

## AUTISMO. ASPECTOS GENÉTICOS Y BIOLÓGICOS

CLAUDIA ARBERAS<sup>1</sup>, VÍCTOR RUGGIERI<sup>2</sup><sup>1</sup>Sección Genética Médica, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez,<sup>2</sup>Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina

**Resumen** El autismo es un trastorno del neurodesarrollo caracterizado por compromiso en la interacción social y la comunicación, asociado a intereses restringidos y conductas estereotipadas con gran prevalencia poblacional, bases neurobiológicas y alta heredabilidad. Su etiología es heterogénea y se han reconocido numerosas bases genéticas, factores ambientales y mecanismos epigenéticos. Los avances en la genética molecular, así como los estudios epidemiológicos de grandes cohortes, han posibilitado identificar entidades médicas específicas, así como genes y factores ambientales vinculados parcial o totalmente en su patogenia. Estos conocimientos, conforme las características clínicas, permiten orientar los estudios complementarios, las conductas terapéuticas, inferir un pronóstico clínico y propiciar el asesoramiento genético familiar. En este trabajo analizamos las características clínicas de los trastornos del espectro del autismo, las entidades médicas específicas que están fuertemente relacionadas a los mismos, así como los genes reconocidos, los posibles factores ambientales y los resultados epidemiológicos que permiten el adecuado asesoramiento familiar.

**Palabras clave:** autismo, epigenética, genes, hibridación genómica, heredabilidad

**Abstract** *Autism. Genetic and biological aspects.* Autism is a neurodevelopmental disorder characterized by commitment to social interaction and communication, associated with interests restricted and stereotyped behaviors with a high population prevalence, neurobiological bases and high heritability. Its etiology is heterogeneous, numerous genetic bases, environmental factors and epigenetic mechanisms have been recognized. Advances in molecular genetics, as well as epidemiological studies of large cohorts, have made it possible to identify specific medical entities, as well as genes and environmental factors partially or totally linked in their pathogenesis. This knowledge, according to the clinical characteristics, allows to guide the complementary studies, the therapeutic conducts, to infer a clinical prognosis and to propitiate the familiar genetic advice. In this work, the most prevalent clinical characteristics identified are described; the specific medical entities that are strongly related to autism are stated, as well as the recognized genes, the possible environmental factors and the epidemiological results that allow family counseling.

**Key words:** autism, epigenetic, genes, genomic hybridization, heritability

El autismo es un trastorno del neurodesarrollo (TND) caracterizado por compromiso en la interacción social y la comunicación, asociado a intereses restringidos y conductas estereotipadas.

Presenta expresión variable y de acuerdo a las necesidades de apoyo de la persona que lo padece, se lo clasifica según el DSM5, en tres niveles<sup>1</sup>.

Su prevalencia se estima en una de cada 58 personas, con claro predominio en varones, con una relación promedio de 4 a 1, que podría explicarse por las bases genéticas, aunque se considera que existe un subregistro en mujeres, probablemente relacionado a la falta de identificación en las mismas, debido entre otros aspectos, a diferencias en su expresión clínica y a dificultades en las técnicas de diagnóstico<sup>2,3</sup>.

Se trata de un trastorno de base neurobiológica, asociado entre otros hallazgos, a cambios complejos en la sinaptogénesis y en la conectividad neuronal, con alta heredabilidad, de etiología heterogénea, en la que se incluyen causas genéticas, inmunológicas y ambientales<sup>4</sup>. La identificación de entidades médicas o de factores desencadenantes permite un mejor control evolutivo, un adecuado asesoramiento genético, la prevención ante factores de riesgo evitables y en el futuro, basándose en los hallazgos moleculares, un posible abordaje terapéutico específico<sup>5,6</sup>.

Los objetivos del trabajo son jerarquizar los aspectos clínicos de los trastornos del espectro del autismo (TEA) relacionándolos con los factores etiológicos reconocidos en la actualidad:

Enumerar algunos síndromes genéticos en los cuales, esta condición está fuertemente expresada. Enunciar los hallazgos derivados de las técnicas de secuenciación genómica de nueva generación (NGS, por su sigla en inglés)

**Dirección postal:** Claudia Arberas, Sección de Genética Médica, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Gallo 1330, 1425 Buenos Aires, Argentina

e-mail: carberas@gmail.com

respecto al reconocimiento de genes específicamente involucrados, que se relacionan con vías estrechamente vinculadas con la estructura sináptica y la importancia de factores ambientales, epigenéticos e inmunológicos en la posible génesis de los TEA. Enfatizar los aspectos relevantes vinculados con el asesoramiento genético, a fin de proporcionar a los profesionales un marco que permita su orientación familiar adecuada.

