

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Estudio de la influencia e interacción del riesgo poligénico y factores ambientales en la gravedad y tipología de pacientes con Trastorno del Espectro Autista

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Alicia García Alcón

Directores

María José Parellada Redondo
Celso Arango López
Javier González
Juan Lorenzo Arrazola García

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Estudio de la influencia e interacción del riesgo poligénico y factores ambientales en la gravedad y tipología de pacientes con Trastorno del Espectro Autista

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Alicia García Alcón

Directores:

María José Parellada Redondo

Celso Arango López

Javier González Peñas

A mis mayores maestros, las familias de AMI-TEA:

Siempre dispuestas a colaborar, aportar y compartir.

Agradecimientos

Gracias a todos mis compañeros que forman parte del Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente del Hospital General Universitario del Gregorio Marañón, que día a día hacen malabares para integrar su dedicación asistencial y trato humano con su apoyo a la investigación, y con los que ha sido un placer colaborar en los proyectos que han permitido esta investigación. Es especial, gracias a los enfermeros José Romo y Cristina Vicente, capaces de hacer magia a mi parecer, increíbles humanos y excelentes enfermeros.

No tengo palabras suficientes con las que agradecer a las familias y a los niños, adolescentes y adultos de AMITEA su disposición y colaboración en el estudio, siempre con amabilidad, dispuestos a encajar en sus agendas un hueco para cedernos y contarnos sus historias de vida, para con ello permitir a la Comunidad Científica avanzar en el conocimiento de los Trastornos del Espectro Autista.

Quiero agradecer especialmente su apoyo a la Dra. Mara Parellada, que desde el primer día confió en mí, hasta el punto de creer en mi capacidad incluso en los momentos más bajos en los que ni yo la percibía. Fiel guía de este trabajo, grandísima investigadora y mejor persona. Gracias por su empuje, por sus críticas siempre constructivas y revisiones.

Gracias al Dr. Javier González Peñas por introducirme en el apasionante y complejo mundo de la genética, por iniciarme y guiarme en este aprendizaje, siempre dispuesto a mejorar mi trabajo con sus conocimientos y su incansable paciencia para explicarme los conceptos que se escapaban a mi entendimiento.

Gracias al Dr. Celso Arango por haberme dado la oportunidad de crecer personal y profesionalmente en este grupo, que con ilusión y esfuerzo crece cada día.

Gracias a la Dra. Jessica Merchán y a la Dra. Covadonga Díaz-Caneja por su perpetuo apoyo, consejo y confianza en mi trabajo. Gracias por tantos momentos de conversación, de los que he podido aprender tanto para mi trabajo como para mi crecimiento personal.

Ha sido un enorme placer trabajar junto a todos los compañeros que durante estos 8 años han pasado por el equipo de investigación del Servicio de psiquiatría del Niño y del adolescente del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Eterno agradecimiento a mis padres, que siempre me han apoyado en el desarrollo de todos mis proyectos, que siempre han creído en mí y me han dado alas para crecer en la dirección que yo he ido decidiendo. No puedo estar más orgullosa de ser hija suya.

Quería agradecer también a mi amiga y confidente Sonia. Gracias por acompañarme, por guiarme, y haberme ayudado tanto en este proceso agridulce. Simplemente gracias por haber estado siempre presente, dispuesta a escuchar y a sobre-analizar conmigo cualquier preocupación hasta que por puro cansancio se volviese pequeña. Por supuesto, gracias al resto de mis amigos y a mi pareja, que han sabido cuándo preguntarme y cuándo disimular y distraerme con otros temas, siempre animándome en el proceso.

A todas las personas que han hecho posible la realización de este trabajo, gracias.

Financiación

Este trabajo de Tesis Doctoral ha recibido financiación de las siguientes entidades:

Fondo de Investigación Sanitaria, Instituto de Salud Carlos Economía y Competitividad

- PI14/02103. Estudio de genotipos diferenciales asociados a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastornos del Espectro Autista.
- FIS PI17/00819. Biotipos en Trastornos del Espectro Autista: relación con evolución clínica y respuesta a fármacos.

Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. PROGRAMA ESTATAL DE PROMOCIÓN DEL TALENTO Y SU EMPLEABILIDAD.

- 2016/01740. Subprograma de Formación de Profesorado Universitario (FPU) (2017-2021)

Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IISGM). Red en Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM).

Índice

Abreviaturas	12
Resumen	15
English Summary	18
Introducción	21
Historia y origen de los TEA	22
Clasificaciones diagnósticas.....	25
Categorización según las habilidades cognitivas y del lenguaje.....	28
Categorización según afecciones genéticas y médicas.....	29
Categorización adicional según sus comorbilidades	30
Características clínicas del autismo	32
Cambios en la prevalencia del autismo en las últimas décadas.....	35
Bases biológicas del autismo	38
Etiología multifactorial	38
Factores genéticos en el autismo	45
Factores ambientales en el autismo, con especial énfasis en características parentales y condiciones del periodo del embarazo.....	52
La relación entre factores biológicos o predisponentes y la caracterización y gravedad clínica	55
Objetivos.....	62
Hipótesis	64
Métodos.....	65
Aspectos generales de la metodología común a los tres estudios.....	65
Aspectos concretos de la metodología de cada estudio	74
Estudio 1. Análisis exploratorio de los rasgos autistas de los padres, la edad de concepción y el riesgo poligénico en los Trastornos del Espectro Autista.	74
Estudio 2. El estrés materno durante el embarazo como predictor de la sintomatología restringida, repetitiva y estereotipada en los hijos con Trastornos del Espectro Autista.	78
Estudio 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.	80
Resultados de los tres estudios	85

Estudio 1. Análisis exploratorio de los rasgos autistas de los padres, la edad de concepción y el riesgo poligénico en los Trastornos del Espectro Autista.	85
Estudio 2. El estrés materno durante el embarazo como predictor de la sintomatología restringida, repetitiva y estereotipada en los hijos con Trastornos del Espectro Autista.	91
Estudio 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.	98
Discusión.....	107
Hallazgos principales	107
Características parentales: rasgos TEA en los padres y edad de concepción.....	109
Periodo prenatal: el estrés materno durante el embarazo.....	111
Periodo perinatal: la exposición a oxitocina en el parto	113
Limitaciones.....	118
Fortalezas e investigaciones futuras.....	120
Conclusiones	122
Referencias bibliográficas.....	124
Anexos	158
Anexo 1. Consentimiento Informado estudio “Bases genéticas del autismo y esquizofrenia.”	159
Anexo 2. Consentimiento Informado estudio “Estudio de genotipos diferenciales asociados a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastornos del Espectro Autista.”	167
Anexo 3. Cuaderno de recogida de datos obstétrico	180
Anexo 4. Tabla suplementaria 1.1	194
Anexo 5. Tabla suplementaria 3.2	195
Anexo 6. Tabla suplementaria 3.3	196
Anexo 7. Tabla suplementaria 3.4	197
Anexo 8. Tabla suplementaria 3.5	198
Anexo 9. Tabla suplementaria 3.6	200
Anexo 10. Publicación Estudio 1.....	201
Anexo 11. Publicación Estudio 3.....	202

Abreviaturas

AACAP: Academia Americana de Psiquiatría del Niño y del Adolescente

ADDM: Red de Monitoreo de Autismo y Discapacidades del Desarrollo

ADI-R: Entrevista Diagnóstica del Autismo, Revisada

ADOS: Instrumento de observación de sintomatología autista; Autism Diagnostic Observation Schedule (Generic y 2)

AQ: Cociente de Espectro Autista

APA: edad parental avanzada (advanced parental age)

APA: Asociación Estadounidense de Psiquiatría / American Psychiatric Association

ANOVA: análisis de la varianza

AS: Asperger Syndrome

ASC: Autism Sequencing Consortium

ASD: Autism Spectrum Disorders

AUT: Trastorno Autista

CDC: Centro de Control y Prevención de Enfermedades

CI: cociente intelectual

CIE: La clasificación internacional de enfermedades (9, 10, 11)

CNV(s): Variación(es) en el número de copias

CSS: ADOS Calibrated Severity Score

DE: desviación estandar

DI: discapacidad intelectual

DnPTV: variación rara *de novo* que trunca la estructura de proteínas (*de novo* protein-truncating variants)

DSM: Manual Diagnóstico y Estadístico de la Asociación Americana de Psiquiatría; Diagnostic and Statistical Manual (hay varias ediciones: I, II, III, III-R, IV, IV-TR y 5)

EA: nivel educativo

EE. UU.: Estados Unidos

ELEAT: The Early Life Exposures Assessment Tool

FDR: tasa de falsos descubrimientos

FIS: Fondo de Investigación Sanitaria

GATK: Genome Analysis Toolkit

GSEA: Gene Set Enrichment Analysis

GWAS: Estudio de asociación de genoma completo

JADD: Autism and Developmental Disorders

K-BIT: Kaufman Brief Intelligence Test

MAF: frecuencia alélica menor

MDD: Depresión Mayor (major depressive disorder)

MDS: multi-dimensional scaling

MHC: complejo mayor de histocompatibilidad

MIA: Maternal Inmune Activation

MPC: puntuación patogénica de missense

NDD: trastornos del neurodesarrollo (neurodevelopmental disorders)

NGS: secuenciación del genoma de última generación (next generation sequencing)

NMDA: ácido N-metil-D-aspartato

OMS: Organización Mundial de la Salud

OXT: oxitocina

OXTR: variación genética del gen receptor de oxitocina (oxytocin receptor gene)

PET: tomografía por emisión de positrones

PPI: interacciones proteína-proteína

PRS: Puntuaciones de Riesgo Poligénico (*polygenic risk scores*)

PRScmb: PRS combinada

RPSM: Revista de Psiquiatría y Salud Mental

RR: riesgo relativo

RRS: sintomatología repetitiva, restrictiva y estereotipada (restricted, repetitive and stereotype behavior)

pTDT: puntuaciones de transmisión poligénica

ROKM: lecturas por kilobase por millón de lecturas mapeadas (Reads Per Kilobase of transcript, per Million mapped reads)

SA: Síndrome de Asperger

SNC: Sistema nervioso central

SNPs: Polimorfismos de nucleótido único (single nucleotide polymorphism)

SNVs: Variantes de un solo nucleótido (single-nucleotide variant)

SRRS: cuestionario Social Readjustment Rating Scale

TCS: Trastorno de comunicación social (pragmática)

TDAH: Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad

TEA: Trastorno del Espectro Autista

TGD-NE: Trastorno Generalizado del Desarrollo no especificado

TOC: Trastorno Obsesivo Compulsivo

VPA: ácido valproico

VQSR: Recalibración de la Puntuación de Calidad de las Variantes

Resumen

Introducción: Los Trastornos del Espectro Autista (TEA), según las estimaciones más recientes, presentan una prevalencia que se sitúa en valores superiores al 1%. Conforman un conjunto de trastornos del neurodesarrollo con etiología multifactorial, donde, desde el punto de vista genético se combina el riesgo derivado de variantes comunes con el riesgo asociado a variantes raras presentes en una minoría sustancial de casos. En los últimos años se ha avanzado en la investigación sobre los distintos mecanismos etiológicos, principalmente en el área de las posibles bases genéticas subyacentes. Otra de las ramas de investigación se ha centrado en la posible presencia de factores ambientales de riesgo o predisposición para el desarrollo de TEA relacionados con características parentales y condiciones obstétricas, ya anteriormente asociadas con otros trastornos neurológicos y psiquiátricos. Es un campo de estudio de gran actualidad el ahondar en la interacción de los factores ambientales con el riesgo genético en la aparición y tipo de sintomatología autista.

A nivel clínico, los TEA están caracterizados por déficits sociales y comunicativos, así como la presencia de comportamientos, intereses o actividades estereotipadas y repetitivas. Al ser aun escasos los conocimientos sobre las bases biológicas, es en dichas características clínicas en las que se apoyan los criterios diagnósticos en la actualidad.

Esta tesis doctoral se subdivide en tres estudios independientes pero relacionados entre sí: 1) Rasgos autistas de los padres, edad de concepción y riesgo poligénico en los trastornos del espectro autista, 2) El estrés materno durante el embarazo como predictor de la sintomatología restringida, repetitiva y estereotipada en los hijos con Trastornos del Espectro Autista, 3) La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

El objetivo general es estudiar la influencia y posible interacción entre la carga genética y la carga de factores ambientales sobre el nivel de gravedad de los síntomas TEA, y la presencia y gravedad de otras condiciones asociadas al trastorno tales como discapacidad intelectual, alteraciones del lenguaje asociadas, regresión evolutiva, o diagnóstico de epilepsia, entre otros.

Métodos: Los participantes incluidos en los 3 estudios pertenecen a dos proyectos más amplios, financiados por el Instituto de Salud Carlos III (PI14/02103 y PI17/00819). Se reclutaron 169 pacientes con TEA y se caracterizaron clínicamente. Una submuestra de 147 pacientes se caracterizó genéticamente con exoma de tríos y en otra submuestra de 116 individuos se evaluaron variables de estrés durante el embarazo y parto. En el primer estudio, se analizó i) si los rasgos autistas en los padres, evaluados con el Cociente de Espectro Autista (AQ), se correlacionan con la edad parental avanzada (APA), ii) si el AQ correlacionaba con la vulnerabilidad poligénica calculada por las Puntuaciones de Riesgo Poligénico (PRS) y iii) si los rasgos autistas, APA y/o riesgo poligénico se relacionaban con algún tipo específico de autismo. En el segundo estudio se analizó si el estrés materno durante el embarazo podía ser un predictor de la gravedad de la sintomatología repetitiva, restrictiva y estereotipada (RRS). En el tercer estudio se analizó la asociación entre el uso de oxitocina durante el parto, la susceptibilidad genética y el retraso general del desarrollo de los pacientes.

Resultados: En relación a las características parentales, encontramos una relación estadísticamente significativa entre AQ y APA. La correlación fue significativa sólo en las madres y en el subgrupo de progenitores con hijos con Síndrome de Asperger (SA). Además, hubo una asociación significativa entre el PRS y el AQ en las madres de los participantes con SA. En relación al periodo prenatal, encontramos que el estrés materno durante el embarazo se relacionó positivamente con la gravedad de las conductas estereotipadas. Las complicaciones obstétricas prenatales se relacionaron significativamente con ambas variables (estrés materno y conductas repetitivas en el niño), y concretamente la presencia de

infecciones durante el embarazo con la sintomatología RRS. En relación al periodo perinatal, encontramos que la exposición a la oxitocina se asoció a una mayor frecuencia de complicaciones obstétricas, a la aparición temprana de síntomas de TEA y a un peor desarrollo cognitivo. El riesgo poligénico para los TEA y para el trastorno por déficit de atención/hiperactividad se transmitió significativamente a los individuos con TEA no expuestos a la oxitocina. Encontramos además un enriquecimiento significativo de la carga de mutaciones en genes del neurodesarrollo en los individuos expuestos a la oxitocina en relación con los no expuestos.

Conclusiones: Estos resultados muestran que, en esta muestra, las madres de mayor edad presentan más rasgos autistas. Independientemente del género de los padres, la edad avanzada de éstos parece relacionarse con el perfil clínico de Síndrome de Asperger. Además, el PRS predijo significativamente el AQ materno, pero no el paterno, de los sujetos con AS. En consecuencia, una mayor contribución poligénica materna (tanto por los análisis de AQ como de PRS) parece contribuir a un perfil Asperger en los hijos. En segundo lugar, concluimos que un mayor estrés materno durante el embarazo parece ser un predictor, en combinación con un mayor número de complicaciones obstétricas prenatales, de una mayor gravedad de las conductas estereotipadas en la descendencia, no pudiendo en este momento inferir la dirección y los mecanismos de la relación entre el estrés materno y la sintomatología de los TEA. Por último, nuestros hallazgos apoyan la hipótesis de que el uso de oxitocina durante el parto constituye un indicador de neurodesarrollo patológico más que un factor de riesgo para los TEA, apuntando a un subtipo de TEA con una grave alteración del neurodesarrollo de inicio prenatal y un peor desarrollo cognitivo.

Los distintos factores ambientales estudiados tienen un efecto diferencial sobre la sintomatología de desarrollo e interaccionan con factores de riesgo genético para impactar sobre la gravedad de los síntomas autistas y de desarrollo global.

English Summary

Introduction: Autism Spectrum Disorders (ASD), according to the most recent estimates, have a prevalence of over 1%. They are a group of neurodevelopmental disorders with a multifactorial aetiology, where, from a genetic point of view, the risk derived from common variants is combined with the risk associated with rare variants present in a substantial minority of cases. In recent years, research into the various aetiological mechanisms has progressed, mainly in the area of possible underlying genetic bases. Another branch of research has focused on the possible presence of environmental risk factors or predisposing factors for the development of ASD related to parental characteristics and obstetric conditions, previously associated with other neurological and psychiatric disorders. The interaction of environmental factors with genetic risk in the appearance and type of autistic symptomatology is a very topical field of study.

At the clinical level, ASD is characterised by social and communicative deficits, as well as the presence of stereotyped and repetitive behaviours, interests or activities. As knowledge about the biological basis is still scarce, it is on these clinical characteristics that diagnostic criteria are currently based.

This doctoral thesis is subdivided into three independent but related studies: 1) Parental autism traits, age at conception and polygenic background in Autism Spectrum Disorders (ASD), 2) Maternal stress during pregnancy as a predictor of restricted, repetitive and stereotypic symptomatology in ASD offspring, 3) Oxytocin exposure in labor and its relationship with cognitive impairment and the genetic architecture of autism. The overall objective is to study the influence and possible interaction between genetic load and the load of environmental factors on the level of severity of ASD symptoms, and the presence and severity of other conditions associated with the disorder such as intellectual disability, associated language impairment, developmental regression, or diagnosis of epilepsy, among others.

Methods: Participants included in the three studies belong to two larger projects, funded by the Instituto de Salud Carlos III (PI14/02103 and PI17/00819). 169 patients with ASD were recruited and clinically characterized. A subsample of 83 patients (and their parents) was genetically characterized with exome-sequencing and another subsample of 116 individuals was assessed for prenatal and birth- associated stress variables. In the first study, we analyzed i) whether autistic traits in parents, as assessed by the Autism Spectrum Quotient (AQ), correlate with advanced parental age (APA), and ii) whether AQ correlated with polygenic vulnerability calculated by Polygenic Risk Scores (PRS). The second study examined whether maternal stress during pregnancy could be a predictor of the severity of repetitive, restrictive and stereotyped symptomatology (RRS). In the third study, we analysed the association between oxytocin use during delivery, genetic susceptibility and general developmental delay in the patients.

Results: In relation to parental characteristics, we found a statistically significant relationship between AQ and APA. The correlation was significant only for mothers and in the Asperger Syndrome (AS) subgroup. In addition, there was a significant association between PRS and AQ in mothers of participants with AS. In relation to the prenatal period, we found that maternal stress during pregnancy was positively related to the severity of stereotypic behaviours. Prenatal obstetric complications were significantly related to both variables (maternal stress and repetitive behaviors in the child), and specifically infections during pregnancy with RRS symptomatology. In relation to the perinatal period, we found that oxytocin exposure was associated with a higher frequency of obstetric complications, early onset of ASD symptoms and poorer cognitive development. Polygenic risk for ASD and attention-deficit/hyperactivity disorder was significantly transmitted to individuals with ASD not exposed to oxytocin. We found, furthermore a significant enrichment of mutation load in neurodevelopmental genes in oxytocin-exposed individuals relative to non-exposed individuals.

Conclusions: These results show that, in this sample, older mothers present more autistic traits. Regardless of parental gender, parental age seems to be related to the Asperger Syndrome clinical profile. In addition, PRS significantly predicted maternal, but not paternal AQ of AS subjects. Consequently, a higher maternal polygenic contribution (by both AQ and PRS analyses) seems to contribute to an Asperger profile in the offspring. Second, we conclude that greater maternal stress during pregnancy appears to be a predictor, in combination with a higher number of obstetric complications during delivery, of greater severity of repetitive and stereotypic behaviours in offspring. At this stage it is not possible to infer the direction and mechanisms of the relationship between maternal stress and ASD symptomatology. Finally, our findings support the hypothesis that oxytocin use during delivery constitutes a risk indicator rather than a risk factor for ASD, pointing to a subtype of ASD with prenatal-onset severe neurodevelopmental impairment and worse cognitive development.

The different environmental factors studied have a differential effect on developmental symptomatology and interact with genetic risk factors to impact on the severity of autistic and global developmental symptoms.

Introducción

El comportamiento de los seres humanos está principalmente determinado por sus emociones. Aunque indudablemente otros factores afectan, las emociones son las que permiten al individuo integrarse en la sociedad a la cual pertenece y conducirse adecuadamente dentro de la misma. Cuando se posee conciencia sobre los propios sentimientos y las emociones, se puede reconocer lo mismo en los demás y así actuar en las relaciones sociales de manera empática (Izard, 2009).

Así mismo, las personas que son capaces de conocer y manejar sus emociones y pueden interpretar eficazmente las de los demás, cuentan con una gran ventaja para relacionarse con los otros y enfrentarse al mundo. Además, tienen mejores oportunidades de éxito laboral y mayores probabilidades de sentirse satisfechas con ellas mismas. Afortunadamente, los errores en las habilidades emocionales, pueden ser mejorados y subsanados, ya que el cerebro es flexible y constantemente aprende (Dueñas Buey, 2002).

El proceso de socialización que se inicia en los primeros años de escuela brinda la oportunidad al niño de adquirir destrezas sociales y le proporciona el ambiente necesario para lograr la madurez emocional necesaria para su desarrollo futuro. Sin embargo, no todos los niños poseen las mismas condiciones psicológicas y cognitivas para relacionarse con sus iguales y enfrentar las situaciones que se le presentan en el día a día del proceso de aprendizaje. Tal es el caso de las personas con Trastorno del Espectro Autista (TEA), quienes presentan una alteración en la manera de relacionarse socialmente y en la forma de comunicarse (Arias Vanegas, 2013).

Adicionalmente, el individuo con autismo presenta déficit desde momentos tempranos de la infancia en cuanto a la forma de percibir las emociones, de ahí la importancia de que se detecte y diagnostique acertadamente a temprana edad, para poder intervenir en la escuela (y demás entornos relacionales) para ayudarle a desenvolverse en su grupo social. Favorecer en los niños con autismo la comprensión de

sus emociones, sentimientos y deseos, mejorará su integración social, el desarrollo de habilidades y alejarle del aislamiento en el que a veces se ve abocado a vivir (Maseda Prats, 2013).

Dada la multifactorialidad y heterogeneidad tanto fenotípica como biológica de los TEA, el grado de afectación y necesidad de apoyo de estos sujetos puede ser muy diverso. Identificar y desglosar el espectro que componen, tomando en cuenta como objetivo general estudiar la influencia y posible interacción entre factores biológicos y ambientales sobre el nivel de gravedad de los síntomas TEA, y la presencia y gravedad de otras condiciones asociadas al trastorno, se vuelve fundamental para informar sobre el pronóstico, la estratificación y las decisiones de tratamiento (Gibbs, 2012; Kinney, 2008) y es el objetivo general de este trabajo de tesis.

Historia y origen de los TEA

El vocablo autismo deriva del griego aut(o) que quiere decir actuar sobre uno mismo y el sufijo, ismo significa proceso patológico. Siendo empleado este término por primera vez en 1908 como síntoma en procesos psicopatológicos en psicosis, no fue hasta 1943 cuando un psiquiatra austríaco de origen judío llamado Leo Kanner, publicó en Estados Unidos un artículo en donde describía este concepto como síndrome, describiéndolo como la incapacidad para establecer relación con otros, movimientos repetitivos sin ninguna finalidad y alteración del lenguaje, que iba desde el mutismo absoluto, hasta la emisión de relatos sin ningún sentido ni significado. Afirmaba que los síntomas podían variar de un niño a otro, aunque el aspecto nuclear consistía en la incapacidad innata para la relación social (Cohmer, 2014; Kanner, 1943).

En paralelo, Hans Asperger, otro psiquiatra austriaco, éste trabajando en Europa, describió niños, adolescentes y adultos cuya dificultad fundamental era la comunicación social, pero que no tenían dificultades intelectuales tan marcadas como las de los niños descritos por Kanner. Denominó al trastorno como “Psicopatía autista” (psicopatía en esa época era equivalente de lo que luego se vendría en llamar Trastorno de la personalidad) y aludía a esa dificultad desde el origen de la vida para comprender y manejarse con las claves de la comunicación social (Asperger, 1943). Con el tiempo, Lorna Wing (Wing, L., 1981) y otros autores fueron señalando que las dificultades descritas por Kanner y Asperger eran esencialmente las mismas, el núcleo era lo que John Constantino (Constantino, 2011) llamaría el *sine qua non* del autismo, la dificultad en la reciprocidad social y se empezó a hablar de Trastornos del Espectro Autista, para incluir a todos esos niños que desde el principio de su desarrollo tienen este tipo de dificultades (Wing, 2004). Las dificultades intelectuales y otras dificultades en el lenguaje expresivo se empezaron a considerar no nucleares, sino asociadas. El DSM-5, publicado en 2013 y la CIE-11, en vigor desde 2019, recogieron esta denominación, TEA, para agrupar todo este tipo de trastornos.

Inicialmente, Kanner afirmó que el origen del autismo estaba relacionado con el comportamiento y la crianza que los padres daban a sus hijos, y ese enfoque se conoce como psicológico-ambientalista. Él es el autor del término Autismo Infantil Precoz, separando este trastorno de la Esquizofrenia y la Psicosis Infantil, con las que en ese momento se relacionaba el comportamiento de aquellos niños. De hecho, los niños que él diagnosticó como TEA tenían previamente el diagnóstico de esquizofrenia. Muchos de los aspectos que describían los hallazgos de su trabajo de investigación con once niños se consideran válidos aún en la actualidad (Artigas-Pallarès, 2012)

Desde el principio hubo mucha divergencia por parte de los especialistas y expertos en desarrollo y psicopatología respecto a diferentes formas de ver e interpretar el autismo y mientras más estudios e

investigaciones se realizaban, surgía más controversia. A finales de los setenta y en los años ochenta, aparece una postura biológico-organicista, que empieza a elucubrar y estudiar las bases neurales de los distintos síntomas nucleares y asociados al autismo (Marco, 2011). Además de plantear el origen en el Sistema Nervioso Central, se desarrolló en esa misma época otra área de investigación enfocada hacia la bioquímica, que partía de que el autismo no era un trastorno del cerebro sino un trastorno sistémico que afectaba principalmente al cerebro (Randolph-Gips, 2012). Sin embargo, al igual que con las otras investigaciones y posturas, sus hallazgos no fueron concluyentes. Otro enfoque investigador fue el que utilizó el psicoanálisis para tratar de caracterizar este trastorno, catalogando a los niños con estas dificultades como psicóticos autistas. Inicialmente, bajo este enfoque trató de dársele responsabilidad en la génesis del trastorno a la relación madre-hijo. Sin embargo, a finales de los ochenta surge una corriente de investigación que afirma que esos diagnósticos en donde se culpaba a los padres eran deplorables y faltos de fundamento (Cohmer, 2014).

Las observaciones de los Dres. Kanner y Asperger siguen siendo relevantes en la actualidad y han dado forma a la definición actual de autismo. A pesar de estos estudios de casos bien documentados, que se publicaron a principios de la década de 1940, la Asociación Estadounidense de Psiquiatría (APA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) no reconocieron de inmediato el autismo como una categoría de diagnóstico diferenciada (Artigas-Pallarès, 2012), y no fue hasta 1977 cuando con el empuje fundamental del Dr Michael Rutter se incluyó en las clasificaciones internacionales un apartado diferenciado de las psicosis, que en ese momento se denominó Trastornos Generalizados del Desarrollo.

Clasificaciones diagnósticas

Con la finalidad de unificar los criterios diagnósticos entre los profesionales y, por ende, homogeneizar la conceptualización de los trastornos mentales, se ordenan éstos en clasificaciones consensuadas entre expertos que van sufriendo revisiones con el tiempo.

La Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (CIE), en su octava revisión (Bravo Becherelle, 1968) mencionó el autismo por primera vez, enumerando el “autismo infantil” en el grupo esquizofrenia, mientras que Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, en su segunda edición (DSM- II) (Diagnostic and statistical manual of mental disorder second edition.1968), especificó “esquizofrenia, tipo infantil” sin ninguna referencia al autismo. La CIE-9 de 1977 y el DSM-III, de 1980, incluyeron el capítulo de Trastornos Generalizados del Desarrollo, que incluían un subtipo “autismo infantil” (Ousley & Cermak, 2014). Las adiciones al DSM-III-R (Heinze, 1996) incluyeron entradas de subtipos similares, “trastorno autista” y “trastorno generalizado del desarrollo – no especificado de otra manera (TGD-NE)”, con una redacción ligeramente modificada, pero no se realizaron cambios en la CIE. En el 1994, el DSM-IV vio la adición de tres subtipos: “Trastorno de Asperger”, “Trastorno Desintegrativo Infantil” y “Trastorno de Rett”, lo que reflejaba las modificaciones más recientes de la CIE-10, 1993.

En el DSM-5 el término general “Trastorno Generalizado del Desarrollo” se reemplaza por “Trastorno del Espectro Autista”, que es la designación también propuesta para la CIE-11. Este término representa la idea de que las características centrales de los TEA se pueden medir dimensionalmente en un “espectro” y que caen a lo largo de un continuo de gravedad. Desaparecen los subtipos de diagnóstico del DSM-IV (Autismo Clásico, Síndrome de Asperger, Trastorno Generalizado del Desarrollo no especificado, Síndrome de Rett y Trastorno Desintegrativo Infantil); a diferencia del DSM-IV y versiones anteriores de las clasificaciones de los trastornos mentales, el DSM-5, y de otra manera la CIE-11 han introducido unos

especificadores clínicos y unos niveles de afectación que deben acompañar al diagnóstico. Así, además de determinar que una persona tiene un Trastorno del Espectro del Autismo, se debe categorizar si tiene i) discapacidad intelectual asociada, ii) deterioro del lenguaje asociado, iii) catatonía o iv) afección médica, genética o ambiental conocida, o comorbilidades y v) el nivel de gravedad de afectación en cada uno de los criterios que se contemplan para el diagnóstico (afectación en la comunicación e intereses repetitivos), medido por las necesidades de apoyo que tenga el paciente para ese dominio sintomático (American Psychiatric Association, 2013).

