

Transtorno do Espectro do Autismo: uma revisão sobre etiologia, epigenética e mutação de novo

Autism Spectrum Disorder: a review on etiology, epigenetics and novo mutation

Fernanda Alves Maia¹
Maria Tereza Carvalho Almeida¹
Victor Bruno da Silva²
Maria Rachel Alves³
Marise Fagundes Silveira⁴

¹- Doutora em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES.

²- Acadêmica de medicina pela Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES.

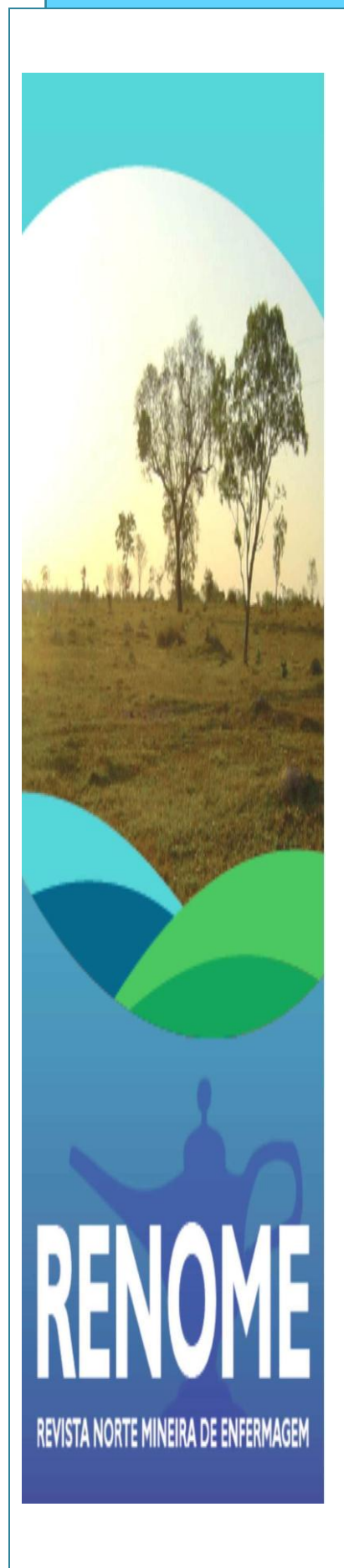
³Mestranda em Ciências da Educação pela Universidad Tecnológica International-UTIC.

⁴- Doutora em Saúde Coletiva pela Universidade Federal de São Paulo- UNIFESP

Autor para correspondência:

Fernanda Alves Maia
Universidade Estadual de Montes Claros
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - CCBS
Departamento de Enfermagem.
Avenida Rui Braga, Vila Mauricéia
Montes Claros, MG, Brasil
CEP: 39401-089
E-mail: falvesmaia@gmail.com

Resumo: A pessoa com o Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) compartilha sintomas centrais no comprometimento de três áreas do neurodesenvolvimento: *deficits* de habilidades sociais; *deficits* de habilidades comunicativas e presença de comportamentos, interesses e/ou atividades restritos, repetitivos e estereotipados. O aumento na prevalência desse transtorno é preocupante e reforça a necessidade de se investigar os seus principais fatores de risco. Assim, o presente



estudo teve como finalidade apresentar uma revisão da literatura a respeito do TEA, sua etiologia, aspectos epigenéticos e mutação *de novo*. Para o mapeamento deste estudo tomou-se como base bibliográfica a Base de Dados Pubmed. Os resultados apontam que o TEA é caracterizado como um transtorno de herança multifatorial e que fatores ambientais, independentes ou em conjunto com os fatores genéticos, aumentam o risco desse transtorno. Além disso, estudos moleculares têm destacado o papel das mutações *de novo* e da epigenética no desenvolvimento do TEA.

Descritores: Transtorno Autístico; Mutação; Metilação; Revisão.