## Aspectos clínicos

Se trata de un déficit en la cognición social y la comunicación, con evidentes dificultades en las relaciones recíprocas como atención compartida, contacto ocular y comprensión de los pensamientos e intenciones de los otros, englobados en la denominada Teoría de la Mente (TM), asociado a intereses restringidos, comportamientos repetitivos, estereotipias y adherencia inflexible a rutinas sin objetivo.

Los individuos con autismo pueden sufrir además otras condiciones médicas y psiquiátricas, las cuales se asocian, con frecuencia variable, y le confieren una enorme heterogeneidad clínica.

Se estima que entre un 30-40% de los casos coexiste con discapacidad intelectual (DI), compromiso variable del lenguaje, tanto en la edad de inicio del habla, como en aspectos relacionados con el procesamiento semántico, ecolalias y prosodias peculiares<sup>6</sup>.

Suelen mostrar dificultades motoras y pobre coordinación en sus movimientos.

Es frecuente el hallazgo de disfunciones sensoriales (hiper o hiposensibilidad) a la percepción a los estímulos auditivos, táctiles, visuales o gustativos.

Pueden padecer trastornos del sueño (latencia prolongada o sueño fragmentado), así como alimentarios, como selectividad, patrón muy restringido e incluso raramente anorexia.

La epilepsia se asocia en aproximadamente el 30% de los casos, con un pico en la primera infancia y otro en la adolescencia, sumado a que un 70% de los EEG de sueño prolongado presentan descargas epileptogénicas<sup>7</sup>.

Incluso existen encefalopatías epilépticas, con bases genéticas identificadas, asociadas con autismo, en las cuales, hoy sabemos que, en muchas de ellas, no es el fenómeno epiléptico el que desencadena el autismo, sino que la misma base genética altera también el neurodesarrollo.

Suelen también presentar disfunciones gastrointestinales, que habrá que estudiar y tratar según corresponda.

Como los niños con DI, las personas con TEA suelen mostrar mayor tendencia al sobrepeso y a la obesidad, se estima que el 50% de los individuos con TEA lo presentan. Es por ello, fundamental analizar la velocidad en el

incremento del peso entre los 2 y 4 años, para establecer medidas de control en la cantidad y calidad del alimento, así como en la promoción de actividad física<sup>8</sup>.

Por otra parte, es fundamental tener en cuenta que muchos medicamentos (por ejemplo la risperidona) pueden generar mayor apetito y obesidad.

La regresión autista no es un tema menor, y se estima que en un 30% de los casos se reporta claramente la existencia de una historia de regresión en las pautas madurativas ya adquiridas, lo cual se evidencia entre los 18 a 24 meses, puede ser lenta y menos frecuentemente aguda, y es relatada por los padres como un cambio en el interés por el entorno, dejan de señalar y/o responder ante el llamado por su nombre, pierden el uso de las palabras que habían adquirido, en cierto aspecto lo refieren como si se hubiese quedado sordo, aunque claramente no es así, ya que mantienen cierta selectividad ante estímulos sonoros que son de su mayor interés (ej. alguna canción o sonido), quedando en el término de varias semanas sumidos en un aislamiento que es el que genera entonces la consulta al especialista.

Es fundamental jerarquizar que frente a todo cuadro de "regresión" se deben evocar diversas entidades médicas, incluso algunas de ellas tratables, cuyo reconocimiento y tratamiento adecuado podrá cambiar el futuro del niño, revirtiendo los síntomas (por ejemplo el déficit de vitamina B12 en madres vegetarianas, las intoxicaciones agudas por mercurio, el comienzo de epilepsias de diverso tipo, etc.)<sup>7</sup>.

Paradójicamente, en la serie de Simons, sobre 2152 niños, el 17% de los casos revierten en parte y transitoriamente su sintomatología ante un cuadro de hipertermia, una observación interesante pero aún poco comprendida<sup>9</sup>.

## Comorbilidad con afecciones neuro-psiquiátricas

Se denomina comorbilidad en los trastornos psiquiátricos a la coexistencia de otra entidad psiquiátrica asociada a la original que se presenta con más frecuencia que en la población general.