El síndrome de Rett ya no se incluye dentro de los TEA en el DSM-5, ya que se considera un trastorno neurológico con una causa genética muy específica y cuyas manifestaciones no tenían que ser ni necesaria ni exclusivamente autistas. De forma novedosa, se estableció una condición nueva, “Trastorno de la Comunicación Social pragmático (TCS), separada de los TEA, para diagnosticar a aquellas personas con discapacidades en la comunicación social, pero que carecen de conductas repetitivas y restringidas. Aún no se ha determinado cómo afectará el nuevo diagnóstico de TCS a la prevalencia de TEA. El nuevo diagnóstico de TCS podría abarcar a aquellas personas que poseen rasgos autistas por debajo del umbral y no califican para un diagnóstico de TEA, pero que aún tienen necesidades sustanciales; además, los niños que anteriormente cumplían los criterios de TGD-NE según el DSM-IV ahora podrían ser diagnosticados con TCS (Hodges, 2020).

Como todos los cambios en el modo de clasificar y diagnosticar los trastornos del espectro autista o cualquier otro trastorno, los criterios del DSM-5 supusieron un debate importante antes de su publicación y han supuesto después algunas controversias. El DSM-5 unifica el primer y segundo dominio del DSM-IV (alteraciones en la comunicación y en la reciprocidad social respectivamente) en una sola categoría (Comunicación e Interacción Social), que incluye el cumplimiento de tres áreas (o criterios) de afectación. Esta nueva definición pretende ser más precisa y trabaja para diagnosticar los TEA a una edad

más temprana. Sin embargo, los estudios que estiman el impacto potencial de pasar del DSM-IV al DSM-5 han predicho una disminución en la prevalencia de TEA y ha existido la preocupación de que los niños con un diagnóstico previo de Asperger o TGD-NE no cumplan con los criterios de diagnóstico actuales de TEA (American Psychiatric Association, 2013).

Algunos estudios han encontrado que los criterios del DSM-5 identificaron mal a los individuos con un funcionamiento superior, señalando que la nueva clasificación requiere una sintomatología más grave para el diagnóstico. Sin embargo, el número de personas que serían diagnosticadas con el DSM-IV, pero no con el nuevo DSM-5, parece estar disminuyendo con el tiempo, probablemente debido a una mayor conciencia y una mejor documentación de los comportamientos (Hodges, 2020).

En general, la mayoría de los estudios sugieren que el DSM-5 proporciona una mayor especificidad y una menor sensibilidad en comparación con el DSM-IV. Uno de los objetivos de la nueva clasificación (DSM-5) al incluir todos los subtipos de TEA bajo el mismo nombre pero con especificadores, es favorecer una futura identificación de subgrupos de TEA basados en evidencia empírica, y que puedan ser importantes para comprender los mecanismos biológicos, el curso clínico y las reacciones de los individuos con TEA al tratamiento. Se ha propuesto una caracterización fenotípica para mejorar la clasificación de los TEA basada no solo en los ítems específicos de los TEA, sino que involucra otras caracterizaciones específicas como la función cognitiva y adaptativa, las habilidades del lenguaje, la comorbilidad, otras condiciones médicas y otras características psiquiátricas con el fin de estandarizar las características clínicas de los individuos con TEA (Fountain, 2012). Así, estos especificadores clínicos se han incluido en la nueva versión del DSM por sus implicaciones terapéuticas y pronósticas. Por ejemplo, se sabe que los factores más relacionados con un buen pronóstico en el autismo (además del tipo de intervención) son el nivel intelectual y el nivel de desarrollo del lenguaje (Dietz, 2007; Eapen, 2013). Aún está por demostrar que estos especificadores clínicos tengan alguna relevancia desde el punto de vista neurobiológico y que

distintos tipos biológicos dentro del autismo se asocian o correlacionen con diferente variabilidad en estos fenotipos clínicos.

Categorización según las habilidades cognitivas y del lenguaje

Gran parte de las personas con TEA tienen discapacidad intelectual de leve a moderada, acompañada de un deterioro del lenguaje; sin embargo, se observa mucha variabilidad entre los individuos. Los últimos datos del Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC, 2021) estiman que el 31 % de las personas con autismo tienen un cociente intelectual menor de 70, 25% están en rango limítrofe 71-85 y un 44 % están en la media o por encima de la media. En muchos casos, las personas con TEA muestran una discrepancia característica entre el coeficiente intelectual verbal y no verbal en lugar de un deterioro global homogéneo en todas las áreas de la cognición. Un patrón de razonamiento no verbal más fuerte, en relación con el razonamiento verbal, ocurre en algunas personas con TEA y a menudo se considera que representa la presentación prototípica del autismo. Se describe además otro perfil cognitivo distinto caracterizado por un cociente intelectual y habilidades lingüísticas promedio o superiores, en ausencia de un retraso temprano del lenguaje, y se asocia habitualmente con el denominado hasta 2013 síndrome de Asperger (Parellada, 2020). Un tercer perfil cognitivo se caracteriza por una relativa debilidad en las habilidades de razonamiento no verbal y / o espacial, tales como el rendimiento matemático y el procesamiento facial, en comparación con las habilidades de razonamiento verbal.

Los individuos con TEA también pueden exhibir habilidades cognitivas extremas que representan fortalezas por encima de sus otras habilidades y, en ocasiones, por encima de la media poblacional, y que proporcionan otro medio de caracterización; son los llamados clásicamente *savant*. Algunos individuos con TEA puntúan dentro del rango de altas capacidades en pruebas cognitivas verbales, no verbales y / o rendimiento en matemáticas y lectura. Estas habilidades destacadas surgen a una edad muy temprana en

algunos niños con TEA en ausencia de enseñanza o instrucción específicas. Otras habilidades especiales pueden incluir aquellas que se basan en una percepción extraordinaria, incluido el talento musical y las fortalezas en el procesamiento viso-espacial y la memoria.

Aunque los hallazgos de investigaciones iniciales insinuaron que estos distintos perfiles cognitivos podrían conducir a hipótesis o conocimientos sobre la naturaleza de las capacidades de procesamiento de información relacionadas con los TEA y sus procesos neurobiológicos subyacentes, y prestarse a la subtipificación de TEA y a la distinción entre el síndrome de Asperger y el autismo de alto funcionamiento, la mayoría de la evidencia no respalda tal distinción y, en cambio, respalda la idea de que el lenguaje y las habilidades cognitivas o las deficiencias en los TEA se representan mejor a lo largo de un continuo.

Categorización según afecciones genéticas y médicas

Las investigaciones sobre la base genética de los TEA han demostrado que un pequeño porcentaje de los sujetos con TEA han sido identificados con un trastorno genético debido a una variante de efecto muy elevado y alta penetrancia. Estas variantes genéticas pueden tener una consecuencia clínica muy diversa y ubicua, y el TEA diagnosticado puede ser una característica de otros trastornos neurológicos primarios como el Síndrome de Rett o síndrome de X frágil, así como de otros síndromes genéticos que presentan sintomatología de autismo entre otras cosas.

La mayor parte de las anomalías o variaciones genéticas de alto efecto no dan como resultado clínico un TEA específico y, en cambio, se asocian con otros trastornos del neurodesarrollo, incluida la discapacidad intelectual, dificultades sociales e interpersonales que no alcanzan el nivel de TEA y, en algunos casos, ansiedad, depresión o síntomas psicóticos (Ziats, 2021).

Dada la variabilidad observada en los resultados fenotípicos, los científicos han sugerido que los factores ambientales (p. ej.: características parentales, complicaciones obstétricas, o factores o sustancias del ambiente) pueden modular el riesgo de TEA. Además, algunos investigadores han sugerido que el “resultado” fenotípico de los trastornos genéticos debe investigarse a nivel del cerebro y que los subgrupos neurológicos de TEA deben ser el foco principal de estudio (Parellada, 2013).

Los TEA también pueden caracterizarse según la presencia de fisiopatología periférica que afecte el funcionamiento gastrointestinal o inmunológico. La presencia de trastornos gastrointestinales y de la alimentación en los TEA ha sido reconocida desde las primeras descripciones del Dr. Kanner, que documentaron dificultades de alimentación, vómitos intensos y, en un niño, la necesidad de alimentación por sonda. El estudio de los trastornos gastrointestinales representa un área de investigación novedosa, junto con las investigaciones del sueño, la obesidad y la función inmunitaria, y ha comenzado a proporcionar conocimientos sobre la fisiopatología de subgrupos médicos / genéticos bien definidos de los TEA (Parellada, 2013).

Categorización adicional según sus comorbilidades

En el pasado, se ha tendido demasiado a que todos los síntomas o comportamientos anómalos en niños y adultos con autismo se atribuyeran al autismo en sí como características adicionales o asociadas de los TEA (Cohmer, 2014). Sin embargo, en la actualidad está más que demostrado que dichos comportamientos y síntomas son indicadores de la presencia de comorbilidades psiquiátricas que justifican un diagnóstico adicional y que, además, afectan a su calidad de vida (Lai, 2019).

Si bien las prevalencias notificadas de condiciones de salud mental comórbidas en sujetos con TEA son muy variadas, coinciden en ser superiores a las presentes en la población general (Lai, 2019). Entre las comorbilidades psiquiátricas más prevalentes en las personas diagnosticadas con TEA, según estiman las

últimas revisiones realizadas, se encuentran el Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH) en un 28% de los individuos, Trastornos de ansiedad en el 20%, trastornos del sueño y la vigilia en un 13%, trastornos disruptivos, de control de impulsos y de conducta en el 12%, trastornos depresivos en el 11%, Trastorno Obsesivo Compulsivo en el 9% de los casos, Trastorno Bipolar en el 5% y por último en el 4% se los sujetos los trastornos del espectro de la esquizofrenia (Lai, 2019). Si bien estas comorbilidades están presentes en sujetos con TEA de diversos grupos de edad, muchos estudios han encontrado mayor prevalencia en adultos que en los sujetos más jóvenes (Hossain, 2020).

Se ha sugerido que la comorbilidad generalmente conducirá a deficiencias más graves y efectos agravantes psicosociales como resultado de los efectos acumulativos de tener más de un trastorno (Hossain, 2020). Cuando se reconocen otros síntomas problemáticos como manifestación de trastornos psiquiátricos comórbidos, en lugar de simples síntomas aislados, es posible un tratamiento más específico. Al mismo tiempo, dicho tratamiento debe ser personalizado y holístico, en lugar de tratar los diagnósticos psiquiátricos de forma aislada, prestando mayor atención en las edades de transición, dado que es en dichos momentos evolutivos cuando la probabilidad de aparición de dichas comorbilidades aumenta (Lai, 2019).

Es importante señalar también que no solo hay comorbilidades asociadas en forma de trastornos comórbidos, sino que también hay síntomas subsindrómicos (déficit de atención, ansiedad de todos los tipos), con mucha mayor frecuencia en personas con autismo que en población general, incluso en personas con autismo de alto funcionamiento. Igual que en el caso de los trastornos comórbidos, su identificación es importante para poder ir tratando (de la manera más oportuna en cada caso) cada área de disfuncionalidad de forma específica y evitar una desadaptación general mayor (Caamaño, 2013).

Características clínicas del autismo

Las primeras publicaciones sobre el autismo describieron la calidad atípica de las interacciones sociales entre niños y adultos, documentaron la presencia del uso repetitivo de objetos y la insistencia en la igualdad, y distinguieron entre los diagnósticos categóricos de autismo y la esquizofrenia de inicio en la infancia. En el influyente artículo titulado “Trastornos autistas del contacto afectivo”, el Dr. Leo Kanner publicó una serie de estudios de casos que describen a ocho niños y tres niñas de entre 2 y 11 años que presentaban un grupo similar de síntomas. Describió la preferencia de los niños por usar objetos repetidamente en lugar de interactuar socialmente con otros y escribió, “el desorden fundamental ‘patognomónico’ sobresaliente es su incapacidad para relacionarse de forma normal con las personas y situaciones desde el comienzo de su vida”. Observó numerosos puntos en común entre estos niños, incluida una “relación con las personas” atípica, un lenguaje que consistía principalmente en nombrar objetos, literalidad, ecolalia tardía, excelente memoria, repetir frases con pronombres personales en la forma exacta en que se escuchan, preocupación temprana por posible sordera, fuertes reacciones a ruidos y objetos en movimiento, “repetición monótona” de ruidos, movimientos y expresiones verbales, y “limitaciones en la variedad de actividad espontánea”. Además, y fundamental para la práctica psiquiátrica en el momento de escribir este artículo, el Dr. Kanner distinguió entre la esquizofrenia infantil y el grupo de síntomas de autismo que había observado. De manera similar, en 1944, el Dr. Hans Asperger proporcionó descripciones de una serie de casos de niños, principalmente niños (Artigas-Pallarès, 2012).

En la actualidad, los trastornos del espectro autista, según el DSM-5 se caracterizan por déficits en la interacción social y la comunicación, así como por la presencia de comportamientos estereotipados e intereses restrictivos. Para ser diagnosticado con TEA, una persona debe mostrar evidencia de dificultades, pasadas o presentes, en cada uno de los tres subdominios de la comunicación social, y debe

tener o haber tenido dificultades en dos de las cuatro conductas sensoriales-motoras repetitivas restringidas diferentes (American Psychiatric Association, 2013).

Criterios diagnósticos de los TEA según el DSM-5:

A. Déficits persistentes en la comunicación y en la interacción social desde múltiples contextos.	1. Deficiencias en la reciprocidad socio-emocional. 2. Deficiencias en los comportamientos de comunicación no verbal utilizados en las interacciones sociales. 3. Deficiencias en el desarrollo, establecimiento y comprensión de las relaciones.
B. Patrones restringidos y repetitivos de conductas, actividades e intereses, que se manifiesta al menos en dos de los siguientes síntomas.	1. Movimientos motores, uso de objetos o vocalización estereotipados y restringidos. 2. Insistencia en la monotonía, adherencia inflexible a la rutina o patrones rituales de comportamientos verbales o no verbales. 3. Intereses muy restringidos y fijos en un grado anormal de intensidad y de focalización. 4. Reacción o interés inusual a los estímulos sensoriales del entorno.
C. Los síntomas deben presentarse desde un periodo temprano del desarrollo.	
D. Los síntomas causan alteraciones importantes desde el punto de vista clínico en el ámbito social, profesional o en otros ámbitos de funcionamiento.	
E. La discapacidad intelectual o un retraso general del desarrollo no justifican mejor estos déficits.	

Nota. Adaptado de Vázquez (2017).

A día de hoy, sabemos que los TEA son el resultado del desarrollo temprano alterado del cerebro y la reorganización neuronal. Sin embargo, dado que no existen biomarcadores fiables, el diagnóstico debe realizarse en función del comportamiento, de forma exclusivamente clínica. Las manifestaciones clínicas de los TEA, además, pueden variar por múltiples factores, como la edad cronológica del sujeto, la gravedad de la afectación autista y el nivel del desarrollo, entre otros. Existe, además, una gran variabilidad en lo referente a las habilidades cognitivas, lingüísticas, conductuales y sociales. Cada uno de

los criterios diagnósticos puede variar mucho su presentación según estos aspectos. Por ejemplo, el criterio de “Deficiencias en la reciprocidad socio-emocional” (A.1.) puede manifestarse como una ausencia total de interés por los demás, ausencia de iniciación social alguna, ignorar de forma total la diferencia entre una persona y una cosa, o manifestarse por una clara inclinación social pero una incompetencia marcada que hace que la persona resulte inoportuna, inadecuada y torpe en todas sus interacciones sociales, por no comprender las claves no verbales de las relaciones.

Debido a su complicación, los profesionales clínicos, además de basar el diagnóstico de TEA en los criterios diagnósticos del DSM-5 y su juicio clínico informado por la historia de desarrollo evolutivo, revisión de informes, exploración o información sobre las interacciones en contextos con iguales y la exploración no estructurada de la sintomatología socio-comunicativa y comportamental (Volkmar, 2014) se ayudan cuando es necesario de herramientas semi-estructuradas de apoyo al diagnóstico como la Escala de Observación para el Diagnóstico del Autismo, ADOS (Lord, 2012), *gold estándar* para la observación y categorización de la sintomatología compatible con TEA. Este tipo de herramientas, por sí mismas, no proporciona un diagnóstico, ni determina niveles de gravedad funcional. Sin embargo, en el 2009 el grupo de investigación de Gotham diseñó un algoritmo por el cual se puede obtener una puntuación estandarizada proveniente del ADOS para medir la gravedad de los TEA respecto a los síntomas de autismo (Gotham, 2009; Hus, 2014).

A día de hoy los TEA se pueden diagnosticar de manera fiable en niños de entre 18 y 24 meses, aunque la edad promedio para el diagnóstico es entre los tres y seis años. El tratamiento y la intervención de las niñas y niños con TEA deben ser personalizados con la finalidad de adecuarse a cada casuística y a sus requerimientos, optimizando así la calidad de vida (Zúñiga, 2017). El poder intervenir de forma temprana mejora el pronóstico, fundamentalmente cognitivo y lingüístico, lo que justifica la importancia de un diagnóstico temprano.

Cambios en la prevalencia del autismo en las últimas décadas

En los últimos 50 años, el trastorno del espectro autista ha pasado de ser un trastorno poco común de inicio en la infancia a una condición bien conocida, defendida e investigada, reconocida como bastante común y muy heterogénea. La descripción de las características centrales de los TEA como déficits de comunicación social y conductas sensoriomotoras repetitivas e inusuales no ha cambiado sustancialmente desde su delineación original. Sin embargo, el autismo ahora se ve como un espectro que puede variar de muy leve a grave. A pesar de la existencia de casos leves, muchas (pero no todas) las personas con TEA requieren algún tipo de apoyo de por vida (Hodges, 2020).

Aunque las familias, los maestros y los profesionales con los que trabajan de forma directa marcan la mayor diferencia en la vida de las personas con TEA, los médicos y otros profesionales sanitarios también afectan a las personas y las familias al brindar información sobre el funcionamiento actual de la persona con TEA, al ayudar a los cuidadores a anticipar las transiciones y facilitando referencias a proveedores de servicios y especialistas cuando sea necesario. Los TEA representan una carga económica sustancial, principalmente debido a la provisión de apoyo a los sujetos que no pueden funcionar de forma independiente, lo que se traduce en mayores costos de atención médica y escolar y pérdida de ingresos para los cuidadores. Aunque los TEA sean un trastorno biológico, se trata principalmente a través de servicios educativos y conductuales, con la medicación como un complemento importante (Campos Paredes, 2007).

En las últimas décadas la cantidad de casos reportados de autismo ha ido aumentando exponencialmente, lo cual se ha ido reflejando en los estudios de prevalencia de diferentes países. Este aumento podría resultar de la combinación de diferentes factores tales como cambios en los criterios de diagnóstico para el autismo, mayor conciencia del autismo entre los profesionales de la salud, los padres

y la población en general que conlleva un aumento de la detección temprana, diagnosticándose niños de menores edades, un aumento de mujeres y de adultos diagnosticados por la mejora en la competencia de profesionales, aumento en la fiabilidad de los instrumentos diagnósticos y otros (Fombonne, 2018).

En relación a los cambios en los criterios diagnósticos, desde la definición de autismo de Kanner, el concepto de autismo ha ido cambiando y ampliándose. Desde que el DSM-III estableció en 1980 el autismo como un “trastorno generalizado del desarrollo” distinto de la esquizofrenia, y más adelante en la mitad de los 90 con el DSM-IV se consideró el autismo como un espectro, se han ido ampliando los criterios diagnósticos de forma que engloben la heterogeneidad fenotípica dentro de los TEA, suponiendo, entre otras cosas, que sujetos que, de acuerdo a los criterios anteriores, habrían sido diagnosticados de discapacidad intelectual o retraso del desarrollo, ahora encajen a nivel diagnóstico dentro del espectro del autismo (hasta el DSM-IV no se podía diagnosticar TEA y DI comórbidos). Algo similar ocurre también con el TDAH ya que hasta el DSM-5 no se podían diagnosticar de forma comórbida un TEA y un TDAH. Así, a la par que la prevalencia de autismo ha ido aumentando en los últimos años, observamos que el número de sujetos diagnosticados de discapacidad intelectual ha ido disminuyendo. El Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC, 2021) informa que un 31% de los sujetos con TEA tienen DI comórbido.

La prevalencia de los TEA se estima entre 8 y 17 casos por 1000 en la población general (Baio, 2018; Baxter, 2015). La OMS estima la prevalencia internacional de TEA en 0,76%. El CDC estiman que aproximadamente el 1,68% de los niños de 8 años de los Estados Unidos (EE. UU.) (O 1 de cada 59 niños) son diagnosticados con TEA. Tras 2009, los datos estadounidenses reportados de prevalencias se han disparado, difiriendo de la realidad europea posiblemente por diferentes prácticas diagnósticas y usos de los diagnósticos. Los mandatos de seguros que requieren planes comerciales para cubrir los servicios para los TEA junto con una mayor conciencia probablemente hayan contribuido al aumento de las

estimaciones de prevalencia de TEA, así como al mayor diagnóstico de casos más leves de TEA, en los EE. UU.

La prevalencia de TEA en los EE. UU. se duplicó con creces entre 2000-2002 y 2010-2012 según las estimaciones de la Red de Monitoreo de Autismo y Discapacidades del Desarrollo (ADDM). Aunque puede ser demasiado pronto para comentar sobre las tendencias, en los EE. UU., la prevalencia de TEA parece estabilizarse sin un aumento estadísticamente significativo de 2014 a 2016. Los cambios en los criterios de diagnóstico pueden afectar la prevalencia y aún no se ha visto el impacto total de los criterios de diagnóstico del DSM-5.

Los TEA se presentan en todos los grupos raciales, étnicos y socioeconómicos, pero su diagnóstico está lejos de ser uniforme entre estos grupos. Los niños caucásicos se identifican consistentemente con TEA con más frecuencia que los niños negros o hispanos. Si bien las diferencias parecen estar disminuyendo, la discrepancia continua puede deberse al estigma, la falta de acceso a los servicios de atención médica y el idioma principal de un paciente (Hodges, 2020).

Los TEA son más comunes en los hombres, pero en un metanálisis reciente (Loomes, 2017), la proporción verdadera entre hombres y mujeres está más cerca de 3: 1 que la 4: 1 informada anteriormente. Este estudio también sugirió que las niñas que cumplen con los criterios de TEA tienen un mayor riesgo de no recibir un diagnóstico clínico. El fenotipo del autismo femenino puede influir en que las niñas sean diagnosticadas erróneamente, diagnosticadas más tarde o pasadas por alto. No solo es menos probable que las mujeres presenten síntomas evidentes, sino que también es más probable que enmascaren sus déficits sociales a través de un proceso llamado “camuflaje”, lo que dificulta aún más un diagnóstico oportuno. Del mismo modo, los sesgos de género y los estereotipos de TEA como un trastorno masculino también podrían obstaculizar el diagnóstico en las niñas.

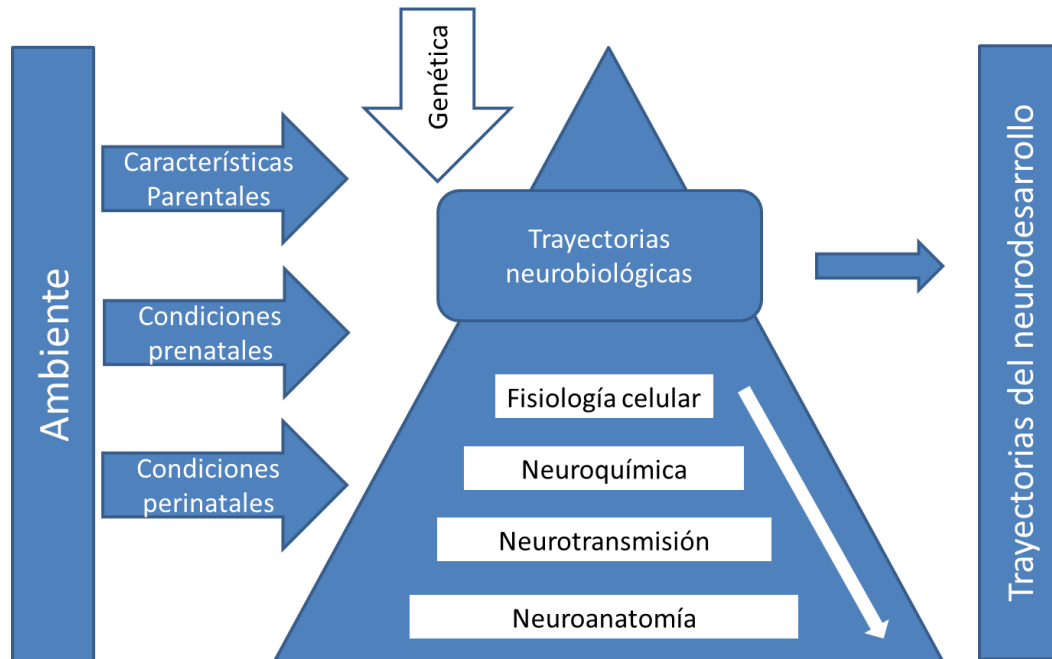
Bases biológicas del autismo

Etiología multifactorial

Los factores de riesgo para el desarrollo de patologías psiquiátricas complejas como los TEA tienen un origen ambiental y genético. Es por esta razón que conocemos a los trastornos psiquiátricos complejos como multifactoriales. Los TEA presentan una etiología multifactorial, mediante la que múltiples factores genéticos, ambientales y la interacción de ambos confluyen para generar un riesgo a desarrollar el trastorno. Esta complejidad desde el punto de vista etiológico provoca una enorme heterogeneidad en los pacientes diagnosticados, que se engloban bajo el paraguas de un fenotipo conductual final común que se utiliza para su diagnóstico en las clasificaciones al uso.

Los intentos de identificar teorías unificadas que expliquen los déficits centrales y comórbidos no han tenido éxito, lo que no es sorprendente en vista de la expresión heterogénea de los trastornos del espectro autista y su etiología multifactorial. Aunque el soporte neurobiológico de los TEA es hoy en día incontestable, con múltiples datos de investigación biológica que apoyan esta tesis, la confluencia de factores etiológicos de distinta naturaleza ha dificultado la descripción de una base biológica y molecular claramente definida. No obstante, sí se han identificado determinantes genéticos, epigenéticos y ambientales importantes (Muhle, 2018; Savino, 2020; Schaaf, 2020; Thapar, 2021). El conocimiento actual sobre las bases neurobiológicas de los TEA se podría resumir como sigue: los TEA son probablemente un grupo heterogéneo de trastornos de etiología multifactorial, que resulta en una afectación multinivel, con una conformación anómala de la microestructura del cortex, con alteraciones en el funcionamiento sináptico y alteraciones en sistemas fisiológicos muy generales como el inmunológico o el oxidativo (Parellada, 2013). En la siguiente figura se refleja la cascada de actuaciones

biológicas que interfieren en las trayectorias del neurodesarrollo en el sujeto, con el ambiente como modulador de dicho flujo de información.



Nota. Adaptado de (Pardo, 2007).

Afectación neuroanatómica, microestructura del cortex

Aunque con gran variabilidad, existe una afectación neuroanatómica en los TEA que ha sido consistentemente estudiada (Donovan, 2017). La macrocefalia se observa a los 2-3 años en el 20% de los niños con trastorno del espectro autista. El crecimiento del cerebro se acelera a los 12 meses. Estos cambios surgen en paralelo con la aparición de síntomas centrales durante los primeros 2 años de vida. Clínicamente, se cree que el neurodesarrollo alterado durante el primer y segundo trimestre de la vida prenatal es una causa neuropatológica subyacente de los TEA. Los estudios *post-mortem* han revelado aberraciones neuroanatómicas y citoarquitectónicas en varias regiones del cerebro, incluido el cerebelo, el hipocampo, el complejo olivar inferior, la amígdala, la corteza entorrinal, la circunvolución fusiforme y

la corteza cingulada anterior y posterior, con un mayor crecimiento de los lóbulos frontales, minicolumnas corticales más delgadas, aumento de la densidad de la columna dendrítica y reducción del número y tamaño de las células de Purkinje. Algunas de estas regiones del cerebro están implicadas en el desarrollo de las habilidades sociales, de comunicación y motoras que se ven afectadas por el trastorno del espectro autista (Oviedo, 2015).

Afectación en el funcionamiento sináptico

Las aberraciones neuroanatómicas y citoarquitectónicas observadas en los TEA parecen estar relacionadas con alteraciones que ocurren durante el embarazo temprano, como muerte celular programada reducida y / o proliferación celular aumentada, migración celular alterada, diferenciación celular anormal con tamaño corporal neuronal reducido, brote anormal de neuritas y poda, que causan cableado atípico en el cerebro. Además, debido a que los procesos del neurodesarrollo todavía están activos en la vida prenatal y posnatal tardía, los procesos anteriores implican una formación reducida de sinapsis y una mielinización retardada. Anteriormente se pensaba que el cableado neuronal anormal observado se caracterizaba por hipoconectividad de largo alcance e hiperconectividad local. En cambio, estudios recientes han demostrado que el cableado neuronal anormal se caracteriza por una combinación altamente individualizada de hiper e hipoconectividad específica para cada paciente con TEA (Savino, 2020).

La resonancia magnética funcional ha mostrado diferencias en los patrones de activación y sincronización de las redes corticales, con una menor conectividad funcional relacionada con el lenguaje, la memoria de trabajo, la cognición o percepción social y la resolución de problemas. El hallazgo anormal de la resonancia magnética funcional replicado de manera más confiable es la hipoactivación del área fusiforme, asociada con déficits en la percepción de las personas en comparación con los objetos. Los

resultados de otros estudios de resonancia magnética funcional realizados durante las tareas de imitación han sugerido una alteración de la actividad de las neuronas espejo en la circunvolución frontal inferior. Con imágenes de tensor de difusión, los investigadores han demostrado una alteración de la materia blanca en las regiones del cerebro asociadas con el funcionamiento social (Armony, 2012).

Afectación neuroquímica

Se han implicado muchas moléculas de transmisión cerebral y de metabolismo sistémico en la fisiopatología de los TEA, algunas con roles probablemente de sustento biológico de sintomatología comportamental y otras como indicadores de mecanismos fisiopatológicos intermedios entre el origen último (genético y/o ambiental temprano) y el fenotipo conductual. Distintas fuentes de evidencia apoyan la participación de distintos sistemas moleculares en la patogenia del autismo.