Abstract: The person with Autism Spectrum Disorder (ASD) shares central symptoms of impairment in three areas of neurodevelopment: deficits in social skills, communicative skills, and presence of restricted, repetitive, stereotyped behaviors, interests and/or activities. The increase in the prevalence of this disorder is worrisome and reinforces the need to investigate its main risk factors. Thus, the present study aimed to present a literature review regarding ASD, its etiology, epigenetic aspects and *de novo* mutation. For the mapping of this study, the Pubmed Database was used as bibliographic basis. The results indicate that ASD is characterized as a multifactorial inheritance and that environmental factors, independently or in conjunction with genetic factors, increase the risk of this disorder. In addition, molecular studies have highlighted the role of *novo* mutations and epigenetics in the development of ASD.

Descriptors: Autistic disorder; Mutation; Methylation; Review.

Introdução

O termo “autismo” foi introduzido na psiquiatria por Ploullier, em 1906, como um item descritivo do sinal clínico de isolamento frequente em alguns casos. Em 1943, Kanner reformulou o termo para distúrbio autístico do contato afetivo, descrevendo uma síndrome com o mesmo sinal clínico de isolamento, então observado em um grupo de crianças com idades variando entre dois anos e quatro meses a 11 anos⁽¹⁾.

O conceito do Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) modificou-se desde sua descrição inicial. Em 1989, no *Diagnostic and statistical manual of mental disorders III (DSM-III)*⁽²⁾ esse transtorno foi definido como “autismo infantil” e apontado como um de vários Transtornos

Globais do Desenvolvimento (TGD). Já no DSM-IV⁽³⁾, outros transtornos relacionados foram incluídos na categoria: o transtorno de Rett; o transtorno desintegrativo da infância; o transtorno de Asperger e o transtorno global do desenvolvimento sem outra especificação. Em 2014, o DSM-V⁽⁴⁾ substituiu todos esses diagnósticos por um diagnóstico único, o Transtorno do Espectro do Autismo, e o diagnóstico foi redefinido como um “espectro”, que inclui todos os vários transtornos previamente distinguidos no DSM-IV, com exceção do transtorno de Rett⁽⁴⁾.

Atualmente o TEA engloba transtornos antes chamados de autismo infantil precoce; autismo infantil; autismo de Kanner; autismo de alto funcionamento; autismo atípico; transtorno global do desenvolvimento sem outra especificação; transtorno desintegrativo da infância e transtorno de Asperger⁽⁴⁾.

O indivíduo com o TEA compartilha sintomas centrais no comprometimento de três áreas específicas do neurodesenvolvimento: *deficits* de habilidades sociais; *deficits* de habilidades comunicativas (verbais e não verbais) e presença de comportamentos, interesses e/ou atividades restritos, repetitivos e estereotipados. As manifestações clínicas do TEA apresentam grande heterogeneidade e ocorrem antes dos 36 meses de idade, tornando-se mais perceptivas quando a criança é inserida no contexto social⁽⁴⁻⁵⁾. Normalmente, os pais de crianças com o TEA começam a desconfiar de alguma alteração por volta dos dois anos, quando os familiares percebem que a criança não verbaliza ou não conseguem comunicar-se verbalmente de maneira adequada para a idade. Outro sinal que desperta a atenção dos pais é o fato de a criança não responder ao chamado de seu nome, o que levanta a dúvida da sua capacidade auditiva⁽⁶⁾.

Os sintomas do TEA representam um *continuum* único de prejuízos, com intensidades que vão de leve, a grave, nos domínios de comunicação social e de comportamentos restritos e repetitivos, em vez de constituir transtornos distintos. Manifestações do transtorno também variam em função da gravidade do TEA, do nível de desenvolvimento e da idade cronológica; daí o uso do termo “espectro”⁽⁴⁾. Vale ressaltar que os sintomas podem mudar com o desenvolvimento da pessoa, podendo passar de um espectro para outro.

Os indivíduos com o TEA podem apresentar ou não comprometimento intelectual. Apresentam *deficits* de linguagem, as quais variam de ausência total da fala; passando por atrasos na linguagem; compreensão reduzida da fala; ecolalia (imitação da fala de outra pessoa com repetição da última palavra ou da frase ouvida) até linguagem explicitamente literal ou afetada. Mesmo quando habilidades linguísticas formais, como vocabulário e gramática, estão intactas, como na síndrome de Asperger, o uso da linguagem para comunicação social é prejudicado⁽⁴⁾.