Es reconocida su comorbilidad con los TDAH (trastorno por déficit de atención e hiperactividad), que puede llegar a alcanzar casi el 80%<sup>10, 11</sup>.

Otras afecciones psiquiátricas han sido también reconocidas, como la catatonía, mutismo, trastornos del humor, ansiedad y depresión.

También se asocia con trastorno obsesivo compulsivo, tics y tricotilomanía<sup>11</sup>.

Los desordenes en el control de la impulsividad (DCI) incluyen agresividad con actos contra sí mismo u otros (empujones, golpes, pellizcos, etc.) o pueden expresarse en forma de explosiones intermitentes, creando situaciones en ocasiones graves, de muy difícil manejo.

Es importante en estos casos reconocer el factor desencadenante, dado que muchas veces a través del análisis aplicado de la conducta podemos identificarlo y así modificar la situación evitando la crisis.

## Bases genéticas

Los primeros trabajos que propusieron una posible base genética surgen en 1977, cuando se evaluó la prevalencia en gemelos mono y dicigóticos.

Tick y col., en un meta-análisis de 2016, sobre 13 estudios acerca de ese tema, demuestran que en los gemelos monocigóticos la concordancia es de casi del 98% vs. 44-60% en los dicigóticos<sup>4, 12, 13</sup>.

La ocurrencia en hermanos es veinte veces superior a la población general, por lo que resulta trascendente reconocer los posibles factores genéticos presentes en cada caso y así poder asesorar a las familias de un modo correcto.

Diversos modelos estadísticos ponen en evidencia que las bases genéticas para el desarrollo del TEA varían entre el 56-95%, mientras que el aporte ambiental sería del 5 a 44%<sup>14</sup>.

### Aspectos genéticos en los TEA

La consulta genética clínica, la identificación de dismorfias y/o malformaciones, junto con la evaluación neurológica, permitirán una orientación diagnóstica y definir eventuales estudios genéticos específicos.

El reconocimiento de entidades específicas posibilita así definir las denominadas formas sindrómicas genéticas (entidades médicas específicas con un fenotipo orientador), separándolas de las formas no sindrómicas o sin fenotipo orientador<sup>6</sup>.

### Formas sindrómicas genéticas con fenotipo orientador

Son aquellas en las cuales, a través de la evaluación genética clínica, neurológica y de estudios complementarios, podemos identificar entidades genéticas que están fuertemente asociadas a TEA, en el contexto de una condición más compleja.

Se estima que en un 30% de los casos, en pacientes adecuadamente estudiados, podemos identificar alguna condición médica relacionada al TEA.

– Las anomalías cromosómicas se reconocen en el 3 al 5% de los casos (ej.: los síndromes de Down, velocardiofacial o delección 22q11.1, Williams, Angelman, Turner, Pallister Killian, Phelan McDermid, delección 16p11.2, son algunas de las numerosas anomalías cromosómicas que pueden diagnosticarse. Debe enfatizarse que muchos de estos cuadros son reconocidos mediante estudios

cromosómicos de alta resolución (nivel de resolución: 3-5 MB), aunque está establecido internacionalmente como de buena práctica y como primer estudio de elección el *microarray* cromosómico (CMA) o la hibridación genómica comparativa por *arrays* (HGCa), ya que esta técnica permite identificar defectos cromosómicos, deleciones, o duplicaciones pequeñas (nivel de resolución 100 kb), no evidenciables mediante otros procedimientos diagnósticos.

Este estudio permite reconocer variantes en el número de copias (CNV) y polimorfismos de nucleótidos simples (SNP) en regiones específicas del genoma, que pueden tener fenotipos peculiares aunque no específicos, hallando resultados informativos hasta en un 17% de los casos.

– Se han descrito síndromes genéticos mendelianos en el 5%, ej.: síndromes de fragilidad del cromosoma X, Sotos, Smith-Lemli-Opitz, Timothy y complejo esclerosis tuberosa, neurofibromatosis, entre otros.

Cuando los estudios habituales (cariotipo, HGCa) no muestran evidencias patológicas, existen en la actualidad procedimientos de secuenciación masiva o *next generation sequencing* (NGS).

### Formas no sindrómicas o sin fenotipo orientador

Frente a pacientes sin fenotipo orientador la secuenciación genómica masiva o *next generation sequencing* (NGS) representa la base de varios estudios de gran utilidad diagnóstica, como son: secuenciación del genoma completo (WGS), secuenciación del exoma completo (WES) (ambos estudios deben incluir preferentemente a los progenitores “trío”, exoma clínico (EC) y estudios mediante paneles comerciales o personalizados.

