo). W około 5–10% przypadków za zachorowanie odpowiedzialne są warianty liczby powtórzeń (*copy number variants*; CNV), mikrodelekcje i mikroduplikacje fragmentów DNA niewidoczne w standardowym badaniu kariotypu [18]. Analiza całego genomu pod względem zmiennej liczby powtórzeń w ASD wskazuje na następujące fakty: liczba CNV u osób z autyzmem jest kilkakrotnie większa niż w przypadku osób z grupy kontrolnej, do wystąpienia ASD mogą przyczyniać się warianty dziedziczne i powstające *de novo* w tych samych genach, wiele CNV zwiększa ryzyko zachorowania na różnorodne zaburzenia neurorozwojowe, takie jak niepełnosprawność intelektualna, ADHD czy schizofrenia. Mikrodelekcje i mikroduplikacje mogą dotyczyć pojedynczych genów, jak również *loci* zawierających kilka lub kilkadziesiąt genów, jak w przypadku regionu 16p11.2 zawierającego około 30 genów [19]. CNV w genach znajdujących się na chromosomie X, takich jak *PTCHD1/PTCHD1AS2* oraz *NLGN3*, mogą tłumaczyć większą częstość występowania ASD u płci męskiej. Rośnie również liczba znanych mutacji w pojedynczych genach, które mogą prowadzić do zachorowania, najczęstszym takim przypadkiem jest zespół łamliwego chromosomu X – spowodowany mutacją w genie *FMRI* (około 2% przypadków autyzmu). Odkryte do tej pory CNV związane z ryzykiem wystąpienia ASD występują w genach kodujących białka biorące udział w procesach przekazywania wewnątrzkomórkowego, rozkładu wewnątrzkomórkowego z udziałem ubiquityny, migracji neuronów, kierowania aksonów i tworzenia synaps, zwłaszcza glutaminergicznych [20, 21]. Natomiast sekwencjonowanie całego eksomu wskazuje, że w znaczącej liczbie przypadków do zachorowania mogą prowadzić mutacje *de novo* [22]. Wszystkie do tej pory zidentyfikowane geny zwiększające ryzyko wystąpienia ASD są również związane z większym ryzykiem niepełnosprawności umysłowej [15].

Badania sprzężeń w autyzmie nie przyniosły jednoznacznych wyników. Sygnał sprzężenia zaobserwowano dla dużej liczby chromosomów, przy czym w żadnym z kolejnych badań nie uzyskano potwierdzenia pierwotnej obserwacji o nominalnej wartości

$p=0,01$, co postulowano jako warunek potwierdzenia sprzężenia [23]. Regiony sprzężeń opisano poniżej w akapicie dotyczącym badań asocjacyjnych. W przypadku czynników genetycznych o niewielkiej sile oddziaływania poszukiwania różnic w częstości występowania określonych alleli (badania *case-control*) oraz analiza różnic w przekazywaniu alleli (badania rodzin lub par rodzic-dziecko) mogą cechować się większą mocą niż badania sprzężeń i badania całego genomu. W takich badaniach typuje się warianty genetyczne, mogące potencjalnie uczestniczyć w etiologii zaburzenia, na podstawie ich lokalizacji w regionach wykazanych uprzednio w badaniach sprzężeń lub sugerowanego neurobiologicznego mechanizmu patogenetycznego. Do najważniejszych genów podejrzewanych o udział w patogeniezie autyzmu zalicza się kilka, wytypowanych na podstawie ich chromosomalnej lokalizacji. W regionie 2q31-32, uprzednio opisywanym jako sprzężony z autyzmem [24], znajduje się gen *SLC25A12* (dla mitochondrialnego białka nośnikowego asparaginy/ glutaminy), który w kilku badaniach był związany z ASD [25, 26], jednak nie wszystkie prace potwierdziły występowanie takiej asocjacji [27]. Początkowe doniesienia dotyczące genu *RELN* dla białka macierzy pozakomórkowej reeliny, które uczestniczy w kształtowaniu się cytoarchitektoniki kory mózgu zmapowanego w regionie 7q21-22 (uprzednio opisywanym w badaniach sprzężeń), potwierdziły występowanie asocjacji z autyzmem, choć późniejsze badania przyniosły wyniki negatywne [28, 29]. Zmienność w obrębie innego genu zmapowanego na długim ramieniu chromosomu 7, w regionie sprzężonym z autyzmem (7q35) – *CNTNP-2*, (gen kodujący białko należące do rodziny neureksyn uczestniczące w budowie synaps) w dwóch badaniach wykazywała związek z ASD [30]. Potencjalny udział w ryzyku zachorowania ze względu na ich działanie neurobiologiczne może dotyczyć genów układu peptydów prosołecznych (oksytocyna/ wazopresyna), genów układu glutaminian/ GABA oraz genów układu serotoniner-gicznego. Zaobserwowano, że region 20q13 zawierający geny kodujące oksytocynę/ wazopresynę wykazuje sprzężenie z autyzmem [31], choć do tej pory nie opisano istotnej asocjacji z polimorfizmami w obrębie genów kodujących neuropeptydów wpływających na funkcje społeczne [32]. Natomiast w kilku badaniach wykazano asocjację ASD ze zmiennością w obrębie genu receptora oksytocyny [33, 34]. Podobnie część badań wskazuje na związek z ryzykiem autyzmu zmienności w obrębie genu receptora wazopresyny [35, 36]. Autyzm w około 30–40% przypadków współwystępuje z padaczką, co może wskazywać na znaczenie dominacji pobudzania nad hamowaniem w obrębie kory mózgu, która na poziomie neurofarmakologii oznaczałaby względną przewagę układu glutaminergicznego nad GABA-ergicznym. W kilku badaniach opisano