Respecto al papel de la oxitocina en los TEA, se ha estudiado en experimentos preclínicos y en población clínica. El papel de la oxitocina en las conductas de apego, afiliativas y otras conductas relacionadas con la socialización se ha demostrado en múltiples estudios en animales. Su papel en el parto, en la vinculación temprana, en el amor, se ha demostrado ampliamente (Guastella, 2008; Kosfeld, 2005; Lim, 2006; Savaskan, 2008). Algunos estudios han mostrado deficiencias en los mecanismos centrales del circuito de la oxitocina en los sujetos con TEA, concretamente menores niveles (Moerkerke, 2021), así como se ha asociado la variación genética del gen receptor de OXT (*OXTR*) con el riesgo y fenotipo de TEA (Harrison, 2015; LoParo, 2015). Entre otras funciones, la OXT desempeña una función importante en la mediación del comportamiento prosocial, característica en la que suelen mostrar dificultades estos sujetos. De hecho, su administración intranasal se ha estudiado como posible tratamiento para mejorar dicha sintomatología en población sana, aunque con resultados contradictorios (Mierop, 2020). Algunos estudios que se enfocan en sujetos con TEA parecen informar de cierto potencial en la mejora del

comportamiento social, al menos en niños (Parker, 2017; Yatawara, 2016), y con resultados aún contradictorios en adultos (Alaerts, 2021; Bernaerts, 2020). Menos son los estudios que se centran en el posible papel de la oxitocina inducida perinatal como factor ambiental sobre el autismo, y sobre su caracterización clínica. En un estudio reciente se examinó la interacción gen-ambiente entre *OXTR* y la exposición prenatal a OXT o al antagonista de *OXTR* (*OXTRA*) en la predicción del desarrollo temprano de la comunicación social. Los niños portadores de un mayor número de alelos de riesgo para el gen *OXTR* y cuyas madres recibieron *OXTRA* para retrasar el parto prematuro mostraron más deficiencias relacionadas con el TEA. A pesar de estos estudios, no existe evidencia robusta suficientemente replicada de las diferencias en niveles de oxitocina en población con autismo y población control.

La serotonina y las diferencias genéticas en el transporte de ésta parecen tener también evidencia de un papel en el trastorno del espectro autista (Andersson, 2021). Sobre todo, se han asociado las alteraciones en el metabolismo y función serotoninérgica con la presencia de comportamientos repetitivos e inflexibilidad cognitiva y conductual. En una revisión reciente (Leshem, 2021) se ha encontrado una asociación entre la exposición a los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRS) y a los Inhibidores de la Recaptación de Serotonina y Norepinefrina (IRSN) y el riesgo TEA tanto durante el embarazo como previa al embarazo, no quedando claro por la metodología del estudio ni la dirección de la relación ni qué factores de confusión podrían no haberse tenido en cuenta en la relación entre dichos factores y los TEA.

Muchos marcadores de estado proinflamatorio y de estrés oxidativo se han señalado en relación con la presencia de TEA en estudios comparativos con controles (Adams, 2011; James, 2004; James, 2006; James, 2009). Estos marcadores se han asociado tanto con la presencia del diagnóstico como con la gravedad de la sintomatología y suponen probablemente mecanismos intermedios que resultan de la

adaptación o reacción del organismo a eventos estresantes para el organismo o desviaciones en el desarrollo normal.

Hasta el momento, ningún marcador biológico ha sido consistentemente asociado con TEA con suficiente potencia estadística o replicación como para ser considerado un biomarcador ni de diagnóstico ni de gravedad o estado de trastorno autista.

En conjunto, los resultados de estudios clínicos, de neuroimagen, neuropatológicos y neuroquímicos muestran que los trastornos del espectro autista son trastornos de la organización neuronal-cortical que provocan déficits en el procesamiento de la información en el sistema nervioso, que van desde la organización sináptica y dendrítica hasta la conectividad y la estructura cerebral. Estos cambios probablemente alteren la trayectoria de desarrollo de la comunicación social y parecen verse afectados por factores genéticos y ambientales en interacción dinámica desde etapas tempranas del desarrollo intrauterino (Bahena-Trujillo, 2000).

Afectación de sistemas fisiológicos

En la última década, un creciente cuerpo de investigación se ha centrado en el papel potencial de la inflamación, el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial como mecanismos bien etiopatogénicos bien fisiopatológicos en la aparición de trastornos psiquiátricos. Aunque la asociación entre ellos se ha demostrado repetidamente, la comprensión del mecanismo primario y la vía predominante asociada con síntomas psiquiátricos específicos sigue siendo incierta (Nagarajan, 2008).

En general, en el cerebro se puede generar una cascada inflamatoria que altere el funcionamiento fisiológico de las células residentes como la microglía, los astrocitos y las neuronas. En este contexto, las alteraciones de la actividad fisiológica de la microglía son de particular relevancia para los TEA. De hecho,

la microglía juega un papel esencial en el desarrollo neurológico y el funcionamiento de las sinapsis. Específicamente, durante el desarrollo del sistema nervioso central (SNC), la microglía produce factores neurotróficos, neuronas y conexiones redundantes de fagocitos, eliminan los desechos celulares y controlan la proliferación de células madre, regulando de esta manera la sinaptogénesis y la poda neuronal (Zhou, 2019). La interrupción de estas funciones esenciales en cualquier momento desde el embarazo hasta el período posnatal temprano puede conducir a trastornos del desarrollo neurológico como los TEA. Los estudios post-mortem han mostrado una hiperproducción de células microgliales y un aumento de su densidad en sujetos con TEA, particularmente en la corteza prefrontal dorsolateral, cerebelo, giro mediofrontal y cingulado, corteza frontal insular y visual. Estos hallazgos han sido confirmados por estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) que detectaron una señal más fuerte en el cerebelo, mesencéfalo, protuberancia y giro fusiforme en sujetos con TEA con respecto a los controles (Volkmar, 2014). Sin embargo, aunque la participación de la microglía en los TEA ha sido ampliamente demostrada, la correlación entre la activación específica de su región y los síntomas autistas aún no se ha resuelto. En la amígdala, que es mejor conocida por su papel en el aprendizaje emocional, se observó un aumento de la activación microglial y un mayor número de oligodendrocitos en unos pocos casos de cerebros post-mortem de TEA (Zhou, 2019). En un modelo animal de TEA, con duplicación del cromosoma humano 15q11-q13, una alteración microglial en la amígdala basolateral durante el desarrollo temprano se ha correlacionado con un comportamiento relacionado con la ansiedad en ratones adolescentes. En cambio, en la corteza prefrontal, que está involucrada en el control cognitivo y los resultados conductuales subsiguientes, se ha encontrado una organización espacial de la microglía alterada alrededor de las neuronas, así como una activación marcada de la microglía. Desafortunadamente, estos estudios no se han replicado y deben interpretarse con precaución (Lord, 2018).

Factores genéticos en el autismo

A pesar de las notables evidencias neuroanatómicas, neurofisiológicas o neuroquímicas que han permitido caracterizar a los TEA de forma mucho más profunda en las últimas décadas, el mayor avance en el descubrimiento de las bases neurobiológicas de los TEA ha tenido lugar en el estudio de las bases genéticas que subyacen a la etiología de estos trastornos.

Las definiciones cambiantes de TEA han dado lugar a tasas variables de diagnóstico para estos trastornos. A pesar de ello, los TEA se han demostrado como unos de los trastornos complejos de mayor heredabilidad estimada a partir de estudios de gemelos y familiares de entre todos los trastornos complejos, con unos valores de heredabilidad de entre el 60 y el 90% (Colvert, 2015; Hernández, 2015; Sandin, 2017). Esto quiere decir que la variabilidad en el perfil genético de los individuos de una población es el principal contribuyente al riesgo a desarrollar TEA, por encima de la variabilidad del conjunto de los factores ambientales. En este sentido, la razón entre el riesgo a padecer un trastorno con un familiar afectado y el esperado en población general (riesgo relativo (RR)) nos da una idea de la magnitud de la influencia de la genética sobre el trastorno. En el caso de los TEA, este RR se sitúa en torno al 8.7 en estudios recientes (Baselmans, 2021), el valor más alto de todos los trastornos psiquiátricos complejos, lo que da cuenta acerca de la influencia genética por agregación familiar del trastorno.

Debido a la alta heredabilidad presente en el autismo, se le ha dado mucha importancia a la investigación enfocada en las bases genéticas subyacentes. El único consenso con respecto al modo de herencia del autismo es que no es mendeliano, al menos en la gran mayoría de los casos. En particular, los análisis genéticos han revelado no solo una fuerte base genética para los TEA, sino que también han resaltado la complejidad de tales trastornos, que no pueden explicarse de manera simplista con el paradigma “una mutación-una enfermedad”. Estas aproximaciones clásicas para el estudio de las bases genéticas del TEA

como la búsqueda exclusiva de un gen o grupos de genes causantes de la enfermedad se han demostrado absolutamente erróneas (Wilfert, 2021). Las bases genéticas del TEA se extienden por prácticamente todo el genoma, afectando genes o regiones no codificantes del genoma (Zhou, 2019), así como englobando variantes genéticas de todo el espectro de frecuencias en la población (Weiner, 2017).

En la actualidad, una gran cantidad de estudios recientes ya han demostrado una contribución significativa tanto de variantes genéticas comunes en la población (Autism Spectrum Disorders Working Group of The Psychiatric Genomics Consortium, 2017; Gaugler, 2014; Grove, 2019) como de mutaciones raras o muy infrecuentes (De Rubeis, 2014; Sanders, 2015; Satterstrom, 2020) al riesgo de TEA, pudiendo actuar de forma aditiva (Weiner, 2017) o compensatoria (Klei, 2021).

Los estudios genéticos de hace más de una década se centraron en la identificación de variantes de alto impacto (muy penetrantes o patogénicas), cuya alteración (la disfunción en la correcta codificación de las proteínas resultantes) fuera suficiente para explicar el trastorno. Debido a los pequeños tamaños muestrales recogidos por aquel entonces, resultaba muy difícil alcanzar la potencia estadística necesaria para la detección de variantes de riesgo medio o moderado. Sin embargo, pese a las limitaciones, la contribución de algunas variantes raras de alto impacto pudo ser constatada y ello ayudó a empezar a dibujar el mapa genético de los TEA (Neale, 2012; Sebat, 2007). Principalmente, destaca la detección de un tipo de variantes muy importantes en el contexto de la psiquiatría y especialmente de los TEA: las variaciones en el número de copias (CNVs), consistentes en duplicaciones o deleciones de fragmentos de entre 1000 (1 Kb) y 2 millones de pares de bases (2 Mb) y que son responsables de muchos síndromes genéticos como el de delección 22q13 o el de la duplicación 16p12, y generan un elevado riesgo para autismo (Sanders, 2015), discapacidad intelectual (Borlot, 2017), esquizofrenia (Malhotra, 2011) u otros trastornos psiquiátricos (Malhotra, 2011). Todas estas variantes tienen una penetrancia es incompleta y además son pleiotrópicas. Esto quiere decir que la presencia de la variante no asegura un fenotipo que se

adecúe al diagnóstico, aunque su probabilidad sí es muy alta y que el resultado fenotípico puede ser variable. Las CNVs, por tanto, afectan a grandes regiones del genoma, y ello implica la afectación de muchos genes y, por tanto, de muchas funciones biológicas (Malhotra, 2011). Por ello, la clínica asociada a los portadores de muchas de estas variantes suele comprender TEA o cuadros neuropsiquiátricos además de otra sintomatología diversa. Por razones de recurrencia de fallos en la replicación del genoma, algunas de estas variantes son lo suficientemente comunes como para que sus características asociadas se hayan estudiado individualmente, como las deleciones y duplicaciones del cromosoma 16p11.2 y las duplicaciones maternas 15q11 – q13 (Zúñiga, 2017). En general, las CNVs están fuertemente asociadas con el deterioro intelectual y la dismorfología (Barone, 2020).

Otro tipo de variantes genéticas raras de alto impacto en TEA son las SNVs (del inglés *single nucleotide variant*). Afectan a tan solo una base del genoma, pero si interrumpen el código de una proteína crítica o una zona de regulación genética de gran importancia pueden ocasionar un perjuicio muy elevado que aumente notablemente el riesgo al desarrollo de TEA. Las técnicas de secuenciación del genoma de última generación (NGS de *next generation sequencing*) han permitido la detección de variantes raras de alto impacto para ayudar en algún caso al diagnóstico genético que permita establecer una causa muy probable o una contribución muy clara de una variante detectada (Booke, 2020). Tanto en el caso de las CNVs como de las SNVs, su origen es frecuentemente *de novo* (Sanders, 2015; Satterstrom, 2020). Esto quiere decir que la mutación tiene lugar en la línea germinal parental (principalmente paterna) y manifiesta su efecto durante el desarrollo de hijo o hija afectados.

A pesar de que en un 15-20 % de los casos se pueden detectar casos de TEA con puede detectar una etiología genética específica o de elevada contribución al fenotipo debido a las mutaciones descritas anteriormente, a nivel poblacional este tipo de mutaciones o alteraciones genéticas puntuales solo explican alrededor de un 3-5% del riesgo genético de tener autismo (State, 2012). En este sentido, los

diagnósticos genéticos de X frágil, esclerosis tuberosa o síndrome de Rett, entre otros, representan una cantidad muy pequeña de casos generales de TEA. El riesgo que confieren las variantes raras del genoma (CNVs y SNVs) tiene mayor sentido a nivel poblacional por acumulación. Estudios recientes han podido describir la acumulación de variantes raras, principalmente *de novo*, en TEA (Sanders, 2015; Satterstrom, 2020). De hecho, gracias a la secuenciación de decenas de miles de sujetos afectados y controles sanos se han podido identificar hasta un total de 102 genes candidatos para autismo (Satterstrom, 2020), con evidencia de acumulación de variantes a título individual. Las grandes bases de datos con miles de muestras, la potencia computacional actual y la corriente imperante en investigación de compartir muestras entre distintos grupos de investigación han permitido obtener estos hallazgos a unos niveles de potencia estadística extraordinarios. El análisis de las funciones de estos genes afectados ha permitido conocer, desde el punto de vista genético, que en los TEA existe una clara afectación de genes implicados en la sinapsis (principalmente glutamatérgica) y en la regulación de expresión génica de otros genes de gran importancia durante el desarrollo temprano. En este momento, las funciones o moléculas más replicadas como afectadas por distintos genes candidatos de autismo son: i) Mecanismos sinápticos (NRXNs, CNTN3/4, CNTN3, SHANK3) ii) Migración, crecimiento y diferenciación neuronal (EN2 or MET, PTEN, TSC1/2, CNTAP2, FMR1) iii) Neurotransmisión excitatoria/inhibitoria (receptores gabaérgicos y glutamatérgicos, p.ej. GRIN2B) iv) Canales iónicos de la membrana neuronal (SCN2A), v) Regulación celular (DYRK1A), vi) Estructura celular (KAT5) y vii) Proteínas nucleares (POGZ, CHD8) (Parellada, 2013). Además de los genes ya descritos, el grupo de investigación liderado por la Dra. Parellada ha abierto recientemente una línea de investigación centrada en el estudio de los genes candidatos relacionados con la formación de las *tight junctions* esenciales para el correcto funcionamiento de las barreras intestinal y hematoencefálica. Estos genes son *OCN*, *CLDN1*, *CLDN5*, *ESAM*, *ZO1* y *ZO3* (State, 2012).

La convergencia de los hallazgos genéticos con implicaciones para la maduración sináptica es especialmente notable porque los hallazgos de la investigación de neuroimagen también sugieren que la conectividad cerebral estructural y funcional es aberrante en los trastornos del espectro autista. Por lo tanto, la evidencia genética y neurobiológica apunta a un buen modelo causal de este trastorno, a saber, anomalías mediadas genéticamente de la maduración sináptica y la conectividad (Martínez-Morga, 2018). Los investigadores deben explicar cómo los genes que afectan la maduración de la sinapsis pueden explicar comportamientos específicos y funciones cerebrales que se alteran, mientras que otros procesos se salvan simultáneamente. Posiblemente, los problemas de maduración sináptica no son omnipresentes en el cerebro y los genes que afectan la función cerebral se expresan regionalmente, afectando solo a algunos sistemas. Alternativamente, todos los circuitos y sinapsis en todo el cerebro podrían verse afectados, pero aquellos que median las habilidades sociales y comunicativas y la flexibilidad conductual podrían ser vulnerables a un defecto sináptico subyacente común.

Sin embargo, a pesar del notable avance en el conocimiento de la neurobiología subyacente a los TEA, así como en la posibilidad para la detección de variantes de potencial diagnóstico genético por su elevado riesgo, la mayor parte de la predisposición genética al desarrollo del TEA proviene de la variación genética común (Gaugler, 2014; Grove, 2019) o herencia poligénica.

Principalmente a través de variantes puntuales de frecuencia elevada en la población (superior al 1%) denominadas SNPs (del inglés *single nucleotide polymorphism*), la variación común genera un potencial de riesgo acumulativo muy elevado. Aunque el riesgo conferido por cada variante tomada de forma individual es bajo, a nivel poblacional la mayor contribución de la genética a los TEA se debe a la acumulación de este tipo de variación (Gaugler, 2014).

Recientemente se han desarrollado métodos específicos que nos permiten englobar bajo una puntuación estandarizada el riesgo de la acumulación de este tipo de variantes, el *polygenic risk score* o PRS. En el caso de los TEA, además, este riesgo PRS está muy correlacionado con el de otros trastornos psiquiátricos como esquizofrenia o trastorno depresivo mayor (Grove, 2019), y esta comorbilidad, así como el riesgo, son más determinantes en pacientes TEA de alto funcionamiento (González-Peñas, 2020; Grove, 2019). En este sentido, se ha demostrado una gran correlación genética entre distintos trastornos psiquiátricos como la esquizofrenia, el trastorno bipolar, la depresión mayor o el autismo. Estas correlaciones trascienden al trastorno psiquiátrico y han sido descritas igualmente entre trastornos psiquiátricos y rasgos de personalidad o variaciones a nivel comportamental (González-Peñas, 2020; Grove, 2017). En general, existe un gran solapamiento genético entre los distintos trastornos psiquiátricos. Podemos afirmar que, desde el punto de vista genético, los trastornos no son límites opuestos de una distribución, sino más bien parte de una misma predisposición que puede manifestarse de distintas formas a lo largo de un continuo. Lo podemos observar tanto en las correlaciones observadas sobre la variación común como en el alto pleiotropismo psiquiátrico de efecto notable sobre discapacidad intelectual, autismo o esquizofrenia. Esto es perfectamente coherente con las observaciones epidemiológicas que apuntaban a una clara agrupación de trastornos en determinadas familias, y no a la presencia de uno en particular (Jablensky, 2010).

Este grado de solapamiento también puede ser constatado desde el análisis de los loci asociados significativamente a los distintos trastornos psiquiátricos en los estudios de GWAS. Genes relacionados con la señalización del canal de calcio, metilación de histonas, función sináptica o función inmune están implicados tanto en esquizofrenia como en depresión, TDAH o trastorno bipolar (Grove, 2019).

Sin embargo, la heredabilidad independiente de cada uno de los dominios de la sintomatología del autismo sigue siendo un tema de debate. Mientras que algunos argumentan que los diferentes síntomas

TEA, en gran medida, tienen influencias genéticas separadas, otros argumentan que existe una fuerte evidencia a favor de la hipótesis de que los dominios de los síntomas representan manifestaciones conductuales correlacionadas de un único deterioro cuantitativo del neurodesarrollo subyacente (Booke, 2020).

Las personas con TEA varían en la capacidad del lenguaje, desde la ausencia del habla hasta el lenguaje fluido, y en el desarrollo cognitivo, desde una discapacidad intelectual grave hasta un funcionamiento intelectual superior al promedio. Los individuos también pueden presentar comorbilidades médicas asociadas que incluyen epilepsia y anomalías físicas menores, así como comorbilidades psiquiátricas, mostrando así una amplia heterogeneidad clínica. La heterogeneidad clínica del autismo ha sido durante mucho tiempo un obstáculo para comprender los mecanismos fisiopatológicos implicados (Cohmer, 2014).

De forma paralela al avance en la investigación de las bases genéticas subyacentes a los fenotipos autistas, los debates recientes sobre el aumento de la prevalencia de los TEA han puesto de relieve la necesidad de ampliar la investigación a posibles causas ambientales que pudieran interactuar con los factores genéticos en su etiología.

Precisamente el estudio de la variación común de predisposición a TEA, en conjunción con la presencia de variantes raras anteriormente explicadas, ha llevado a una situación bastante sorprendente. Mientras que la presencia de CNVs o SNVs de riesgo se asocian con una mayor afectación cognitiva, discapacidad intelectual y otras comorbilidades médicas severas (Buja, 2018), la mayor acumulación de variación común se asocia a alto funcionamiento y mayor rendimiento cognitivo en la población general (Clarke, 2016). Uno de los retos de la genética de esta década es determinar la compleja red de interacción entre variantes raras y comunes de predisposición a TEA (Klei, 2021).

En relación a la traslación de estos conocimientos a la práctica clínica, muchas organizaciones de médicos recomiendan que todos los niños con TEA se sometan a pruebas genéticas, incluidas las pruebas clásicas del síndrome del X frágil y de *microarrays* para detectar CNVs. Algunos médicos en América del Norte y Europa ya ordenan la secuenciación del exoma completo o del genoma completo para niños sin hallazgos de *microarrays* cromosómicos (orientados a la detección de CNVs), por la posible presencia de otras variantes SNVs de alto impacto. La secuenciación pronto podría convertirse en el estándar de atención para los TEA en algunos países. Aunque cualquier médico puede solicitar las pruebas, la derivación a un especialista, como un genetista clínico, generalmente está indicada para niños con hallazgos genómicos específicos (Méndez, 1993). Actualmente, las pruebas genéticas tienen el potencial de mejorar la planificación familiar (y proporcionar una explicación médica para los TEA de un paciente en algunos casos), activar la detección de problemas médicos concurrentes, ayudar en el pronóstico y conectar a las familias con grupos de apoyo específicos. En la próxima década, se espera que la investigación genética permita el desarrollo de nuevos tratamientos para algunos pacientes con TEA (Hodges, 2020). No obstante, es necesario recalcar que a día de hoy estas pruebas son informativas en un número reducido de casos, y algunas estrategias de estratificación de pacientes TEA podrían ayudar a mejorar el rendimiento de estas pruebas y mejorar la coste-eficiencia del proceso de personalización de la medicina.

Factores ambientales en el autismo, con especial énfasis en características parentales y condiciones del periodo del embarazo

A la par que diferentes factores genéticos (variación común, muy prevalente pero con poco riesgo asociado y variación rara, muy poco prevalente pero con alto riesgo asociado) podrían influir en el desarrollo de los TEA, algunas revisiones recientes destacan la importancia de cómo los factores ambientales intrauterinos, obstétricos y/o parentales (considerados como factores no genéticos), que

han sido nombrados entre los factores contribuyentes al aumento de las tasas de TEA (Emberti Gialloreti, 2019; Modabbernia, 2017; Parellada, 2013), podrían interactuar con los factores genéticos, aumentando el riesgo de autismo en la descendencia (Emberti Gialloreti, 2019; Hertz-Picciotto, 2018; Modabbernia, 2017).

Entre los factores parentales, la investigación ha identificado repetidamente la edad avanzada de los padres en el momento de la concepción (Hultman, 2011; Janecka, 2017), antecedentes psiquiátricos de ansiedad o depresión, rasgos autistas de los padres (Gratten, 2016) o el estrés materno durante el embarazo (Beversdorf, 2005; Kinney, 2008; Kinney, 2008).

Ningún factor ambiental individual explica por sí mismo el aumento de la prevalencia del autismo. La mayoría de los estudios exploran el riesgo de tener o no tener TEA en presencia de uno o más factores ambientales.

Si bien diferentes estudios de cohortes determinan este tipo de factores ambientales como factores de riesgo para el posterior desarrollo de los TEA, resulta imposible determinar a día de hoy si estos factores tienen una asociación causal directa respecto del autismo o si bien es la combinación de diferentes factores (ambientales y genéticos) la responsable etiológica última; en ese sentido habría una interacción entre vulnerabilidad genética para los TEA y presencia de factores de riesgo ambiental (Modabbernia, 2017). Con gran probabilidad, los factores ambientales producen una influencia más o menos patógena según el momento (*timing*) en que ocurren en relación al desarrollo evolutivo (fundamentalmente intrauterino). Así, el aumento de riesgo que ejerce un determinado factor respecto al resultado de distintos problemas de neurodesarrollo (discapacidad intelectual, autismo, o incluso esquizofrenia) va a depender en parte del momento del embarazo en que ese factor ocurre, por los efectos (inflamación y otros) sobre procesos específicos del desarrollo (State, 2012).

Una de las preocupaciones para identificar con precisión la relación entre el comienzo del autismo y los factores de riesgo ambiental son las posibles influencias epigenómicas ambientales. Los cambios en la programación fetal mediados por el medio-ambiente pueden limitarse al período de desarrollo prenatal de un individuo o, alternativamente, pueden tener efectos multigeneracionales donde la alteración en el control de la expresión génica puede aparecer en generaciones posteriores después de la introducción de un factor de riesgo ambiental (Nagarajan, 2008).

El autismo es un trastorno del desarrollo, lo que presupone que la alteración o interrupción de pasos de maduración específicos en el cerebro es un requisito previo para desarrollar la afección. Pero, precisamente, ¿cuándo ocurre esta disrupción? Claramente, con el autismo ahora diagnosticado rutinariamente antes de los 2 años de edad, las ventanas sensibles de vulnerabilidad del desarrollo deben ocurrir durante los períodos de desarrollo prenatal y / o postnatal temprano. Dentro de ese período general de desarrollo, es probable que haya ventanas más estrechas de mayor riesgo de exposición a condiciones ambientales (Dietert, 2011).

El aumento de riesgo de autismo asociado a eventos traumáticos perinatales ha sido ampliamente replicado. Algunos de los factores de riesgo obstétrico identificados han sido el bajo peso al nacer, la mayor duración de la gestación, el parto inducido, la hipoxia intraparto o la toma de medicación durante el embarazo por parte de la madre (Hadjkacem, 2016; Kolevzon, 2007; Modabbernia, 2017; Smallwood, 2016; Wang, 2017). Estudios en animales han demostrado también que se pueden inducir modelos animales de autismo (con algunos síntomas de déficits en socialización y/o movimientos repetitivos/estereotipados) exponiendo durante etapas medias del embarazo a las madres gestantes a factores como la ingesta de ácido valproico (VPA) o produciendo una inflamación generalizada (modelos Maternal Immune Activation o MIA) con distintos agentes.

Estos hallazgos ponen de manifiesto que el entorno fetal tiene un impacto significativo en el estado neurológico de la vida posterior y la existencia de importantes ventanas prenatales. Sin embargo, no excluye la posibilidad de efectos de exposición posnatal significativos en el riesgo de autismo.

Sin embargo, pocas son las investigaciones que se centran en evaluar la relación entre factores ambientales y genéticos y su relación con la gravedad sintomatológica de sujetos con TEA, a pesar de que estos factores podrían actuar como factores de riesgo no sólo para el autismo *per se*, sino también para la gravedad de la condición dentro del fenotipo del autismo. Además, los estudios que han intentado abordar esta posible interacción genético-ambiental sobre la gravedad del trastorno de neurodesarrollo cuentan con limitaciones metodológicas tales como utilizar exclusivamente herramientas de diagnóstico y no de gravedad de los síntomas, para determinar el nivel de ésta última. En algunas investigaciones se ha explorado parcialmente este tema, y se ha observado por ejemplo la relación de algunos de estos factores no directamente con la presencia de TEA sino con dificultades cognitivas o motoras, que en sujetos con TEA conformarían síntomas asociados que podrían influir en la gravedad de los síntomas TEA (Wallace, 2008).

La relación entre factores biológicos o predisponentes y la caracterización y gravedad clínica

Los cambios conceptuales en el estudio del autismo (la incorporación de un espectro de dificultades alrededor de la propia categorización), junto con factores como la mejor detección y diagnóstico, han sido una de las causas apuntadas para explicar el aumento de prevalencia del autismo observado en los últimos años (Weintraub, 2011), que no parece poder explicarse solo por causas biológicas. Estos cambios en conceptualización del trastorno dificultan el avance de la investigación, haciendo difícilmente

comparables estudios realizados con una separación de solo unos pocos años. El estudio de las bases biológicas del autismo y las relaciones de los distintos mecanismos fisiopatológicos implicados en los distintos fenotipos observados puede llevar a avances más robustos en el conocimiento del origen del autismo, menos influida por estos cambios históricos en la conceptualización.

En esta línea de investigación, algunos autores han conseguido describir *clusters* patogénicos dentro de los TEA. Uno de los grupos más productivos en este sentido es el grupo del Campus Bio-Medico de Roma, donde han identificado 4 *clusters* patogénicos en autismo, a saber: 1) un grupo con importantes problemas inmunológicos y algunas disfunciones circadianas y sensoriales; 2) un grupo con marcadas alteraciones sensoriales y circadianas y moderada disfunción inmune, 3) un grupo con un comportamiento estereotipado predominante y 4), un grupo con mezcla de los 3 anteriores y grave afectación intelectual y problemas de comportamiento. Algunos de estos grupos o *clusters* han sido asociados con bio-marcadores como el aumento de perímetro cefálico, la hiperserotoninemia o la peptiduria (Sacco, 2010; Sacco, 2012). Estos estudios necesitan replicación en muestras diferentes, y tener en cuenta otros especificadores clínicos con potencial valor marcador de una determinada patogenia. Por ejemplo, las alteraciones sensoriales típicas del autismo (como la hiperestesia auditiva, o la hipo o hiperestesia propioceptiva) podrían tener su origen en mecanismos fisiopatológicos sistémicos como las alteraciones en alteraciones inmunológicas (incluida la inflamación) o mecanismos redox que afectan la neuromodulación (Herbert, 2010).

Otro ejemplo sería el de las alteraciones digestivas asociadas a un porcentaje elevado de pacientes con autismo, con un OR=4,42 en un reciente meta-análisis (McElhanon, 2014). Existen estudios en marcha que están estudiando las alteraciones digestivas funcionales y su relación con procesos inflamatorios sistémicos que pueden estar presentes como mecanismos patogénicos intermedios en un subgrupo de pacientes con autismo (Bordeleau, 2020; Doenyas, 2021; Settanni, 2021).