La secuenciación exómica (WES), el exoma clínico (EC) y el estudio mediante paneles de genes específicos son los más utilizados en la actualidad, debido a su menor costo y mayor rentabilidad diagnóstica<sup>6</sup>.

La elección de estos estudios debe quedar en manos de un médico genetista experto, ya que es necesario determinar cuál será el estudio en cada caso en particular, conforme a los antecedentes y a las evaluaciones clínicas previamente efectuadas.

La interpretación de los resultados debe realizarse en forma interdisciplinaria, junto a bioquímicos, biólogos y bio-informáticos, capacitados en el tema, para reconocer las variantes patogénicas y así diferenciarlas de las potencialmente patogénicas, hallazgos de significado incierto y las no patogénicas.

La secuenciación genómica (WGS) evalúa la totalidad del material genético, (el ADN codificante como el no codificante), tanto nuclear como mitocondrial, la secuenciación exómica (WES) evalúa el total del genoma codificante (1-2% del *pool* de ADN nuclear), el estudio mediante exoma clínico (EC) cubre un total aproximado de 5000 genes (casi un 50% del total de genes reconocidos), mientras

que los paneles para enfermedades específicas solo ofrece cobertura al número de genes predeterminados previamente.

Por otra parte, debemos tener en cuenta que, si bien el estudio del exoma completo permite una observación global del mismo, el grado de profundidad en zonas específicas puede no ser óptimo, a diferencia de la cobertura obtenida mediante el estudio por paneles.

#### *Genes relacionados a los TEA*

Al momento actual se han identificado, mediante estudios moleculares (NGS), más de 100 genes fuertemente relacionados con el TEA, entre los cuales encontramos *NLGN, NRXN, PTEN, MECP2, UBE3A, SHANK, FMR1, CHD8, DYRK1A, ADNP, ANK, SCN2A, TBR1, DYRK1A, SYNGAP1, SERBP1, BOLA2, STXBP1, CDLK5*<sup>6, 12</sup>. La mayoría de ellos están vinculados con la sinaptogénesis y muchos de ellos asociados a DI y/o encefalopatías epilépticas.

Análisis estadísticamente significativos, en series estudiadas mediante técnicas de secuenciación exómica, muestran hallazgos sorprendentes. Se ha visto que los individuos que muestran mutaciones *de novo*, es decir aquellas presentes en el paciente, que no fueron heredadas de sus padres, tienen mayor gravedad clínica, con menor coeficiente intelectual (CI).

Por otro lado, aquellas formas heredadas poseen contrariamente menos gravedad de síntomas y mayor CI<sup>9</sup>.

Cuando se estudian mujeres que presentan TEA, se ve que la carga genética patológica es el doble que la que poseen los varones afectados, lo que explicaría la menor prevalencia en ellas, variando la relación varón/mujer desde 3-4 a 1 hasta 11 a 1 en personas con síndrome de Asperger o autismo de alto funcionamiento<sup>16</sup>.

En el caso específico de las mujeres con TEA, debe mencionarse que en los últimos años se ha interpretado que su menor prevalencia también podría ser consecuencia, entre otros aspectos, a las diferencias inherentes a respuestas inmunológicas vinculadas a su condición biológica.

Por otra parte, debe recordarse que frente a ciertas mutaciones (como la de los genes del grupo *SHANK*), las mujeres se muestran hipo o asintomáticas, aunque al transmitirla a sus hijos la misma alteración puede generar autismo<sup>16</sup>.

Esto tiene una explicación interesante y es que los genes del grupo *SHANK*, codifican para proteínas que se expresan en la región post-sináptica, de sinapsis excitatorias del sistema nervioso central, y sufren el efecto de las hormonas sexuales femeninas y masculinas que modulan su expresión. Se han encontrado mutaciones patogénicas del *SHANK* en TEA, discapacidad intelectual, como también en esquizofrenia.

A pesar de la inmensa cantidad de estudios en diferentes cohortes de pacientes con TEA mediante técnicas de NGS, éstos no son suficientes para determinar la causa en la totalidad de los casos.

Se estima que tanto las causas ambientales, epigenéticas y otros factores, como el posible rol de micro-ARNs, son elementos importantes, aunque la verdadera naturaleza de estos mecanismos resta aún ser aclarada en su totalidad<sup>14</sup>.