asocjację autyzmu markerami w obrębie genu dla receptora GABRB3 [37], choć również w tym przypadku wyniki nie były jednoznaczne [38]. W badaniu Holt i wsp. [39] zaobserwowano asocjację autyzmu z polimorfizmem w obrębie genu receptora jonotropowego glutaminianu typu 2 GRIK2 (GluR6) w populacji europejskiej; natomiast w przypadku badań prowadzonych w dwóch populacjach azjatyckich wyniki były sprzeczne [40]. Podwyższone stężenie serotoniny we krwi stanowi marker biochemiczny autyzmu opisywany do lat 70. XX wieku [41]. W kilku badaniach wskazywano na znaczenie krótkiego wariantu genu transportera serotoniny w ryzyku zachorowania na ASD [42, 43], jednakże metaanaliza nie potwierdziła powyższej asocjacji [44]. Trzy największe opublikowane do tej pory badania asocjacyjne całego genomu (*genomewide association*; GWA) przyniosły rozbieżne wyniki [31, 45, 46]. Co więcej, Devlin i wsp. [47] wykazali, że analizowane łącznie wyniki wszystkich trzech badań dały rezultat, który nie był istotny statystycznie, co może oznaczać, że do odnalezienia częstych wariantów zwiększających ryzyko zachorowania za pomocą badań typu GWA konieczna będzie analiza grup badawczych liczących kilkanaście tysięcy osób.

Podsumowanie

Zaburzenia ze spektrum autyzmu stanowią nową kategorię w klasyfikacji DSM-V, która zastąpi zaburzenia autystyczne, zespół Aspergera oraz całościowe zaburzenia rozwojowe inaczej nie określone. Taka zmiana ma umożliwić bardziej wiarygodne i rzetelne rozpoznawanie deficytów w zakresie interakcji społecznych/ komunikacji i stereotypowych zachowań występujących od wczesnych etapów rozwoju. Częstość rozpoznawania ASD może zwiększać się, co może być związane ze zmianą praktyk diagnostycznych, a także z większą świadomością klinicystów, natomiast wyniki badań epidemiologicznych nie pozwalają na wykluczenie rzeczywistego wzrostu występowania takich przypadków. Wskazuje się, że zaburzenia relacji społecznych i zaburzenia komunikacji mogą stanowić elementy tego samego wymiaru psychopatologicznego ASD, podczas gdy w obrębie zachowań stereotypowych można wyróżnić wymiar powtarzalnych schematów czuciowo-ruchowych oraz wymiar przywiązania do stałości. Pomimo że ASD cechuje się znaczącą odziedziczalnością, do tej pory udało się zidentyfikować przede wszystkim geny, które mają znaczącą siłę oddziaływania, ale występują w rzadkich przypadkach tych zaburzeń. Natomiast badania czynników genetycznych, których udział w patogenezie ASD sugeruje się na podstawie hipotez neurobiologicznych, nie przyniosły do tej pory jednoznacznych wyników. Podejrzewa się, że do osiągnięcia tego celu konieczne będzie badanie liczniejszych

grup, a także wyodrębnienie bardziej homogennej populacji pacjentów z ASD.