Los antecedentes de regresión evolutiva (sobre todo en lenguaje y en reciprocidad social) que aparecen en hasta un 25 % de pacientes con autismo hacia los 18-24 meses de vida, probablemente dan cuenta de procesos patológicos (de afectación de genes críticos del neurodesarrollo o de interacciones entre factores ambientales operantes en esa etapa de la vida con factores de predisposición genética) diferentes de los que afectan a personas con autismo desde el inicio de la vida (considerados portadores de una encefalopatía más estática y estructural) (Parr, 2011; Simonoff, 2020).

Por otro lado, los análisis de las relaciones entre genotipo y fenotipo en los TEA, la identificación de regiones del genoma reguladoras específicas de cada tipo celular y la aplicación de herramientas bioinformáticas han allanado el camino al análisis de proteómica en autismo. Hoy en día, se han identificado numerosas proteínas relacionadas con el autismo y que son objeto de intensos esfuerzos de investigación para comprender los riesgos fenotípicos del autismo. Algunos ejemplos son la proteína MeCP2 (proteína de unión a metil CpG 2), proteína relina y CNTNAP2 / CASPR2 (proteína 2 similar a la proteína asociada a la contactina) (Wallace, 2008).

Como parte de la presente tesis doctoral, se han seleccionado factores de riesgo o predisposición ambiental concretos, con amplia bibliografía sobre su relación con el aumento de incidencia de TEA, para crear tres hipótesis de trabajo y con ello tres estudios independientes aunque relacionados donde se busca explorar la relación de estos factores de riesgo con el fenotipo dentro de los individuos con TEA. De esta manera, se han seleccionado estos factores en base a tres momentos o periodos: anterior al embarazo (rasgos autistas en los padres y edad de concepción), características presentes en la etapa prenatal (estrés materno durante el embarazo y complicaciones obstétricas prenatales), y características perinatales (exposición a la oxitocina durante el parto).

A continuación, se presenta la introducción específica de cada uno de los 3 estudios que conforman esta tesis. El primero de los estudios ha sido publicado en forma de artículo en la Revista de Psiquiatría y Salud Mental (RPSM) en diciembre de 2021. El segundo estudio está en preparación para ser enviado a publicación. El tercer estudio ha sido publicado en forma de artículo en la revista Journal of Autism and Developmental Disorders (JADD) en enero de 2022.

Estudio 1. Rasgos autistas de los padres, edad de concepción y antecedentes poligénicos en los trastornos del espectro autista

La edad avanzada de los padres en el momento de la concepción (APA) se ha asociado con un mayor riesgo de autismo y otros trastornos del neurodesarrollo en la descendencia (Chengzhong Wang, 2017); (Modabbernia, 2017); (Hultman, 2011); (McGrath, 2014); (Janecka, 2017); (Reichenberg, 2006). Estos estudios han informado principalmente de que los padres de mayor edad tienen un mayor riesgo de tener hijos afectados por TEA. Los investigadores han demostrado que las mutaciones *de novo* en las células germinales masculinas acumuladas durante el envejecimiento aumentan el riesgo de trastornos del neurodesarrollo, como la esquizofrenia o el autismo (Iossifov, 2014; Kong, 2012; Neale, 2012; Sebat, 2007). Sin embargo, las mutaciones *de novo* sólo representan una parte del riesgo asociado a la APA (Taylor, 2019), y otros investigadores han propuesto modelos explicativos alternativos (pero no mutuamente excluyentes), incluyendo la posibilidad de que el retraso en la paternidad sea una consecuencia de rasgos autistas en el progenitor (Gratten, 2016). El retraso en la maternidad también se ha asociado a un mayor riesgo de TEA en la descendencia (King, 2009), especialmente en los sujetos de alto funcionamiento (Merikangas, 2017); (Sandin, 2012), sin datos sobre los posibles mecanismos.

Los rasgos autistas parecen estar distribuidos de forma continua en la población general, según los estudios que han administrado cuestionarios de rasgos autistas a población no clínica, como el Cociente de Espectro Autista para adultos (AQ) (Baron-Cohen, 2001). Los rasgos autistas también se han evaluado

en poblaciones específicas (Baron-Cohen, 2001); (Jobe, 2007); por ejemplo, el AQ se ha utilizado para comparar a los padres de sujetos con TEA con los padres de niños con desarrollo típico en China, Estambul, Irán, Australia y otros países (Zhang, 2016; Bora, 2017; Mohammadi, 2012; Bishop, 2004). Los padres de los participantes con TEA en esos estudios mostraron puntuaciones de AQ más altas que los padres de los participantes de control.

Se ha sugerido (Gratten, 2016) que los rasgos de autismo en los progenitores se asociarían con un mayor riesgo de variación común para el autismo y, posteriormente, con mayores puntuaciones de riesgo poligénico de autismo. Recientemente esta relación ha sido demostrada, al menos en el caso de las madres (Nayar, 2021). Los últimos estudios de asociación del genoma de los TEA (GWAS) (González-Peñas, 2020; Grove, 2017) demostraron que la contribución poligénica en el Síndrome de Asperger es casi el doble que en otros subtipos de TEA. Por lo tanto, los pacientes con SA podrían ser la población de TEA más informativa para explorar la relación entre AQ y PRS y el retraso en la paternidad.

Estudio 2. El estrés materno durante el embarazo como predictor de la sintomatología restringida, repetitiva y estereotipada en los hijos con Trastornos del Espectro Autista

El estrés materno durante el embarazo se ha asociado repetidamente con una mayor gravedad de los síntomas centrales, específicamente con comportamientos restringidos, repetitivos y estereotipados (RRB) (Wallace, 2008), pero más en animales y en individuos con desarrollo típico que en sujetos con TEA, donde la asociación sólo se ha estudiado de forma indirecta e imprecisa (ver Varcin, 2017, un estudio en el que esta relación se estudia sólo a posteriori/como resultado secundario). En animales, tanto el estrés inducido en el embarazo (Luescher, 2000; Schneider, 2004) como las complicaciones obstétricas (Laviola, 2004) aumentan la gravedad del comportamiento compulsivo o estereotipado en la descendencia. En humanos, los estudios han utilizado las catástrofes naturales como eventos estresantes experimentados

por las madres durante el embarazo, asociados con mayores tasas de comportamiento estereotipado o repetitivo en la descendencia (King, 2005).

La cuestión de si el estrés prenatal materno y, en general, todos los demás factores de riesgo parentales identificados actúan por separado en el riesgo de autismo, así como si se consideran únicamente ambientales, está en duda, ya que cada uno de ellos podría tener un efecto acumulativo o mediador en el origen del TEA con otros factores de riesgo, lo que podría ser un reflejo de su carga genética. Aunque los resultados aún no son concluyentes, parece haber indicios de que los problemas de salud mental de la madre (por ejemplo, rasgos de ansiedad previos o estrés durante el embarazo) pueden actuar como factor mediador con las complicaciones obstétricas o las características de los padres sobre la gravedad del autismo en la descendencia (Abbott, 2018; Kinney, 2008). Algunos estudios han intentado estudiar la posible predisposición genética de las madres de individuos con TEA a desarrollar rasgos de ansiedad y, por lo tanto, un mayor estrés durante el embarazo que afecte al desarrollo del cerebro, pero los resultados son contradictorios (Hecht, 2016; Velders, 2012).

Estudio 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

Aunque la discapacidad intelectual y el deterioro del lenguaje no son síntomas centrales de los TEA, están significativamente asociados con el pronóstico de los pacientes con TEA. Por ello, con el DSM-5 se consideran ahora especificadores clínicos relevantes que deben añadirse a un diagnóstico de TEA (Dietz, 2007).

La exposición a la oxitocina durante el parto también se ha asociado a un mayor riesgo de TEA y de deterioro cognitivo (Lønfeldt, 2019), aunque la dirección de la asociación no se ha determinado de forma sólida. Estas complicaciones obstétricas parecen actuar como factores de riesgo no sólo para el autismo y

otros trastornos del neurodesarrollo *per se*, sino también para la gravedad de la condición dentro del fenotipo del autismo (Wallace, 2008). La bibliografía que apoya esta asociación sigue siendo contradictoria, y la vulnerabilidad genética o ambiental sigue siendo un factor de confusión en los estudios observacionales (Hadjkacem, 2019).

En cuanto a los factores genéticos, mientras que las mutaciones *de novo* que alteran la secuencia de la proteína se han asociado con un deterioro clínico más grave, incluyendo la discapacidad intelectual (Iossifov, 2014) y comorbilidades neurológicas (Buja, 2018; Xiong, 2019), la variación predisponente común es más frecuente en los pacientes con TEA de alto funcionamiento; además, estos factores predicen un mejor rendimiento cognitivo y nivel educativo (EA) en la población general (Bulik-Sullivan, 2015; Clarke, 2016).

Objetivos

Objetivo general

Estudiar la influencia y posible interacción entre la carga genética y la carga de factores ambientales sobre el nivel de gravedad de los síntomas TEA, y la presencia y gravedad de otras condiciones asociadas al trastorno tales como discapacidad intelectual, alteraciones del lenguaje asociadas, regresión evolutiva, o diagnóstico de epilepsia, entre otros.

Objetivos específicos de cada estudio:

- Estudio 1:

Examinar si los rasgos autistas en los progenitores de los sujetos con TEA, medidos a través del Cociente del Espectro Autista (AQ), se correlacionan con la edad de los progenitores en el momento de la concepción. En concreto, i) administrar el cuestionario AQ a 128 padres y madres de niños con TEA, ii) diseccionar hasta qué punto esta correlación difiere según el diagnóstico del subtipo de TEA según DSM-IV, iii) explorar la relación entre los rasgos autistas de los progenitores y la vulnerabilidad poligénica en 83 tríos (hijo, madre y padre) con información genética disponible; iv), estudiar la relación entre los rasgos autistas en las madres y los rasgos autistas en los padres.

- Estudio 2:

Estudiar si el estrés materno durante el embarazo, provocado por factores del entorno de la madre no relacionados con el embarazo, podría ser un predictor de la posterior gravedad de la sintomatología de comportamientos repetitivos e intereses restringidos (RRB) en la descendencia

con TEA. Para ello, i) evaluar con la entrevista Reajuste Social de Holmes y Rahe (SRRS) administrada a las madres de 116 niños con TEA sobre sus experiencias durante el embarazo y ver su asociación con los RRB; ii) de existir esa relación, estudiar además qué otras características maternas contribuyen a ella.

- Estudio 3:

Estudiar la asociación entre la exposición a la oxitocina durante el parto, la susceptibilidad genética al autismo y el retraso general del desarrollo en sujetos con TEA. En concreto, i) analizar 176 tríos (hijo, madre y padre) de TEA con información obstétrica materna recopilada y secuenciación del exoma disponible ii) evaluar si la exposición a la oxitocina se asocia con el rendimiento cognitivo y la gravedad clínica en esta muestra de TEA, iii) en un subconjunto con datos genéticos, obstétricos y de desarrollo disponibles, analizar las mutaciones raras *de novo* de alto impacto y las puntuaciones poligénicas (PRS) para comparar la arquitectura genética de los casos de TEA con y sin exposición a la oxitocina durante el parto (N=143).

Hipótesis

Estudio 1.

1. La edad avanzada de los progenitores en el momento de la concepción se correlacionará con mayor presencia de rasgos autistas en los progenitores (puntuaciones de AQ).
2. Mayor presencia de rasgos autistas en los progenitores se correlacionará con fenotipo Asperger en los hijos.
3. Mayor riesgo poligénico en los progenitores se correlacionará con rasgos autistas en progenitores.

Estudio 2.

4. El estrés materno durante el embarazo, provocado por factores del entorno de la madre no relacionados con el embarazo, se asociará con mayor gravedad de la sintomatología de RRB en los hijos con TEA.

Estudio 3.

5. El uso de oxitocina exógena durante el parto puede actuar como un indicador temprano de desarrollo prenatal anormal, que se manifestará en forma de mayor presencia de uso de oxitocina en pacientes poseedores de mutaciones patogénicas y en pacientes con marcadores evolutivos de neurodesarrollo temprano patológico (como menor cociente de desarrollo).

Métodos

Aspectos generales de la metodología común a los tres estudios

Para desarrollar esta tesis doctoral, se realizaron tres estudios independientes, pero que conjuntamente buscaban responder a los objetivos generales del presente trabajo previamente señalados.

Estudio 1) Análisis exploratorio de los rasgos autistas de los padres, edad de concepción y antecedentes poligénicos en los trastornos del espectro autista.

Estudio 2) El estrés materno durante el embarazo como predictor de la sintomatología restringida, repetitiva y estereotipada en los hijos con Trastornos del Espectro Autista.

Estudio 3) La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

A continuación se expone la metodología común a los tres estudios.

Muestra

Los pacientes incluidos en los tres estudios de esta tesis doctoral pertenecen a los siguientes estudios de investigación más amplios: “Bases Genéticas del Autismo” y “Estudio de vías fisiopatológicas diferenciales asociadas a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastorno del Espectro Autista”, el primero autofinanciado por el Programa de Atención Médica Integral a Trastornos del Espectro Autista del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (AMI-TEA) (Parellada, 2013) y cuyas muestras se almacenan en el Ministerio de Sanidad Colección de ASD (Colección # C.000148, Investigador Principal Mara Parellada), y el segundo financiado por Fondo de Investigación Sanitaria (F.I.S.) del Instituto de Salud Carlos III (PI14/02103) del Ministerio de Sanidad.

Los pacientes incluidos en estos estudios tienen muestra almacenada para análisis genéticos, con consentimiento expreso para ello (proyecto “Bases Genéticas del Autismo”). Esta colección de muestras participa desde el año 2013 en el Autism Sequencing Consortium (ASC), financiado por el National Institute of Mental Health (NIMH) de Estados Unidos (EEUU). La participación en este Consorcio se plasmó en un acuerdo de colaboración, autorizado por el Comité de Ética e Investigación de la Fundación de Investigación Biomédica del Hospital Gregorio Marañón entre la Investigadora de la Colección y dicho Consorcio, el Memorandum of Understanding (MOU), firmado el 6 de junio de 2013. A la fecha de explotación de los datos incluidos en los 3 estudios que conforman esta tesis, se habían enviado al ASC (específicamente al Mount Sinai Hospital de EEUU) y se habían recibido datos de secuenciación exómica de 149 trios (pacientes y sus padres, total de 447 muestras).

El reclutamiento de pacientes se llevó a cabo en las consultas del Programa AMI-TEA entre 2011 y 2019. La evaluación de los mismos tuvo lugar parcialmente durante la participación de los pacientes en las consultas clínicas de AMITEA (la evaluación que llevó al diagnóstico), durante el desarrollo de los proyectos arriba referidos y durante el trabajo de campo de esta tesis.

Los criterios de inclusión/exclusión de los pacientes incluidos comunes a los tres estudios fueron los siguientes:

- Tener un diagnóstico clínico de Trastorno del Espectro Autista según DSM-IV-TR o DSM-5.
- Tener tres años de edad o más.
- Castellano como primera lengua.
- Haber firmado el Consentimiento Informado de alguno de los dos estudios el paciente, o bien su tutor o responsable legal (**Anexos 1 y 2**).

Los criterios de inclusión/exclusión específicos del primer estudio fueron:

- Tener la información del cuestionario de rasgos TEA utilizado para el estudio de ambos progenitores.

Los criterios de inclusión/exclusión específicos del segundo estudio fueron:

- Disponibilidad de información sobre condiciones obstétricas recogidas a través de una entrevista estructurada con la madre así como el cuestionario de condiciones estresantes The Early Life Exposures Assessment Tool (ELEAT) adaptado cumplimentado.

Los criterios de inclusión/exclusión específicos del tercer estudio fueron:

- Disponibilidad del dato de uso de oxitocina durante el parto a través de una entrevista estructurada con la madre diseñada para el estudio 1 como para el estudio 3.
- Tanto para el Estudio 1 como para el Estudio 3, aquellos pacientes con muestra recogida en la Colección de muestras C.000148, arriba citada y con datos de exoma disponibles como parte de la participación en el Consorcio ASC formaron parte de un subestudio de interacción de variantes genéticas (*de novo* y riesgo poligénico) con las variables ambientales estudiadas.

Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada participante y/o de sus tutores legales, según el caso. Cuando se recogió información de los progenitores, éstos firmaron además su propio consentimiento informado. Tanto previa firma del consentimiento como en adelante, los participantes tuvieron la posibilidad de realizar todas las preguntas que les surgiesen, así como se garantizó la posibilidad de salir del estudio en el momento que lo consideraran, y el trato confidencial de

los datos. En los **anexos 1 y 2** se adjunta una copia de los consentimientos informados de ambos estudios.

Se cumplió con todas las exigencias de Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, legislación vigente en nuestro país.

Todos los procedimientos que contribuyen a estos tres estudios cumplen con las normas éticas de los comités nacionales e institucionales pertinentes sobre experimentación humana y con la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 2008.

Cada uno de los sujetos recibió un código en el estudio del que provenían con el que fueron identificados a lo largo del estudio. Ni los nombres, ni cualquier otro dato que pudiese llevar a la identificación de los sujetos que participaron en los estudios fueron publicados.

Se diseñó un Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) para recoger de forma sistemática todas las variables relacionadas con el estudio. En este se incluyeron variables sociodemográficas y clínicas, criterios diagnósticos y las distintas escalas o instrumentos de medida a continuación descritos.

Variables sociodemográficas

Los datos sociodemográficos de los individuos con TEA y de sus padres (sexo, edad, raza, estatus socio-económico de los progenitores, edad de concepción), la presentación clínica temprana de los sujetos con TEA (regresión del desarrollo, edad de reconocimiento de los primeros síntomas de autismo, nivel del lenguaje, presencia de diagnóstico de epilepsia) y algunos datos obstétricos concretos (uso de oxitocina durante el parto, después de explicar a las madres qué es exactamente o cuándo se administra este fármaco, para evitar la confusión con la anestesia epidural) se recogieron a través de una entrevista

estructurada que se creó para los estudios de los que provienen los sujetos y que se administró a los progenitores de éstos.

El estatus socio-económico de los progenitores se determinó usando la escala Hollingshead- Redlich Scale (Hollingshead, 1975) clasificándose del siguiente modo: bajo, medio-bajo (puntuaciones de 1 o 2 respectivamente), medio (puntuaciones de 3), o medio-alto, alto (puntuaciones de 4 o 5 respectivamente).

Diagnóstico clínico, caracterización y nivel de gravedad de la sintomatología TEA

El diagnóstico de TEA se realizó siguiendo las recomendaciones de la Academia Americana de Psiquiatría del Niño y del Adolescente (AACAP) (Volkmar, 2014). De esta forma, el diagnóstico clínico de TEA fue evaluado según el juicio clínico de psiquiatras de niños y adolescentes, siguiendo el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, Cuarta Edición, Revisión del Texto, y Quinta Edición (DSM-IV-TR y DSM-5)(American Psychiatric Association, 2002; American Psychiatric Association, 2013) después de una historia completa del desarrollo, médica y psiquiátrica, la revisión de informes educativos, médicos y psicológicos previos, y la observación no estructurada del comportamiento del niño en consulta. Tanto para apoyar al diagnóstico clínico, como para la mejor caracterización de la muestra, la Escala de Observación Diagnóstica del Autismo, 2 (ADOS-2)(Lord, 2012) y/o la Entrevista Diagnóstica del Autismo, Revisada (ADI-R)(Rutter, 2003) fueron administradas por un clínico diferente con formación en estas herramientas de evaluación.

El DSM es el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales de la Asociación Americana de Psiquiatría (American Psychiatric Association, APA). Es un sistema de clasificación de los trastornos mentales con gran aceptación tanto para el diagnóstico clínico como para el ámbito de investigación. Se compone de criterios que definen a través de descripciones, síntomas y otras condiciones, cada

diagnóstico, ayudando a que éste sea preciso y consistente. Aunque la edición más reciente, aprobada en 2013, es la DSM-5, para este proyecto hemos tenido en cuenta además la versión anterior, DSM-IV-TR, del 2002, dado que entre una y otra ha habido un cambio en la forma de clasificar, desapareciendo en la última versión los subtipos diagnósticos comúnmente utilizados tanto en el ámbito clínico como en investigación hasta recientemente. De esta manera, para algunos análisis en los que queríamos diferenciar por los subtipos clásicos hemos utilizado el DSM-IV, mientras que para caracterizar y describir la sintomatología de los individuos hemos utilizado los criterios más actualizados del DSM-5.

La Escala de Observación para el Diagnóstico de Autismo (ADOS-2, Autism Diagnostic Observation Schedule) (Lord, 2012) evalúa la comunicación, la interacción social y el juego o el uso imaginativo de materiales de manera estandarizada y semiestructurada en individuos con sospecha de un diagnóstico de Trastorno del Espectro Autista. A través de un conjunto de actividades y situaciones sociales planificadas, el evaluador puede observar si aparecen o no ciertos comportamientos que se han identificado como importantes para el diagnóstico de los TEA. El ADOS-2 se compone de cinco módulos, cada uno enfocado a niños o adultos de diferentes niveles de lenguaje y que tiene en cuenta también la edad. Tras su aplicación, se codifican los comportamientos en unas puntuaciones algunas de las cuales posteriormente se trasladan a un algoritmo diagnóstico y se le atribuye una clasificación diagnóstica ADOS-2 que indica si la sintomatología observada es compatible o no con la presencia de un Trastorno del Espectro Autista. La ADOS Calibrated Severity Score (CSS) (Gotham, 2009; Hus, 2014) es la medida de gravedad estandarizada que se obtiene desde las puntuaciones totales del ADOS-2. Se creó para facilitar la comparación de la gravedad de la sintomatología TEA intrasujeto a lo largo del tiempo (a pesar de cambiar de módulo de aplicación) e intersujeto, comparando con sujetos del mismo nivel de lenguaje y desarrollo (intra-módulo).

La Entrevista para el Diagnóstico del Autismo - Revisada es una entrevista clínica que permite una evaluación profunda de sujetos con sospechas de autismo o algún Trastorno del Espectro Autista. Explora tres grandes áreas (lenguaje/comunicación, interacciones sociales recíprocas y conductas e intereses restringidos, repetitivos y estereotipados) a través de preguntas que se le hacen al progenitor o cuidador. La información recogida se codifica y se traslada a unos algoritmos que orientan el diagnóstico y la evaluación de la situación actual.

Para la **evaluación de la competencia cognitiva**, se aceptó una medición previa si se obtenía mediante escalas estándar con una media de 100 y una desviación estándar de 15. Entre ellas se incluían las medidas del cociente intelectual (CI) mediante las escalas de Wechsler (Merchán-Naranjo, 2012; Wechsler, 2003; Wechsler, 2008), Leiter International Performance Scale (Leiter-R) (Leiter, 1948), o Kaufman Brief Intelligence Test (K-BIT) (Kaufman, 1990), y si las pruebas de CI no eran factibles debido a la ausencia de habilidades lingüísticas o a la corta edad, se utilizó un índice de desarrollo cognitivo utilizando, obtenido mediante la escala el Merrill-Palmer (Roid, 2004) o Brunet-Lezine scales (Josse, 1997).

Evaluación genética

Datos de secuenciación del exoma

Las muestras de tríos españoles de TEA utilizadas en este estudio fueron secuenciadas como parte del Autism Sequencing Consortium (ASC), más arriba referido, quien se encargó de realizar el proceso de preparación de los datos de secuenciación hasta la disposición de las variantes de exoma de calidad sin filtrar. La secuenciación del exoma se realizó en la plataforma de secuenciación *Illumina HiSeq* del Broad Institute Genomics. La detección de variantes se realizó en todo el conjunto de datos del consorcio, como se explica en su publicación principal (Satterstrom, 2020). Brevemente, los datos de secuenciación en

bruto se procesaron utilizando el Genome Analysis Toolkit (GATK) (McKenna, 2010) para producir archivos de variantes en formato VCF 4.1. La precisión de la detección de las variantes se estimó utilizando el enfoque de Recalibración de la Puntuación de Calidad de las Variantes (VQSR) de GATK. Se filtraron las detecciones con una profundidad de cobertura inferior a 10 o superior a 1.000.

Análisis de variantes raras de novo

La variación rara entre los tríos se extrajo de los datos de secuenciación generados por el Autism Sequencing Consortium. Para nuestro análisis de variantes raras, seleccionamos la variación rara *de novo* que truncase la estructura de proteínas (dnPTV): variantes nonsense o de cambio de marco o de empalme en genes intolerantes a la pérdida de función (LoF) (probabilidad de ser un gen intolerante a la pérdida de función (pLI) > 0,9) y presentes en ExAC [<http://exac.broadinstitute.org/>] o en la base de 1000 Genomes Project (1KG) [<http://www.internationalgenome.org/>] con una frecuencia alélica inferior al 0,1% en la población europea.

Cálculo de la puntuación poligénica (PRS)

En primer lugar, los archivos VCF basados en el exoma se imputaron en el Michigan Imputation Server (<https://imputationserver.sph.umich.edu/>) usando el panel de referencia fase 3 v.5 del 1000 Genomes Project para capturar variantes genómicas fuera del exoma. A continuación, se calcularon los PRS utilizando estos datos imputados como muestra objetivo y de los GWAS en el resumen de análisis estadísticos (descritas en la metodología específica de cada estudio) como muestra de descubrimiento (Grove, 2017), siguiendo los procedimientos de trabajo anteriores (Costas, 2016).

El PRS se calculó para cada sujeto, y consistió en la suma del número de alelos de efecto presentes, ponderada por el efecto de los mismos en la muestra de descubrimiento (usando el logaritmo de la razón de probabilidades: logOR). Sólo se incluyeron las variantes bi-alélicas con una puntuación de calidad de

imputación $> 0,9$ y una frecuencia alélica menor (MAF) $> 0,1\%$. También se excluyeron los indels (inserciones/delecciones) y los SNPs en posiciones genómicas ambiguas (genotipos A/T y C/G). Debido al patrón de desequilibrio de ligamiento (LD) extremadamente complejo, se eliminaron las variantes genéticas dentro del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) (de 26Mb a 33Mb del cromosoma 6). Las variantes correlacionadas debidas al desequilibrio de enlaces se eliminaron mediante el algoritmo de agrupación PLINK v1.9, utilizando un $r^2 = 0,1$ y un tamaño de ventana de 500 kb. Se utilizó Flip Strand para identificar y eliminar las posiciones ambiguas. Para cada sujeto, se generaron PRS utilizando seis umbrales de valor p diferentes de la muestra de descubrimiento ($P < 0,01, 0,05, 0,1, 0,2, 0,5$ y 1) en el conjunto de datos de descubrimiento para la inclusión de SNPs en el PRS y se seleccionó el umbral más significativo para los análisis. Se puede consultar las secciones de los métodos específicos de cada estudio para obtener una descripción más detallada de cada análisis.

Análisis estadísticos comunes a los tres estudios

Se utilizaron los programas PASW Statistics 18.0 (SPSS Inc, 2009) y R v.3.6.0 (Team, 2015) para los análisis estadísticos, con un umbral de significación del valor p fijado en $< 0,05$.

Dependiendo de si las variables eran continuas o discretas, se realizaron análisis descriptivos o de frecuencias, mostrando la media y la desviación estándar para las variables continuas y frecuencias y porcentajes para las variables discretas. La normalidad de las variables cuantitativas se confirmó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Cuando la distribución de las variables era no-normal, o el tamaño de las muestras era pequeño, se utilizaron enfoques no paramétricos. Las variables de medición se compararon mediante una prueba t de dos muestras si se distribuían normalmente o, en caso contrario, una prueba de Mann-Whitney. Se realizaron pruebas de Chi-cuadrado para comparar las proporciones de los sujetos cuando se analizaron las variables de gravedad dicotómicas. La relación entre dos variables cuantitativas se evaluó con la correlación de Pearson si se distribuían con normalidad o de Spearman si no era el caso.

Los tamaños del efecto para describir la fuerza de los resultados se calcularon con el coeficiente d de Cohen cuando las variables eran paramétricas y η^2 (η^2) si eran no paramétricas.

Se utilizaron modelos de regresión lineal múltiple con el método “pasos sucesivos” para explorar más a fondo la contribución diferencial de una variable o varias variables independientes que habían resultado en diferencias significativas en el análisis bivariado en la predicción de la variable dependiente.

Aspectos concretos de la metodología de cada estudio

Estudio 1. Análisis exploratorio de los rasgos autistas de los padres, la edad de concepción y el riesgo poligénico en los Trastornos del Espectro Autista.

Participantes: se analizaron 128 familias (hijo con TEA y sus dos progenitores), de las cuales 83 tríos tenían disponible la información genética.

Para comprobar si los rasgos autistas estaban presentes de forma diferencial en los padres de los sujetos con diferentes subtipos de TEA, se dividió la muestra según el DSM-IV-TR en Síndrome de Asperger (SA), Trastorno Autista (AUT) y Trastorno Generalizado del Desarrollo, No Especificado (TGD-NE).

Edad parental avanzada: Estudios anteriores han utilizado categorías de rango de edad para definir la edad de los padres, siguiendo los expuestos por Lundström en 2010 (Lundström, 2010): <25, 25 a 34, 35 a 44, 45 a 50, y >51 años. Otros autores definen la edad parental avanzada como 10 años más que la media (Gratten, 2016). Dada la falta de consenso disponible en la literatura con respecto a un punto de corte que categorice la edad de los padres como avanzada o no y la naturaleza de la variable *per se*, en este estudio la edad de los padres en la concepción se midió como una variable continua.

Los rasgos de autismo de los padres se evaluaron con la versión española del cociente del espectro autista para adultos (AQ) (Baron-Cohen, 2001). El AQ es un cuestionario de autoinforme que consta de 50 afirmaciones, con 4 respuestas posibles cada una. Los resultados se presentan como una puntuación total, que cuantifica el nivel de rasgos autistas (en nuestro caso en los padres de los sujetos con TEA).

Análisis genéticos

Para el análisis de las variaciones raras *de novo* en el estudio AQ, se utilizaron únicamente las variantes descritas anteriormente y sólo se consideraron las variantes singleton para los análisis. Los análisis se realizaron mediante un submuestreo por subtipo de TEA y considerando a las madres y a los padres por separado. La relación entre AQ y la variación genética *de novo* (dnPTV) se evaluó mediante modelos de regresión logística utilizando dnPTV como variable dependiente (1 para presencia/ 0 para ausencia de variante) y AQ como variable independiente, considerando a las madres y a los padres por separado.