Verifica-se uma heterogeneidade clínica entre as pessoas com esse transtorno, sendo observado características comuns, mas não universais, que incluem *deficits* de atenção, alterações sensoriais e motoras, e comprometimento cognitivo⁽⁷⁾. Tem-se observado, ainda, a presença de distúrbios gastrointestinais e outras reações decorrentes de respostas imunológicas, como alergias e intolerâncias alimentares⁽⁸⁻¹¹⁾. Podem apresentar comorbidades com outros transtornos, incluindo transtorno de hiperatividade e *deficit* de atenção (TDAH); epilepsia; síndrome de Rett; síndrome de Down e síndrome do X frágil^(4,10).

A prevalência de casos do TEA tem aumentado de forma significativa durante as últimas décadas, passando de quatro a cinco casos de autismo infantil por 10.000 nascimentos na década de 60, para cerca de 40 e 60 casos a cada 10.000 no ano de 2009⁽¹²⁾. Entretanto, em estudo desenvolvido com crianças norte-americanas, no ano de 2010, observou-se uma prevalência de um para 68⁽¹³⁾. Nesse estudo, evidenciou-se, ainda, um aumento de 23% quando comparado com estudo anterior, publicado em 2009⁽¹⁴⁾, e de 78%, quando comparado com estudo realizado em 2002⁽¹⁵⁾.

O TEA afeta ambos os sexos, entretanto, é aproximadamente quatro vezes mais comum entre os homens (1 em 42) do que em mulheres (1 em 189)⁽¹³⁾ e a taxa de recorrência entre as crianças com um irmão mais velho com o transtorno foi estimada em 18,7%⁽¹⁶⁾, representando um aumento de 10 vezes em relação à população em geral⁽¹⁷⁾.

Vale ressaltar que a prevalência do TEA não está documentada em muitos países, sendo a maior parte dos estudos provenientes da Europa e dos Estados Unidos. Na América Latina⁽¹⁸⁻²⁰⁾, incluindo o Brasil, ainda não há uma estimativa de prevalência conclusiva⁽²¹⁾.

Muito embora o aumento aparente na prevalência do TEA possa ser devido, em parte, à mudança de práticas diagnósticas e ao aumento da conscientização sobre esse transtorno, dois estudos independentes concluíram que o aumento na incidência do TEA não pode ser explicado em sua totalidade por esses fatores⁽²²⁻²³⁾.

O TEA tem sido considerado um importante problema de saúde pública, com impactos familiares, emocionais e também financeiros. Os gastos públicos com esse transtorno foram estimados, para o ano de 2012, em £ 34 bilhões no Reino Unido; e \$ 3,2 milhões a \$ 126 bilhões nos EUA, Austrália e Canadá⁽²⁴⁾. No Brasil, em estudo realizado em Minas Gerais, foi estimado para o ano de 2007 um gasto médio total *per capita* de aproximadamente R\$ 39 milhões anuais, com indivíduos com autismo infantil de baixo funcionamento (com alto nível de comprometimento), no entanto, o gasto total foi de R\$ 9.707⁽⁶⁾. Nos Estados Unidos, o custo financeiro com os cuidados

em saúde, educação e serviços de cuidador de uma criança com o TEA foi estimado em US \$ 17.000 a mais por ano, quando comparado com uma criança sem o TEA⁽²⁵⁾.

O aumento na prevalência desse transtorno, observado nas últimas décadas, é preocupante e reforça a necessidade de se investigar os seus principais fatores de risco⁽²⁶⁾. Assim, o presente estudo teve como finalidade apresentar uma revisão da literatura a respeito do TEA, sua etiologia, aspectos epigenéticos e mutação de *novo*.

Metodologia

Para o mapeamento dos estudos sobre o papel da mutação de *novo* e da epigenética no TEA, tomou-se como base bibliográfica a base de dados Pubmed, arquivo digital produzido pela *National Library of Medicine* dos Estados Unidos, que se destaca por disponibilizar via *on-line* a produção científica nas diversas áreas, constituindo uma fonte que permite o desenvolvimento de estudos bibliográficos. Portanto, este estudo configura-se metodologicamente como uma pesquisa de revisão bibliográfica.

