

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Νεότερα δεδομένα σχετικά με τη μοριακή βάση των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού

Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (autism spectrum disorders, ASDs) αποτελούν ένα σύνολο νευροαναπτυξιακών διαταραχών που χαρακτηρίζονται από μειωμένη ικανότητα κοινωνικής αλληλεπίδρασης, στερεότυπες συμπεριφορές και προβλήματα στη χρήση της γλώσσας. Διαχωρίζονται σε συνδρομικές και μη συνδρομικές. Τα τελευταία έτη έχει υπάρξει σημαντική πρόοδος όσον αφορά στην εξακρίβωση μηχανισμών που συμβάλλουν στην παθογένεσή τους και είναι πλέον γνωστό ότι αυτοί παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια. Πιο συγκεκριμένα, η εκδήλωση αυτιστικών διαταραχών μπορεί να είναι αποτέλεσμα τόσο της συμμετοχής γενετικών διαδικασιών, όπως της παρουσίας κάποιων συγκεκριμένων CNVs (copy number variations), σημειακών μεταλλάξεων, μικροσκοπικά ορατών χρωμοσωμικών ανωμαλιών κ.ά., όσο και επιγενετικών τροποποιήσεων. Επίσης, η έκθεση σε ορισμένους περιβαλλοντικούς παράγοντες, καθώς και ο συνδυασμός όλων των προηγούμενων, μπορεί τελικά να οδηγήσει σε ASDs. Ακόμη, οι ASDs φαίνεται να σχετίζονται με διάφορες γνωστές μονογονιδιακές διαταραχές, όπως το σύνδρομο του εύθραυστου Χ, το σύνδρομο Rett, καθώς και με μεταβολικά νοσήματα. Χαρακτηριστικό όλων τους αποτελεί το γεγονός ότι εμφανίζονται με πολύ μεγαλύτερη συχνότητα σε άρρενα άτομα, χωρίς οι έως σήμερα προτεινόμενες θεωρίες και μοντέλα που ερμηνεύουν το φαινόμενο να έχουν επιβεβαιωθεί οριστικά.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο αυτισμός ορίστηκε για πρώτη φορά ως μια έμφυτη αδυναμία δημιουργίας φυσιολογικών –με τη βιολογική έννοια– επαφών με άλλα άτομα.¹ Ωστόσο, μέχρι την έκδοση του DSM-III (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 3η έκδοση) το 1980, δεν υπήρχε επίσημη διάγνωση για την πάθηση. Με βάση το σύστημα που εισήχθη τότε για τη διάγνωση του αυτισμού, προκειμένου ένα άτομο να θεωρηθεί αυτιστικό, έπρεπε να πληροί όλα τα κριτήρια που είχαν οριστεί (monothetic system) και τα οποία περιέγραφαν μια κατάσταση παρόμοια με αυτό που σήμερα χαρακτηρίζεται «κλασικός αυτισμός». Σε επόμενη έκδοση του DSM-III (την DSM-III-R του 1987) ορίστηκε ότι η διάγνωση του αυτισμού μπορούσε να γίνει με την ταυτοποίηση σε ένα άτομο ενός υποσυνόλου από ποικίλα κριτήρια, καθιστώντας έτσι την ομάδα των αυτιστικών ατόμων πιο ετερογενή (polythetic system). Στο DSM-IV² (1994) υιοθετήθηκε παρόμοια προσέγγιση, καθώς, προκειμένου να διαγνωστεί ένα άτομο με αυτισμό, έπρεπε να πληροί το λιγότερο 6 από τα 12 κριτήρια συμπεριφοράς, από τα

οποία τουλάχιστον 2 έπρεπε να εντάσσονται στον τομέα μειωμένης κοινωνικότητας, 1 στον τομέα επικοινωνίας και 1 στον τομέα περιορισμένων επαναλαμβανόμενων –στερεότυπων– συμπεριφορών.³

Από το 2013, έτος έκδοσης του DSM-V,⁴ ο κλασικός αυτισμός, το σύνδρομο Asperger και οι διάχυτες αναπτυξιακές διαταραχές (PDD-NOS) εντάσσονται σε μια κοινή κατηγορία με την επωνυμία «διαταραχές του φάσματος του αυτισμού» (autism spectrum disorders, ASDs) και συμπληρώνονται με μια πολυδιάστατη προοπτική προκειμένου να εκτιμηθεί το επίπεδο δυσλειτουργίας. Η διαφοροποίηση πλέον γίνεται με βάση κλινικούς προσδιοριστές (π.χ. το μέγεθος της δυσλειτουργίας) και την ύπαρξη άλλων συσχετιζόμενων χαρακτηριστικών (π.χ. γνωστών γενετικών παθήσεων και νοητικής υστέρησης).⁵ Οι τομείς των κοινωνικών και των επικοινωνιακών προβλημάτων έχουν πλέον ενοποιηθεί υπό την ονομασία «προβλήματα κοινωνικής επικοινωνίας και αλληλεπίδρασης». Ο τομέας «περιορισμένων και επαναλαμβανόμενων συμπεριφορών» συνεχίζει να υφίσταται, αν και έχουν ενταχθεί πλέον σε αυτόν και οι ασυνήθιστες αισθη-

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2017, 34(4):448–459
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2017, 34(4):448–459

Σ. Στάη,¹
Λ. Φιδάνη²

¹Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

²Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

New evidence concerning the molecular basis of autism spectrum disorders

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

CNVs
Διαταραχές του φάσματος του αυτισμού
Επιγενετικές τροποποιήσεις
Μεταβολικές παθήσεις
Μονογονιδιακά νοσήματα

Υποβλήθηκε 2.9.2016
Εγκρίθηκε 27.9.2016

τηριακές συμπεριφορές. Η προσέγγιση ως προς τον πρώτο από τους δύο προαναφερθέντες τομείς είναι μονοθετική, (απαραίτητη η ύπαρξη και των 3 κριτηρίων), ενώ ως προς τον δεύτερο πολυθετική (απαραίτητη η ύπαρξη 2 από τα 4 κριτήρια) και κατά συνέπεια ένα αυτιστικό άτομο πρέπει να διαθέτει τουλάχιστον 5 από τα 7 ορισθέντα κριτήρια.³

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

Ιδιαίτερα σημαντικό από κλινικής άποψης είναι να καθοριστεί αν η αυτιστική διαταραχή που παρουσιάζει ένα άτομο είναι μη συνδρομική (non-syndromic ASD) ή συνδρομική (syndromic ASD, ASD-plus).⁶

Όσον αφορά στις μη συνδρομικές ASDs (75% των παιδιών με ASDs), τα άτομα είναι γενικά μη δυσμορφικά (με εξαίρεση ίσως κάποιες κοινές συννοσηρότητες που έχουν συσχετιστεί με τις ASDs), παρουσιάζουν ομαλή ανάπτυξη, οι νευρολογικές τους εξετάσεις είναι φυσιολογικές και δεν εμφανίζουν σημαντικές συγγενείς ανωμαλίες.⁶ Αυτές οι περιπτώσεις ASDs χαρακτηρίζονται από αναλογία ανδρών-γυναικών 6:1, υψηλό κίνδυνο επανεμφάνισης σε αδέρφια και θετικό οικογενειακό ιστορικό.⁷

Οι συνδρομικές ASDs (25% των περιπτώσεων παιδιών με ASDs) χαρακτηρίζονται από συνοδευτικά αναγνωρίσιμα πρότυπα δυσμορφιών. Η αναλογία εμφάνισης ανδρών προς γυναίκες είναι χαμηλότερη (3,5:1), καθώς και ο κίνδυνος επανεμφάνισης και η συμφωνία με το οικογενειακό ιστορικό.⁷

Στην προσπάθεια προσδιορισμού των αιτιών που ευθύνονται για την εμφάνιση αυτιστικών διαταραχών, κατά καιρούς έχουν κατηγορηθεί άδικα διάφοροι παράγοντες. Χαρακτηριστικά θα μπορούσε να αναφερθεί η υπόθεση των “refrigerator mothers”, σύμφωνα με την οποία η απόμακρη και χωρίς αγάπη ανατροφή των παιδιών από τους γονείς τους ήταν υπαίτια για την εμφάνιση του αυτισμού.⁸ Η θεωρία αυτή βρήκε κάποιους υποστηρικτές,⁹ αλλά και αρκετούς διαφωνούντες, μερικοί από τους οποίους πίστευαν ότι ο αυτισμός έχει βιολογική βάση.¹⁰ Το 1998, το εμβόλιο MMR (ιλιάρα-παρωτίτιδα-ερυθρά), το οποίο περιείχε thimerosal –ουσία πλούσια σε υδράργυρο– κατηγορήθηκε για την εμφάνιση ASDs.¹¹ Ωστόσο, μετά την εκπόνηση πολλών επιδημιολογικών μελετών, έγινε ομόφωνα αποδεκτό ότι τα έως τώρα υπάρχοντα στοιχεία ευνοούν την απόρριψη μιας τέτοιας αιτιολογικής σχέσης.¹²

Επίσης, σε έρευνες που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί κάποια συσχέτιση των ASDs με την κοινωνικοοικονομική κατάσταση των γονέων, αλλά ούτε και έχει

επιτευχθεί ο αποτελεσματικός έλεγχος των τυχόν υπαρχουσών επιδράσεων της πρόωρης γέννησης στις ASDs.¹²

Είναι γεγονός όμως ότι τα τελευταία έτη έχει υπάρξει σημαντική πρόοδος στην προσπάθεια ανεύρεσης παραγόντων που παρουσιάζουν θετική συσχέτιση με την εμφάνιση αυτιστικών διαταραχών και συνεπώς και στις τακτικές αντιμετώπισης της συγκεκριμένης ομάδας ασθενών.