Para los análisis de variación común, generamos diferentes PRS utilizando varios umbrales p de la muestra de descubrimiento de ASD (Grove, 2019) ($P < 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5$ y 1). Para seleccionar el umbral de p adecuado, calculamos el PRS de ambos padres y realizamos puntuaciones de transmisión poligénica (pTDT), como se realizó previamente en TEA (Weiner, 2017). Seleccionamos el PRS cuyo umbral p tenía el valor p más bajo en pTDT (**tabla suplementaria 1.1, anexo 4**). Las variantes comunes representan una gran parte de la responsabilidad del TEA. Sin embargo, un gran estudio reciente de GWAS que comprende cerca de 20.000 pacientes y 30.000 controles ha demostrado que una PRS que incluye variantes asociadas con comorbilidades comunes de TEA al riesgo asociado con variantes relacionadas con TEA explica más del riesgo de TEA que la PRS calculada sólo con variantes relacionadas con TEA (Grove, 2019). Por lo tanto, calculamos el PRS para otros trastornos con comorbilidad bien conocida con el autismo (Caamaño, 2013) en la misma muestra objetivo (Depresión Mayor (MDD),

Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH), Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC), Ansiedad Generalizada (ANX) y Esquizofrenia (SCZ); se utilizaron estadísticas de resumen. Se calculó una PRS combinada (PRScomb), utilizando las estadísticas de resumen de los TEA y los trastornos comórbidos (Demontis, 2019; Arnold, 2018; Otowa, 2016; Ripke, 2014; Wray, 2018), siguiendo un modelo previamente publicado (Grove, 2019). El modelo combinatorio requiere ponderar la contribución relativa de cada trastorno, por lo que utilizamos un valor estimado de la prueba t de transmisión de padres a hijos, para cada trastorno por separado. A continuación, construimos el modelo combinatorio PRS utilizando los valores estimados para ponderar la contribución de cada trastorno comórbido a la puntuación PRScomb. Los análisis que utilizan el ASD PRS en lugar del PRScomb muestran resultados similares pero no significativos (datos no mostrados).

Se utilizaron los PRS maternos y paternos separados y combinados para estudiar su asociación con las medidas de AQ en toda la muestra y dividiendo por subtipos de TEA. Para simplificar, nos referiremos a PRScomb como PRS en toda la sección de resultados.

Para evaluar la relación entre las medidas de PRS y AQ, se realizaron modelos de regresión lineal, utilizando el sexo y los 10 primeros componentes de ascendencia del escalamiento multidimensional (MDS) como covariables. Se utilizó PLINK 1.9 para calcular los 10 componentes de ascendencia MDS a partir de los datos del exoma de los 242 tríos de TEA de Madrid.

Análisis estadísticos

Los análisis de normalidad sugirieron que la puntuación total del AQ, la edad de los padres y la PRS tenían distribuciones no normales ($p < 0,05$).

Se utilizaron modelos de regresión lineal para analizar la contribución de la PRS a las medidas de AQ. Los análisis se realizaron mediante un submuestreo por subtipo de TEA y considerando a las madres y a los padres por separado. La relación entre AQ y la variación genética *de novo* (dnPTV) se evaluó mediante modelos de regresión logística utilizando dnPTV como variable dependiente (1/0) y AQ como variable independiente, considerando a las madres y a los padres por separado.

Con fines descriptivos, se evaluaron las posibles diferencias en los rasgos de autismo de los padres en función de su sexo (mediante la prueba U Mann-Whitney) y si los padres estaban emparejados según sus rasgos de autismo (mediante la correlación de Spearman). A continuación, se utilizó la prueba de Wilcoxon para comprobar si los valores de nuestra muestra eran equivalentes a los de la mayor muestra europea anterior en la literatura (Wheelwright, 2010). Por último, comparamos la distribución de las puntuaciones de AQ en nuestra muestra (padres y madres por separado) con la población del estudio de Wheelwright (Wheelwright, 2010) utilizando pruebas de conformidad.

La relación entre AQ y la variación genética *de novo* (dnPTV) se evaluó mediante modelos de regresión logística utilizando dnPTV como variable dependiente (1/0) y AQ como variable independiente, considerando a las madres y a los padres por separado.

Estudio 2. El estrés materno durante el embarazo como predictor de la sintomatología restringida, repetitiva y estereotipada en los hijos con Trastornos del Espectro Autista.

Participantes: se analizaron 116 sujetos con TEA y sus madres.

Se utilizó la escala Repetitive Behaviour Scale - Revised (RBS-R) (Lam & Aman, 2007)) para evaluar las conductas restringidas, repetitivas y estereotipadas (RRB). El RBS-R consta de 6 subescalas (conductas estereotipadas, conductas autolesivas, conductas compulsivas, conductas rutinarias, conductas repetitivas y conductas restringidas), cada una de las cuales proporciona una puntuación de gravedad de los síntomas, así como una puntuación total, en la que las puntuaciones más altas definen una mayor afectación.

Con fines descriptivos, se utilizó la Cuarta Edición de la Revisión del Texto del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, DMS-IV-TR (American Psychiatric Association, 2002) para diferenciar los subtipos de TEA.

Los datos y complicaciones obstétricas se recogieron con la escala de complicaciones obstétricas de Murray-Lewis (Lewis, 1989) y una adaptación local del cuestionario ELEAT (The Early Life Exposures Assessment Tool (Schmidt, 2013)), lo que resultó en una lista extensa de 15 condiciones prenatales y 12 perinatales, (ver **Tabla 2.2** para más detalles). El estrés materno en el embarazo se exploró con una adaptación propia del cuestionario Social Readjustment Rating Scale (SRRS) (Holmes & Rahe, 1967), que consiste en 43 acontecimientos vitales estresantes, cada uno de ellos con una puntuación diferente que se calculó en la escala original para explorar lo traumático que era el factor específico para un individuo. Los 43 ítems se agrupan en tres categorías más generales: factores personales y/o familiares; factores laborales, económicos y/o legales; y cambios importantes en la rutina o el estilo de vida. La suma de las puntuaciones de los ítems marcados como presentes da como resultado una puntuación total. En

nuestro caso, anclamos la presencia o ausencia de estos eventos al periodo de embarazo del sujeto en cuestión.

Los rasgos de autismo en la madre se recogieron con la versión española del Cociente del Espectro Autista para adultos (AQ) ((Baron-Cohen, 2001)). El AQ, explicado ya en la metodología del estudio 1, es un cuestionario de autoinforme que consta de 50 afirmaciones, con 4 respuestas posibles cada una. Los resultados se presentan como una puntuación total, que cuantifica el nivel de rasgos de autismo (en nuestro caso en las madres de sujetos con TEA).

Análisis estadísticos

Debido al carácter exploratorio de los análisis, se decidió no corregir los análisis por comparaciones múltiples. Las complicaciones obstétricas se evaluaron de forma acumulativa, calculando dos nuevas variables cuantitativas con la suma de todos los factores prenatales y la suma de todos los factores perinatales por separado. También se crearon dos variables dicotómicas adicionales que daban cuenta de la presencia de complicaciones obstétricas o su ausencia. Debido al especial interés para este estudio, el estrés materno durante el embarazo se evaluó por separado en relación con las variables de resultado (gravedad de los comportamientos repetitivos). Se utilizaron modelos de regresión lineal múltiple por pasos para explorar más a fondo cuál de las variables independientes que representaban diferencias significativas en el análisis bivariado tenía más peso en la predicción de la variable dependiente (puntuación de RBB), pero también, para explorar la posible influencia de los antecedentes de ansiedad y los rasgos de TEA en las madres en el estrés materno durante el embarazo.

Estudio 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

Participantes: Se analizaron 176 pacientes para este estudio, de los cuales 143 y sus progenitores tenían secuenciación exómica disponible (ver métodos generales). De estos pacientes 78 habían estado expuestos a un parto inducido por oxitocina (OXT) y 65 no (no OXT). Se disponía de información sobre la competencia cognitiva y la gravedad de los síntomas de autismo a partir de pruebas estándar para 114 participantes con TEA.

Los datos obstétricos fueron recogidos con la escala de complicaciones obstétricas de Murray-Lewis (Lewis, 1989).

Con fines estadísticos, se convirtieron todas las variables predictoras en 8 variables dicotómicas: características parentales y obstétricas (complicaciones obstétricas y fecundación in vitro), presentación clínica temprana (nivel de lenguaje actual, edad de los primeros síntomas, regresión del desarrollo y epilepsia) y resultados de gravedad del autismo (puntuación de gravedad ADOS calibrada y discapacidad intelectual). También se crearon variables de gravedad acumuladas agrupando todas las variables parentales, obstétricas, clínicas y autistas para evaluar su influencia acumulada ("carga de gravedad"), y se dividió el grupo de participantes en aquellos con "0", "1-2" o "3 - más de ellos".

Análisis genéticos – variación rara

Para el análisis de las variaciones raras *de novo*, utilizamos dnPTV tal y como se describe en la sección de métodos comunes, pero también se consideraron dnPTV aquellas variantes *de novo* con sentido erróneo en genes intolerantes a LoF, no presentes en ExAC o 1KG y con una puntuación patogénica de missense de MPC > 2, ya que este valor de patogenicidad de missense se ha equiparado al de las variantes de LoF (Kosmicki, 2017; Samocha, 2017). Además, se realizó un análisis secundario para evaluar si la alteración

de los genes del neurodesarrollo contribuía. Por lo tanto, restringimos el análisis a los 208 genes candidatos con importantes implicaciones durante el neurodesarrollo (genes NDD) que contenían variación exónica *de novo* (Stessman, 2017) o los 102 genes predisponentes del TEA de la reciente publicación de ASC (Satterstrom, 2020).

Para evaluar el impacto de la variación disruptiva rara en el nacimiento, comparamos la presencia/ausencia de dnPTV en los sujetos de los tríos OXT y no OXT.

El perfil funcional de los genes intolerantes ($pLI > 0,9$ / $MPC > 2$ en $MAF = 0,1\%$) que albergan dnPTV en los tríos OXT y no OXT se realizó mediante el Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) a través de los procesos biológicos de Gene Ontology utilizando la base de datos ConsensusPathDB (<http://cpdb.molgen.mpg.de/>; (Kamburov, 2013)). Para evitar el sesgo debido a los genes de baja cobertura, se utilizaron todos los genes que contenían variaciones genéticas raras ($N = 3085$) como lista de fondo para el GSEA. Se utilizó un valor de corte p de 0,01 y un valor q (valor P corregido por la tasa de falsos descubrimientos (FDR)) de 0,05. Sólo se incluyeron conjuntos de genes con más de 2 genes superpuestos.

Las interacciones proteína-proteína (PPI) en los genes que albergan dnPTV en los tríos OXT y no OXT se evaluaron utilizando la base de datos STRING v.11.0 (<https://string-db.org/>). Se incluyeron todas las fuentes de interacción activas (por defecto en STRING) (Experimental, Bases de datos, Coexpresión, Coocurrencia, Vecindad, Fusión de genes o Minería de texto). Sólo se incluyeron las interacciones de alta confianza (puntuación $> 0,7$). Se compararon los valores de conectividad esperados y observados en cada caso. El enriquecimiento en PPIs se realizó para los genes mutados OXT, no OXT y ALL por separado.

Los patrones de expresión génica de los genes que albergan el dnPTV en los tríos OXT y no OXT se analizaron evaluando el enriquecimiento en los tipos de células relacionadas con el cerebro y sus patrones de expresión temporal a lo largo del desarrollo. Ambos análisis se realizaron a partir de datos

generados previamente de perfiles de expresión génica a lo largo de diferentes tipos de células relacionadas con el cerebro (Zhang, 2016) y a lo largo del desarrollo cerebral de Brainspan (<https://www.brainspan.org/>), una base de datos pública con datos transcripcionales espacio-temporales disponibles en el desarrollo del cerebro humano.

Se evaluó el enriquecimiento de los genes mutados en los tríos OXT y no OXT a través de conjuntos de genes expresados específicamente en diferentes tipos de células cerebrales a partir de datos de RNAseq (Zhang, 2016) utilizando el paquete pSI. Los valores de expresión de varias réplicas de tipos celulares se normalizaron $\log_2$ y se promediaron. La especificidad para los cinco tipos de células se calculó con la función `specificity.index` del paquete pSI R. La significación se evaluó mediante la prueba exacta de Fisher con una especificidad (pSI), seguida de una corrección FDR de los valores P. Se incluyeron dos índices de especificidad diferentes ($pSI < 0,05$ y $pSI < 0,01$) para cada tipo de célula.

Se estudió la evolución de los valores de expresión génica OXT y no OXT utilizando los datos de expresión génica disponibles para las regiones del cerebro en la base de datos del atlas BrainSpan (<https://www.brainspan.org/>). El porcentaje de expresión génica (medido como lecturas por kilobase por millón de lecturas mapeadas (RPKM)) se calculó en 30 puntos temporales diferentes a lo largo del desarrollo en relación con la expresión global. También se compararon los niveles medios de expresión génica prenatal y postnatal de los genes mutados en los participantes con OXT o sin OXT, y se compararon los pares de observaciones con la hipótesis nula de variación cero entre los valores medios de expresión génica pre y postnatal.

Análisis genéticos – variación común

Para cada sujeto, se generaron PRS utilizando seis umbrales diferentes de valores p de la muestra de descubrimiento ($P < 0,01$, 0,05, 0,1, 0,2, 0,5 y 1) en el conjunto de datos de descubrimiento para la

inclusión de los SNPs en el PRS y se calculó la prueba de desequilibrio de transmisión poligénica (pTDT), utilizando la información de PRS de los tríos de padres e hijos, como se realizó previamente en ASD (Gonzalez-Peñas, 2020; Weiner, 2017). Brevemente, la distribución PRS esperada de la descendencia se compara con la distribución PRS media de los padres y su desviación se comprueba con una prueba t de una muestra. Los valores negativos y positivos de pTDT revelan una variación poligénica heredada menor o mayor que la esperada por azar. En un escenario neutro, la distribución de pTDT puede no ser mayor o menor que 0.

Para cada trastorno, se seleccionó el umbral p con el valor estimado más alto de transmisión de pTDT en toda la muestra y, a partir de ahí, se utilizó para la comparación entre los tríos de TEA con y sin OXT (**Tabla Suplementaria 3.2, anexo 5**). Dada la comorbilidad psiquiátrica reportada entre el TEA y otras condiciones psiquiátricas (González-Peñas, 2020; Grove, 2019; Martin, 2014; Weiner, 2017) y las fuertes correlaciones genéticas entre el TEA y otros trastornos neuropsiquiátricos como la depresión mayor (MDD; $r_G = 0.412$; $P < 10^{-24}$), esquizofrenia (SCZ; $r_G = 0.212$; $P < 10^{-24}$), trastorno por déficit de atención/hiperactividad (TDAH; $r_G = 0.360$; $P < 10^{-11}$) (Grove, 2019) (González-Peñas, 2020), y otros fenotipos como el nivel educativo (EA), exploramos la transmisión poligénica de estos cuatro fenotipos relacionados: TDAH, SCZ, MDD, y EA. El análisis pTDT se repitió utilizando las estadísticas de resumen de estos fenotipos relacionados con el TEA (**Tabla Suplementaria 3.2, anexo 5**): TDAH (Martin, 2018), SCZ (Ripke, 2014), MDD (Wray, 2014), y EA (Okbay, 2016).

Análisis estadísticos

Los sujetos se dividieron en aquellos que tenían 0, 1-2 o 3 de las variables de gravedad, y las proporciones de los sujetos con OXT y sin OXT se compararon mediante una tendencia lineal. Los porcentajes de sujetos OXT y no OXT que tenían cada uno de los 8 predictores dicotómicos se

compararon mediante una prueba de rango con signo de Wilcoxon. De este modo, se comprobó la desviación media respecto a 0 en las 8 variables medidas.

Se utilizó una prueba t de una muestra para evaluar el desequilibrio de transmisión poligénica de los alelos de riesgo de TEA, TDAH, MDD y EA en los tríos OXT y no OXT por separado, utilizando las puntuaciones pTDT para ambas distribuciones, como se realizó en estudios anteriores (Weiner, 2017). Para superar las limitaciones de potencia estadística y reforzar nuestros hallazgos, se confirmaron los resultados significativos realizando 1000 permutaciones aleatorias del estado OXT/no OXT y comparando posteriormente las desviaciones reales de pTDT con la distribución nula de los conjuntos de datos permutados. Se utilizó una prueba t de dos muestras para comparar la transmisión poligénica en los tríos OXT frente a los no OXT. Se realizó una prueba exacta de Fisher de dos colas para comparar la carga de dnPTV entre los participantes de OXT frente a los de no OXT. Se utilizó una prueba de rangos con signo de Wilcoxon para comparar las tendencias de expresión génica entre las etapas prenatal y postnatal de los genes mutados en los tríos OXT y no OXT, por separado. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para evaluar la diferencia en las tendencias de expresión génica en los tríos OXT frente a los no OXT. Se evaluó la interacción entre la expresión génica (prenatal/postnatal) y el sujeto con el gen mutado (OXT/no OXT).

Resultados de los tres estudios

Estudio 1. Análisis exploratorio de los rasgos autistas de los padres, la edad de concepción y el riesgo poligénico en los Trastornos del Espectro Autista.

En este estudio se incluyeron 128 sujetos con TEA (casi el 90% varones y caucásicos) con edades comprendidas entre los 3 y los 36 años, con una edad media de 11,85 años (SD 7,72), y sus dos progenitores. Los detalles completos de las características clínicas de los individuos con TEA se muestran en la **Tabla 1.1**.

		N; %
Diagnóstico de TEA según DSM-IV	Trastorno de Autismo	70; 54,7
	Síndrome de Asperger	22; 17,2
	TGD-NE	36; 28,1
Regresión evolutiva	Sí	42; 32,8
Epilepsia	Sí	12; 9,4
Nivel de lenguaje	Sin lenguaje	26; 20,8
	Palabras sueltas	16; 12,8
	Frases simples	32; 25,6
	Lenguaje fluido	55; 40,8
Edad de inicio de los síntomas TEA	<1 año	38; 29,7
	>1 año	90; 70,3
Discapacidad intelectual (CI < 70)	Sí	31; 35,6

Tabla 1.1. Características clínicas de la muestra. TGD-NE: Trastorno Generalizado del Desarrollo – No Especificado.

También se evaluaron los progenitores de los 128 sujetos con TEA (N=256). Las edades de las madres oscilaban entre los 22 y los 48 años, con una edad media de 32,62 (DE 4,66), y las de los padres entre los 22 y los 58, con una edad media de 34,64 (DE 5,62).

Rasgos de TEA de los progenitores y edad de concepción

En este conjunto de datos, se encontró una relación positiva estadísticamente significativa entre la edad de los progenitores en el momento de la concepción y las puntuaciones totales del AQ ($r = 0,207$; $p = 8,39 \times 10^{-4}$; $N = 256$). Por separado, esta correlación está presente en las madres ($r = 0,233$; $p = 8,23 \times 10^{-3}$; $N = 128$), pero no en los padres ($r = 0,123$; $p = ,166$; $N = 128$). Véase la **Figura 1.1a-b** para estos resultados. Al analizar estas correlaciones por diferentes subtipos de autismo, se encontraron correlaciones positivas significativas en el caso de las submuestras de los sujetos con SA ($r = 0,319$; $p = ,034$; $N = 44$) pero no en los sujetos con AUT ($r = 0,200$; $p = ,069$; $N = 131$) o TGD-NE ($r = 0,142$; $p = ,272$; $N = 62$) (**Figura 1.1c**). Dado el pequeño tamaño de la muestra, no se procedió a subdividir las correlaciones con los diferentes tipos de autismo según el sexo de los progenitores.

No se encontraron diferencias en los valores de AQ de los progenitores entre los subtipos de TEA (**Figura 1.1d**; KW test- $p > 0,05$ en todos los casos).

La edad en el momento de la concepción en los progenitores de los sujetos con TGD-NE (edad (IC 95%) = 34,74 (33,76-36,08)) es mayor que en los progenitores de los sujetos con SA (edad (95%CI) = 32,39 (31,04-33,74)); Kruskal-Wallis test- $p = ,00364$; **figura 1.1e**) o AUT (edad (95%CI) = 33,47 (32,53-34,41)); Kruskal-Wallis test- $p = ,020$; **figura 1.1e**), sin diferencias significativas entre la edad de los progenitores SA y AUT (Kruskal-Wallis test- $p = ,351$). Los resultados de la **Figura 1.1d-e** indican que, a pesar de la mayor correlación entre la edad en el momento de la concepción y el AQ de los progenitores observada en los tríos SA (**Figura 1.1c**), los progenitores de mayor edad tienen un mayor riesgo de padecer TGD-NE que los subtipos SA o AUT.

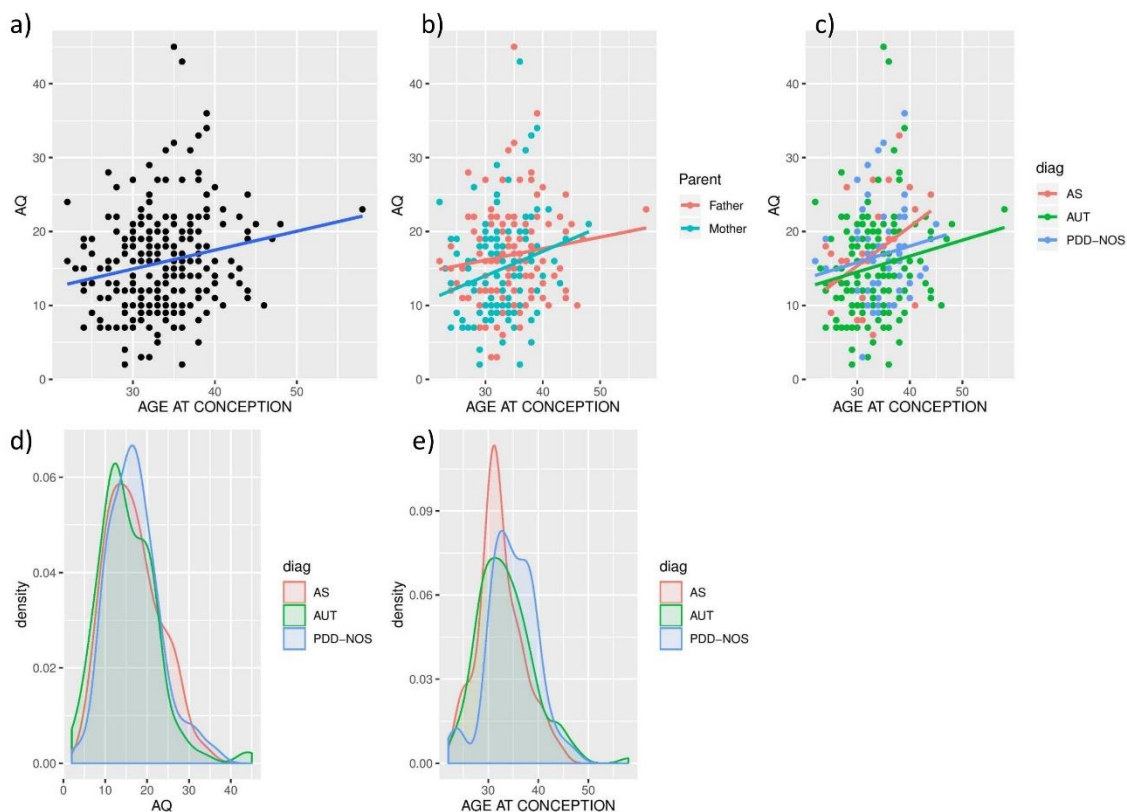


Figura 1.1: Relación entre los rasgos autistas de los progenitores (AQ) y la edad de concepción. Se calculó la correlación de Spearman para (a) la muestra general ($r = 0,207$, $p = 8,39 \times 10^{-4}$, $N = 256$), (b) dividida según el sexo de los progenitores (madres $r = 0,233$, $p = 8,23 \times 10^{-3}$, $N = 128$, padres $r = 0,123$, $p = 0,166$, $N = 128$) (c) según los subtipos del DSM-IV (en SA $r = 0,319$, $p = 0,034$, $N = 44$; en AUT $r = 0,200$, $p = 0,069$, $N = 131$; en TGD-NE $r = 0,142$, $p = 0,272$, $N = 62$). Se muestran los gráficos de densidad para (d) los valores de AQ (prueba de Kruskal-Wallis- $p > 0,05$ en cualquier caso) y (e) la edad de concepción' (TGD-NE - SA prueba de Kruskal-Wallis- $p = 0,00364$; TGD-NE - AUT prueba de Kruskal-Wallis- $p = 0,020$).

Rasgos de TEA de los progenitores y puntuación de riesgo poligénico por subtipo de autismo

Se calculó la PRS en aquellos tríos con información de AQ y exoma de los progenitores disponible ($N = 83$ de 128). Como se explica en Métodos, los cálculos de PRS se realizaron utilizando los datos del exoma imputados y las estadísticas de resumen disponibles del TEA, y sopesando otros trastornos comórbidos.

Existe una tendencia a la significación entre las medidas de PRS y AQ de los progenitores de la submuestra de SA (β (95%CI) = 1,9 (-0,29 - 4,08); $p=,086$; **Figura 1.2**), pero no en las submuestras de AUT o TGD-NE ($P > 0,1$; **Figura 1.2**).

Dado que la relación entre la edad de concepción y la AQ difería para las madres y los padres de los tríos con AS, también se dividió el análisis de la PRS en ambos progenitores de forma independiente para el subtipo de AS. Una mayor PRS se asoció con una mayor AQ en las madres de los sujetos con EA (β (IC 95%) = 3,28 (0,03 - 6,59); $p=,047$), pero no en los padres de estos sujetos (β (IC 95%) = 0,67 (-3,34 - 4,68); $p=,701$; **Figura 1.2**).

También se evaluó la relación entre el AQ de los padres y la presencia de dnPTV en los niños afectados. No se observó ninguna significación al evaluar el efecto de los hijos dnPTV sobre el AQ de los progenitores, ni entre las madres (β (IC 95%) = -0,012 (-0,102 - 0,077); $p=,790$) ni entre los padres (β (IC 95%) = -0,043 (-0,138 - 0,052); $p=,377$).

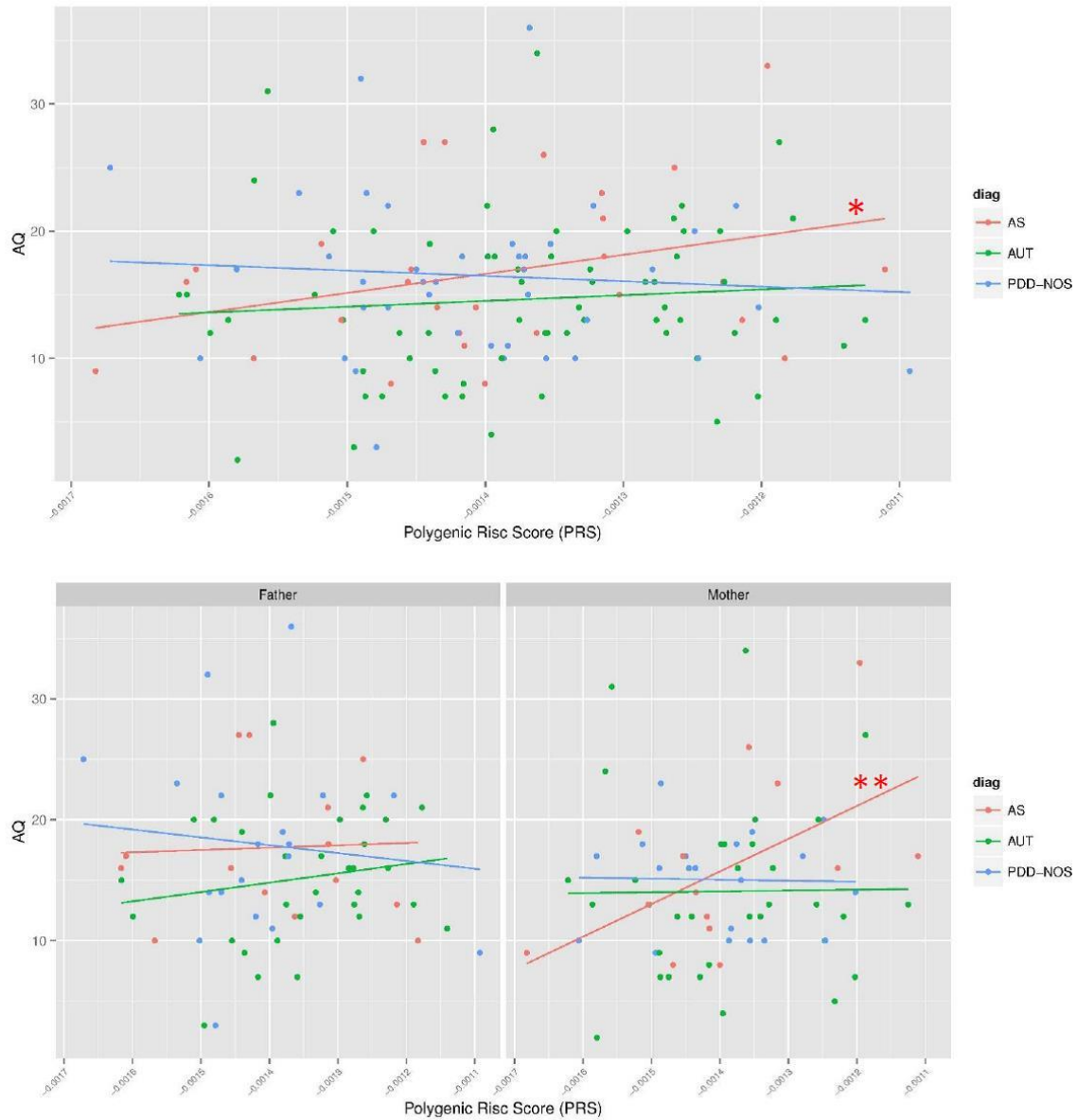


Figura 1.2: Asociaciones entre las medidas de PRS y AQ en los progenitores de los tríos de TEA. Se realizaron modelos de regresión para los tres subtipos del DSM-IV (AS, AUT y TGD-NE) y, además, para las madres (AS_MOTHERS) y los padres (AS_FATHERS) de los tríos AS. Para facilitar la comparación de los efectos, se estandarizaron los PRS. * $p < 0,1$; ** $p < 0,05$

Rasgos de TEA en los progenitores de los sujetos con TEA

Los padres tenían puntuaciones de AQ significativamente más altas que las madres ($U=6759,5$ $p=,009$), siendo la puntuación media de AQ de 16,79 $SD=6,56$ (rango 3-45) y 14,84 $SD=6,5$ (rango 2-43) para padres y madres, respectivamente. Hubo una modesta relación positiva significativa entre las puntuaciones de AQ de ambos progenitores $r=,234$ $p=,008$.