Foi realizado um estudo preliminar, de natureza exploratória, para a identificação dos descritores a serem utilizados, elegendo os seguintes: “autism, autistic disorder, epigenetics, novo mutation, DNA methylation”.

A partir dos descritores utilizados na busca, foi efetuada a revisão da produção científica sobre o tema proposto. Os documentos que constituem o universo deste estudo foram identificados a partir da ferramenta de busca avançada da base de dados, com a utilização de delimitadores de assunto (os descritores selecionados no rastreamento de descritores).

Foram adotadas para a classificação dos artigos selecionados: idiomas (inglês, espanhol ou português); ano de publicação (produção científica no período entre janeiro de 2000 a março de 2017) e resumos disponíveis *online*. Os estudos que não cumpriam esses critérios foram excluídos desta pesquisa. Em seguida, realizou-se a leitura dos títulos e resumos desses artigos para verificar se contemplavam o eixo temático desta revisão, se os estudos foram realizados com seres humanos, e se eram estudos epidemiológicos ou observacionais. Identificaram-se 398 publicações e após a triagem dos critérios elegíveis, 49 artigos foram incluídos.

Procedeu-se, então, à leitura de todos os estudos incluídos. Nessa etapa, percebeu-se que, embora os títulos e os resumos de alguns artigos tenham feito referência à temática proposta, algumas publicações não avaliaram o fator de interesse e foram, portanto, excluídas do escopo

deste estudo. Finalmente, foram incluídos 21 estudos. Realizou-se um agrupamento dos dados na perspectiva de melhor compreensão dos resultados. As variáveis encontradas nos estudos foram assim agrupadas: etiologia do TEA, mutação *de novo* e o TEA, mecanismos epigenéticos e o TEA.

Resultados e Discussão

Etiologia do TEA

A etiologia do TEA é definida pela interação entre vários genes (poligênica) e fatores ambientais, caracterizando um transtorno de herança multifatorial⁽²⁶⁻³¹⁾. A ampla variabilidade fenotípica do TEA pode refletir a interação entre genes e ambiente, mas também a interação de múltiplos genes dentro do genoma de um indivíduo, e combinações distintas de genes em diferentes indivíduos⁽³¹⁾.

Alguns estudos com gêmeos monozigóticos (MZ) têm mostrado elevada taxa (acima de 90%) de herança genética do TEA⁽³²⁻³³⁾. No entanto, em outros estudos, as estimativas de herança genética sugerem uma contribuição similar de fatores genéticos (50%) e ambientais (50%)^(27, 31-34). Tordjman *et al.*, ao comparar estudos com gêmeos MZ e dizigóticos (DZ), concluíram que a taxa de concordância para gêmeos MZ é maior do que a observada para gêmeos DZ; as taxas de concordância variam de acordo com o diagnóstico e com o subtipo de autismo considerado. Além disso, também demonstraram que a taxa de concordância do TEA em gêmeos MZ é incompleta⁽³¹⁾.

Dessa forma, a baixa herança genética apontada em alguns estudos e a taxa de concordância incompleta em gêmeos MZ, sugerem uma contribuição de fatores ambientais na etiologia do TEA⁽³¹⁾. O papel dos fatores ambientais na determinação do risco do TEA é consistente com a heterogeneidade clínica, que é uma característica marcante desse transtorno, e sugere uma explicação plausível para o aumento exponencial nos casos do TEA nas últimas décadas⁽²⁶⁾. No entanto, os mecanismos pelos quais os fatores ambientais interagem com as suscetibilidades genéticas para conferir risco individual para o TEA ainda são pouco conhecidos⁽²⁶⁾.