Πλέον, την κλινική διάγνωση ASD μπορεί να ακολουθήσει κατάλληλος γενετικός έλεγχος, στην επιλογή του οποίου σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η εκτίμηση του αν το άτομο πάσχει από ASD-plus ή από μη συνδρομική ASD. Στην πρώτη περίπτωση, η τακτική που ακολουθείται είναι η ίδια με εκείνη που χρησιμοποιείται για οποιαδήποτε άλλη νευροαναπτυξιακή διαταραχή και συχνά γίνεται αξιολόγηση χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών (chromosomal microarrays) ή πινάκων (panels) για ένα ή περισσότερα γονίδια ανάλογα με τις υπάρχουσες υποψίες σχετικά με τη διάγνωση. Στη δεύτερη, συνιστάται έλεγχος με χρωμοσωμικές μικροσυστοιχίες, έλεγχος για εύθραυστο X (και στα δύο φύλα), καθώς και για μεταλλάξεις στο γονίδιο *MeCP2* (μόνο στα θήλεα) και κάποιες φορές στο γονίδιο *PTEN*.⁶

Είναι ενθαρρυντικό το γεγονός ότι, σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα, σε ποσοστό <15% των ατόμων με ASDs έχει βρεθεί η ακριβής γενετική αιτιολογία της διαταραχής.⁶

2. ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΙΣ ASDs

Από τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες που έχουν συσχετιστεί με τις ASDs κάποιες είναι υπομικροσκοπικές και εντοπίζονται με τη βοήθεια χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών, ενώ άλλες είναι ορατές με το μικροσκόπιο (π.χ. ανευπλοειδίες φυλετικών χρωμοσωμάτων, μεγάλα ελλείμματα και διπλασιασμοί και το idic –isodicentric– χρωμόσωμα).⁶

2.1. Υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Σημαντικότεροι εκπρόσωποι της συγκεκριμένης κατηγορίας ανωμαλιών είναι ορισμένα CNVs (copy number variations). Ο εντοπισμός των εν λόγω CNVs, τα οποία έχουν μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στα άτομα με ASDs και μπορεί να είναι μεγάλου μήκους, σπάνια ή και *de novo*, επιτυγχάνεται με τη χρήση χρωμοσωμικών μικροσυστοιχιών. Τα CNVs δεν είναι τελείως διεισδυτικά για τα άτομα με ASDs. Παράλληλα, μπορεί να ευθύνονται για την πρόκληση και άλλων νευροαναπτυξιακών διαταραχών, όπως η νοητική υστέρηση, κάποιες ψυχιατρικές παθήσεις, η διαταραχή ελλειμματικής προσοχής-υπερκινητικότητας (ADHD) και η επιληψία, και παρ’ ότι δεν σχετίζονται με συγκεκριμένα

δυσμορφικά σύνδρομα, κάποιες φορές εμφανίζονται δυσμορφικά χαρακτηριστικά.⁶

Αρκετές είναι οι περιοχές με ενδιαφέρον όσον αφορά στην ύπαρξη CNVs που σχετίζονται με τις ASDs. Μία από αυτές είναι η 1q21.1. Διπλασιασμοί και ελλείμματα στη συγκεκριμένη θέση έχουν θεωρηθεί υπεύθυνα για την εμφάνιση ποικίλων επιπλοκών και δυσμορφιών (περιλαμβανομένων και αυτιστικών χαρακτηριστικών). Συγκεκριμένα, ευθύνονται, συνολικά, για το 0,2% των περιπτώσεων ASDs και κάποιες φορές κληρονομούνται από γονέα που δεν έχει επηρεαστεί κλινικά.^{6,7} Αν και ο αυτισμός είναι περισσότερο διαδεδομένος σε ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα διπλασιασμού, είναι πιο εύκολα αναγνωρίσιμος σε άτομα με διαγραφές.⁷ Άλλες περιοχές είναι η 3q29 –που παρουσιάζει επίσης σημαντική συσχέτιση με σοβαρή παιδική σχιζοφρένεια (childhood-onset schizophrenia) και μικροδιαγραφή σε αυτή έχει θεωρηθεί υπεύθυνη για πολύ μικρό αριθμό περιπτώσεων ASDs⁷– και η 7q11.23 (αμοιβαίος διπλασιασμός της οποίας υπάρχει στο 0,2% των οικογενειών με ASDs, ενώ το 40% των ατόμων όπου έχει βρεθεί διπλασιασμός της παρουσιάζουν συμπεριφορές οι οποίες είναι σε συμφωνία με τις ASDs).⁶

Εξαιρετικής σημασίας φαίνεται να είναι η περιοχή 15q11-13. Διπλασιασμοί και γενικότερα αυξημένη δόση της γενετικής πληροφορίας στη θέση αυτή έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση ASDs και το πιθανότερο είναι ότι ασκούν την επίδρασή τους επηρεάζοντας την πλαστικότητα των συνάψεων.^{6,12} Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι σε αρκετά άτομα με ASDs έχουν βρεθεί διάμεσοι διπλασιασμοί σε αυτή την περιοχή, ενώ πολλά –για παράδειγμα αυτά με υπεράριθμο *idic* χρωμόσωμα 15– διαθέτουν ένα ή δύο επί πλέον αντίγραφα του γονιδίου *SNRPN*, το οποίο εδράζεται στο τμήμα αυτό του χρωμοσώματος 15.⁶ Γενικά, οι τριπλασιασμοί έχουν συσχετιστεί με πιο σοβαρούς κλινικούς φαινότυπους απ' ό,τι οι διπλασιασμοί⁶ και τα αλληλόμορφα με τα επί πλέον αντίγραφα συνήθως κληρονομούνται από τη μητέρα.^{6,12} Υπάρχουν βέβαια και πολλές περιπτώσεις ASDs με διαγραφές στην 15q13.3. Μάλιστα, στο 1% των διαγραφών παρουσιάζεται και ιδιοπαθής γενικευμένη επιληψία. Γι' αυτό, η πιθανότητα ύπαρξης της συγκεκριμένης διαταραχής λαμβάνεται υπ' όψη στην προσπάθεια διάγνωσης που γίνεται σε άτομα τα οποία παρουσιάζουν ASDs, ιδιοπαθή γενικευμένη επιληψία και οροστοματική διαταραχή του λόγου.⁷

Ακόμη, μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η 16p11.2. Σε αυτή τη θέση CNVs συναντώνται σε ποσοστό >1% των ατόμων με ASDs,^{6,13} είναι ατελώς διεισδυτικά και σχετίζονται με μεγάλη ποικιλία φαινοτύπων. Στην κατηγορία των *de novo* CNVs στην περιοχή είναι συχνότερες οι διαγραφές,

που ευθύνονται για σοβαρότερο κλινικό φαινότυπο και έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση παχυσαρκίας σε σχέση με τους διπλασιασμούς. Η ύπαρξη αμοιβαίων διπλασιασμών δίνει κάπως ηπιότερο φαινότυπο και οι ασθενείς είναι λιποβαρείς.^{6,7} Υποστηρίζεται βέβαια ότι η ύπαρξη ενός διπλασιασμού δεν αποτελεί από μόνη της αιτία εμφάνισης ASDs, αλλά αυξάνει σημαντικά τις πιθανότητες. Έτσι, το να προκύψει τελικά ένας τέτοιος φαινότυπος είναι ουσιαστικά αποτέλεσμα του συνδυασμού διαφόρων γενετικών παραλλαγών –*de novo* και επίκτητων– και ενδεχομένως κάποιων περιβαλλοντικών παραγόντων.⁶ Στη συγκεκριμένη περιοχή υπάρχουν τουλάχιστον 15 γονίδια που εκφράζονται στον εγκέφαλο και σήμερα βρίσκονται υπό μελέτη.¹⁴

Τέλος, θα μπορούσε να γίνει αναφορά στις θέσεις 16p12.1, 17q12 και 22q11.2.^{6,7} Πιο αναλυτικά, διαγραφή της πρώτης έχει ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση αυτιστικού φαινοτύπου σε 42 οικογένειες, οι οποίες παράλληλα παρουσίαζαν και άλλες δυσμορφίες σε ποικίλους βαθμούς. Διαγραφές στη δεύτερη έχουν συσχετιστεί εκτός των ASDs και με άλλα παθολογικά χαρακτηριστικά, στα οποία περιλαμβάνονται η σχιζοφρένεια, η σύνθετη μερική επιληψία και ο όψιμος έναρξης διαβήτης των νέων τύπου 5 (MODY5) και, συνεπώς, οι ασθενείς που εμφανίζουν ASDs εξ αιτίας του ότι διαθέτουν τις συγκεκριμένες διαγραφές διαφέρουν ως προς την κλινική εικόνα σε σχέση με τους υπόλοιπους.⁷ Όσον αφορά στην τρίτη, τα ελλείμματα στη συγκεκριμένη περιοχή αυξάνουν τον κίνδυνο ψυχιατρικών και νευροαναπτυξιακών διαταραχών και συγγενών ανωμαλιών. Ποσοστό 20–50% των φορέων παρουσιάζει αυτιστικά χαρακτηριστικά, ενώ αμοιβαίοι διπλασιασμοί και ελλείμματα στο τμήμα αυτό του χρωμοσώματος 22 εντοπίζονται το ίδιο συχνά σε οικογένειες με ASDs.⁶