Dado que no existen datos españoles sobre la distribución de los rasgos de TEA (medidos con el AQ) entre los progenitores de individuos autistas, se decidió comparar nuestros resultados con los de la muestra original británica. Por lo tanto, se comparó la distribución y los valores medios de los progenitores de individuos con TEA de nuestra muestra (más del 80% de origen español) con los de la muestra de Wheelwright de la población británica (Wheelwright, 2010) (ver **Figura 1.3**). En esa muestra, el 41,5% de los hijos tenía autismo, el 41,38% síndrome de Asperger, el 10,56% autismo de alto funcionamiento y el 6,56% trastorno generalizado del desarrollo (en nuestra muestra estos porcentajes fueron 55% autismo, 15,6% SA y 29% trastorno generalizado del desarrollo). La muestra tenía valores medios más bajos en el test AQ que Wheelwright: media de las madres = 16,4 frente a 14,84 (IC95%) (13,73 - 16,01) y media de los padres = 19,2 frente a 16,79 (IC95%) (15,71 - 18) (madres $Z=-3,202$ $p=,001$, padres $Z=-4,466$ $p<0,001$), por lo que se rechazó la suposición de que nuestra población es equivalente a la de Wheelwright. De hecho, se observó que el rango de puntuaciones de Wheelwright superaba nuestras puntuaciones máximas (**Figura 1.3**).

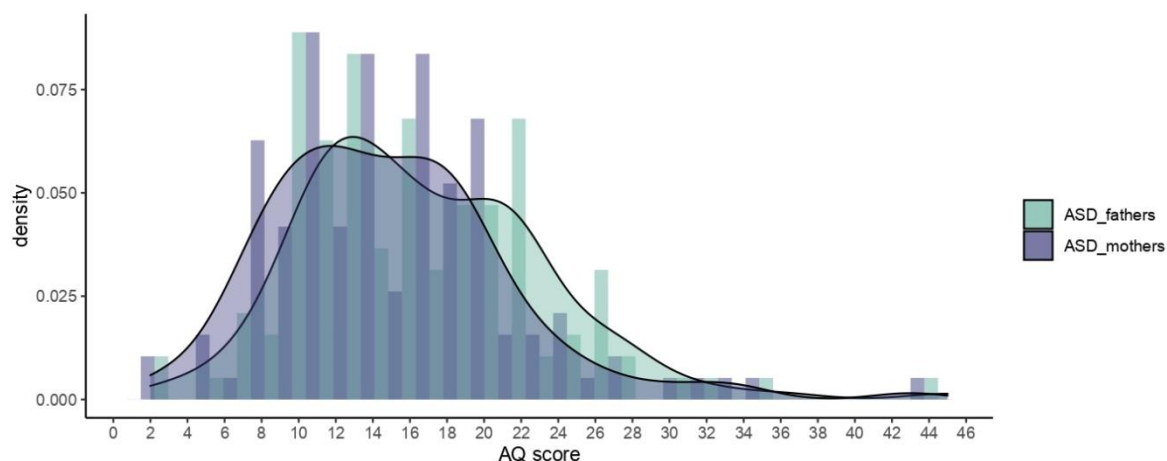


Figura 1.3: Puntuaciones del Cociente del Espectro Autista (AQ) y su densidad en los progenitores de hijos con Trastornos del Espectro Autista (TEA), por sexo, en la muestra del HGUGM.

Estudio 2. El estrés materno durante el embarazo como predictor de la sintomatología restringida, repetitiva y estereotipada en los hijos con Trastornos del Espectro Autista.

Descripción de la muestra, estrés y complicaciones obstétricas

La muestra consistió en 116 individuos con un diagnóstico de TEA entre las edades de 3 y 50 años, (edad media de 17,59, SD 8,7). El 85% de los sujetos eran varones y el 94% eran caucásicos. Según los criterios del DSM-IV, el 60% de la muestra estaba diagnosticada de autismo, el 24% de síndrome de Asperger y el 16% de TGD-NOS; casi en el 40% de los casos los padres informaron de regresión del desarrollo en los primeros 3 años de vida. Alrededor del 60% de la muestra presentaba una discapacidad intelectual (coeficiente intelectual medio global de 69,2, DE 28,47), con un rango de puntuación bastante amplio (entre 20 y 126 puntos). Las madres mostraron una media acumulada de 2,34 (DE 1,51) complicaciones

obstétricas prenatales y 2,52 (DE 1,44) perinatales (rango entre 0 y 6). La media de estrés materno durante el embarazo fue de 143,4 y SD 99,46 (rango entre 40 y 464). Los detalles completos de las características clínicas de la muestra se muestran en la **Tabla 2.1**, y las complicaciones obstétricas en la **Tabla 2.2**.

		N; %
Antecedentes psiquiátricos de trastornos afectivos en los progenitores	Sí	22; 19
Regresión evolutiva	Sí	45; 38,8
Epilepsia	Sí	10; 8,6
Nivel de lenguaje	Sin lenguaje	21; 18,1
	Palabras sueltas	18; 15,5
	Frases simples	26; 22,4
	Lenguaje fluido	51; 44
	<1 año	40; 34,5
Edad de inicio de la sintomatología TEA	entre 1-3 años	67; 57,8
	>3 años	9; 7,8
		M (DS)
Puntuación de gravedad ADOS		7,24 (1,85)
ADI-R Total A: Interacción social recíproca		22,65 (5,91)
ADI-R Total verbal B: Comunicación		17,21 (5,66)
ADI-R Total no verbal B: Comunicación		12,27 (2,20)
ADI-R Total C: Patrones de comportamiento restrictivo, repetitivo y estereotipado		6,57 (2,64)

Tabla 2.1. Características clínicas de la muestra.

	N (%)
Fertilización in vitro	5 (4,3)
Incompatibilidad sanguínea	8 (7)
Pre-eclampsia	9 (7,7)
Vacunas durante el embarazo	7 (6)
Alergias	21 (18,1)
Patología tiroidea	6 (5,2)
Diabetes gestacional	12 (10,6)
FACTORES ANEMIA	22 (19,5)
PRENATALES Nauseas y vómitos graves	18 (15,5)
Crecimiento intrauterino retardado	5 (4,4)
Medicación	60 (51,7)
Infecciones (incluyendo fiebre)	34 (29,3)
Consumo de tabaco	35 (30,2)
Consumo de alcohol	11 (9,5)
Conviviente fumador	19 (9,5)
Cesárea	31 (26,7)
Parto inducido	41 (35,3)
Uso de oxitocina	59 (50,9)
Presentación de nalgas	15 (13,2)
Uso de fórceps	21 (18,2)
Ruptura prematura de membrana	12 (10,3)
FACTORES DURACIÓN DEL PARTO (PRECIPITADO O >24h)	32 (27,5)
PERINATALES Prolapso del cordón umbilical	21 (18,1)
Hemorragia anteparto o amenaza de aborto	31 (26,7)
Prematuridad (<37 semanas)	11 (9,8)
Peso recién nacido <2500 gramos	10 (8,6)
Meconio	8 (8,2)

Tabla 2.2. Presencia de complicaciones obstétricas prenatales y perinatales (N total = 116)

Complicaciones obstétricas en relación al estrés maternal

El estrés materno durante el embarazo se correlacionó positivamente con el número de complicaciones obstétricas prenatales ($r_s=,205$; $p=,027$). Al profundizar en los posibles factores asociados al estrés materno, se observó que las madres que habían consumido alcohol en los tres meses anteriores al

embarazo estaban más estresadas ($U=873,5$; $p=,004$; $\eta^2=0,073$). Asimismo, las madres que utilizaron medicamentos no recetados para la fiebre, el dolor o la inflamación ($U=1016,5$; $p=,004$; $\eta^2=0,075$) o que fumaron durante la lactancia ($U=344$; $p=,028$; $\eta^2=0,042$) estaban más estresadas.

Comportamientos estereotípicos en relación con el estrés maternal y otras variables clínicas

El estrés materno durante el embarazo se relacionó de forma estadísticamente significativa con la subescala de conductas estereotipadas del RBS-R (RBS-Rsb; $r_s=232$ $p=,018$), pero no con las otras subescalas o medidas del RRB (todas $p >,05$). Por lo tanto, los siguientes análisis se llevaron a cabo solo con la RBS-Rsb. Para desentrañar si la ansiedad o los rasgos TEA en las madres influían en la relación entre el estrés materno y la RBS-Rsb, se desarrolló un modelo de regresión lineal múltiple por pasos con la RBS-Rsb como variable dependiente y el estrés materno durante el embarazo, los antecedentes maternos de ansiedad y los rasgos de TEA en la madre como variables independientes. Las dos últimas variables fueron eliminadas del modelo, quedando sólo el estrés como variable predictora del 4,2-5,3% de la varianza del comportamiento estereotípico ($\beta=0,229$ $p=,031$).

Se estudió la relación entre el RBS-Rsb y las variables demográficas y de presentación clínica temprana. Un mayor nivel de conductas estereotipadas estaba presente en los individuos con regresión del desarrollo ($U=983$, $p=,044$, $\eta^2=0,12$), un nivel de lenguaje más pobre ($X^2=8,977$, $p=,030$, $\eta^2=0,055$; los análisis post-hoc identificaron diferencias entre los individuos sin lenguaje y los que tenían un lenguaje fluido $p=,019$) y un inicio más temprano de los síntomas ($X^2=7,159$, $p=,028$, $\eta^2=0,046$; los análisis post hoc revelaron diferencias entre los individuos según la edad de inicio, antes del año y después de los 3 años, $p=,007$). No hubo diferencias medias de grupo en las conductas estereotipadas entre aquellos con/sin presencia de epilepsia, deterioro cognitivo o no u otras variables clínicas (todas $p > 0,05$).

Para explorar posibles covariables que puedan añadir varianza a la presencia de conductas estereotipadas en el TEA, se exploró la asociación entre el RBS-Rsb y las variables obstétricas (**Tabla 2.3**). Los resultados muestran que las conductas estereotipadas correlacionaron positivamente con el número de complicaciones obstétricas prenatales ($r_s=.253$ $p=.01$) pero no con las perinatales ($r_s=.166$ $p=.094$). Profundizando en ello, las madres que utilizan medicamentos ($U=977,5$, $p=.021$, $\eta^2=0,13$) o tuvieron infecciones durante el embarazo ($U=609$, $p<.001$, $\eta^2=0,19$) tuvieron, en promedio, hijos con mayores conductas estereotipadas que las que no lo hicieron. Véase la **Tabla 2.3**.

	RBS-Rst Mean (SD)		U de Mann-Whitney	Sig.	Eta squared (η^2)
	Ausencia	Presencia			
FACTORES PRENATALES					
Fertilización in vitro	4,98 (3,47)	5,60 (3,21)	U=212	,61	0,0069
Incompatibilidad sanguínea	4,83 (3,39)	7,29 (4,15)	U=181,5	,141	0,0826
Pre-eclampsia	4,81 (3,31)	7,38 (4,34)	U=238	,078	0,0545
Vacunas durante el embarazo	5,06 (3,45)	4,29 (3,68)	U=285	,5	0,0108
Alergias	4,93 (3,37)	4,75 (2,99)	U=190,5	,927	0,0256
Patología tiroidea	4,9 (3,37)	7,6 (4,39)	U=144	,13	0,0278
Diabetes gestacional	4,99 (3,59)	5,10 (2,88)	U=766,5	,593	0,0236
Anemia	4,63 (3,07)	6,36 (4,13)	U=369	,18	0,0432
Nauseas y vómitos graves	5,08 (3,37)	4,27 (3,18)	U=728	,275	0,0347
Crecimiento intrauterino retardado	4,85 (3,51)	5,82 (3,07)	U=579	,173	0,046
Medicación	4,18 (2,99)	5,79 (3,69)	U=977,5	,021*	0,13
Infecciones (incluyendo fiebre)	4,23 (3,10)	6,90 (3,57)	U=609	<,001**	0,1955
Consumo de tabaco	5,08 (3,51)	4,65 (3,20)	U=694,5	,744	0,1631
Consumo de alcohol	4,94 (3,37)	5,70 (4,22)	U=418	,598	0,0195
Conviviente fumador	5,08 (3,40)	4,83 (3,64)	U=1096,5	,777	0,0147
FACTORES PERINATALES					
Cesárea	5,04 (3,44)	5,50 (4,00)	U=350,5	,823	0,0359

Parto inducido	5,03 (3,34)	4,75 (4,80)	U=323	,479	0,0357
Uso de oxitocina	4,72 (3,22)	5,79 (3,96)	U=899	,259	0,0588
Presentación de nalgas	4,74 (3,28)	5,49 (3,72)	U=1076,5	,317	0,0611
Uso de fórceps	5,08 (3,53)	4,95 (3,41)	U=1293	,857	0,0398
Ruptura prematura de membrana	4,93 (3,47)	5,23 (2,86)	U=492	,523	0,0361
Duración del parto (precipitado o >24h)	5,00 (3,55)	5,44 (2,90)	U=585	,41	0,0717
Prolapso del cordón umbilical	5,24 (3,55)	3,25 (1,82)	U=333,5	,069	0,0597
Hemorragia anteparto o amenaza de aborto	4,77 (3,39)	5,64 (3,58)	U=900,5	,264	0,0647
Prematuridad (<37 semanas)	4,99 (3,43)	5,11 (3,60)	U=785	,918	0,02
Peso recién nacido <2500 gramos	4,66 (3,49)	6,00 (3,19)	U=373	,556	1,307
Meconio	5,09 (3,58)	5,00 (4,85)	U=185,5	,752	0,47

Tabla 2.3. Diferencias en la subescala de comportamiento estereotípico del RBS-R en niños con y sin complicaciones obstétricas durante el embarazo, según factores pre o perinatales.

A continuación, desarrollamos un modelo de regresión lineal múltiple por pasos con la RBS-Rsb como variable dependiente y el estrés materno, las infecciones y el uso de medicamentos durante el embarazo, el nivel de lenguaje, la edad de inicio de los síntomas de TEA, el sexo de la descendencia y el nivel socioeconómico (todas ellas relacionadas con el comportamiento estereotípico y/o el estrés materno durante el embarazo en los análisis bivariados) como variables independientes. Las infecciones durante el embarazo, la edad de inicio de los síntomas del TEA y el estrés materno durante el embarazo (en orden de peso en el modelo) predijeron el 20,3-22,9% de la varianza del comportamiento estereotípico en los sujetos con TEA. Véase la **Tabla 2.4**.

RBS-Rsb						
	B	SE B	β	P	R ²	R ² adj
Paso 1						
Constante	4,231	0,403		<,001	0,123	0,113
Infecciones (incluyendo fiebre)	2,626	0,735	0,351	,001		
Paso 2						
Constante	5,266	0,569		<,001	0,18	0,162
Infecciones (incluyendo fiebre)	2,614	0,715	0,349	<,001		
Edad de inicio de la sintomatología TEA	-1,431	0,57	-0,239	,014		
Paso 3						
Constante	4,038	0,759		<,001	0,229	0,203
Infecciones (incluyendo fiebre)	2,693	0,698	0,359	<,001		
Edad de inicio de la sintomatología TEA	-1,343	0,558	-0,225	,018		
Estrés materno durante el embarazo	0,008	0,003	0,221	,02		

Tabla 2.4. Resultados de la regresión lineal múltiple con el RBS-Rsb como variable dependiente y el estrés materno, las infecciones y el uso de medicamentos durante el embarazo, el nivel de lenguaje, la edad de inicio de los síntomas del TEA, el sexo de los hijos y el nivel socioeconómico como variables independientes.

Estudio 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

Exposición a la oxitocina durante el parto y retraso en el desarrollo

La muestra incluyó 176 pacientes con información obstétrica y de desarrollo, con edades comprendidas entre los 3 y los 46 años (mediana 11,5; moda 7). Más del 50% experimentaron una o más complicaciones obstétricas, y en casi el 56% de las participantes se utilizó oxitocina durante el parto. La **tabla 3.1** muestra las características demográficas, obstétricas, clínicas y cognitivas de los individuos con TEA (N=176) en los tríos con y sin OXT. No se observaron diferencias en cuanto al sexo, la edad de los padres en el momento de la concepción, los antecedentes psiquiátricos de ansiedad y/o depresión de las madres o el origen étnico entre los grupos de TEA con OXT y sin OXT.

El uso de oxitocina durante el parto se asoció con un mayor número de complicaciones obstétricas y con la aparición de síntomas de TEA durante el primer año de vida. Cuando las variables de gravedad se midieron de forma dicotómica, se observó un sesgo de gravedad significativo hacia los sujetos OXT al comparar el porcentaje de sujetos OXT y no OXT que presentaban cada evento de gravedad (prueba t emparejada $p=,041$; **Figura 3.1A**). De hecho, el uso de oxitocina se asoció significativamente con una mayor carga de eventos de gravedad por sujeto (prueba de tendencia de Cochran-Armitage $p=,013$; **Figura 3.1B**). También se observó un menor desarrollo cognitivo (CI) en los sujetos con OXT (prueba de Mann-Whitney $p=,019$; **Figura 3.1C**).

	% Media (DS)			
	Todos los sujetos	OXT (N=98)	Non_OXT (N=78)	p-val OXT vs Non_OXT
Información demográfica				
Edad	14,53 (9,89)	13,62 (8,19)	15,68 (11,63)	,19
Sexo de los hijos (varones)	68,75	67,35	70,51	,65
Etnia (ancestros europeo)	92,04	93,56	90,81	,49
Características parentales y obstétricas				
Complicaciones obstétricas, sí	53,98	61,22	44,87	,031
Fertilización <i>In vitro</i>	3,66	4,44	2,70	,691
Presentaciones clínicas tempranas				
Nivel actual de lenguaje (frases simples vs lenguaje fluido)	57,95	57,14	58,97	,81
Edad de inicio de los síntomas TEA < 1 año, sí	26,14	32,65	17,95	,027
Regresión evolutiva, sí	34,65	34,69	34,61	,99
Epilepsia, sí	12,50	13,27	11,54	,731
Resultado de gravedad autista (N=114)				
Calibrated ADOS Severity Score (8-10)	85,71	59,02	46,10	,18
Cociente Intelectual (CI)		78,29 (23,59)	91,15 (24,87)	,019
Discapacidad intelectual (CI < 70)	32,82	40,00	25,76	,08
Variables de gravedad acumuladas (parentales, obstétricas, clínicas y de gravedad TEA)				
sujetos TEA sin ninguna variable de gravedad (9/176)		33,33	66,67	
sujetos TEA con 1-2 variables de gravedad (64/176)		46,88	53,12	,013
sujetos TEA con 3 o más variables de gravedad (103/176)		63,11	36,89	
Sesgo de gravedad hacia el uso de oxitocina durante el parto				0,041

Tabla 3.1: Descripción de las características demográficas, obstétricas y de gravedad del autismo de la cohorte de TEA analizada (N= 176, excepto los resultados de gravedad que incluyen la discapacidad intelectual, que estaban disponibles para N=114). En cada caso, los valores p se derivan de las pruebas t o de Mann-Whitney cuando se comparan las variables de medición y de las pruebas Chi-cuadrado cuando se comparan las proporciones. Los individuos con TEA se dividieron según la exposición a la oxitocina durante el parto en grupos con OXT (N= 98) y sin OXT (N= 78). El sesgo de gravedad hacia el uso de oxitocina se evaluó analizando los porcentajes de sujetos OXT y no OXT que tenían cada uno de los 8 predictores dicotómicos mediante una prueba de rango con signo de

Wilcoxon. La diferencia en la carga de las variables dicotómicas de gravedad por sujeto se evaluó mediante la prueba de tendencia de Cochran-Armitage.

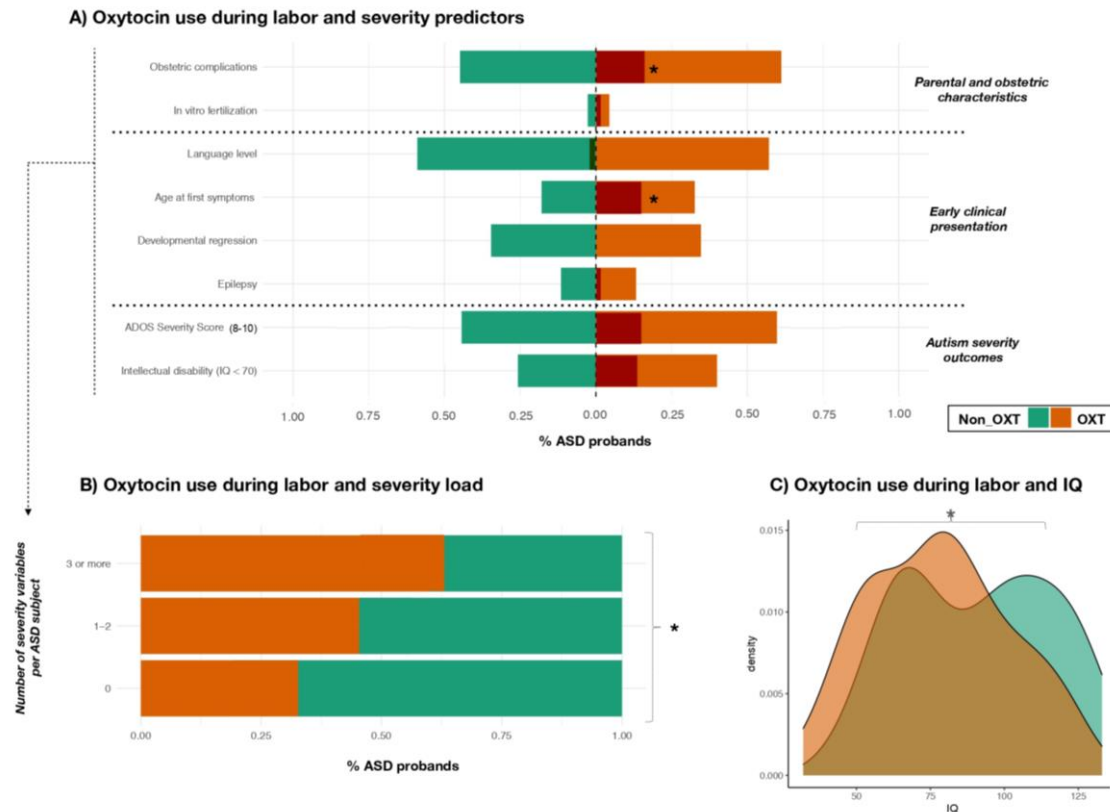


Figura 3.1: Exposición a la oxitocina durante el parto y gravedad de los resultados. A) Se comparó la distribución de cada una de las 9 variables dicotómicas de gravedad entre los individuos con TEA (OXT, en verde) y sin exposición a la oxitocina durante el parto (no OXT, en naranja). Los sesgos hacia un mayor porcentaje de sujetos con TEA en los tríos con OXT y sin OXT se representaron con colores naranja oscuro y verde oscuro, respectivamente. B) Se comparó la carga total de las 9 variables dicotómicas de gravedad entre los tríos OXT y no OXT. El porcentaje de participantes con 0, 1-2 o 3 o más variables de gravedad se representa en el gráfico. Se realizó una prueba de tendencia de Cochran-Armitage. C) Se compararon los valores de CI entre los individuos con TEA en los tríos con y sin OXT mediante una prueba de Mann-Whitney. Los valores significativos ($P < 0,05$) se indican con "*". Abreviaturas: CI = Coeficiente intelectual, OXT = sujetos con TEA con exposición a la oxitocina durante el parto, no OXT = sujetos con TEA sin exposición a la oxitocina durante el parto.

Asociación entre la transmisión de riesgos poligénicos y la exposición a la oxitocina

La mayor presencia en el grupo OXT de al menos una complicación obstétrica ($X^2=4,028$ $p=,045$), un inicio temprano de los síntomas de TEA (es decir, antes de la edad de 1 año) ($X^2=4,225$ $p=,040$) y un menor coeficiente intelectual ($t=0,644$ $p=,043$) se confirmó en el subconjunto de pacientes con información genética disponible ($N=143$). El riesgo poligénico (PRS) para el TEA se transmitió de forma diferencial a los sujetos con TEA en los tríos OXT y no OXT (prueba t de dos muestras; $t= 2,307$; $p=,0186$). En concreto, el PRS de TEA se transmitió significativamente a los sujetos con TEA en tríos sin OXT (prueba t de una muestra de pTDT; $t= 2,193$; $p=,03195$; **Figura 3.2A**), pero no a los sujetos con TEA en tríos con OXT (prueba t de una muestra; $t=-1,087$; $p=,280$; **Figura 3.2A**).

El PRS del TDAH también se transmitió de forma diferencial a los sujetos con TEA en los tríos OXT y no OXT (prueba t de dos muestras; $t= 2,663$; $p=,0086$). El PRS del TDAH se transmitió en exceso en los tríos sin OXT (prueba t de una muestra; $t=2,667$; $p=,0097$; **Figura 3.2B**) pero no en los tríos con OXT (prueba t de una muestra; $t=-0,89$; $p=,375$; **Figura 3.2B**), en un patrón similar al PRS del TEA. No se encontró una sobretransmisión significativa para el resto de fenotipos evaluados (SCZ, MDD y EA). No se observó ninguna correlación significativa entre los valores de pTDT de los fenotipos evaluados (TEA, TDAH, SCZ, MDD y EA) (**Figura 3.2C**). Todos los resultados significativos se confirmaron mediante pruebas de permutación (**Tabla Suplementaria 3.3, anexo 6**; permutación-PASD = 0,0159; permutación-PADHD = 0,0099).

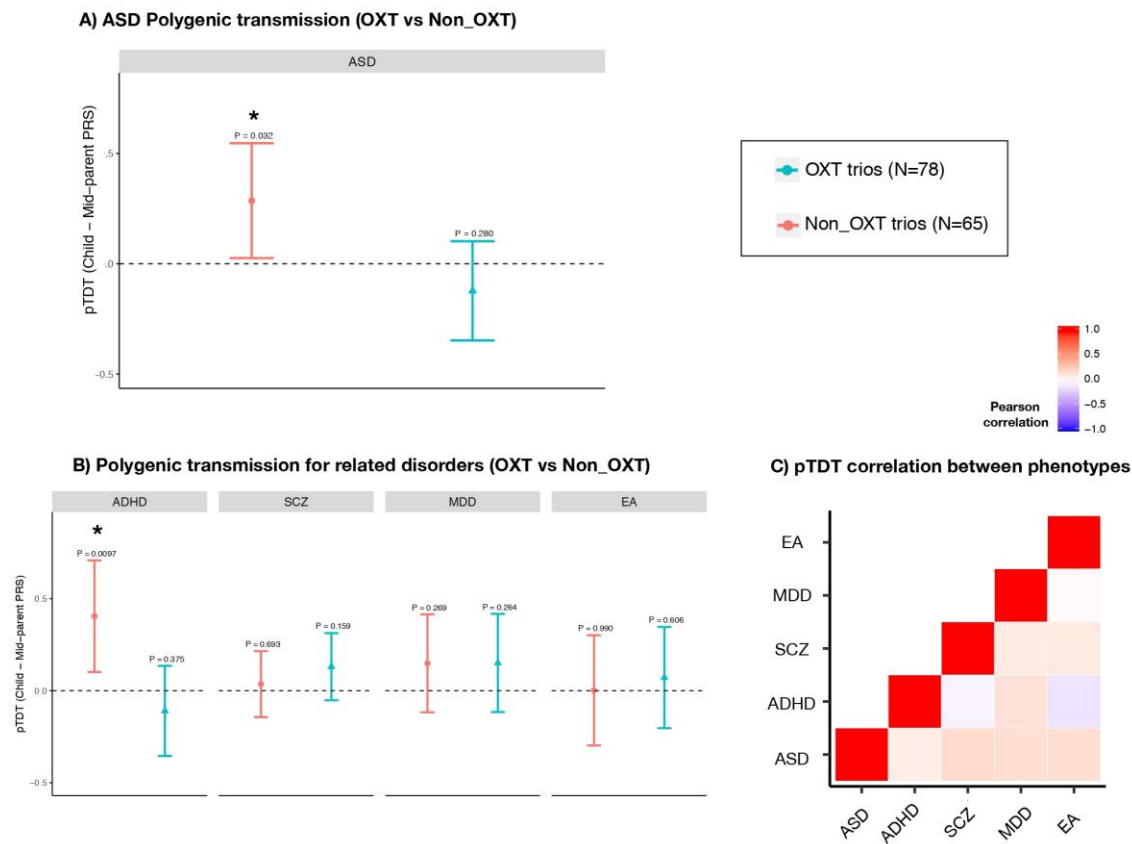


Figura 3.2: Transmisión poligénica en tríos de TEA con exposición a la oxitocina durante el parto. Se evaluó el desequilibrio en la transmisión poligénica (pTDT) de la variación predisponente común del TEA y los fenotipos relacionados (TDAH, SCZ, MDD y EA) en tríos con OXT (N= 78) y sin OXT (N= 65). A) Los análisis de correlación entre los valores de pTDT para todos los rasgos evaluados no muestran ninguna correlación significativa en la muestra del estudio. B) Resultados de la prueba pTDT utilizando las puntuaciones poligénicas de ASD. C) Resultados de la prueba pTDT utilizando puntuaciones poligénicas de rasgos relacionados. El desequilibrio de transmisión se representa como desviaciones estándar de la distribución de los padres. Las líneas geométricas coloreadas representan intervalos de confianza del 95%. Los valores P miden la probabilidad de que la media de la distribución de la desviación pTDT sea 0 (prueba t de una muestra de dos caras). Abreviaturas: TEA = trastorno del espectro autista, CI = cociente de inteligencia, TDAH = trastorno por déficit de atención/hiperactividad, TCE = esquizofrenia, TDM = trastorno depresivo mayor, EA = nivel educativo, OXT = sujetos con TEA con exposición a la oxitocina durante el parto, no OXT = sujetos con TEA sin exposición a la oxitocina durante el parto.