Estudos epidemiológicos têm apontado que os fatores ambientais, independentes ou em conjunto com os fatores genéticos, aumentam o risco do TEA. A maioria das evidências tem focado a atenção em fatores parentais, pré-natais, perinatais, obstétricos e pós-natais⁽²⁸⁾. No entanto, é difícil estabelecer se esses fatores de risco ambientais independentes para o TEA estão

envolvidos na relação causa - efeito ou se estão associados com o TEA e resultam de outros fatores que ainda precisam ser identificados⁽³¹⁾.

Paralelamente, estudos moleculares têm destacado o papel da epigenética no desenvolvimento cerebral como um processo susceptível a influências ambientais e potencialmente causadoras do TEA^(10, 26-29) e das mutações *de novo* neste transtorno^(30, 35-36).

Mutação *de novo* e o TEA

Mutação *de novo* são alterações genéticas que modificam a sequência do DNA genômico⁽³⁷⁾. E essas mutações são importantes porque podem gerar diversidade na sequência do DNA e proporcionar uma seleção de grande importância para a evolução⁽³⁸⁾. No entanto, as mutações *de novo* podem estar relacionadas, ainda, com o aparecimento de doenças e ou transtornos como o TEA^(30, 35-36,38).

A taxa de mutação germinativa, especialmente em homens com idade avançada, é maior do que em mulheres^(35-36, 38). Ao contrário da gametogênese feminina, a masculina ocorre continuamente ao longo da vida reprodutiva com um maior número mitoses^(35,39), fator que aumenta a possibilidade de erros de replicação na linhagem germinativa, o que pode aumentar a taxa de mutação *de novo* em espermatozoides^(38,40). Assim, há um aumento na chance da pessoa receber uma mutação deletéria, o que pode levar ao surgimento do TEA⁽³⁸⁾.

Todavia, a taxa de mutações *de novo* pode aumentar com o avanço tanto da idade do pai como da mãe. Nos gametas masculinos, as mutações se acumulam linearmente com o avançar da idade^(35, 38, 40), e, nos gametas femininos, as mutações também se acumulam, porém de forma não linear, acelerada com a idade e com uma taxa mais baixa⁽⁴⁰⁾.

Para Byars & Boomsma⁽³⁵⁾ uma ligação do genótipo-fenótipo entre as mutações e o TEA não se explica pelo fato de as mutações se acumularem linearmente no espermatozoide com o aumento da idade. O aumento da chance, também, não pode ser explicado apenas por um acúmulo de mutações pontuais ou outras alterações genômicas dos pais⁽⁴¹⁻⁴²⁾. Entretanto, não se pode descartar a possibilidade de que alterações genômicas espontâneas possam ter importância em combinação com outros fatores⁽⁴¹⁾.

No entanto, é diferente de sugerir que o aumento da taxa de mutações *de novo* associados com o aumento da idade paterna é um fator causal na patogênese do TEA. As mutações podem ocorrer de forma aleatória ao longo de todo o genoma e, para atuar na patogênese do TEA,

presumivelmente, as mutações teria de ocorrer em genes específicos em localizações específicas⁽³⁶⁾.

Mecanismos Epigenéticos e o TEA

O termo epigenética pode ser definido pela mudança na expressão gênica, sem que haja alteração nos nucleotídeos ^(10, 28, 31, 43). As modificações epigenéticas tais como metilação do DNA, modificações da proteína das histonas e microRNAs funcionam regulando o potencial transcricional de uma célula sem alterar a sequência do DNA⁽²⁶⁾ modulando o fenótipo e as expressões dos genes⁽³⁷⁾. Assim, a epigenética explica os efeitos dos fatores ambientais sobre a expressão do gene ^(10, 31) e, ao contrário das mutações *de novo*, os padrões epigenéticos podem ser interrompidos ou silenciados por diversos fatores ambientais e/ou endógenos ^(39, 44).

Os mecanismos epigenéticos são hereditários, altamente complexos, estavelmente mantidos após exposições ambientais⁽²⁸⁾. São estabelecidos durante o desenvolvimento fetal e a maioria deles será mantido ao longo da vida. Mas as modificações epigenéticas estabelecidas nos órgãos podem ser alteradas após o nascimento se o ambiente externo e/ou interno for alterado⁽⁴⁵⁾, sendo que pequenas falhas no estabelecimento ou manutenção desses podem alterar a fisiologia normal da célula e desencadear o desenvolvimento de doenças, tais como o TEA⁽¹⁰⁾. Além de proporcionar uma interface importante entre os fatores de risco genético e ambiental nesse transtorno⁽²⁸⁾.