#### **Factores ambientales**

El estudio de factores ambientales constituye un enorme desafío, ya que su conocimiento permite vislumbrar la toma de medidas, que, en forma poblacional o individual, favorezcan la disminución de la ocurrencia a través de mecanismos de prevención.

- Prematuridad: Agrawal y col.<sup>15</sup> identificaron una alta prevalencia de prematuridad, bajo peso para edad gestacional y de diversas complicaciones perinatales y reportaron que un 30% de los niños prematuros extremos (menos de 28 semanas de gestación), presentaban síntomas de TEA vs. el 1% de los controles a término.

- Otras condiciones perinatales, como bajo peso al nacer, eclampsia, corioamnionitis, ruptura prematura de membranas, hemorragia aguda intraparto, han sido fuertemente asociadas a la predisposición de padecer TEA.

- Infecciones virales con temperatura alta, en el curso de la gesta, representa un antecedente frecuente, que incrementa también el riesgo de autismo. Se ha propuesto que no solo es la fiebre sino los factores infecciosos, sumados a fenómenos inmunológicos, no específicamente relacionados con el agente infeccioso en sí, serían los que alteran el normal desarrollo cerebral<sup>9</sup>.

La presencia de citoquinas inflamatorias, con modificaciones evidenciables a nivel de la microglía, podría explicar este fenómeno. Se ha identificado que el 10% de las madres de niños con TEA, tienen anticuerpos anti-cerebrales en su plasma.

Estos mismos datos se han replicado en animales de experimentación, incluyendo primates<sup>18</sup>.

- Existe una extensa evidencia bibliográfica, con rigor científico, que intenta correlacionar estos fenómenos inmunológicos con los TEA<sup>18,19</sup>.

- La exposición a ciertos teratógenos como los agroquímicos, los piretroides y pesticidas, así como drogas para uso recreacional como el alcohol, la cocaína, el tolueno inhalado, algunos antiepilépticos como el ácido valproico, el misoprostol desencadenante en muchos de los casos de síndrome de Moebius, la situación de estrés materno, depresión, y el uso de antidepresivos han sido evocados en algunas series como responsables en la etiología de los TEA<sup>20</sup>.

## Estudios familiares

Datos epidemiológicos muestran una mayor prevalencia de casos relacionables al incremento de la edad paterna.

Estos estudios en series de casos familiares han demostrado los riesgos empíricos que deben reconocerse a fin de informar a las familias en riesgo.

Del estudio de AGRE se estima que el riesgo de tener un segundo hijo afectado es del 11%, (16% si es varón o 5.6% si es mujer)<sup>20</sup>.

El riesgo para medios hermanos por parte de madre es superior a los medios hermanos por parte de padre.

Un hallazgo a tener en cuenta es que el riesgo se incrementa cuando entre un niño con TEA y la procreación de su hermano ha transcurrido menos de 18 meses, comparado con aquellos que están separados por un período de 4 años o más.

Se deben reconocer en la genealogía relativos con clínica semejante o incluso limítrofe, familiares cercanos con trastornos psiquiátricos como la esquizofrenia, la depresión, trastorno obsesivo compulsivo, entre otros, ya que podrían alertarnos de mayores riesgos genéticos de padecer TEA.

En conclusión, consideramos fundamental jerarquizar los aspectos genéticos, neurológicos y ambientales que nos permiten, en muchos casos identificar la etiología en personas con TEA, brindar un adecuado asesoramiento genético, prevenir posibles complicaciones relacionadas a la entidad de base y reconocer su posible evolución.

Como hemos analizado en este trabajo, la investigación relacionada a la génesis de los TEA abarca una amplia gama de escenarios, que van desde las bases genéticas hasta los factores epigenéticos, ambientales, inmunológicos e infecciosos, entre otros.

Los datos expuestos en este trabajo permiten determinar conductas asertivas frente a las personas con TEA.

Es necesario el reconocimiento de antecedentes familiares, tanto de TEA, como de otras afecciones neuro-psiquiátricas, la edad paterna avanzada, las infecciones y cuadros febriles durante la gesta, el uso de posibles teratógenos o la exposición ambiental en regiones agroindustriales, así como los antecedentes perinatales.

Frente a cada caso la consulta genética permitirá determinar la comorbilidad con condiciones que requieren estudios específicos para su comprobación. Estos mismos posibilitan el asesoramiento familiar, permiten orientar los estudios de seguimiento y brindan un pronóstico acorde a la condición en particular.