Γενικά, μέσω της μελέτης των περιοχών όπου εμφανίζονται τα CNVs βρέθηκε ότι συχνά επηρεάζουν γονίδια. Πολλά από τα γονίδια αυτά, όπως τα *NRXN1* (στην περιοχή 2p16.3), το *NLGN3* (η σύνδεση του οποίου με τις ASDs φαίνεται κάπως ασαφής), τα *NLGN4*, *SHANK2*, *SHANK3*, *SYNGAP1* και *DLGGAP2*, είναι συναπτικά, ενώ άλλα (για παράδειγμα, τα *ANKRD11*, *DPP6*, *DPP10* και *DPYD*) σχετίζονται με την κυτταρική και τη νευρωνική ανάπτυξη και λειτουργία.^{6,12,13,15,16} Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες, οι διαταραχές στην ομοίωση της ανάπτυξης των νευρώνων που προκαλούνται από τέτοια CNVs έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ποικίλων διαταραχών, οι οποίες συνιστούν ένα νευροαναπτυξιακό συνεχές με τη μορφή πυραμίδας, με τις ASDs, την επιληψία και τη σχιζοφρένεια να βρίσκονται στη μέση αυτής, τη διπολική διαταραχή στο ένα άκρο (έχει τη μικρότερη σοβαρότητα) και τη νοητική αναπηρία στο άλλο άκρο (έχει τη μεγαλύτερη σοβαρότητα). Πιστεύεται ότι η βαρύτητα της εμφανιζόμενης διαταραχής αυξάνει με την

αύξηση του «φορτίου» των CNVs.⁷ Επιπρόσθετα, σε άτομα με ASDs εντοπίστηκαν CNVs σε γονίδια εμπλεκόμενα και σε πολλούς άλλους μηχανισμούς, όπως η σηματοδότηση GTPάσης/Ras, η απελευθέρωση νευροδιαβιβαστικών ουσιών, π.χ. CNVs στα γονίδια *DPP6* και *DPP10*, και η αποδόμησή τους, η ουβικιτινίωση και η αποδόμηση πρωτεϊνών, το μονοπάτι Wnt, η φλεγμονή, η αποτοξίνωση από περιβαλλοντικούς παράγοντες, η ρύθμιση κάποιων κινασών, η κατασκευή του σκελετού μικροσωληνίσκων, η γλυκοζυλίωση και ο μεταβολισμός, καθώς και μητρικά κληρονομούμενες διαγραφές στα συνδεδεμένα με το χρωμόσωμα X γονίδια *DDX53* και *PTCHD1*.^{12–16}

Ωστόσο, κάποια CNVs που έχουν παρατηρηθεί στην ίδια περιοχή σε μη συγγενικά άτομα δεν μπόρεσαν να συσχετιστούν με συγκεκριμένα γονίδια (π.χ. CNVs στην περιοχή 16p11). Επίσης, μερικές φορές στην ύπαρξη όμοιων CNVs έχει αποδοθεί η εμφάνιση αποκλινόντων φαινοτύπων (για παράδειγμα, όπως προαναφέρθηκε, έχει βρεθεί ότι ορισμένα εμπλέκονται στην εμφάνιση αυτισμού ή και σχιζοφρένειας και κάποιες φορές ADHD). Η ετερογένεια αυτή ενδεχομένως μπορεί να εξηγηθεί μέσω του “2 hit model” (ο φαινότυπος προκύπτει ως αποτέλεσμα μιας δεύτερης μετάλλαξης κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης), μέσω της συνεισφοράς τόσο σπάνιων όσο και συχνών CNVs, τα οποία διαταράσσουν κοινά νευρικά δίκτυα ή, τέλος, μέσω της συμμετοχής περιβαλλοντικών παραγόντων που τροποποιούν τον φαινότυπο.¹²

Ακόμη, αξίζει να σχολιαστεί το γεγονός ότι τα κληρονομούμενα σπάνια CNVs είναι κυρίως διπλασιασμοί, ενώ τα *de novo* είναι ως επί το πλείστον ελλείμματα, καθώς και το ότι στα θηλυκά, σε μεγαλύτερο ποσοστό συγκριτικά με τα αρσενικά, παρατηρούνται *de novo* CNVs, τα οποία μάλιστα είναι κατά κανόνα μεγαλύτερα. Θεωρείται ότι συνήθως τα ελλείμματα έχουν μεγαλύτερη βλαπτική επίδραση από τους διπλασιασμούς.¹³

2.2. Ανωμαλίες ανιχνεύσιμες με τη χρήση μικροσκοπίου

Σπάνιες χρωμοσωμικές ανωμαλίες συναντώνται σε άτομα με ASDs σε ποσοστό υψηλότερο σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (>7,4% έναντι <1%).¹⁴ Από τις περιοχές που έχουν εντοπιστεί μικροσκοπικά ορατές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, χαρακτηριστικά θα μπορούσε να αναφερθεί η 15q11-13 (περιοχή Prader-Willi syndrome/Angelman syndrome), της οποίας διπλασιασμοί (συνήθως μητρικά κληρονομούμενοι), ελλείμματα, αλλά και ανώμαλη μεθυλίωση συνδέονται με την παθογένεση σημαντικού ποσοστού περιπτώσεων ASDs,^{14,17} η Χρ22.3, στην οποία εδράζεται και το γονίδιο *NLGN4X*, η 22q13, όπου βρίσκεται και το γονίδιο *SHANK3*, καθώς και η 2p16.3 όπου υφίσταται το *NRXN1* και

η 7q35-36, στην οποία εντοπίζεται το γονίδιο *CNTNAP2*.¹⁴

Σχετικά με την 15q11-13, θα έπρεπε να επισημανθεί ότι ορισμένα από τα γονίδια της (π.χ. αυτά που κωδικοποιούν υπομονάδες των υποδοχέων GABA_A) θεωρούνται τα κυρίως υπεύθυνα για την εμφάνιση ASDs στην περίπτωση ύπαρξης πολλαπλών μητρικών αντιγράφων της εγγύς περιοχής του χρωμοσώματος 15 σε άτομα τα οποία φέρουν το *idic* χρωμόσωμα.¹⁸ Επίσης, αν και στην εν λόγω περιοχή έχουν συχνά βρεθεί σε άτομα με ASDs μικροσκοπικά εντοπίσιμες χρωμοσωμικές ανωμαλίες, τις περισσότερες φορές οι διπλασιασμοί και τα ελλείμματα είναι αρκετά μικρά ώστε να μην είναι δυνατή η ανίχνευσή τους με τη χρήση των συνήθων χρωμοσωμικών ελέγχων και κυτταρογενετικών δοκιμασιών. Φυσικά, οι παραπάνω μέθοδοι, καθώς και αυτές που στηρίζονται στη χρήση συστοιχιών, είναι αναποτελεσματικές και όσον αφορά στη διαπίστωση της ύπαρξης ή μη ανώμαλων προτύπων μεθυλίωσης (τα οποία μπορούν να αποτελέσουν δείκτη μονογονεϊκής δισωμίας). Συνεπώς, για την εκτίμηση της κατάστασης του χρωμοσώματος 15 σε άτομα με ASDs προτείνεται η μέθοδος MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification), η οποία παρέχει ακριβείς πληροφορίες σχετικά με τη γονεϊκή προέλευση του χρωμοσώματος και την τυχόν ύπαρξη μη φυσιολογικής ποσότητας γενετικής πληροφορίας.¹⁷

Ακόμη, υποστηρίζεται ότι αρκετές περιπτώσεις ιδιοπαθών ASDs μπορεί να οφείλονται σε μικρού βαθμού μωσαϊκισμό που αφορά στην ύπαρξη ανευλοειδών κυττάρων. Η συγκεκριμένη θέση στηρίζεται κυρίως στη λογική ότι η ανευλοειδία, περιλαμβάνοντας έναν πολύ μεγάλο αριθμό γονιδίων, μπορεί να επιφέρει σημαντικότερες αλλαγές στη νευρωνική φυσιολογία και στα εγκεφαλικά κυκλώματα και ότι ακόμη και λίγοι ανευλοειδικοί νευρώνες ενσωματωμένοι στο νευρωνικό δίκτυο είναι δυνατόν να επηρεάσουν δυσμενώς τη λειτουργία του εγκεφάλου.¹⁹

3. ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΙΣ ASDs

Είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι αρκετές γνωστές μονογονιδιακές παθήσεις μπορεί να συνυπάρχουν με τις ASDs.

3.1. Σύνδρομο εύθραυστου X

Από σύνδρομο εύθραυστου X πάσχουν το 1,5–3% των ατόμων με ASDs, ενώ ASDs παρουσιάζουν το 18–67% των ανδρών και το 10–23% των γυναικών με εύθραυστο X. Μιας και ο φαινότυπος ο οποίος αντιστοιχεί στο εύθραυστο X πιθανόν και να μην εμφανιστεί στην προεφηβική ηλικία, είναι σημαντικό να ελέγχονται γι' αυτό όλα τα παιδιά που παρουσιάζουν αναπτυξιακή καθυστέρηση, ανεξάρτητα

από το φύλο τους.⁶ Βέβαια, εφόσον μόνο σε πολύ μικρό ποσοστό των ατόμων με ASDs παρουσιάζονται θετικά αποτελέσματα για μεταλλάξεις στο *FMR1*, το κατά πόσο είναι χρήσιμο να υποβάλλονται όλοι όσοι διαγιγνώσκονται με ASDs σε έλεγχο με εύθραυστο X, από τη στιγμή μάλιστα που δεν υπάρχει θεραπεία για τη συγκεκριμένη ασθένεια, έχει αρχίσει να αμφισβητείται.⁷

3.2. Σύνδρομο Rett

Όλα τα κορίτσια που παρουσιάζουν ASDs και ολική αναπτυξιακή καθυστέρηση, ιδιαίτερα αυτά που διαθέτουν χαρακτηριστικά του συνδρόμου Rett, συνιστάται να υποβάλλονται σε έλεγχο για μεταλλάξεις στο γονίδιο *MeCP2*.⁶ Μεταλλάξεις σε αυτό έχουν βρεθεί στο 1% των ατόμων που διαγνώστηκαν με μη συνδρομικές ASDs.⁷ Στα πρώτα του στάδια το σύνδρομο Rett παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με τον ιδιοπαθή αυτισμό, αν και υπάρχουν κριτήρια για τη διάκριση μεταξύ των δύο. Ένα από τα σημαντικότερα είναι η επίκτητη μικροκεφαλία που παρατηρείται στο Rett.^{6,7} Βέβαια, έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις κοριτσιών με ASDs που διέθεταν μετάλλαξη στο *MeCP2*, χωρίς όμως να εμφανίζουν χαρακτηριστικά του συνδρόμου Rett. Για την ώρα δεν έχει θεωρηθεί αναγκαίο να ελέγχονται άρρενα άτομα με ιδιοπαθείς ASDs για μεταλλάξεις στο *MeCP2*.⁶ Εδώ βέβαια θα έπρεπε να σημειωθεί ότι οι μεταλλάξεις του *MeCP2* έχουν ως αποτέλεσμα βλάβες σε επιγενετικούς μηχανισμούς, ζήτημα που θα θιγεί αργότερα.