A metilação do DNA, uma das modificações epigenéticas mais estudadas no desenvolvimento de doenças e transtornos como o TEA⁽²⁶⁾, pode ser influenciada por fatores ambientais, tais como dieta, hormônios, estresse, drogas ou exposição a substâncias químicas ambientais, o que pode contribuir para desfechos neurológicos, especialmente durante os estágios de desenvolvimento; quando os padrões epigenéticos estão sendo estabelecidos⁽²⁶⁾. Assim, é provável que eventos ambientais indesejáveis durante a gravidez possam induzir modificações estáveis e, a longo prazo, em padrões epigenéticos^(26, 29), o que pode durar até a idade adulta⁽²⁹⁾ e determinar o risco e a gravidade do TEA⁽²⁶⁾.

As modificações epigenéticas ocorrem em dois períodos críticos, na formação das células sexuais e no desenvolvimento do embrião⁽⁴⁶⁾. Os gametas femininos são relativamente quiescentes⁽⁴⁰⁾ o que pode implicar maior exposição cumulativa nessas células quando comparadas aos gametas masculinas. Mudanças ambientais podem causar alterações nas modificações epigenéticas durante a oogênese⁽⁴⁴⁾.

De acordo com Markunas *et al.*⁽⁴⁷⁾, o avanço da idade materna pode produzir mudanças duradouras nas características epigenéticas do DNA, o que pode influenciar a saúde da prole. Além disso, um ambiente alterado no útero pode afetar o restabelecimento de marcas de metilação do DNA, o que pode explicar a associação significativa entre a idade materna avançada e a metilação do DNA alterada.

Vale ressaltar que os fatores ambientais contribuem para determinar o risco individual e/ou a gravidade do TEA. A exposição a produtos químicos ambientais podem alterar a metilação do DNA em múltiplos tecidos, incluindo o cérebro. Além disso, mudanças na metilação do DNA foram documentadas em indivíduos com o TEA e implicadas na patogênese desse transtorno⁽²⁶⁾.

Conclusão

O TEA é caracterizado como um transtorno de herança multifatorial em que fatores ambientais, independentes ou em conjunto com os fatores genéticos, aumentam o risco desse transtorno. Além disso, estudos moleculares têm destacado o papel das mutações *de novo* e da epigenética no desenvolvimento do TEA. As taxas de mutações *de novo* em homens, especialmente os homens mais velhos, é geralmente maior do que nas mulheres, principalmente porque nos homens há mais divisões de células germinativas e as modificações epigenéticas ocorrem em maior número nos gametas femininos, em especial das mulheres mais velhas, devido a maior exposição cumulativa nessas células quando comparadas às masculinas.

Considerando que os fatores ambientais podem modificar a expressão dos genes e o papel dos mecanismos epigenéticos no desenvolvimento do TEA, e o fato deles serem mais facilmente controlados do que os fatores genéticos, ações que envolvem uma abordagem multidisciplinar em saúde, incluindo a participação do médico, do enfermeiro do psicólogo e do fonoaudiólogo, podem abrir novas perspectivas para um melhor entendimento, prevenção e intervenção precoce do TEA.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig) pelo financiamento da pesquisa. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes). À Universidade Estadual de Montes Claros

(Unimontes). Aos estudantes de iniciação científica e aos demais membros do grupo de pesquisa TEA_COMVIVER.