La evaluación clínica, las neuroimágenes, los estudios metabólicos, el estudio de frágil X y la práctica de estudios complementarios, como la HGCa o las técnicas de nueva generación de secuenciación genómica, permiten acercarnos a un diagnóstico específico en al menos 3-4 de cada 10 pacientes<sup>8</sup>, aunque el uso cada vez más ex-

tensivo de estas nuevas prácticas seguramente permitirá un aumento progresivo de este número.

Todo converge en una información, que sin duda brinda alivio emocional a la familia, posibilita la adecuada toma de decisiones reproductivas en los padres o hermanos de una persona afectada y permite incluso una mejor orientación del equipo terapéutico, que puede reconocer de ese modo debilidades y fortalezas propias de cada condición.

**Conflicto de intereses:** Ninguno para declarar

## Bibliografía

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (5th ed). Washington, DC: American Psychiatric Association, 2013.
2. CDC. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years -Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2018. En: *www.cdc.gov*; consultado junio 2018.
3. Ruggieri VL, Arberas CL. Autismo en las mujeres: aspectos clínicos, neurobiológicos y genéticos. *Rev Neurol* 2016; 62 Suppl 1: S21-6.
4. Tick B, Colvert E, McEwen F, et al. Autism spectrum disorders and other mental health problems: exploring etiological overlaps and phenotypic causal associations. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2016; 55: 106-13.
5. Ruggieri VL, Arberas CL. Autismo: importancia de la dimorfología en la identificación de entidades médicas asociadas. *Rev Neurol* 2017; 64 (s01): S27-31.
6. Kalsner L, Twachtman-Bassett J, Tokarski, et al. Genetics testing including targeted gene panel in a diverse clinical population of children with autism spectrum disorder: findings and implications. *Mol Genet Genomic Med* 2018; 6: 171-85.
7. Ruggieri VL, Arberas CL. Regresión autista: aspectos clínicos y etiológicos. *Rev Neurol* 2018; 66 (S01):S17-23.
8. Healy S, Aigner CJ, Haegle JA. Prevalence of overweight and obesity among US youth with autism spectrum disorder. *Autism* 2018. doi: 10.1177/1362361318791817. [Epub ahead of print].
9. Grzadzinski R, Lord C, Sanders SJ, Werling D, Bal VH. Children with autism spectrum disorder who improve with fever: Insight from the Simons Simplex Collection. *Autism Res* 2018; 11: 175-84.
10. Gillberg IC, Helles A, Billstedt E, et al. Boys with Asperger syndrome grow up: psychiatric and neurodevelopmental disorders 20 years after initial diagnosis. *J Autism Dev Disord* 2016; 46: 74-82.
11. Leyfer OT, Folstein SE, Bacalman S, et al. Comorbid psychiatric disorders in children with autism: interview development and rates of disorders. *J Autism Dev Disord* 2006; 36: 849-61.
12. Bourgeron, T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci* 2015; 16: 551-63.
13. Bishop SL, Farmer C, Bal V, et al. Identification of developmental and behavioral markers associated with genetic abnormalities in autism spectrum disorder. *Am J Psychiatry* 2017; 174: 576-85.
14. Arberas C, Ruggieri V. Autismo y epigenética. Un modelo de explicación para la comprensión de la génesis en los trastornos del espectro autista. *Medicina (B Aires)* 2013; 73 Supl 1: 20-9.

15. Agrawal S, Rao SC, Bulsara MK, Patoles SK. Prevalence of autism spectrum disorder in preterm infants: a meta-analysis. *Pediatrics* 2018; 142. pii: e20180134. doi: 10.1542/peds. 2018-0134.
16. Berkel S, Eltokhi A, Fröhlich H, et al. Sex hormones regulate *SHANK* expression. *Front Mol Neurosci* 2018; 11: 337.
17. Hertz-Picciotto I, Schmidt RJ, Krakowiak P. Understanding environmental contributions to autism: Causal concepts and the state of science: Environmental contributions to ASD. *Autism Research* 2018; 11: 554-86.
18. Choi GB, Yim YS, Wong H, et al. The maternal interleukin-17 a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science* 2016; 351: 933-9.
19. Estes M, Kimberley McAllister A. Maternal immune activation: Implications for neuropsychiatric disorders. *Science* 2016; 353: 772-7.
20. Risch N, Hoffmann T, Anderson M, et al. Familial recurrence of Autism Spectrum Disorder: Evaluating Genetic and Environmental Contributions. *Am J Psychiatry* 2014; 171: 1206-13.