3.3. Παθήσεις που οφείλονται σε μεταλλάξεις του γονιδίου *PTEN* (*PTEN* hamartoma tumor syndromes)

Το *PTEN* είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο, μεταλλάξεις του οποίου ευθύνονται για την εμφάνιση ενός φάσματος αλληλεπικαλυπτόμενων φαινοτύπων, στους οποίους περιλαμβάνονται το σύνδρομο Gowden –χαρακτηρίζεται από την παρουσία διαφόρων όγκων και από ιδιαίτερα μορφώματα στο δέρμα– και το σύνδρομο Banphayan-Riley-Ruvalcaba (BRRS) (στο οποίο εμφανίζεται αναπτυξιακή επιβράδυνση, μακροσωμία, αμαρτωματώδης πολυποδίαση στο έντερο και δερματικά μορφώματα). Και στα δύο σύνδρομα παρατηρείται μακροκεφαλία, ενώ κάποιες φορές συνυπάρχουν με ASDs. Κατά συνέπεια, όλα τα άτομα με ASDs που εμφανίζουν σημαντική μακροκεφαλία (περιφέρεια κεφαλής >3 τυπικές αποκλίσεις πάνω από τη μέση φυσιολογική τιμή για την αντίστοιχη ηλικία) πρέπει να ελέγχονται για μεταλλάξεις του γονιδίου *PTEN*. (Τελικά, μεταλλάξεις του *PTEN* βρίσκονται τουλάχιστον στο 1% των ατόμων με ASDs και μακροκεφαλία, ενώ άλλα χαρακτηριστικά των συνδρόμων BRRS ή και Gowden μπορεί να συνυπάρχουν

ή να μην συνυπάρχουν). Πάντως, γίνονται προσπάθειες να προσδιοριστεί το ποσοστό των αυτιστικών ατόμων με μεταλλάξεις του *PTEN* που, τελικά, εμφανίζουν όγκους. Παράλληλα, είναι σημαντικό τόσο οι γονείς όσο και τα αδέρφια στους οποίους ανιχνεύεται επίσης η μετάλλαξη, να ελέγχονται τακτικά για την τυχόν παρουσία σχετιζόμενων μορφών καρκίνου.⁶

3.4. Οζώδης σκλήρυνση

Αυτιστική συμπεριφορά παρατηρείται σε πολλά παιδιά με την εν λόγω πάθηση, ενώ στο 1,1–1,3% των ατόμων που διαγιγνώσκονται αρχικά με ASDs βρίσκονται μεταλλάξεις είτε στο *TSC1*, είτε στο *TSC2*. Οι δύο παθολογικές καταστάσεις (οζώδης σκλήρυνση και ASDs) διακρίνονται μεταξύ τους χάρη στο αυτοσωμικό επικρατές πρότυπο κληρονομησης της οζώδους σκλήρυνσης, αλλά και με τη βοήθεια των ιδιαίτερων δερματικών μορφωμάτων, όπως οι κηλίδες Shagreen και οι χαρακτηριστικές βλατίδες (adenoma sebaceum), που επίσης εμφανίζονται στην τελευταία.⁷

3.5. Σύνδρομο Phelan-McDermid

Η πάθηση αυτή προκαλείται από μια συνεχόμενη διαγραφή γονιδίου στην περιοχή 23q13.3 –όπου βρίσκεται το γονίδιο *SHANK3*– και έχει συσχετιστεί με τις ASDs.⁷

4. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ASDs ΜΕ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ

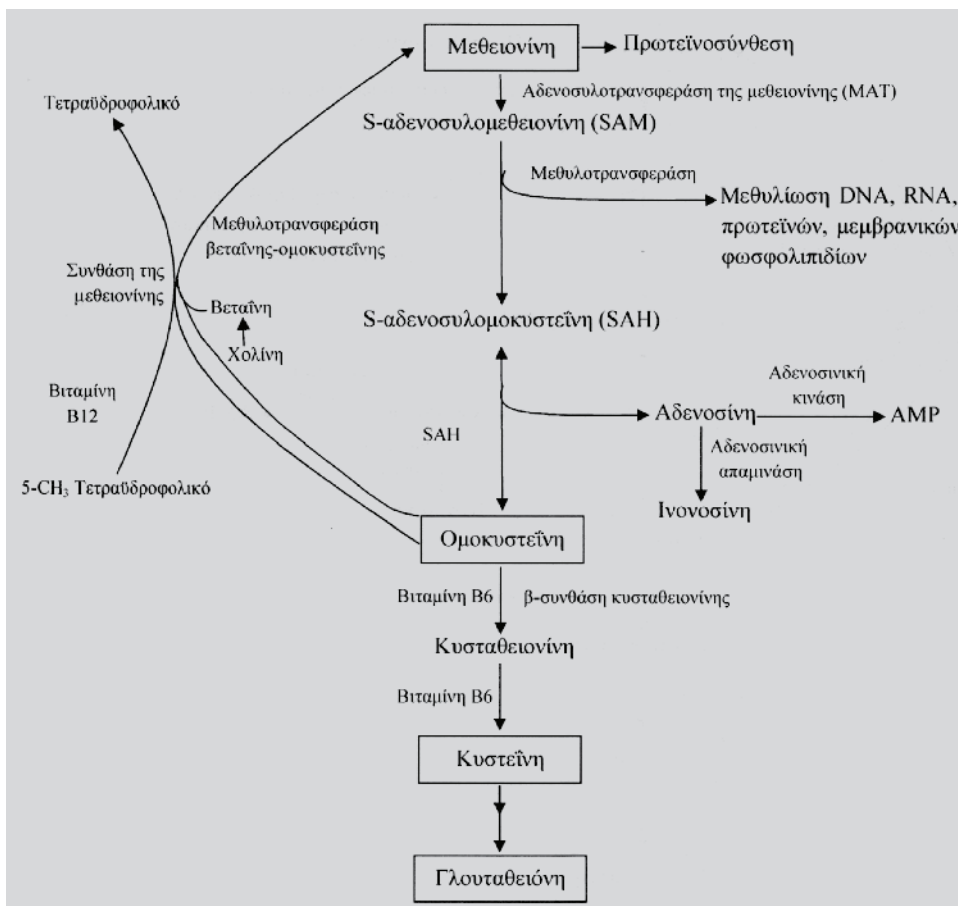
Έχει βρεθεί ότι πολλές μεταβολικές παθήσεις μπορεί να συνοδεύονται από την εμφάνιση αυτιστικών χαρακτηριστικών. Τέτοιες είναι η φαινυλκετονουρία, της οποίας η πρώιμη διάγνωση σε συνδυασμό με την υιοθέτηση των κατάλληλων διατροφικών συνηθειών από μικρή ηλικία πιθανότατα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αποτροπή της εμφάνισης ASDs,⁷ σύνδρομα που σχετίζονται με τον μεταβολισμό των πουρινών, τους νευροδιαβιβαστές στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) και τη λειτουργία των μιτοχονδρίων, η ανεπάρκεια αδενυλοηλεκτρικού, κρεατινίνης, βιοτινιδάσης και SSADH (ένζυμο που μετατρέπει το GABA σε ηλεκτρικό οξύ), καθώς και το σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz, που προκαλείται από την ανεπάρκεια της αναγωγής της 7-δεϋδροχοληστερόλης.^{7,20} Σύμφωνα με κάποιες έρευνες, συχνότερες σε αυτή την κατηγορία παθήσεων είναι οι μιτοχονδριακές, η ύπαρξη των οποίων θα μπορούσε να ερμηνεύσει αρκετές κλινικές εκδηλώσεις και στοιχεία της παθοφυσιολογίας των ASDs, όπως τη δυσλειτουργία των κυτταρικών μηχανισμών αποτοξίνωσης, της οξειδοαναγωγής και της ανοσίας. Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν κάποιοι που υποστηρίζουν ότι δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμη το αν οι μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες όντως εμπλέκονται στην