Referências

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Diretrizes de Atenção à Reabilitação da Pessoa com Transtornos do Espectro do Autismo (TEA). Brasília: Ministério da Saúde, 2014: [online] 88. Disponível em:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_atencao_reabilitacao_pessoa_autismo.pdf
2. American Psychiatric Association. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-III- R. São Paulo: Manole; 1989.
3. American Psychiatric Association. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-IV. São Paulo: Manole; 1994.
4. American Psychiatric Association. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-V. Porto Alegre: Artmed; 2014. p. 50-59.
5. World Health Organization. The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders. Geneva; 1992.
6. Junior WC. Custo familiar com autismo infantil. Belo Horizonte: Instituto de Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais; 2010.
7. Voineagu I, Eapen V. Converging Pathways in Autism Spectrum Disorders: Interplay between Synaptic Dysfunction and Immune Responses. *Frontiers in human neuroscience*. 2013;7:738.
8. Aldinger KA, Lane CJ, Veenstra-VanderWJ, Levitt P. Patterns of Risk for Multiple Co-Occurring Medical Conditions Replicate Across Distinct Cohorts of Children with Autism Spectrum Disorder. *Autism research: official journal of the International Society for Autism Research*. 2015;8(6):771-81.

9. Gorrindo P, Williams KC, Lee EB, Walker LS, McGrew SG, Levitt P. Gastrointestinal dysfunction in autism: parental report, clinical evaluation, and associated factors. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*. 2012;5(2):101-8.
10. Loke YJ, Hannan AJ, Craig JM. The Role of Epigenetic Change in Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in neurology* 2015;6:107.
11. Zerbo O, Leong A, Barcellos L, Bernal P, Fireman B, Croen LA. Immune mediated conditions in autism spectrum disorders. *Brain, behavior, and immunity*. 2015;46:232-6.
12. Fombonne E. Epidemiology of pervasive developmental disorders. *Pediatric research* 2009;65:591-8.
13. Centers for Disease Control And Prevention. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2010. Atlanta, GA: *MMWR Surveill Summ*; 2014. p1-21.
14. Centers for Disease Control And Prevention. Prevalence of autism spectrum disorders—Autism and Developmental Disabilities Monitoring network, United States, 2006. Atlanta, GA: *MMWR Surveill Summ*; 2009. p. 1–20.
15. Centers for Disease Control And Prevention. Prevalence of autism spectrum disorders - autism and developmental disabilities monitoring network, 14 sites, United States, 2002. Washington D.C: *MMWR Surveill Summ*; 2007. p. 12-28.
16. Ozonoff S, Young GS, Carter A, Messinger D, Yirmiya N, Zwaigenbaum L, *et al.* Recurrence Risk for Autism Spectrum Disorders: A Baby Siblings Research Consortium Study. *Pediatrics*. 2011.
17. Feinberg JI, Bakulski KM, Jaffe AE, Tryggvadottir R, Brown SC, Goldman LR, *et al.* Paternal sperm DNA methylation associated with early signs of autism risk in an autism-enriched cohort. *International journal of epidemiology*. 2015;44(4):1199-210.
18. Lejarraga H, Menendez AM, Menzano E, Guerra L, Biancato S, Pianelli P, *et al.* Screening for developmental problems at primary care level: a field programme in San Isidro, Argentina. *Paediatric and perinatal epidemiology*. 2008;22(2):180-7.

19. Montiel-Nava C, Pena JA. Epidemiological findings of pervasive developmental disorders in a Venezuelan study. *Autism : the international journal of research and practice*. 2008;12(2):191-202.
20. Van Balkom ID, Bresnahan M, Vogtlander MF, van Hoeken D, Minderaa RB, Susser E, *et al.* Prevalence of treated autism spectrum disorders in Aruba. *Journal of neurodevelopmental disorders*. 2009;1(3):197-204.
21. Paula CS, Ribeiro SH, Fombonne E, Mercadante MT. Brief report: prevalence of pervasive developmental disorder in Brazil: a pilot study. *Journal of autism and developmental disorders*. 2011;41(12):1738-42.
22. Grether JK, Rosen NJ, Smith KS, Croen LA. Investigation of shifts in autism reporting in the California Department of Developmental Services. *Journal of autism and developmental disorders*. 2009;39(10):1412-9.
23. Hertz-Picciotto I, Delwiche L. The rise in autism and the role of age at diagnosis. *Epidemiology*. 2009;20(1):84-90.
24. Crafa D, Warfa N. Maternal migration and autism risk: systematic analysis. *International review of psychiatry*. 2015;27(1):64-71.
25. Lavelle TA, Weinstein MC, Newhouse JP, Munir K, Kuhlthau KA, Prosser LA. Economic Burden of Childhood Autism Spectrum Disorders. *Pediatrics*. 2014.
26. Keil KP, Lein PJ. DNA methylation: a mechanism linking environmental chemical exposures to risk of autism spectrum disorders?. *Environmental epigenetics*. 2016;2.
27. Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, *et al.* Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Archives of general psychiatry* 2011;68:1095-102.
28. LaSalle JM. Epigenomic strategies at the interface of genetic and environmental risk factors for autism. *Journal of human genetics*. 2013;58(7):396-401.
29. Nardone S, Elliott E. The Interaction between the Immune System and Epigenetics in the Etiology of Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in neuroscience*. 2016;10:329.