Asociación entre una rara variación genética disruptiva y la administración de oxitocina

Se identificaron 44 genes intolerantes a las mutaciones ($pLI > 0,9$ / $MPC > 2$) con 62 variantes truncantes de proteínas *de novo* (dnPTVs) en individuos con TEA con datos de secuenciación del exoma disponibles ($N=143$) (**Figura 3.3A**). De ellos, 33 genes, que presentaban 40 dnPTVs, estaban mutados en los individuos con TEA en tríos OXT ($N= 29$; 0,51 dnPTV por sujeto) y 17 genes, 22 dnPTVs, en los individuos con TEA en tríos no OXT ($N= 19$; 0,34 dnPTV por sujeto).

Cuando se incluyeron todos los dnPTV, no se describieron diferencias en la carga de dnPTV entre los tríos OXT y no OXT (prueba exacta de Fisher $p=,375$; $OR = 1,43$; **Tabla 3.2**). Sin embargo, se describió un número significativo de IPP en los genes mutados en los tríos OXT ($p=1,94 \times 10^{-3}$; **Tabla Suplementaria 3.4, anexo 7**), un patrón no observado en los tríos no OXT ($p=,244$). Aunque los genes que albergan dnPTV tanto en los tríos OXT como en los no OXT se encontraron principalmente enriquecidos en las vías de remodelación de la cromatina, sólo los genes mutados en los tríos OXT se describieron como enriquecidos en las vías de aprendizaje o memoria ($p=4,85 \times 10^{-4}$) y de cognición ($p=1,23 \times 10^{-3}$; **Tabla Suplementaria 3.5, anexo 8**).

Número de individuos con TEA con dnPTV (Nº mutaciones/sujeto)					
	Todos los sujetos	OXT (N=78)	Non_OXT (N=65)	OR	p-val
Todas las <i>de novo</i> PTV	48 (0,43)	29 (0,51)	19 (0,34)	1,43	,375
102 genes TEA (Satterstrom, 2020)	11 (0,08)	7 (0,09)	4 (0,06)	1,50	,754
208 genes NDD (Stessman, 2017)	13 (0,10)	11 (0,15)	2 (0,03)	5,33	,037

Tabla 3.2: dnPTVs en individuos con TEA en tríos OXT y no OXT. Se muestran los números y la proporción de individuos con TEA con dnPTVs considerando i) todos los PTVs *de novo* (fila 1), ii) dnPTVs en genes que albergan variación de truncamiento en TEA (fila 2), y iii) dnPTVs en genes que albergan variación de truncamiento en trastornos del neurodesarrollo (NDD) (fila 3) en tríos OXT y no OXT. Se realizaron pruebas exactas de Fisher de dos colas para cada conjunto de genes. Sólo se incluyeron en los análisis los genes intolerantes a las mutaciones ($pLI > 0,9$ / $MPC > 2$). Abreviaturas: dnPTV = variante truncadora de proteínas *de novo*, TEA = trastorno del espectro

autista, genes NDD = genes con una importante implicación durante el neurodesarrollo (Stessman, 2017), pLI = probabilidad de ser un gen intolerante a la pérdida de función, MPC = puntuación patogénica de missense, OXT = sujetos con TEA expuestos al uso de oxitocina durante el parto, no OXT = sujetos con TEA no expuestos al uso de oxitocina durante el parto.

La carga de mutaciones se restringió entonces a los genes que albergan variaciones de truncamiento de proteínas en el TEA (Satterstrom, 2020) y, de forma independiente, a los genes con una profunda implicación en el neurodesarrollo (NDD) (Stessman, 2017). Encontramos un enriquecimiento significativo en los genes NDD en los individuos con TEA expuestos a la oxitocina (11 de 78 individuos con TEA OXT) en relación con los no expuestos (2 de 65 individuos con TEA no OXT) (**Tabla 3.2**). Por el contrario, no se encontró un enriquecimiento significativo en los genes del TEA.

Patrones de expresión génica de genes alterados y administración de oxitocina

Tras el hallazgo de una mayor carga de NDD dnPTV en los sujetos con TEA expuestos a la oxitocina, se exploró además si esta observación es coherente con los perfiles de expresión génica de los genes mutados.

Se descargaron de BrainSpan los perfiles de expresión génica completos a lo largo del desarrollo del cerebro y se normalizaron (véase Métodos). Los perfiles de expresión génica de los genes mutados en los participantes con OXT o sin OXT se representaron por separado (**Figura 3.3C**). Se encontró una diferencia significativa en las tendencias de expresión desde las etapas prenatales a las postnatales entre los genes mutados en los participantes con OXT o sin OXT (ANOVA de dos vías; $F = 8,43$; $p = ,0048$). En concreto, se observó una tendencia a la disminución de la expresión génica, desde la etapa prenatal (13 estadios) a la postnatal (18 estadios), entre los genes mutados en los participantes de OXT (prueba de rango con signo de Wilcoxon, valor $p = 1,36 \times 10^{-3}$; **Figura 3.3D**), pero no entre los genes mutados en los participantes no OXT (prueba de rango con signo de Wilcoxon, valor $p = ,778$; **Figura 3.3E**).

También se evaluó el enriquecimiento de los genes mutados en determinados tipos de células cerebrales, cuyos patrones de expresión génica fueron descritos previamente (Zhang, 2016). Curiosamente, los genes mutados a través de los individuos de los tríos sin OXT resultaron estar significativamente enriquecidos en genes específicos de las neuronas (PFDR = 0,017 a $pSI < 0,05$, **Figura 3.3B; tabla suplementaria 3.6, anexo 9**), mientras que los genes mutados a través de los sujetos con OXT tenían un patrón de expresión génica menos específico (**Figura 3.3B**).

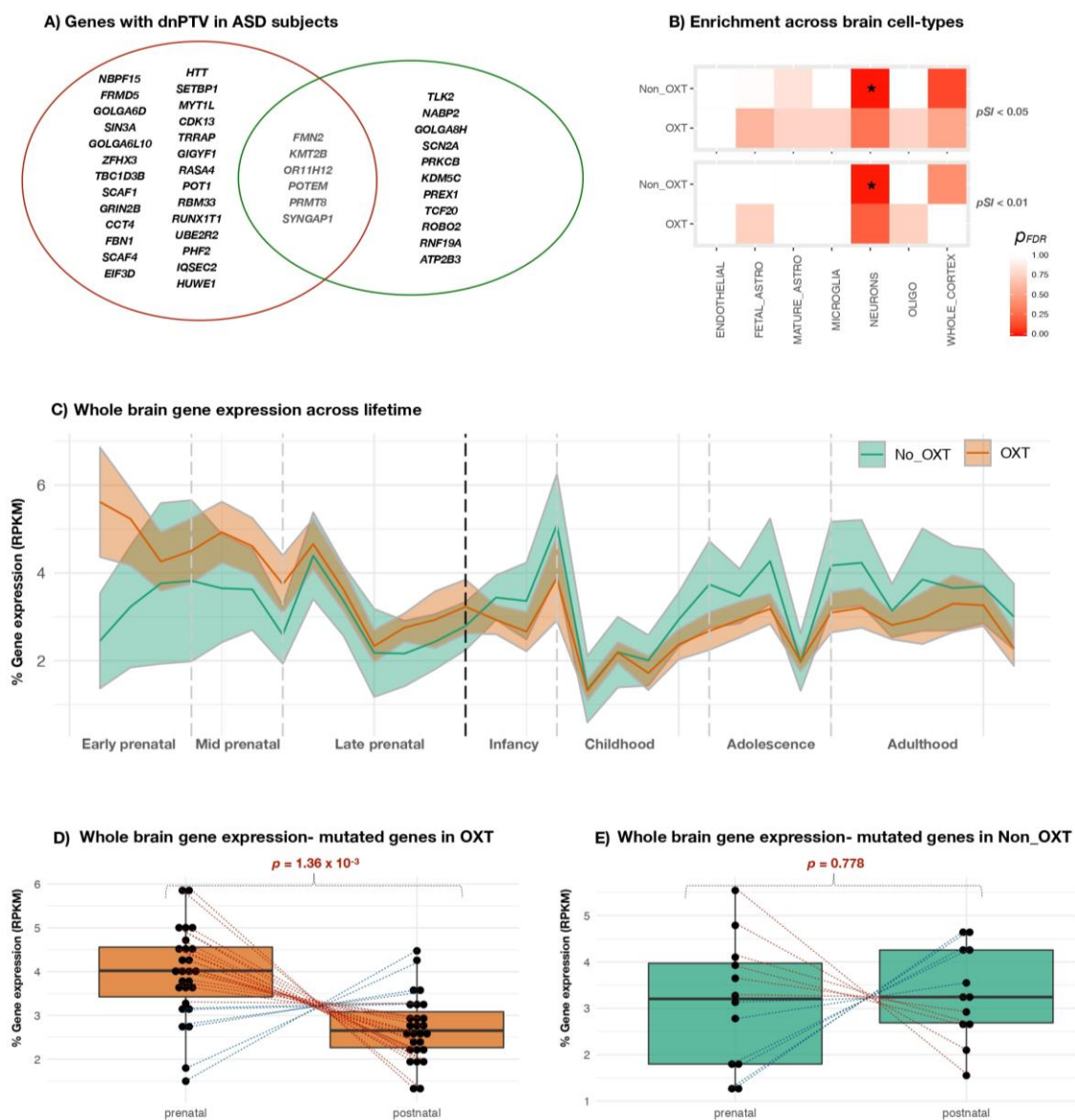


Figura 3.3: Patrones de expresión génica de los genes mutados en individuos con TEA (OXT en verde) y sin (no OXT en naranja) exposición a la oxitocina durante el parto. A) Listas de genes con dnPTV en los tríos OXT (Nsubjects = 78; Ngenes = 33) y no OXT (Nsubjects = 65; Ngenes = 19). B) Enriquecimiento del conjunto de genes en los tipos de células de la corteza cerebral humana adulta (Zhang, 2016). Se realizaron análisis de enriquecimiento para los genes mutados en los tríos OXT y no OXT utilizando el paquete pSI, empleando dos índices de especificidad diferentes ($pSI < 0,05$ y $pSI < 0,01$) para cada tipo celular. Los valores de probabilidad fueron corregidos por FDR en cada caso; "*" indica valores significativos ($pFDR < 0,05$). C) Expresión media de los genes mutados en los tríos OXT y no OXT durante el neurodesarrollo. El porcentaje de expresión génica (medido como lecturas por kilobase por millón de lecturas mapeadas (RPKM)) en cada uno de los 30 puntos temporales diferentes, se representa en relación con la expresión global. Los valores de expresión génica se promediaron en todos los tejidos cerebrales disponibles en BrainSpan (<https://www.brainspan.org/>) en cada punto temporal. Las líneas oscuras y las áreas sombreadas representan la expresión media y los intervalos de confianza del 95%. La línea negra discontinua separa la expresión prenatal de la postnatal. Las líneas grises discontinuas dividen el neurodesarrollo en seis etapas de desarrollo. D-E) Diferencias entre los niveles de expresión genética prenatal y postnatal para los genes mutados en los tríos OXT (D) y no OXT (E). Las líneas discontinuas rojas y azules conectan las etapas prenatal y postnatal para los genes con valores de expresión media decrecientes y crecientes, respectivamente. Las observaciones prenatales-postnatales se analizaron para contrastar la hipótesis nula según la cual la diferencia entre pares de observaciones es cero con la prueba de rangos con signo de Wilcoxon.

Discusión

En esta tesis hemos realizado 3 estudios sobre una muestra de pacientes con TEA y sus padres, para estudiar el efecto de algunos factores ambientales sobre la gravedad de la sintomatología autista y gravedad evolutiva presentes. En algunos de los casos hemos analizado además la influencia añadida de la variación común y rara genéticas sobre ese mismo resultado (gravedad de la sintomatología autista y global de desarrollo, en los descendientes). Específicamente, hemos estudiado el efecto de la edad avanzada de los padres, de los rasgos autistas de éstos y del riesgo poligénico y de variación rara; el efecto de las complicaciones pre y perinatales y el efecto del estrés sufrido por la madre durante el embarazo, por razones ajenas al mismo.

Hallazgos principales

Los principales hallazgos de estos estudios pueden resumirse en:

En los padres de pacientes con Trastornos del Espectro Autista (TEA) i) existe una relación directa y significativa entre sus rasgos autistas (medidos con el cuestionario Autism Quotient, AQ) y la edad en el momento de la concepción; sin embargo, esta relación depende del sexo, ya que las madres, pero no los padres, representan la parte significativa de la relación, ii) cuando la muestra de hijos se divide en subtipos de autismo del DSM-IV sólo hay una relación significativa entre el AQ y la edad de los progenitores de los sujetos con síndrome de Asperger (SA), iii) curiosamente, encontramos que los padres mostraban más rasgos autistas que las madres, y que los sujetos con Trastornos Generalizados del Desarrollo no especificados (un subtipo del DSM-IV) fueron concebidos a una edad más avanzada de los padres, iv) el riesgo debido a variación genética común (*polygenic risk score*, o PRS) parece estar sólo

modestamente asociado con los rasgos autistas en las madres de sujetos con SA, v) en definitiva, una mayor contribución materna poligénica (tanto por análisis de AQ como de PRS) es un factor de riesgo para un fenotipo de Asperger en la descendencia.

Respecto a los factores de riesgo pre y perinatales y su relación con la presencia y gravedad de comportamientos estereotipados en los hijos i) las infecciones prenatales, el estrés materno y la edad más temprana de inicio de los síntomas del TEA predijeron el 20-23% de la varianza del comportamiento estereotípico en los sujetos con TEA ii) el estrés materno durante el embarazo (eventos independientes al proceso de gestación) también se relacionó con la presencia de más complicaciones obstétricas prenatales.

Por último, en cuanto a la relación del uso de oxitocina durante el parto y la gravedad de la sintomatología TEA y de desarrollo, i) los individuos con TEA expuestos a oxitocina durante el parto se caracterizaron no sólo por una menor competencia cognitiva y una aparición temprana de los síntomas, sino también por una mayor probabilidad de tener una variación disruptiva *de novo* en genes fuertemente implicados en el neurodesarrollo temprano ii) por el contrario, los participantes con TEA no expuestos a la oxitocina se caracterizaban por una mejor capacidad cognitiva, una mayor transmisión poligénica de alelos relacionados con TEA y con TDAH, y una mayor probabilidad de tener una variación *de novo* que afectaba a los genes con expresión neuronal a lo largo del desarrollo.

Características parentales: rasgos TEA en los padres y edad de concepción

Las primeras interpretaciones sobre resultados iniciales de mayor riesgo de autismo en padres de edad avanzada tenían que ver con la mayor tasa de mutaciones acumuladas en células germinales que hacían más probable que la progeñie de estos padres (fundamentalmente varones) tuviera mutaciones patogénicas. Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la edad avanzada de los progenitores podría ser también una consecuencia de los rasgos autistas en los progenitores, como previamente se había hipotetizado por algunos autores (Gratten, 2016), al menos en el caso de las madres.

En la literatura hay evidencia consistente de una superposición biológica y genética entre el TEA y los rasgos autistas en la población general (Bralten, 2018) con estimaciones más altas de heredabilidad para los rasgos autistas que para el TEA *per se* (Robinson, 2011). El SA se ha descrito como un subtipo biológico distinto de TEA según los últimos GWAS realizados hasta la fecha, con una mayor contribución de la variación genética común (Grove, 2019) que de variación rara. Nuestros resultados sugieren un impacto del AQ materno en el riesgo de TEA que se restringe a los tríos de AS. Por lo tanto, nuestros datos apoyan la hipótesis de que las madres con más rasgos autistas conciben una descendencia diagnosticada con más frecuencia con AS.

Las estimaciones del PRS han demostrado ser útiles para analizar la contribución de la variación genética común de una determinada enfermedad o rasgo (Clarke, 2016; Nivard, 2017; Wray, 2014). En nuestro conjunto de datos, un PRS combinado que utiliza las contribuciones del TEA y de los trastornos comórbidos predijo significativamente la AQ materna, pero no la paterna, en los sujetos con SA, mientras que la variación *de novo* no lo hizo. Este resultado podría explicarse, en parte, por el solapamiento poligénico entre el SA y los trastornos psiquiátricos relacionados (González-Peñas, 2020; Guo, 2017). Los resultados no conservan la significación tras la corrección de las pruebas múltiples, pero convergen con

los resultados que describen la relación entre la AQ y la edad de concepción. Estos resultados deben considerarse preliminares pues falta replicación en estudios independientes y con muestras mayores para corroborar los mismos.

Con respecto a la mayor contribución materna poligénica al riesgo de SA en la descendencia descrita aquí (tanto por los análisis de AQ como de PRS), un estudio reciente informó de que el PRS materno contribuye a los trastornos del neurodesarrollo en la descendencia al aumentar el riesgo de exposición a ciertos ambientes adversos durante el embarazo (Leppert, 2019). Al tratarse de un trastorno del neurodesarrollo temprano de inicio intrauterino (Xiao, 2014), los resultados del TEA en la descendencia pueden verse más afectados por el ambiente materno que por el paterno (Lyll, 2014).

Los subtipos de TEA desaparecieron de las versiones recientes de las clasificaciones psiquiátricas (DSM-5 y CIE-11) debido a la falta de evidencia que los apoyara en el momento de la publicación de estas versiones. Además, el TEA está desapareciendo progresivamente como epónimo (Parellada, 2020). Sin embargo, como se mencionó en la introducción, los datos genómicos recientes muestran una arquitectura genética diferencial en el SA en comparación con otros subtipos de TEA del DSM-IV, teniendo el primero una mayor contribución poligénica. Estos resultados justifican, junto con otros muchos, seguir investigando en este subtipo de autismo, sea con la denominación original (Síndrome de Asperger) o con otra que se considere más adecuada.

También encontramos una correlación significativa entre la edad paterna y materna en el momento de la concepción, en línea con hallazgos anteriores (Croen, 2007); y una modesta correlación significativa entre los rasgos autistas paternos y maternos, en línea con los mecanismos de emparejamiento selectivo (Page, 2016; Connolly, 2019). Estas correlaciones dificultan la separación de los posibles efectos específicos del sexo de la edad de los padres en el momento de la concepción. Sin embargo, en trabajos anteriores se ha

observado que la edad materna avanzada aumenta el riesgo de autismo en la descendencia independientemente de la edad paterna, pero no a la inversa (Shelton, 2010), lo que apoya aún más la hipótesis de que la variación *de novo* paterna y la contribución poligénica materna aumentan el riesgo de TEA en la descendencia.

Tanto las madres como los padres de pacientes con TEA tuvieron medias de puntuaciones inferiores a los valores de referencia de la población británica en el cuestionario de autoevaluación de rasgos autistas AQ (Wheelwright, 2010). A la luz de nuestros resultados, es posible que la mayor proporción de casos de SA en la muestra británica pueda contribuir a las mayores puntuaciones de AQ en sus padres. Aun así, en ausencia de valores de referencia españoles es difícil interpretar este resultado. Hay que esperar a disponer de valores de referencia españoles para entender las diferencias entre ambas poblaciones. También debemos tener en cuenta que el AQ en la población no diagnosticada, en nuestro caso padres de individuos con TEA, posiblemente no esté midiendo los mismos rasgos de TEA que lo haría en la población con TEA, sino más bien un fenotipo de autismo ampliado (Murray, 2014).

Periodo prenatal: el estrés materno durante el embarazo

Algunos estudios, sobre todo preclínicos, con muestras animales, han señalado la relación entre el estrés durante el embarazo y los problemas de neurodesarrollo en la progenie. Además, distintos estudios han señalado la relación entre el estrés durante el embarazo y los rasgos autistas en población general. Un estudio reciente con una muestra parecida a la nuestra examinó el estrés durante el embarazo y su relación con la sintomatología autista en la descendencia con este diagnóstico (Varcin, 2017). Aunque el estudio de Varcin se centró en los síntomas generales del TEA y la comunicación, nuestros resultados apuntan en la misma dirección que los suyos (Varcin, 2017). Aquí pudimos replicar sus resultados con una

escala creada específicamente para evaluar la sintomatología de comportamientos repetitivos en particular, como es la Repetitive Behavior Scale-Revised. Sin embargo, Varcin y sus colegas no incluyeron a individuos con lenguaje nulo o mínimo, como en este estudio, siendo ésta la posible razón del mayor índice de conductas estereotipadas en esta muestra. Se ha postulado en numerosas ocasiones que la RRB podría ser un reflejo de la ansiedad que experimentan los individuos con TEA, que en ocasiones no disponen de otras herramientas comunicativas para expresarse, y es a través de estos movimientos como descargan esta ansiedad. La cuestión es que esta ansiedad o sobreexcitación ante acontecimientos nuevos o cambiantes parece aparecer más en los individuos con TEA cuyas madres habían experimentado estrés durante el embarazo (Kinney, 2008). Es cierto que el estrés durante el embarazo se evaluó en nuestro estudio en función de factores familiares, sociales o profesionales externos, que a priori no deberían estar influidos por los rasgos de personalidad maternos. No obstante, nos preguntamos si podría haber cierta heredabilidad de los rasgos de ansiedad entre ambas generaciones, si los factores genéticos y ambientales pueden interactuar durante el embarazo para contribuir al riesgo. De este modo, las madres con más rasgos de ansiedad o predisposición genética a ellos, estarían predispuestas a experimentar mayor estrés durante el embarazo (Abbott, 2018; Hecht, 2016), siendo éste un mediador entre la heredabilidad de los rasgos de ansiedad en las madres y su posterior manifestación en la descendencia. Sin embargo, al igual que en el caso de la muestra de Varcin, en nuestra muestra no se observó ninguna relación entre las características de las madres, como los antecedentes psiquiátricos de trastornos afectivos o los rasgos de autismo, y las tasas más altas de estrés durante el embarazo y/o de comportamiento estereotipado en la descendencia.

Como hemos señalado, en nuestra muestra, el estrés materno durante el embarazo junto con la presencia de infecciones predice un mayor comportamiento estereotípico en la descendencia. Paralelamente, el estrés materno durante el embarazo se relacionó con una mayor cantidad de factores

obstétricos prenatales. Lo que no nos permiten nuestros resultados inferir es si el estrés materno durante el embarazo está directamente relacionado con estos otros dos factores (infecciones y otras complicaciones obstétricas), por lo que podría haber un mecanismo por el cual el estrés materno durante el embarazo podría aumentar el riesgo de autismo a través del aumento de otras complicaciones obstétricas prenatales (Kinney, 2008). Un posible mecanismo intermediario entre todos estos factores y el resultado final de aumento de conductas estereotipadas, ya apuntado en los estudios preclínicos de estrés y resultados adversos en neurodesarrollo sería un mecanismo inflamatorio que influya en el cerebro fetal en desarrollo y tenga como una de sus manifestaciones en la descendencia la presencia de conductas estereotipadas (Graham, 2021; Matta, 2019; Matta, 2020). Nuestros resultados son de los primeros en demostrar esa asociación en muestras humanas de pacientes con autismo.

Periodo perinatal: la exposición a oxitocina en el parto

La literatura que describe los resultados en los niños expuestos a la oxitocina durante el parto ha informado de asociaciones entre el uso de oxitocina, la dosis y la duración en el parto y el aumento del riesgo de un resultado de TEA en la progenie (Gialloreti, 2014; Gregory, Anthopoulos, 2013; Soltys, 2020; Weisman, 2015), al menos en los varones (Soltys, 2020; Weisman, 2015). Sin embargo, los resultados no son consistentes (Guastella, 2018; Soltys, 2020), y el efecto de la asociación parece débil ($HR=1,05$) tras ajustar por muchos factores de confusión (Lønfeldt, 2019; Lønfeldt, 2020; Stokholm, 2020). Por ejemplo, se demostró que la asociación desaparecía en un gran estudio de cohortes danés basado en registros, en el que los análisis se ajustaron por los antecedentes de psicopatología, los antidepresivos durante el embarazo y los factores socioeconómicos, entre otros (Lønfeldt, 2020). Además, Oberg et al (2016), en una cohorte de más de 1 millón de nacimientos en Suecia, mostraron que al comparar hermanos cuyos

nacimientos fueron discordantes para la inducción, la inducción del parto ya no se asoció significativamente con el riesgo de TEA. Se necesitan muchos diseños de estudios diferentes, estudios mecanísticos y un mayor cruce entre la obstetricia y la neurociencia para lograr un progreso significativo en la comprensión de las relaciones entre los factores obstétricos y el riesgo de TEA (Kenkel, 2019).

Los estudios epidemiológicos hasta ahora han utilizado típicamente un enfoque descriptivo, con asociaciones reportadas pero sin ninguna pista con respecto a la dirección de la relación o el mecanismo involucrado en esa relación (Modabbernia, 2017), lo que indica la necesidad de una mayor investigación para tratar de aclarar la dirección y los mecanismos de la asociación.

Por un lado (Gottlieb, 2019a; Oberg, 2016; Simpson, 2003), se ha especulado que el uso de oxitocina sintética durante el parto puede dar lugar a la desensibilización y la regulación a la baja de los receptores de oxitocina en el cerebro del feto (Gottlieb, 2019a; Gottlieb, 2019b; Oberg, 2016), lo que conduce a un desarrollo anormal y a un posterior aumento de las tasas de TEA en los niños afectados. Sin embargo, esta hipótesis se ve contrarrestada por el hecho de que muchos estudios han informado de asociaciones similares entre el autismo y la cesárea (Yip, 2017) o la analgesia epidural (Qiu, 2020). Con los datos aquí presentados no podemos afirmar si el uso de oxitocina aumenta o no el riesgo de TEA. Sin embargo, mostramos que al estudiar dicha asociación es necesario considerar la presencia de complicaciones obstétricas y marcadores tempranos de desarrollo desviado. De hecho, en este estudio, informamos de una asociación entre la exposición a la oxitocina durante el parto y otras complicaciones obstétricas en nuestra muestra. Por otro lado, un factor genético que predisponga tanto a las complicaciones obstétricas como al desarrollo neurológico alterado podría estar detrás de las asociaciones reportadas. Por ejemplo, una cohorte de TEA genéticos raros con mutaciones disruptivas en *CHD8* (un gen candidato a TEA propuesto para afectar fuertemente el neurodesarrollo temprano) mostró que hasta el 40% había nacido después de un parto inducido y, además, el 33% había tenido un parto por cesárea (Bernier,

2014); ambos datos duplican los porcentajes previstos (Simpson, 2003). No hace falta decir que se debe tener precaución en el uso de la oxitocina para la inducción del parto, ya que se ha demostrado sistemáticamente que existe una asociación entre el uso de la oxitocina y la hiperestimulación uterina, que puede tener consecuencias adversas en el resultado del parto y posteriormente en el desarrollo (Clark, 2009; NICE guidelines, 2014).

En este estudio, se exploró la posibilidad de que los niños con dificultades de desarrollo muy tempranas (intrauterinas) estén implicados en partos de riesgo durante los cuales se prescribe con más frecuencia la oxitocina para ayudar al parto. Informamos de las arquitecturas genéticas entre los sujetos con TEA que habían sido expuestos a la oxitocina (OXT) diferenciándolos de los que no lo habían sido (no OXT). Nuestros resultados sugieren que los sujetos OXT tienen un fenotipo más severo, probablemente asociado a la disrupción de los genes NDD y a una menor contribución de la carga poligénica, mientras que los sujetos no OXT tienen una mayor contribución del fondo poligénico. Cabe destacar que este fenotipo más severo presente en la muestra de OX comprende la acumulación del efecto de diferentes variables; aunque al estudiarlas por separado no vimos diferencias en todas ellas, en particular la gravedad específica del TEA, medida por el ADOS, no mostró diferencias. Por lo tanto, hablaríamos de una gravedad más definida por un retraso en el desarrollo de los hitos de la primera infancia, así como cognitivo. Evidencias recientes sugieren que la arquitectura genética en el TEA y el NDD podría basarse en un modelo oligogénico (Iakoucheva, 2019) en el que el riesgo conferido por mutaciones disruptivas en los genes centrales (Liu, 2019) está influenciado por los antecedentes genómicos (poligénicos). La literatura ha demostrado ampliamente la contribución de la variación genética tanto común (Autism Spectrum Disorders Working Group of The Psychiatric Genomics Consortium, 2017; Gaugler, 2014) como rara (Grove, 2019) en el riesgo de autismo (Weiner, 2017). Sin embargo, recientemente se ha descrito que la variación común que predispone al NDD y al TEA está lejos de estar correlacionada (Niemi, 2018),

lo que pone de relieve la distinción entre el NDD y el TEA y los desafíos de desentrañar la heterogeneidad genética en los subtipos coexistentes de TEA (González-Peñas, 2020; Hong, 2020).

En cuanto a la variación genética común, hemos descrito una contribución poligénica significativa del TEA y el TDAH en tríos de TEA no OXT. Se ha calculado que la estimación de la heredabilidad del TEA a partir de la variación común representa hasta el 50% de la varianza fenotípica (Gaugler, 2014), y varios estudios han encontrado que el PRS para el TEA (Anttila, 2018; Clarke, 2016) y el NDD (Niemi, 2018; Sniekers, 2017) están directa e inversamente correlacionados con un mayor CI en la población, respectivamente. A partir de nuestros datos, surge un fenotipo autista específico, caracterizado por un mejor desarrollo cognitivo y una mayor carga poligénica, tras eliminar a los sujetos expuestos a la oxitocina. Por el contrario, se ha descrito una transmisión poligénica no significativa para ninguno de los trastornos evaluados en los sujetos OXT.

Con respecto a la variación rara, informamos de una mayor prevalencia de variantes *de novo* alteran la proteína en los sujetos OXT que en los no OXT. La diferencia en la tasa de mutación entre los participantes de OXT y los que no lo son es significativamente mayor cuando se restringe a los genes de NDD en general, pero no a los genes específicos de TEA. Estos resultados están en consonancia con los del último estudio de secuenciación del exoma de los TEA realizado hasta la fecha (Satterstrom, 2020), en el que los 102 principales genes de riesgo de los TEA se dividieron en genes NDD y genes predominantes de los TEA, y en el que se descubrió que el primer grupo de genes se asociaba con un menor coeficiente intelectual y una mayor gravedad de los síntomas.