παθογένεση των ASDs ή απλά αποτελούν συνακόλουθο της εμφάνισής τους.^{21,22}

Πιστεύεται επίσης ότι οι διαφορές στο μεταβολικό προφίλ ατόμων με ASDs ενδεχομένως να σχετίζονται και με ανωμαλίες στο μονοπάτι μεταβολισμού της μεθειονίνης. Πράγματι, σε κάποια άτομα με ASDs έχει βρεθεί λειτουργικός πολυμορφισμός στο γονίδιο που κωδικοποιεί την αδενοσινική απαμινάση και την επακόλουθη δυσλειτουργία του ενζύμου, με συνέπεια την αύξηση της αδενοσίνης, την αναστολή της υδρολάσης της S-αδενοσυλ-ομοκυστεΐνης (S-adenosylhomocysteine hydrolase, SAHH), την άνοδο των επιπέδων S-αδενοσυλ-ομοκυστεΐνης (S-adenosylhomocysteine, SAH) και, τελικά, την αναστολή των περισσότερων μεθυλοτρανσφερασών (άρα και μειωμένη ικανότητα μεθυλίωσης τόσο του DNA, όσο και της σύνθεσης μεμβρανικής φωσφατιδυλοχολίνης). Άλλα γονίδια τα οποία φαίνεται να σχετίζονται με την παθογένεση των ASDs είναι τα *RFC* και *MTHFR*, που εμπλέκονται στη ρύθμιση της διαθεσιμότητας φολικού στο ενδοκυττάριο περιβάλλον, και το *TCN2*, το οποίο σχετίζεται με την πρόσληψη βιταμίνης B₁₂ από το κύτταρο. Κάποια αλληλόμορφα των συγκεκριμένων γονιδίων, είτε ανεξάρτητα μεταξύ τους είτε σε συνδυασμό το ένα με

το άλλο, πιθανόν ευθύνονται για την ελαττωματική σύνθεση μεθειονίνης, τα χαμηλά επίπεδα S-αδενοσυλομεθειονίνης (SAM) και συνεπώς τη μειωμένη ικανότητα μεθυλίωσης, με όλες τις επιπτώσεις αυτής στο μεμβρανικό δυναμικό και στη γονιδιακή έκφραση. Επίσης, η μείωση των επιπέδων της μεθειονίνης στα κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) λογικά σχετίζεται και με την ύπαρξη ενός ελαττωματικού αλληλόμορφου του γονιδίου *COMT*, το οποίο κωδικοποιεί πρωτεΐνη που μεθυλιώνει την ντοπαμίνη.²³ Διατροφικές παρεμβάσεις που έγιναν με στόχο την αύξηση της ποσότητας της μεθειονίνης στον οργανισμό παιδιών με ASDs –αρχικά, μέσω της χορήγησης βεταΐνης και φολικού οξέος και στη συνέχεια με την προσθήκη στην αγωγή και μεθυλοκοβαλαμίνης– οδήγησαν σε βελτίωση στον λόγο και στην αντίληψη, η οποία όμως δεν μετρήθηκε ποσοτικά.²⁴

Τα χαμηλά επίπεδα μεθειονίνης μπορεί να οδηγήσουν, όπως λογικά συμπεραίνεται από την αλυσίδα των αντιδράσεων που φαίνονται στην εικόνα 1, σε ελάττωση των επιπέδων της γλουταθειονίνης και, επομένως, σε πτώση του λόγου γλουταθειονίνης/δισουλφιδίου γλουταθειονίνης (GSH/GSSG). Υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι ιδιαίτερα σημαντικό ο λόγος αυτός να διατηρείται υψηλός, προκει-



Εικόνα 1. Μέρος του μεταβολικού μονοπατιού της μεθειονίνης.²⁴

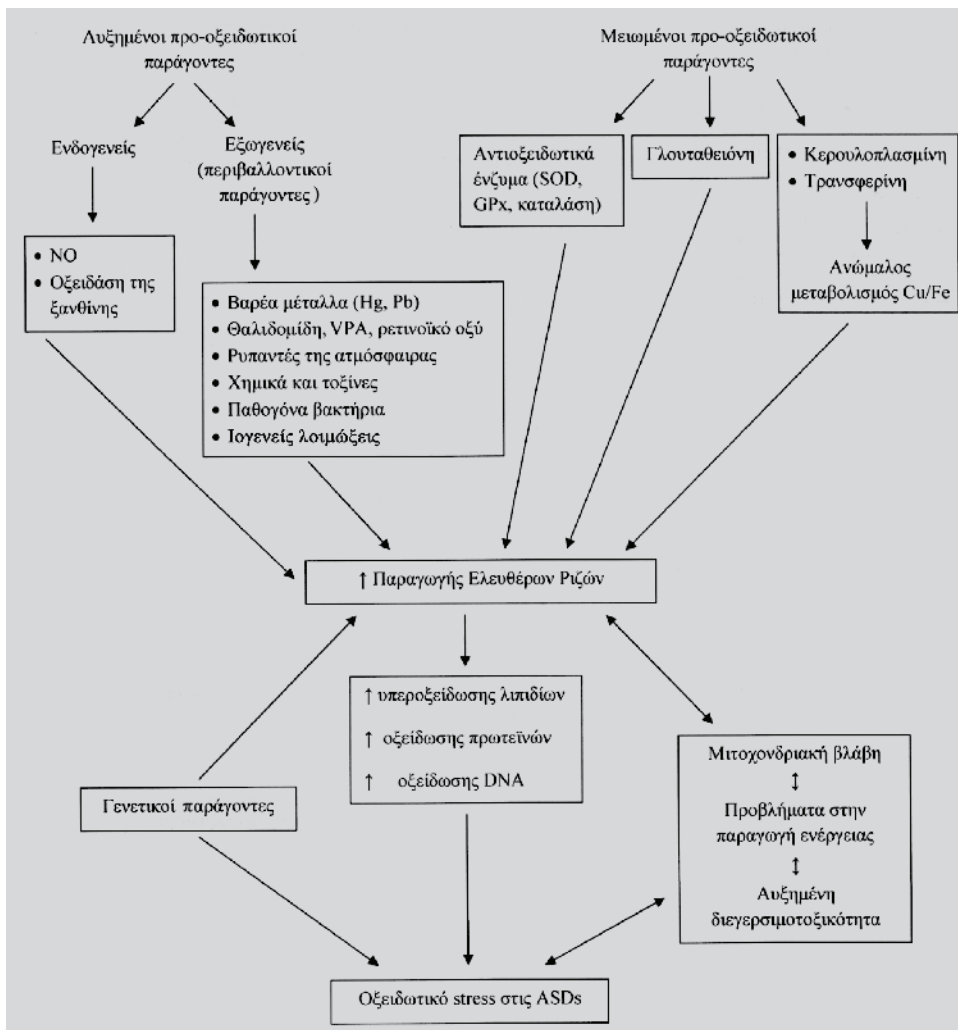
μένου να εξυπηρετούνται διάφορες κυτταρικές λειτουργίες, πολλές από τις οποίες σχετίζονται με την προστασία από το οξειδωτικό stress.²³ Παράγοντες που συμβάλλουν στην εμφάνιση οξειδωτικού stress σε άτομα με ASDs (η ύπαρξη του οποίου επιβεβαιώνεται και από τη χαμηλού βαθμού ενζυμική αντιοξειδωτική δράση που έχει παρατηρηθεί σε παιδιά με ASDs²⁴) παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στην εικόνα 2. Προτεινόμενοι μηχανισμοί με τους οποίους το οξειδωτικό stress οδηγεί σε κλινικές εκδηλώσεις των ASDs αναφέρονται στην εικόνα 3.

5. ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΩΝ ASDs ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΣΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΟΥΣ

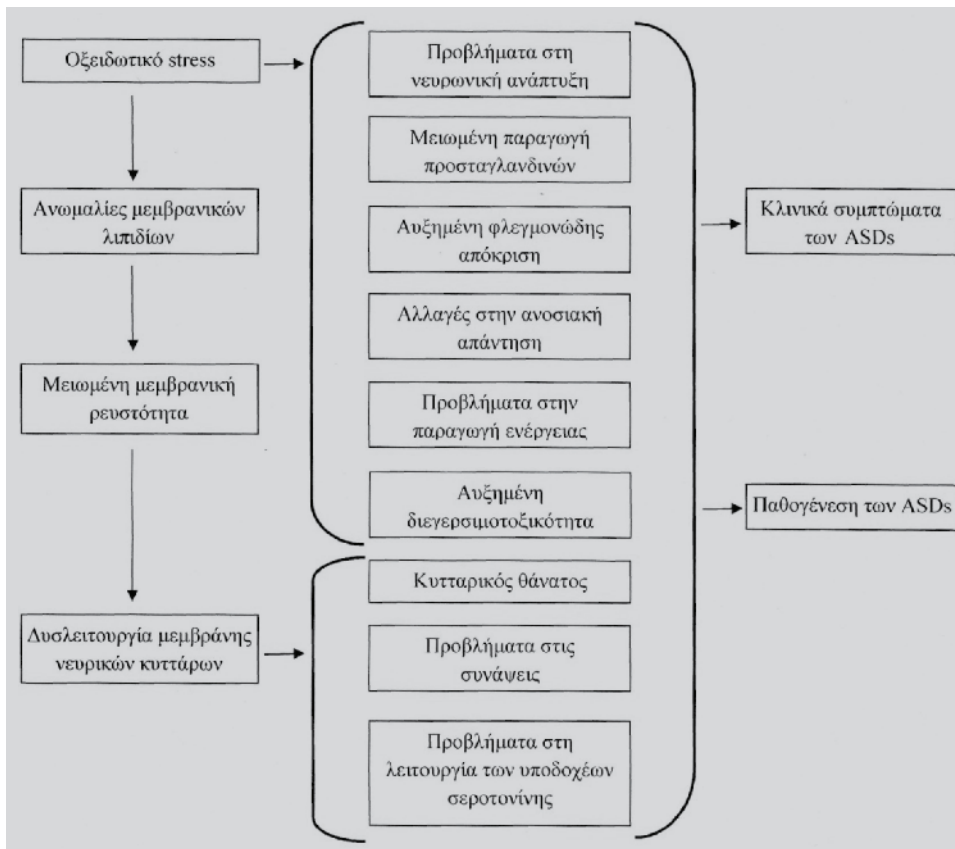
Παρά το γεγονός ότι πολλές από τις διαφορές που παρουσιάζει η γονιδιακή έκφραση στα κύτταρα ατόμων με ASDs έχουν ερμηνευτεί με βάση αποκλίσεις οι οποίες εντοπίζονται σε αμιγώς γενετικό επίπεδο, υπάρχουν άλλες