30. Sanders SJ, Murtha MT, Gupta AR, *et al.* De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature* 2012;485:237-41.
31. Tordjman S, Somogyi E, Coulon N, *et al.* Gene x Environment interactions in autism spectrum disorders: role of epigenetic mechanisms. *Frontiers in psychiatry* 2014;5:53.
32. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, *et al.* Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychological medicine* 1995;25:63-77.
33. Nordenbaek C, Jorgensen M, Kyvik KO, Bilenberg N. A Danish population-based twin study on autism spectrum disorders. *European child & adolescent psychiatry* 2014;23:35-43.
34. Colvert E, Tick B, McEwen F, Stewart C, Curran SR, Woodhouse E, *et al.* Heritability of Autism Spectrum Disorder in a UK Population-Based Twin Sample. *JAMA psychiatry*. 2015;72(5):415-23.
35. Byars SG, Boomsma JJ. Opposite differential risks for autism and schizophrenia based on maternal age, paternal age, and parental age differences. *Evolution, medicine, and public health* 2016;286-98.
36. Geier DA, Kern JK, Sykes LK, Geier MR. Examining genotypic variation in autism spectrum disorder and its relationship to parental age and phenotype. *The application of clinical genetics* 2016;9:121-9.
37. Tsang SY, Ahmad T, Mat FW, Zhao C, Xiao S, Xia K, Xue H. Variation of global DNA methylation levels with age and in autistic children. *Hum Genomics*. 2016;10(1):31.
38. Kong A, Frigge ML, Masson G, *et al.* Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature* 2012;488:471-5.
39. Sharma R, Agarwal A, Rohra VK, Assidi M, Abu-Elmagd M, Turki RF. Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* 2015;13:35.
40. Wong WS, Solomon BD, Bodian DL, *et al.* New observations on maternal age effect on germline de novo mutations. *Nature communications* 2016;7:10486.

41. Parner ET, Baron-Cohen S, Lauritsen MB, *et al.* Parental age and autism spectrum disorders. *Annals of epidemiology* 2012;22:143-50.
42. Sandin S, Hultman CM, Klevzon A, Gross R, MacCabe JH, Reichenberg A. Advancing maternal age is associated with increasing risk for autism: a review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 2012;51:477-86.
43. Flanagan JM, Pependikyte V, Pozdniakovaite N, Sobolev M, Assadzadeh A, Schumacher A, *et al.* Intra- and interindividual epigenetic variation in human germ cells. *American journal of human genetics*. 2006;79(1):67-84.
44. Ge ZJ, Schatten H, Zhang CL, Sun QY. Oocyte ageing and epigenetics. *Reproduction* 2015;149:R103-14.
45. Liu L, Van Groen T, Kadish I, Li Y, Wang D, James SR, *et al.* Insufficient DNA methylation affects healthy aging and promotes age-related health problems. *Clin Epigenetics*. 2011;2(2):349-60.
46. Reik W, Dean W. DNA methylation and mammalian epigenetics. *Electrophoresis*, 2001;22:2838-2843.
47. Markunas CA, Wilcox AJ, Xu Z, Joubert BR, Harlid S, Panduri V, *et al.* Maternal Age at Delivery Is Associated with an Epigenetic Signature in Both Newborns and Adults. *PloS one* 2016;11(7).