Piśmiennictwo

1. Kanner L, Lesser LI. Early infantile autism. *Pediatr. Clin. North Am.* 1958; 5(3): 711–30.
2. Rutter M. Diagnosis and definition of childhood autism. *J Autism Child Schizophr.* 1978; 8(2): 139–61.
3. American Psychiatric Association. Work Group to Revise DSM III. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1987.
4. American Psychiatric Association, American Psychiatric Association. Task Force on DSM-IV. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.
5. World Health Organization. The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: ICD-10; clinical descriptions and diagnostic guidelines. Geneva; 1992.
6. Asperger H. On the differential diagnosis of early infantile autism. *Acta Paedopsychiatr.* 1968; 35(4): 136–45.
7. Wing L. Clarification on Asperger's syndrome. *J Autism DevDisord.* 1986; 16(4): 513–5.
8. APA DSM-5 [Internet]. [cytowane 12 grudnia 2012]. Pobrano z: <http://www.dsm5.org/Pages/Default.aspx>
9. French LR, Bertone A, Hyde KL, Fombonne E. Chapter 1.1 – Epidemiology of Autism Spectrum Disorders. *The Neuroscience of Autism Spectrum Disorders* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2013 [cytowane 12 grudnia 2012]. strona 3–24. Pobrano z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123919243000016>
10. Elsabbagh M, Divan G, Koh Y-J, Kim YS, Kauchali S, Marcín C, et al. Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders. *Autism Res.* 2012; 5(3): 160–79.
11. Latif AHA, Williams WR. Diagnostic trends in autistic spectrum disorders in the South Wales valleys. *Autism.* 2007; 11(6): 479–87.
12. Fombonne E. Epidemiological surveys of autism and other pervasive developmental disorders: an update. *J Autism DevDisord.* 2003; 33(4): 365–82.
13. American Psychiatric Association, American Psychiatric Association. Task Force on DSM-IV. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
14. Bishop SL, Richler J, Lord C. Association between restricted and repetitive behaviors and nonverbal IQ in children with autism spectrum disorders. *Child Neuropsychol.* 2006; 12(4-5): 247–67.
15. Betancur C, Coleman M. Chapter 2.1 – Etiological Heterogeneity in Autism Spectrum Disorders: Role of Rare Variants. *The Neuroscience of Autism Spectrum Disorders* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2013 [cytowane 12 grudnia 2012]. strona 113–44. Pobrano z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123919243000089>

16. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, et al. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol Med.* 1995; 25(1): 63–77.
17. 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(11): 1095–102.
18. Sanders SJ, Ercan-Sencicek AG, Hus V, Luo R, Murtha MT, Moreno-De-Luca D, et al. Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism. *Neuron.* 2011; 70(5): 863–85.
19. Kumar RA, KaraMohamed S, Sudi J, Conrad DF, Brune C, Badner JA, et al. Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism. *Hum. Mol. Gene* 2008; 17(4): 628–38.
20. 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(7304): 368–72.
21. Marshall CR, Lionel AC, Scherer SW. Chapter 2.2 – Copy Number Variation in Autism Spectrum Disorders. *The Neuroscience of Autism Spectrum Disorders* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2013 [cytowane 12 grudnia 2012]. strona 145–54. Pobrano z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123919243000090>
22. 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(7397): 242–5.
23. Lander E, Kruglyak L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat. Genet.* 1995; 11(3): 241–7.
24. 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(6): 1514–20.
25. Kim S-J, Silva RM, Flores CG, Jacob S, Guter S, Valcane G, et al. A quantitative association study of SLC25A12 and restricted repetitive behavior traits in autism spectrum disorders. *Mol Autism.* 2011; 2(1): 8.
26. Turunen JA, Rehnström K, Kilpinen H, Kuokkanen M, Kempas E, Ylisaukko-Oja T. Mitochondrial aspartate/glutamate carrier SLC25A12 gene is associated with autism. *Autism Res.* 2008; 1(3): 189–92.
27. Chien W-H, Wu Y-Y, Gau SS-F, Huang Y-S, Soong W-T, Chiu Y-N, et al. Association study of the SLC25A12 gene and autism in Han Chinese in Taiwan. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2010; 34(1): 189–92.
28. Devlin B, Bennett P, Dawson G, Figlewicz DA, Grigorenko EL, McMahon W, et al. Alleles of a reelin CGG repeat do not convey liability to autism in a sample from the CPEA network. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 2004; 126B(1): 46–50.
29. Dutta S, Sinha S, Ghosh S, Chatterjee A, Ahmed S, Usha R. Genetic analysis of reelin gene (RELN) SNPs: no association with autism spectrum disorder in the Indian population. *Neurosci. Lett.* 2008; 441(1): 56–60.
30. Arking DE, Cutler DJ, Brune CW, Teslovich TM, West K, Ikeda M, et al. A common genetic variant in the neurexin superfamily member CNTNAP2 increases familial risk of autism. *Am. J. Hum. Genet.* 2008; 82(1): 160–4.
31. Weiss LA, Arking DE, Daly MJ, Chakravarti A. A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature.* 2009; 461(7265): 802–8.
32. Yrigollen CM, Han SS, Kochetkova A, Babitz T, Chang JT, Volkmar FR, et al. Genes controlling affiliative behavior as candidate genes for autism. *Biol. Psychiatry.* 2008; 63(10): 911–6.
33. Jacob S, Brune CW, Carter CS, Leventhal BL, Lord C, Cook EH Jr. Association of the oxytocin receptor gene (OXTR) in Caucasian children and adolescents with autism. *Neurosci. Lett.* 2007; 417(1): 6–9.
34. Liu X, Kawamura Y, Shimada T, Otowa T, Koishi S, Sugiyama T, et al. Association of the oxytocin receptor (OXTR) gene polymorphisms with autism spectrum disorder (ASD) in the Japanese population. *J. Hum. Genet.* 2010; 55(3): 137–41.
35. Yang SY, Cho S-C, Yoo HJ, Cho IH, Park M, Kim B-N, et al. Association study between single nucleotide polymorphisms in promoter region of AVPR1A and Korean autism spectrum disorders. *Neurosci. Lett.* 2010; 479(3): 197–200.
36. Tansey KE, Hill MJ, Cochrane LE, Gill M, Anney RJ, Gallagher L. Functionality of promoter microsatellites of arginine vasopressin receptor 1A (AVPR1A): implications for autism. *Mol Autism.* 2011; 2(1): 3.
37. Menold MM, Shao Y, Wolpert CM, Donnelly SL, Raiford KL, Martin ER, et al. Association analysis of chromosome 15 gabaa receptor subunit genes in autistic disorder. *J. Neurogenet.* 2001; 15(3–4): 245–59.
38. Ashley-Koch AE, Mei H, Jaworski J, Ma DQ, Ritchie MD, Menold MM, et al. An analysis paradigm for investigating multi-locus effects in complex disease: examination of three GABA receptor subunit genes on 15q11-q13 as risk factors for autistic disorder. *Ann. Hum. Genet.* 2006; 70(Pt 3): 281–92.
39. Holt R, Barnby G, Maestrini E, Bacchelli E, Brocklebank D, Sousa I, et al. Linkage and candidate gene studies of autism spectrum disorders in European populations. *Eur. J. Hum. Genet.* 2010; 18(9): 1013–9.
40. Dutta S, Das S, Guhathakurta S, Sen B, Sinha S, Chatterjee A, et al. Glutamate receptor 6 gene (GluR6 or GRIK2) polymorphisms in the Indian population: a genetic association study on autism spectrum disorder. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2007; 27(8): 1035–47.
41. Campbell M, Friedman E, DeVito E, Greenspan L, Collins PJ. Blood serotonin in psychotic and brain damaged children. *J Autism Child Schizophr.* 1974; 4(1): 33–41.
42. Conroy J, Meally E, Kearney G, Fitzgerald M, Gill M, Gallagher L. Serotonin transporter gene and autism: a haplotype analysis in an Irish autistic population. *Mol. Psychiatry.* 2004; 9(6): 587–93.

43. Devlin B, Cook EH Jr, Coon H, Dawson G, Grigorenko EL, McMahon W, et al. Autism and the serotonin transporter: the long and short of it. *Mol. Psychiatry*. 2005; 10(12): 1110–6.
44. Huang CH, Santangelo SL. Autism and serotonin transporter gene polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 2008; 147B(6): 903–13.
45. Wang K, Zhang H, Ma D, Bucan M, Glessner JT, Abrahams BS, et al. Common genetic variants on 5p14.1 associate with autism spectrum disorders. *Nature*. 2009; 459(7246): 528–33.
46. Anney R, Klei L, Pinto D, Regan R, Conroy J, Magalhaes TR, et al. A genome-wide scan for common alleles affecting risk for autism. *Hum. Mol. Genet.* 2010; 19(20): 4072–82.
47. Devlin B, Melhem N, Roeder K. Do common variants play a role in risk for autism? Evidence and theoretical musings. *Brain Res.* 2011; 1380: 78–84.