που προκύπτουν ως αποτέλεσμα της δράσης επιγενετικών μηχανισμών. Η φυσιολογική λειτουργία των εν λόγω μηχανισμών μπορεί να διαταραχθεί είτε λόγω εσωτερικής κυτταρικής δυσλειτουργίας, η οποία δεν αναφέρεται στην επίδραση εξωγενών παραγόντων και είναι συνήθως γενετικής φύσης, είτε λόγω της έκθεσης του οργανισμού σε ορισμένους περιβαλλοντικούς παράγοντες.¹²

Σε αυτό το πλαίσιο, θα μπορούσαμε αρχικά να αναφερθούμε σε συνυφασμένες με την εμφάνιση ASDs αποκλίσεις στα κυτταρικά επίπεδα πρωτεϊνών που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης ορισμένων γονιδίων. Παραδείγματα τέτοιων πρωτεϊνών αποτελούν η MeCP2 και η PRKCB.²⁵ Τα χαμηλά επίπεδα της MeCP2 ενδεχομένως προκύπτουν από υπερμεθυλίωση ή μετάλλαξη του προαγωγέα του γονιδίου *MeCP2* ή, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, από μεταλλάξεις του ίδιου του γονιδίου²⁶ και είναι υπεύθυνα για τη μη φυσιολογική ενεργοποίηση κάποιων γονιδίων και την αποσιώπηση κάποιων άλλων.²⁵



Εικόνα 2. Πιθανός μηχανισμός δημιουργίας οξειδωτικού stress στις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (autism spectrum disorders, ASDs).³²



Εικόνα 3. Πιθανοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στη νευρωνική δυσλειτουργία και στην εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού (autism spectrum disorders, ASDs).³²

Πιο συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη MeCP2 προκαλεί την αποσιώπηση γονιδίων συνδεόμενη σε μεθυλωμένο DNA και σχηματίζοντας σύμπλεγμα με την αποακετυλάση των ιστονών 1 (HDAC1). Καθώς όμως έχει βρεθεί, παράλληλα, ότι είναι υπεύθυνη και για την ενεργοποίηση άλλων γονιδίων, δεν έχει εξακριβωθεί ακόμη με ποιον ακριβώς τρόπο τα χαμηλά επίπεδα της συνεισφέρουν στην εμφάνιση ASDs. Αντίστοιχα, τα χαμηλά επίπεδα έκφρασης του γονιδίου *PRKCB1* στον κροταφικό λοβό των ατόμων με ASDs ευθύνονται για τη μη συντονισμένη επαγόμενη από την πρωτεϊνική κινάση C βήτα (*PRKCB*) έκφραση γονιδίων.²⁵

Άλλες πρωτεΐνες των οποίων ο βαθμός έκφρασης σε άτομα με ASDs διαφέρει συγκριτικά με τα φυσιολογικά είναι η *OXTR*, η οποία λειτουργεί ως υποδοχέας οξυτοκίνης, η *RORA*, η *Bcl-2* και η *SHANK3*. Αναλυτικότερα, ο μειωμένος αριθμός υποδοχέων οξυτοκίνης, που έχει συσχετιστεί με τις ASDs, μπορεί να οφείλεται εκτός από τους γενετικούς παράγοντες και σε επιγενετικές διαδικασίες (π.χ. υπερμεθυλίωση του προαγωγέα του γονιδίου *OXTR*), ενώ τα χαμηλά επίπεδα της *RORA* συχνά προκύπτουν λόγω σημαντικών αποκλίσεων στον βαθμό μεθύλωσης του προαγωγέα του γονιδίου. Η πρωτεΐνη *RORA* θεωρείται ότι ρυθμίζοντας τους κερκάρδιους κύκλους και τη νευροπροστασία αποτρέπει τα δυσμενή αποτελέσματα του οξειδωτικού stress και της

φλεγμονής, γι' αυτό και τα χαμηλά επίπεδά της πιστεύεται ότι συμβάλλουν στην εμφάνιση ASDs. Αντίστοιχα, τόσο η μειωμένη ποσότητα *Bcl-2* στην παρεγκεφαλίδα και στον φλοιό του μετωπιαίου λοβού σε ορισμένες περιπτώσεις ASDs, όσο και οι μεταβολές στα επίπεδα έκφρασης της *SHANK3*, μπορεί να είναι αποτέλεσμα της δράσης διαφόρων επιγενετικών μηχανισμών. Ειδικά στην περίπτωση της *SHANK3* σημαντικό ρόλο διαδραματίζει το ποσοστό μεθύλωσης των «νησίδων» CpG του γονιδίου.²⁵

Παράλληλα, η αυξημένη μεταγραφή των γονιδίων του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt κατά την προγεννητική και τη νεογνική περίοδο έχει επίσης συσχετιστεί με τις ASDs και ενδεχομένως επάγεται από την υψηλή συγκέντρωση οιστρογόνων στο κυτταρόσολιο των εγκεφαλικών κυττάρων. Τα οιστρογόνα ενεργοποιούν τον υποδοχέα ERα, προκαλώντας την απελευθέρωση της β-καντενίνης. Η β-καντενίνη, με τη σειρά της, προσδένεται στον προαγωγέα LEC/TCF και ενισχύει τη μεταγραφή των γονιδίων του μονοπατιού Wnt. Η έντονη έκφραση των γονιδίων αυτών μπορεί να προκληθεί επιπρόσθετα από την έλλειψη ή τη μειωμένη έκφραση της *GSK3β*, της αξίνης και της πρωτεΐνης APC (παραγόντων που μετέχουν στο σύμπλοκο δέσμευσης της β-καντενίνης).²⁵

Στους περιβαλλοντικούς παράγοντες που ευνοούν την εμφάνιση ASDs θα μπορούσε να συμπεριληφθεί η έκθεση

σε βαλπροϊκό οξύ (VPA) και η κατανάλωση φαρμάκων που περιέχουν λίθιο (καθώς αυξάνουν την έκφραση γονιδίων του μονοπατιού Wnt, επειδή το VPA αναστέλλει την HDAC1 –φυσιολογικά η HDAC1 μειώνει τη μεταγραφή των γονιδίων αυτών– και το λίθιο την GSK3β), η ανεπάρκεια βιταμίνης D ή ο ελαττωματικός μεταβολισμός της –με τις επιπτώσεις που έχουν στην ομαλή νευρωνική ανάπτυξη– και η συνεισφορά του ενδομήτριου περιβάλλοντος.²⁵ Στη διαμόρφωση ενός τέτοιου περιβάλλοντος στη μήτρα μπορεί να συμβάλλουν διάφοροι παράγοντες, όπως η υπομεθυλίωση του μητρικού DNA,²⁵ η εμφάνιση μητρικού διαβήτη κατά τη διάρκεια της κύησης, οι αιμορραγίες της κύησης, η φαρμακοθεραπεία, οι λοιμώξεις του ενδομητρίου, η έκθεση σε κάποια συνθετικά χημικά, καθώς και η προσβολή της εγκύου από ορισμένα παθογόνα κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης.¹²

Τέλος, θα μπορούσε να αναφερθεί η συμμετοχή του γονεϊκού εντυπώματος (parental imprinting) στην παθογένεση κάποιων περιπτώσεων ASDs.¹²

Όπως είναι λογικό να εννοηθεί και με βάση τα προηγούμενα, όσον αφορά στα πρότυπα μεθυλίωσης του γονιδιώματος, έχουν βρεθεί πολλές διαφορές ανάμεσα στα άτομα με ASDs και σε αυτά χωρίς ASDs, οι οποίες ως επί το πλείστον αφορούν είτε σε γονιδιακούς τόπους που έχουν ήδη συσχετιστεί με τις ASDs, είτε σε νέα υποψήφια προς μελέτη γονίδια. Πάντως, και μεταξύ των εμπλεκόμενων στις ASDs προτύπων μεθυλίωσης συναντάται ετερογένεια, ενώ φαίνεται να υπάρχει ποσοτική συσχέτιση ανάμεσα στη σοβαρότητα του φαινοτύπου και στον βαθμό μεθυλίωσης ορισμένων CpG περιοχών.²⁷

Σχετικά με την έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, υποστηρίζεται ότι ένας από μόνος του δεν μπορεί να συνεισφέρει σημαντικά στην εμφάνιση ASDs,⁶ και συνεπώς η προσοχή μας θα έπρεπε να εστιαστεί κυρίως στην αλληλεπίδραση γονότυπου-περιβάλλοντος.¹²

6. ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΙΚΑΙΟΛΟΓΟΥΝ ΤΑ ΥΨΗΛΟΤΕΡΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ASDs ΣΤΟΥΣ ΑΝΔΡΕΣ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΑ ΜΕ ΤΙΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ

Έχει παρατηρηθεί ότι, αναλογικά, σαφώς περισσότεροι άνδρες απ' ό,τι γυναίκες εμφανίζουν ASDs (για τον κλασικό αυτισμό η αναλογία είναι 4:1, ενώ για το σύνδρομο Asperger 11:1). Παρά το γεγονός ότι μια τέτοια παρατήρηση μπορεί να σχετίζεται με τη δυσκολία διάγνωσης ASDs σε θήλεα άτομα, πιθανόν υπάρχουν και βιολογικά αίτια.²⁸

6.1. Θεωρία «προστατευτικής επίδρασης του θηλυκού»

Ορισμένοι υποστηρίζουν ότι στα θηλυκά, λόγω της επίδρασης κάποιου προστατευτικού παράγοντα, χρειάζεται

η συνδρομή περισσότερων οικογενών ή και περιβαλλοντικών παραγόντων προκειμένου να υφίστανται οι κλινικές εκδηλώσεις που χαρακτηρίζουν τις ASDs (θεωρία «προστατευτικής επίδρασης του θηλυκού», female protective effect, FPE).^{29,30} Με βάση τα παραπάνω, τα κορίτσια που παρουσιάζουν φαινότυπο ASDs διαθέτουν μεγαλύτερο «φορτίο» εμπλεκόμενων αιτιολογικών παραγόντων σε σύγκριση με τα αγόρια, τα οποία επίσης εμφανίζουν ASDs, και μιας και οι ASDs έχουν οικογενή χαρακτήρα θα ήταν λογικό να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι οι συγγενείς αυτιστικών θηλυκών ατόμων έχουν αυξημένες πιθανότητες εμφάνισης ASDs σε σύγκριση με εκείνους αυτιστικών αρσενικών. Με το μοντέλο FPE συμφωνούν τα ευρήματα μελετών αναφορικά με σπάνιες *de novo* γενετικές παραλλαγές σε αυτιστικά άτομα, σε αντίθεση με τα αποτελέσματα ερευνών εστιασμένων στον κίνδυνο κληρονομής των ASDs σε επιλεγμένες οικογένειες, τα οποία δεν φαίνεται να ενισχύουν το εν λόγω μοντέλο. Ένα συμπληρωματικό μοντέλο με το παραπάνω είναι αυτό που προτείνει την ύπαρξη κάποιου παράγοντα (π.χ. τεστοστερόνης), ο οποίος αυξάνει τον κίνδυνο εκδήλωσης ASDs μόνο σε αγόρια.³⁰

6.2. Θεωρία του «ακραίου άρρενος εγκεφάλου»

Η θεωρία του «ακραίου άρρενος εγκεφάλου» (extreme male brain theory, θεωρία EMB) είναι μια από τις σημαντικότερες που έχουν προταθεί για την ερμηνεία της εμφανιζόμενης αναλογίας φύλου στις ASDs. Σύμφωνα με αυτή, στα άτομα με ASDs συναντάται μια «υπερέκφραση» των ψυχολογικών και των φυσιολογικών γνωρισμάτων του ανδρικού εγκεφάλου και γι' αυτό είναι πιθανότερο οι συγκεκριμένες διαταραχές να εμφανιστούν σε αρσενικά άτομα, αφού λογικά επέρχονται ως αποτέλεσμα μικρότερων αλλαγών συγκριτικά με εκείνες που απαιτούνται στα θηλυκά. Η σχετική θεωρία στηρίζεται στην E-S θεωρία (empathizing-systemizing theory), η οποία υποστηρίζει ότι γενικά τα κορίτσια έχουν την τάση να «συμπάσχουν», ενώ τα αγόρια να «συνθέτουν». Τα υπάρχοντα στοιχεία δείχνουν ότι στον εγκέφαλο ατόμων με ASDs η δομική και η λειτουργική οργάνωση είναι μια υπερβολική «έκδοση» του ανδρικού προτύπου.²⁸ Όσον αφορά στους μηχανισμούς στους οποίους στηρίζεται η θεωρία EMB, έχουν διατυπωθεί πολλές απόψεις:

6.2.1. Θεωρία εμβρυϊκής τεστοστερόνης. Υποστηρίζεται ότι ο βαθμός έκθεσης στην τεστοστερόνη κατά την εμβρυϊκή ζωή επηρεάζει την αναλογία φύλου των ASDs. Για την ακρίβεια, θεωρείται ότι τα υψηλά επίπεδα της παρουσιάζουν αντίστροφη συσχέτιση με τους τομείς της συμπεριφοράς οι οποίοι συνδέονται με την κοινωνικότητα και θετική συσχέτιση με εκείνους που δεν σχετίζονται με

την κοινωνική συμπεριφορά. Παράλληλα, εννοείται ότι η εμβρυϊκή τεστοστερόνη επηρεάζει τα δομικά χαρακτηριστικά του εγκεφάλου.²⁸

Στο σημείο αυτό μάς δίνεται η ευκαιρία να σχολιάσουμε και τη διαφορετική επίδραση που ασκούν οι φυλετικές ορμόνες στο γονίδιο *RORA*, το οποίο κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα, και η υποέκφρασή του μάλλον εμπλέκεται στην εμφάνιση ASDs. Η τεστοστερόνη, συνδεδεμένη στον υποδοχέα της στον προαγωγέα του γονιδίου, προκαλεί ελάττωση των επιπέδων μεταγραφής του, ενώ τα οιστρογόνα μέσω του δικού τους υποδοχέα αυξάνουν την έκφρασή του. Ένας από τους μεταγραφικούς στόχους του *RORA* είναι η αρωματάση, ένζυμο υπεύθυνο για τη μετατροπή της τεστοστερόνης σε οιστρογόνα. Θεωρείται λοιπόν ότι η μείωση της έκφρασης του *RORA*, μέσω της επακόλουθης ελάττωσης της αρωματάσης, επιφέρει άνοδο στα επίπεδα τεστοστερόνης και πτώση στα επίπεδα οιστρογόνων, οδηγώντας έτσι σε ακόμη μεγαλύτερη μείωση της έκφρασης του γονιδίου (αρνητικός ανατροφοδοτικός μηχανισμός). Σύμφωνα με ορισμένες μελέτες, τα οιστρογόνα έχουν τη δυνατότητα να επάγουν την έκφραση γονιδίων, των οποίων το *RORA* αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα, και συνεπώς να αντισταθμίζουν μερικώς τα τυχόν χαμηλά του επίπεδα. Αυτό, σε συνδυασμό με την αυξορρυθμισμό που ασκούν στη μεταγραφή του *RORA*, φαίνεται να δίνει στα θηλυκά άτομα ένα πλεονέκτημα στην προστασία ενάντια στις ASDs.³¹

6.2.2. Θεωρία του Χρωμοσώματος. Συγκριτικά με τα υπόλοιπα χρωμοσώματα, το Χ περιέχει περισσότερα γονίδια που εκφράζονται στον εγκέφαλο και >10% των περιπτώσεων μαθησιακών δυσκολιών υποδεικνύουν ένα συνδεδεμένο με το Χ χρωμόσωμα πρότυπο κληρονομής. Αν και οι περισσότερες μελέτες δεν κατόρθωσαν να εντοπίσουν περιοχές του Χ χρωμοσώματος που να παρουσιάζουν ενδιαφέρον για τις ASDs, έχει υποστηριχθεί ότι ενδεχομένως κάποιο υπολειπόμενο, συνδεδεμένο με το Χ γονίδιο, θα μπορούσε να διαδραματίζει ρόλο στην αύξηση πιθανότητας εμφάνισης ASDs (παρ' ότι κάτι τέτοιο δεν είναι σαφές). Επίσης, όσον αφορά στην απενεργοποίηση του Χ, έχει διατυπωθεί η θέση ότι η επί πλέον δόση γενετικής πληροφορίας στα θηλυκά –που πρόκειται ουσιαστικά για το 10–15% των γονιδίων του απενεργοποιηθέντος Χ, τα οποία συνεχίζουν να εκφράζονται– ενδεχομένως να έχει αντισταθμιστικό ρόλο στην εμφάνιση ASDs, αν και οι έως τώρα έρευνες δεν έχουν αποδείξει την ύπαρξη μιας –τόσο απλής τουλάχιστον– σχέσης. Μια άλλη άποψη αφορά στη συνεισφορά του γονιδιωματικού εντυπώματος στην εμφάνιση ASDs και στηρίζεται σε μελέτες που έδειξαν ότι το ποσοστό προβλημάτων κοινωνικότητας ήταν υψηλότερο σε άτομα με σύνδρομο Turner (TS) τα οποία κληρονόμησαν το Χ από τη μητέρα τους, σε σχέση με αυτά που το κλη-

ρονόμησαν από τον πατέρα τους. Θεωρήθηκε λοιπόν ότι είναι λογικό, κατ' επέκταση, το ποσοστό εμφάνισης ASDs να είναι υψηλότερο στα αρσενικά άτομα –που μπορούν να κληρονομήσουν το Χ μόνο από τη μητέρα τους– αφού ενδέχεται να υπάρχει πατρική έκφραση κάποιου γονιδίου το οποίο εδράζεται στο Χ και δρα ως προστατευτικός παράγοντας ενάντια στα προβλήματα κοινωνικότητας στο TS ή στην εμφάνιση ASDs.²⁸

6.2.3. Η θεωρία του Υ χρωμοσώματος. Αν και η συγκεκριμένη θεωρία δεν έχει διερευνηθεί ακόμη επαρκώς, πιστεύεται από κάποιους ότι στην εμφάνιση ASDs μπορεί να συμβάλλουν γονίδια του Υ χρωμοσώματος, που εκφράζονται μόνο στα αρσενικά άτομα (π.χ. το *SRY*). Η υπόθεση αυτή στηρίζεται στην παρατήρηση ότι υπάρχει αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ASDs σε άτομα ΧΥΥ και ΧΧΥΥ.²⁸

6.2.4. Η θεωρία της μειωμένης αυτοσωμικής διεισδυτικότητας στα θηλυκά άτομα. Αν και πιστεύεται ότι ένα σημαντικό ποσοστό περιπτώσεων ASDs προκαλούνται από *de novo* αυτοσωμικές επικρατείς μεταλλάξεις που παρουσιάζουν μειωμένη διεισδυτικότητα στα θηλυκά άτομα, σε καμιά μελέτη δεν έχει βρεθεί έως τώρα τι θα μπορούσε να προκαλεί τη μειωμένη αυτή διεισδυτικότητα.²⁸

Εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι η διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης ASDs σε αρσενικά και θηλυκά άτομα κάποιες φορές αποδίδεται και στη δράση επιγενετικών μηχανισμών. Υπάρχουν διάφορα ευρήματα που δικαιολογούν την υιοθέτηση μιας τέτοιας προσέγγισης, π.χ. αυτά τα οποία δείχνουν ότι σε κάποιες περιοχές του γονιδιώματος τα πρότυπα μεθυλίωσης στα δύο φύλα παρουσιάζουν μεταξύ τους αρκετές διαφορές.²⁵

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Είναι φανερό ότι σήμερα έχει αποκτηθεί μια πολύ καλή εικόνα των μοριακών και των κυτταρικών μηχανισμών που διέπουν την παθοφυσιολογία των ASDs. Προς το παρόν, οι χρησιμοποιούμενες διαγνωστικές τεχνικές στηρίζονται κυρίως στον αποκλεισμό άλλων γνωστών παθήσεων και στην αναζήτηση σπάνιων CNVs στο γονιδίωμα. Βέβαια, αναμένεται να βελτιωθούν σημαντικά, παράλληλα με την πρόοδο στην κατανόηση της παθογένεσης των συγκεκριμένων νοσημάτων. Σχετικά με τη διερεύνηση της παθογένεσης, θεωρούμε ότι είναι σημαντικό να δίνεται βάση στην αλληλεπίδραση διαφόρων μηχανισμών, οι οποίοι δρουν τόσο σε γενετικό όσο και σε επιγενετικό επίπεδο. Παραδείγματα τέτοιων είναι η ύπαρξη σημειακών μεταλλάξεων, ορισμένων CNVs και ελλειμμάτων-διαγραφών ορατών με μικροσκόπιο. Αυτά μπορεί να εντοπίζονται σε περιοχές γνωστών γονιδίων –που ενίοτε έχουν συσχετιστεί

με συγκεκριμένες μεταβολικές διαταραχές ή άλλες παθήσεις– ή σε τμήματα χρωμοσωμάτων, ο ρόλος των οποίων δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη. Άλλοι μηχανισμοί αφορούν σε ανώμαλα πρότυπα μεθυλίωσης σε ορισμένες περιοχές του γονιδιώματος, μη φυσιολογική δράση μεταγραφικών παραγόντων και έκθεση σε ορισμένους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Φαίνεται όμως ότι, τελικά, οι εμφανιζόμενες επιπτώσεις στο άτομο ποικίλλουν ανάλογα και με το γενετικό προφίλ του. Συνεπώς, εξ αιτίας της μεγάλης ετερογένειας που παρουσιάζουν οι ASDs, από άποψη αιτιολογίας (γεγονός

που εν μέρει οφείλεται στον τεράστιο αριθμό διαφορετικών φαινοτύπων που περικλείουν), κάθε συμβουλευτική προσπάθεια ή μελέτη η οποία στοχεύει στην ανεύρεση θεραπείας –μέσω φαρμακευτικών, διατροφικών ή άλλων παρεμβάσεων– είναι σκόπιμο να γίνεται εξαιρετικά στοχευμένα για συγκεκριμένες υποομάδες ασθενών. Αντίστοιχα, με βάση τις έως τώρα εξελίξεις, η χρήση συγκεκριμένων βιοδεικτών για διαγνωστικούς σκοπούς φαίνεται ότι δεν μπορεί να αξιοποιηθεί αποτελεσματικά παρά μόνο για μικρό αριθμό περιπτώσεων.

ABSTRACT

New evidence concerning the molecular basis of autism spectrum disorders

S. STAI,¹ L. FIDANI²

¹Medical School, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, ²General Biology Laboratory, Medical School, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2017, 34(4):448–459

Autism spectrum disorders (ASDs) are a set of neurodevelopmental disorders characterized by impaired capacity for social interaction, stereotyped behaviors and problems in the use of language. They are divided into syndromic and non-syndromic disorders. Over the past few years, significant progress has been made in identifying the mechanisms that contribute to the pathogenesis of ASDs and it has become evident that these exhibit great heterogeneity. Specifically, the emergence of an ASD phenotype may result from the contribution of both genetic mechanisms (such as the presence of specific copy number variations [CNVs], point mutations or microscopically detectable chromosomal abnormalities), and epigenetic modifications. In addition, exposure to certain environmental factors and a combination of some of the above mechanisms can all eventually lead to an ASD phenotype. ASDs have been associated with various well-known monogenic disorders, including Fragile X syndrome and Rett syndrome, and also with certain metabolic diseases, and present in a much higher frequency in males. Despite the fact that a number of theories and models concerning the interpretation of this phenomenon have been proposed, none of them has been confirmed yet.

Key words: Autism spectrum disorders, CNVs, Epigenetic modifications, Metabolic disorders, Monogenic disorders

Βιβλιογραφία

1. KANNER L. Autistic disturbances of affective contact. *Nerv Child* 1943, 2:217–250
2. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV. 4th ed. APA, Washington, DC, 1994
3. LOHR WD, TANGUAY P. DSM-5 and proposed changes to the diagnosis of autism. *Pediatr Ann* 2013, 42:161–166
4. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. APA, Arlington, VA, 2013
5. GRZADZINSKI R, HUERTA M, LORD C. DSM-5 and autism spectrum disorders (ASDs): An opportunity for identifying ASD subtypes. *Mol Autism* 2013, 4:12
6. CARTER MT, SCHERER SW. Autism spectrum disorder in the genetics clinic: A review. *Clin Genet* 2013, 83:399–407
7. ROSTI RO, SADEK AA, VAUX KK, GLEESON JG. The genetic landscape of autism spectrum disorders. *Dev Med Child Neurol* 2014, 56:12–18
8. KANNER L. Problems of nosology and psychodynamics of early infantile autism. *Am J Orthopsychiatry* 1949, 19:416–426
9. BETTELHEIM B. *The empty fortress: Infantile autism and the birth of the self*. The Free Press, New York, 1967:385–433
10. RIMLAND B. *Infantile autism: The syndrome and its implications for a neural theory of behavior*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1964
11. WAKEFIELD AJ, MURCH SH, ANTHONY A, LINNELL J, CASSON DM, MALIK M ET AL. Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. *Lancet* 1998, 351:637–641

12. CHASTE P, LEBOYER M. Autism risk factors: Genes, environment, and gene-environment interactions. *Dialogues Clin Neurosci* 2012, 14:281–292
 13. 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, 70:886–897
 14. EL-FISHAWY P, STATE MW. The genetics of autism: Key issues, recent findings, and clinical implications. *Psychiatr Clin North Am* 2010, 33:83–105
 15. MARSHALL CR, NOOR A, VINCENT JB, LIONEL AC, FEUK L, SKAUG J ET AL. Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet* 2008, 82:477–488
 16. 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, 466:368–372
 17. DEPIENNE C, MORENO-DE-LUCA D, HERON D, BOUTEILLER D, GENNETIER A, DELORME R ET AL. Screening for genomic rearrangements and methylation abnormalities of the 15q11–q13 region in autism spectrum disorders. *Biol Psychiatry* 2009, 66:349–359
 18. WOLPERT CM, MENOLD MM, BASS MP, QUMSIYEH MB, DONNELLY SL, RAVAN SA ET AL. Three probands with autistic disorder and isodicentric chromosome 15. *Am J Med Genet* 2000, 96:365–372
 19. YUROV YB, VORSANOVA SG, IOUROV IY, DEMIDOVA IA, BERESHEVA AK, KRAVETZ VS ET AL. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy. *J Med Genet* 2007, 44:521–525
 20. ZECAVATI N, SPENCE SJ. Neurometabolic disorders and dysfunction in autism spectrum disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2009, 9:129–136
 21. FRYE RE, ROSSIGNOL DA. Mitochondrial dysfunction can connect the diverse medical symptoms associated with autism spectrum disorders. *Pediatr Res* 2011, 69:41R–47R
 22. ROSSIGNOL DA, FRYE RE. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: A systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry* 2012, 17:290–314
 23. JAMES SJ, MELNYK S, JERNIGAN S, CLEVES MA, HALSTED CH, WONG DH ET AL. Metabolic endophenotype and related genotypes are associated with oxidative stress in children with autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006, 141B:947–956
 24. JAMES SJ, CUTLER P, MELNYK S, JERNIGAN S, JANAK L, GAYLOR DW ET AL. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. *Am J Clin Nutr* 2004, 80:1611–1617
 25. MBADIWE T, MILLIS RM. Epigenetics and autism. *Autism Res Treat* 2013, 2013:826156
 26. NAGARAJAN RP, HOGART AR, GWYEE 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–e11
 27. WONG CC, MEABURN EL, RONALD A, PRICETS, JEFFRIES AR, SCHALKWYK LC ET AL. Methylomic analysis of monozygotic twins discordant for autism spectrum disorder and related behavioural traits. *Mol Psychiatry* 2014, 19:495–503
 28. BARON-COHEN S, LOMBARDO MV, AUYEUNG B, ASHWINE, CHAKRABARTI B, KNICKMEYER R. Why are autism spectrum conditions more prevalent in males? *PLoS Biol* 2011, 9:e1001081
 29. ROBINSON EB, LICHTENSTEIN P, ANCKARSÄTER H, HAPPÉ F, RONALD A. Examining and interpreting the female protective effect against autistic behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013, 110:5258–5262
 30. WERLING DM, GESCHWIND DH. Understanding sex bias in autism spectrum disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013, 110:4868–4869
 31. SARACHANA T, XU M, WU RC, HU VW. Sex hormones in autism: Androgens and estrogens differentially and reciprocally regulate *RORA*, a novel candidate gene for autism. *PLoS One* 2011, 6:e17116
 32. CHAUHAN A, CHAUHAN V. Oxidative stress in autism. *Pathophysiology* 2006, 13:171–181
- Corresponding author:*
- S. Stai, 5 Ypsilantou street, GR-661 31 Drama, Greece
e-mail: staimatina@yahoo.gr