Todos los dnPTVs que afectan a los tríos de OXT estaban distribuidos en genes significativamente interconectados y con patrones de expresión prenatales sesgados, mientras que los genes mutados en los sujetos no OXT estaban enriquecidos en genes específicos de las neuronas. Estas observaciones son

consistentes con resultados recientes que sugieren que los genes de riesgo de TEA asociados a la comunicación neuronal no se expresan más durante las etapas prenatales, como ocurre con los genes relacionados con la regulación de la expresión o la remodelación de la cromatina (Satterstrom, 2020). Además, los genes de remodelación de la cromatina se han relacionado ampliamente con afecciones graves del neurodesarrollo, aparte del TEA (Barnard, 2015; Cotney, 2015; Ronan, 2013).

Estos patrones funcionales pueden ejemplificarse con algunos de los genes aquí descritos. Entre los genes afectados en los sujetos de OXT, *GRIN2B*, que codifica un miembro de la familia de receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), se ha encontrado que está relacionado con las condiciones del neurodesarrollo (Hu, 2016; Myers, 2019; Platzer, 2017). *GRIN2B* es uno de los principales genes de riesgo de TEA con DI comórbida y afectación severa del neurodesarrollo recientemente descrita en el mayor estudio del exoma de TEA hasta la fecha (Satterstrom, 2020). Además, las mutaciones en *MYT1L*, *IQSEC2* o *HUWE1*, también afectadas en los sujetos OXT, se han descrito ampliamente como factores de riesgo de DI (Mayo, 2015; Moortgat, 2018; Shoubridge, 2010; Stevens, 2011). Por otro lado, *ATP2B3* y *PRKCB*, los genes afectados en sujetos de tríos no OXT con el mayor sesgo hacia la expresión génica postnatal, se han relacionado con el TEA (Toma, 2011; Wen, 2016) pero su evidencia detrás de la afectación del neurodesarrollo es escasa.

Limitaciones

Una de las principales limitaciones del **primer estudio** es la naturaleza autoinformada de la evaluación de los rasgos autistas y la ausencia de una medida de las capacidades cognitivas en los padres, que probablemente influye en la forma en que se ven a sí mismos y también modula el riesgo de concebir sujetos con TEA de alto o bajo funcionamiento. La ausencia de datos reales sobre comorbilidades psiquiátricas en los padres es también una limitación. Por último, la principal limitación es el pequeño tamaño de la muestra, que impide, entre otros problemas, aplicar la corrección de comparaciones múltiples y la inclusión del sexo de los hijos como variable a considerar. Por tanto, los análisis deben considerarse exploratorios y los resultados preliminares. Deben realizarse nuevos estudios con cohortes diferentes y más amplias para poder confirmar estos resultados y superar la principal limitación del tamaño de la muestra disponible.

Respecto al **segundo estudio**, dada la escasez de estudios similares, tenemos la limitación de que se trata de un estudio exploratorio, animando a la comunidad científica a intentar replicar estos resultados. En relación a los posibles mecanismos biológicos subyacentes a los resultados encontrados, tuvimos la limitación de no contar con suficientes muestras genéticas y biológicas de los individuos con TEA que participaron en este estudio (y sus madres) para poder evaluarlo con cierto grado de representatividad.

En relación al **tercer estudio**, observamos varias limitaciones importantes. En primer lugar, no tenemos tríos sin TEA, ni hermanos de nuestros sujetos no diagnosticados, ni un grupo de control; por lo tanto, una comparación directa del riesgo de TEA asociado con el uso de oxitocina durante el parto no es posible en nuestro estudio. En segundo lugar, los datos sobre el uso de oxitocina durante el parto se obtuvieron por autoinforme de la madre mediante un cuestionario diseñado a medida, que puede estar sujeto a varios sesgos, incluido un sesgo de recuerdo. Además, el cuestionario podría haber sido más

completo, incluyendo el uso de otros fármacos durante el parto, como las prostaglandinas o la anestesia epidural. Sin embargo, éstos no se incluyeron inicialmente porque constituían más una práctica estándar que el uso de oxitocina. Debido a la naturaleza de la recogida de datos retrospectiva, no se disponía de la(s) dosis de oxitocina exógena utilizada en los procedimientos obstétricos. Otra limitación es la falta de una medida directa de la complicación obstétrica, como un análisis de sangre del cordón umbilical para medir el suministro de oxígeno. Este tipo de medición no era una práctica estándar en el momento del parto de los participantes aquí incluidos. Además, como tenemos una media del 9% de ascendencia no europea en nuestra cohorte de TEA, somos conscientes de las implicaciones para la predicción de la puntuación poligénica basada en datos de descubrimiento de GWAS de cohortes europeas (Grove, 2019) en términos de pérdida de poder estadístico (Duncan, 2019). Sin embargo, la pTDT se ha utilizado para tratar la ascendencia de la población, ya que los análisis se basan en la transmisión parental de las variantes de predisposición (De Rubeis, 2014). Por último, aunque se ha demostrado que las variantes truncantes *de novo* en los genes NDD son altamente patogénicas (Grove, 2019), en este estudio no se evaluaron otras variantes estructurales como las CNVs. Por lo tanto, nuestros resultados deben interpretarse con precaución, y se necesitan muestras de mayor tamaño de otras cohortes de TEA con información disponible sobre el uso de oxitocina durante el parto y datos genéticos para replicar nuestros hallazgos.

Fortalezas e investigaciones futuras

Esta tesis doctoral ofrece un aumento en el conocimiento de las bases etiológicas de los fenotipos TEA y sus condiciones asociadas, a través del estudio de tres factores de riesgo ambiental y su posible asociación con factores de riesgo genéticos. Basado en el conocimiento de que los TEA son un conjunto de trastornos del neurodesarrollo ocasionado por la interacción de factores genéticos y ambientales, los tres estudios que componen esta tesis doctoral incluyen factores ambientales definidos en momentos previos al embarazo, durante el embarazo y en el momento del nacimiento. En dos de los estudios se incluyen además factores genéticos. De esta forma, los resultados apoyan la teoría de interacción gen-ambiente, ofreciendo un enfoque más completo que los estudios que solo incluyen factores genéticos o ambientales por separado. La elección de factores de riesgo se basó en la amplia bibliografía previa que demostró su relación con un aumento en la incidencia de TEA, como son factores genéticos como las mutaciones *de novo* y la carga poligénica común; características parentales como la edad de concepción, rasgos autistas en los padres, antecedentes psiquiátricos de ansiedad o la presencia de estrés materno durante el embarazo; y características obstétricas pre y perinatales, como son la presencia de infecciones durante el embarazo o el uso de oxitocina durante el parto, entre otros.

Otro punto fuerte de este trabajo de tesis es la calidad metodológica. Contamos con un programa de atención asistencial y de diagnóstico complejo de autismo donde poder desarrollar estos proyectos, con un alto número de pacientes y familiares dispuestos a colaborar en el desarrollo y avance científico, así como con unos profesionales altamente especializados en el diagnóstico tanto estandarizado como clínico, que compaginan su tarea asistencial con la participación investigadora, de manera que disponen de conocimientos actualizados sobre todas las áreas integradas de los TEA: diagnóstico, intervención y conocimiento de los avances sobre su etiología. Además, para este trabajo hemos contado con la

colaboración con un consorcio especializado en el análisis de las muestras, Autism Sequencing Consortium, necesario y previo a los análisis que se han desarrollado para estos estudios por parte del experto en genética aplicada a la psiquiatría que forma parte del equipo investigador. El reclutamiento siguió los criterios éticos aprobados por el comité ético del hospital, asegurando los derechos de los participantes. La fiabilidad de los datos se consiguió gracias a que se usaron escalas estandarizadas administradas por psicólogos y psiquiatras expertos en los TEA y entrenados con fiabilidad en su administración en investigación.

Dada la multifactorialidad y heterogeneidad tanto fenotípica como biológica de los TEA, el grado de afectación y necesidad de apoyo de estos sujetos puede ser muy diverso. El mejor conocimiento de las bases biológicas y el diferente peso e influencia que cada factor etiológico pueda tener sobre la gravedad y tipología clínica del autismo, se torna fundamental para informar sobre el pronóstico, la estratificación y las decisiones de tratamiento, esperando pueda ayudar al desarrollo tanto de programas de prevención y atención temprana más específicos para los distintos tipos de autismo.

Conclusiones

Los trabajos que conforman esta tesis doctoral suponen un avance en el conocimiento de la influencia de los factores ambientales sobre la sintomatología autista y asociada y sobre la interacción e influencia entre dichos factores ambientales y algunos factores genéticos sobre la caracterización y sintomatología de los TEA.

1. Existe una asociación entre los **rasgos autistas** de las madres de pacientes con TEA y su **edad en el momento de la concepción**, asociación que no aparece en los padres.
2. Los rasgos autistas y la edad de los progenitores en el momento de la concepción parecen correlacionarse con un perfil clínico de Síndrome de Asperger más que con un perfil de autismo o de Trastorno Generalizado del Desarrollo no especificado, dentro de la descendencia TEA.
3. Los rasgos autistas son más marcados en los padres que en las madres de pacientes con TEA. Los rasgos autistas de los padres y de las madres de pacientes con TEA correlacionan entre sí de forma modesta. Todos ellos tienen valores inferiores a los de la muestra de descripción original de la escala utilizada, procedente de Reino Unido.
4. El **riesgo poligénico** derivado de la secuenciación exómica se asocia modestamente con los rasgos autistas, solo en el caso de las madres con descendencia con diagnóstico del subtipo síndrome de Asperger.
5. En definitiva, una mayor contribución materna poligénica (tanto por análisis de AQ como de PRS) es un factor de riesgo para un fenotipo de Asperger en la descendencia.
6. Dada la diferencial contribución de los rasgos autistas en los padres, del riesgo poligénico y de la edad en el momento de la concepción, merece la pena seguir considerando el subtipo síndrome de Asperger en los estudios de bases biológicas de los TEA.

7. El **estrés materno durante el embarazo** juega un papel en la presentación de conductas repetitivas en sus hijos con TEA, junto con otros factores obstétricos. Específicamente, la presencia de infecciones se asocia asimismo con la **gravedad de la sintomatología repetitiva** en la descendencia TEA.
8. Los mecanismos mediadores de la relación entre el estrés y otros acontecimientos prenatales y la gravedad de la sintomatología repetitiva en los descendientes con TEA son aún desconocidos, pero es posible que mecanismos inflamatorios puedan influir en dicha asociación.
9. El **uso de oxitocina durante el parto**, presente en un 55 % de los casos de TEA en nuestra muestra, es más frecuente en partos de embarazos con más complicaciones obstétricas.
10. El uso de oxitocina es más frecuente en pacientes con TEA con un inicio más temprano de los síntomas, con peor desarrollo cognitivo y con mayor presencia de **variantes patogénicas de novo en genes** relevantes para el neurodesarrollo. Por el contrario, aquellos pacientes con TEA en cuyo parto no se usó oxitocina se caracterizaban por una mejor capacidad cognitiva y tenían más **riesgo poligénico** de autismo que los pacientes en cuyos partos se usó oxitocina.
11. En contra de la noción de que la exposición a la oxitocina durante el parto está relacionada causalmente con una mayor prevalencia de TEA, nuestros datos señalan como más probable la hipótesis de que la exposición a la oxitocina durante el parto sea un indicador de gravedad del desarrollo desde etapas tempranas del desarrollo intrauterino relacionadas con un subtipo de TEA con una mayor carga de variación genética rara perturbadora *de novo* y desviación del desarrollo.

Referencias bibliográficas

Abbott, P. W., Gumusoglu, S. B., Bittle, J., Beversdorf, D. Q., & Stevens, H. E. (2018). Prenatal stress and genetic risk: How prenatal stress interacts with genetics to alter risk for psychiatric illness.

Psychoneuroendocrinology, 90, 9-21. doi:10.1016/j.psyneuen.2018.01.019

Adams, J. B., Audhya, T., McDonough-Means, S., Rubin, R. A., Quig, D., Geis, E., . . . Lee, W. (2011).

Nutritional and metabolic status of children with autism vs. neurotypical children, and the association with autism severity. *Nutrition & Metabolism*, 8(1), 34. doi:10.1186/1743-7075-8-34

Alaerts, K., Steyaert, J., Vanaudenaerde, B., Wenderoth, N., & Bernaerts, S. (2021). Changes in

endogenous oxytocin levels after intranasal oxytocin treatment in adult men with autism: An exploratory study with long-term follow-up. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 43, 147-152.

doi:10.1016/j.euroneuro.2020.11.014

American Psychiatric Association. (2002). *DSM-IV-TR: Breviario: Criterios diagnósticos* Elsevier España.

American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®)*

American Psychiatric Pub.

Andersson, M., Tangen, Ä, Farde, L., Bölte, S., Halldin, C., Borg, J., & Lundberg, J. (2021). Serotonin

transporter availability in adults with autism-a positron emission tomography study. *Molecular Psychiatry*, 26(5), 1647-1658. doi:10.1038/s41380-020-00868-3

Anttila, V., Bulik-Sullivan, B., Finucane, H. K., Walters, R. K., Bras, J., Duncan, L., . . . Murray, R. (2018).

Analysis of shared heritability in common disorders of the brain. *Science (New York, N.Y.)*, 360(6395)

doi:10.1126/science.aap8757

Arias Vanegas, B. E. (2013). Análisis comparativo de los procesos de socialización y su relación con las competencias sociales de los niños y las niñas en la ciudad de medellín.

Armony, J. L., Trejo-Martínez, D., & Hernández, D. (2012). Resonancia magnética funcional (RMf):

Principios y aplicaciones en neuropsicología y neurociencias cognitivas. *Neuropsicología*

Latinoamericana, 4(2)

Arnold, P. D., Askland, K. D., Barlassina, C., Bellodi, L., Bienvenu, O. J., Black, D., . . . Camarena, B. (2018).

Revealing the complex genetic architecture of obsessive-compulsive disorder using meta-analysis.

Molecular Psychiatry, 23(5), 1181.

Artigas-Pallarès, J., & Paula, I. (2012). El autismo 70 años después de leo kanner y hans asperger. *Revista*

De La Asociación Española De Neuropsiquiatría, 32(115), 567-587.

Asperger, H. (1943). *Die autistischen psychopathen im kindesalter* na.

Autism Spectrum Disorders Working Group of The Psychiatric Genomics Consortium. (2017). Meta-

analysis of GWAS of over 16,000 individuals with autism spectrum disorder highlights a novel locus at 10q24.32 and a significant overlap with schizophrenia. *Molecular Autism*, 8, 21.

doi:10.1186/s13229-017-0137-9

Bahena-Trujillo, R., Flores, G., & Arias-Montaña, J. A. (2000). Dopamina: Síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Revista Biomédica*, 11(1), 39-60.

Baio, J., Wiggins, L., Christensen, D. L., Maenner, M. J., Daniels, J., Warren, Z., . . . White, T. (2018).

Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, united states, 2014. *MMWR Surveillance Summaries*, 67(6), 1.

Barnard, R. A., Pomaville, M. B., & O'Roak, B. J. (2015). Mutations and modeling of the chromatin remodeler CHD8 define an emerging autism etiology. *Frontiers in Neuroscience*, 9, 477.
doi:10.3389/fnins.2015.00477

Baron-Cohen, S., Wheelwright, S., Skinner, R., Martin, J., & Clubley, E. (2001). The autism-spectrum quotient (AQ): Evidence from asperger syndrome/high-functioning autism, males and females, scientists and mathematicians. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 31(1), 5-17.

Barone, R., Gulisano, M., Amore, R., Domini, C., Milana, M. C., Giglio, S., . . . Fichera, M. (2020). Clinical correlates in children with autism spectrum disorder and CNVs: Systematic investigation in a clinical setting. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 80(4), 276-286.

Baselmans, B. M., Yengo, L., van Rheenen, W., & Wray, N. R. (2021). Risk in relatives, heritability, SNP-based heritability, and genetic correlations in psychiatric disorders: A review. *Biological Psychiatry*, 89(1), 11-19.

Baxter, A. J., Brugha, T. S., Erskine, H. E., Scheurer, R. W., Vos, T., & Scott, J. G. (2015). The epidemiology and global burden of autism spectrum disorders. *Psychological Medicine*, 45(3), 601-613.

- Bernaerts, S., Boets, B., Bosmans, G., Steyaert, J., & Alaerts, K. (2020). Behavioral effects of multiple-dose oxytocin treatment in autism: A randomized, placebo-controlled trial with long-term follow-up. *Molecular Autism*, 11(1), 6. doi:10.1186/s13229-020-0313-1
- Bernier, R., Golzio, C., Xiong, B., Stessman, H. A., Coe, B. P., Penn, O., . . . Eichler, E. E. (2014). Disruptive CHD8 mutations define a subtype of autism early in development. *Cell*, 158(2), 263-276. doi:10.1016/j.cell.2014.06.017
- Beversdorf, D. Q., Manning, S. E., Hillier, A., Anderson, S. L., Nordgren, R. E., Walters, S. E., . . . Bauman, M. L. (2005). Timing of prenatal stressors and autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 35(4), 471-478.
- Bishop, D. V. M., Maybery, M., Maley, A., Wong, D., Hill, W., & Hallmayer, J. (2004). Using self-report to identify the broad phenotype in parents of children with autistic spectrum disorders: A study using the Autism-Spectrum quotient. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 45(8), 1431-1436. doi:10.1111/j.1469-7610.2004.00325.x
- Booke, S., Austin, J., Calderwood, L., & Campion, M. (2020). Genetic counselors' attitudes toward and practice related to psychiatric genetic counseling. *Journal of Genetic Counseling*, 29(1), 25-34. doi:10.1002/jgc4.1176
- Bora, E., Aydın, A., Saraç, T., Kadak, M. T., & Köse, S. (2017). Heterogeneity of subclinical autistic traits among parents of children with autism spectrum disorder: Identifying the broader autism phenotype with a data-driven method. *Autism Research*, 10(2), 321-326. doi:10.1002/aur.1661

- Bordeleau, M., Fernández de Cossío, L., Chakravarty, M. M., & Tremblay, M. (2020). From maternal diet to neurodevelopmental disorders: A story of neuroinflammation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *14*, 612705. doi:10.3389/fncel.2020.612705
- Borlot, F., Regan, B. M., Bassett, A. S., Stavropoulos, D. J., & Andrade, D. M. (2017). Prevalence of pathogenic copy number variation in adults with pediatric-onset epilepsy and intellectual disability. *JAMA Neurology*, *74*(11), 1301-1311.
- Bralten, J., Van Hulzen, K. J., Martens, M. B., Galesloot, T. E., Vasquez, A. A., Kiemeneij, L. A., . . . Poelmans, G. (2018). Autism spectrum disorders and autistic traits share genetics and biology. *Molecular Psychiatry*, *23*(5), 1205-1212.
- Bravo_Becherelle, M. A. (1968). La octava revisión de la clasificación internacional de enfermedades y sus consecuencias en la salud pública. *Salud Pública De México*, *10*(2), 219_231.
- Buja, A., Volfovsky, N., Krieger, A. M., Lord, C., Lash, A. E., Wigler, M., & Iossifov, I. (2018). Damaging de novo mutations diminish motor skills in children on the autism spectrum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(8), E1859-E1866. doi:10.1073/pnas.1715427115
- Bulik-Sullivan, B., Finucane, H. K., Anttila, V., Gusev, A., Day, F. R., Loh, P., . . . Neale, B. M. (2015). An atlas of genetic correlations across human diseases and traits. *Nature Genetics*, *47*(11), 1236-1241. doi:10.1038/ng.3406

Caamaño, M., Boada, L., Merchán-Naranjo, J., Moreno, C., Llorente, C., Moreno, D., . . . Parellada, M.

(2013). Psychopathology in children and adolescents with ASD without mental retardation. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 43(10), 2442-2449. doi:10.1007/s10803-013-1792-0

CAROLINA CAMPOS PAREDES. (2007). *Trastornos del espectro autista* MANUAL MODERNO.

Chengzhong Wang, Hua Geng, Weidong Liu, & Guiqin Zhang. (2017). Prenatal, perinatal, and postnatal factors associated with autism. *Medicine*,

Clark, S. L., Miller, D. D., Belfort, M. A., Dildy, G. A., Frye, D. K., & Meyers, J. A. (2009). Neonatal and maternal outcomes associated with elective term delivery. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 200(2), 156.e1-4. doi:10.1016/j.ajog.2008.08.068

Clarke, T., Lupton, M. K., Fernandez-Pujals, A. M., Starr, J., Davies, G., Cox, S., . . . MacIntyre, D. J. (2016). Common polygenic risk for autism spectrum disorder (ASD) is associated with cognitive ability in the general population. *Molecular Psychiatry*, 21(3), 419-425.

Cohmer, S. (2014). " Autistic disturbances of affective contact"(1943), by leo kanner. *Embryo Project Encyclopedia*,

Colvert, E., Tick, B., McEwen, F., Stewart, C., Curran, S. R., Woodhouse, E., . . . Bolton, P. (2015).

Heritability of autism spectrum disorder in a UK population-based twin sample. *JAMA Psychiatry*, 72(5), 415-423. doi:10.1001/jamapsychiatry.2014.3028

Connolly, S., Anney, R., Gallagher, L., & Heron, E. A. (2019). Evidence of assortative mating in autism spectrum disorder. *Biological Psychiatry*, 86(4), 286-293.

- Constantino, J. N. (2011). The quantitative nature of autistic social impairment. *Pediatric Research*, 69(5 Pt 2), 55R-62R. doi:10.1203/PDR.0b013e318212ec6e
- Costas, J., Carrera, N., Alonso, P., Gurriarán, X., Segalàs, C., Real, E., . . . Domènech, L. (2016). Exon-focused genome-wide association study of obsessive-compulsive disorder and shared polygenic risk with schizophrenia. *Translational Psychiatry*, 6(3), e768.
- Cotney, J., Muhle, R. A., Sanders, S. J., Liu, L., Willsey, A. J., Niu, W., . . . Noonan, J. P. (2015). The autism-associated chromatin modifier CHD8 regulates other autism risk genes during human neurodevelopment. *Nature Communications*, 6, 6404. doi:10.1038/ncomms7404
- Croen, L. A., Najjar, D. V., Fireman, B., & Grether, J. K. (2007). Maternal and paternal age and risk of autism spectrum disorders. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 161(4), 334-340.
- De Rubeis, S., He, X., Goldberg, A. P., Poultney, C. S., Samocha, K., Cicek, A. E., . . . Buxbaum, J. D. (2014). Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 515(7526), 209-215. doi:10.1038/nature13772
- Demontis, D., Walters, R. K., Martin, J., Mattheisen, M., Als, T. D., Agerbo, E., . . . Bækvad-Hansen, M. (2019). Discovery of the first genome-wide significant risk loci for attention deficit/hyperactivity disorder. *Nature Genetics*, 51(1), 63-75.
- Diagnostic and statistical manual of mental disorder second edition. (1968).
- Dietert, R. R., Dietert, J. M., & DeWitt, J. C. (2011). Environmental risk factors for autism. *Emerging Health Threats Journal*, 4(1), 7111.

- Dietz, C., Swinkels, S. H. N., Buitelaar, J. K., van Daalen, E., & van Engeland, H. (2007). Stability and change of IQ scores in preschool children diagnosed with autistic spectrum disorder. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 16(6), 405-410. doi:10.1007/s00787-007-0614-3
- Doeniyas, C. (2021). Potential role of epigenetics and redox signaling in the gut-brain communication and the case of autism spectrum disorder. *Cellular and Molecular Neurobiology*, doi:10.1007/s10571-021-01167-3
- Donovan, A. P. A., & Basson, M. A. (2017). The neuroanatomy of autism - a developmental perspective. *Journal of Anatomy*, 230(1), 4-15. doi:10.1111/joa.12542
- Dueñas Buey, M. L. (2002). Importancia de la inteligencia emocional: Un nuevo reto para la orientación educativa.
- Duncan, L., Shen, H., Gelaye, B., Meijsen, J., Ressler, K., Feldman, M., . . . Domingue, B. (2019). Analysis of polygenic risk score usage and performance in diverse human populations. *Nature Communications*, 10(1), 1-9. doi:10.1038/s41467-019-11112-0
- Eapen, V., Crnčec, R., & Walter, A. (2013). Clinical outcomes of an early intervention program for preschool children with autism spectrum disorder in a community group setting. *BMC Pediatrics*, 13(1), 3. doi:10.1186/1471-2431-13-3
- Emberti Gialloreti, L., Mazzone, L., Benvenuto, A., Fasano, A., Garcia Alcon, A., Kraneveld, A., . . . Siracusano, M. (2019). Risk and protective environmental factors associated with autism spectrum disorder: Evidence-based principles and recommendations. *Journal of Clinical Medicine*, 8(2), 217.

- Fombonne, E. (2018). Editorial: The rising prevalence of autism. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 59(7), 717-720. doi:10.1111/jcpp.12941
- Fountain, C., Winter, A. S., & Bearman, P. S. (2012). Six developmental trajectories characterize children with autism. *Pediatrics*, 129(5), e1112-e1120.
- Gaugler, T., Klei, L., Sanders, S. J., Bodea, C. A., Goldberg, A. P., Lee, A. B., . . . Reichert, J. (2014). Most genetic risk for autism resides with common variation. *Nature Genetics*, 46(8), 881.
- Gialloreti, L. E., Benvenuto, A., Benassi, F., & Curatolo, P. (2014). Are caesarean sections, induced labor and oxytocin regulation linked to autism spectrum disorders? *Medical Hypotheses*, 82(6), 713-718. doi:10.1016/j.mehy.2014.03.011
- Gibbs, V., Aldridge, F., Chandler, F., Witzlsperger, E., & Smith, K. (2012). Brief report: An exploratory study comparing diagnostic outcomes for autism spectrum disorders under DSM-IV-TR with the proposed DSM-5 revision. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 42(8), 1750-1756.
- Gonzalez-Peñas J, Costas J, García-Alcón A, Penzol MJ, Rodríguez J, Rodríguez-Fontenla C, Alonso-González A, Dr. Fernández-Prieto M, Carracedo A, Arango C, Parellada M. (2020). Psychiatric comorbidities in asperger syndrome are related with polygenic overlap and differ from other autism subtypes. *Translational Psychiatry*,
- Gotham, K., Pickles, A., & Lord, C. (2009). Standardizing ADOS scores for a measure of severity in autism spectrum disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 39(5), 693-705.

- Gottlieb, M. M. (2019a). A mathematical model relating pitocin use during labor with offspring autism development in terms of oxytocin receptor desensitization in the fetal brain. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2019, 8276715. doi:10.1155/2019/8276715
- Gottlieb, M. M. (2019b). Mathematical models for possible roles of oxytocin and oxytocin receptors in autism. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2019, 7308197. doi:10.1155/2019/7308197
- Graham, A. M., Doyle, O., Tilden, E. L., Sullivan, E. L., Gustafsson, H. C., Marr, M., & Mackiewicz Seghete, K. (2021). Effects of maternal psychological stress during pregnancy on offspring brain development: Considering the role of inflammation and potential for preventive intervention. *Biological Psychiatry. Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, doi:10.1016/j.bpsc.2021.10.012
- Gratten, J., Wray, N. R., Peyrot, W. J., McGrath, J. J., Visscher, P. M., & Goddard, M. E. (2016). Risk of psychiatric illness from advanced paternal age is not predominantly from de novo mutations. *Nature Genetics*, 48(7), 718-724. doi:10.1038/ng.3577
- Gregory, S. G., Anthopolos, R., Osgood, C. E., Grotegut, C. A., & Miranda, M. L. (2013). Association of autism with induced or augmented childbirth in north carolina birth record (1990-1998) and education research (1997-2007) databases. *JAMA Pediatrics*, 167(10), 959-966. doi:10.1001/jamapediatrics.2013.2904
- Grove, J., Ripke, S., Als, T. D., Mattheisen, M., Walters, R. K., Won, H., . . . Anney, R. (2019). Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder. *Nature Genetics*, 51(3), 431-444.

- Grove, J., Ripke, S., Als, T. D., Mattheisen, M., Walters, R., Won, H., . . . Anney, R. (2017). Common risk variants identified in autism spectrum disorder. *BioRxiv*, 224774.
- Guastella, A. J., Cooper, M. N., White, C. R. H., White, M. K., Pennell, C. E., & Whitehouse, A. J. O. (2018). Does perinatal exposure to exogenous oxytocin influence child behavioural problems and autistic-like behaviours to 20 years of age? *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 59(12), 1323-1332. doi:10.1111/jcpp.12924
- Guastella, A. J., Mitchell, P. B., & Dadds, M. R. (2008). Oxytocin increases gaze to the eye region of human faces. *Biological Psychiatry*, 63(1), 3-5.
- Guo, W., Samuels, J. F., Wang, Y., Cao, H., Ritter, M., Nestadt, P. S., . . . McCracken, J. T. (2017). Polygenic risk score and heritability estimates reveals a genetic relationship between ASD and OCD. *European Neuropsychopharmacology*, 27(7), 657-666.
- Hadjkacem, I., Ayadi, H., Turki, M., Yaich, S., Khemekhem, K., Walha, A., . . . Ghribi, F. (2016). Prenatal, perinatal and postnatal factors associated with autism spectrum disorder. *Jornal De Pediatria*, 92(6), 595-601. doi:10.1016/j.jped.2016.01.012
- Harrison, A. J., Gamsiz, E. D., Berkowitz, I. C., Nagpal, S., & Jerskey, B. A. (2015). Genetic variation in the oxytocin receptor gene is associated with a social phenotype in autism spectrum disorders. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 168(8), 720-729. doi:10.1002/ajmg.b.32377

- Hecht, P. M., Hudson, M., Connors, S. L., Tilley, M. R., Liu, X., & Beversdorf, D. Q. (2016). Maternal serotonin transporter genotype affects risk for ASD with exposure to prenatal stress. *Autism Research, 9*(11), 1151-1160. doi:10.1002/aur.1629
- Heinze, G. (1996). Del DSM-III-R al DSM-IV. *Salud Mental, 19*(Supl 2), 4-6.
- Herbert, M. R. (2010). Contributions of the environment and environmentally vulnerable physiology to autism spectrum disorders. *Current Opinion in Neurology, 23*(2), 103-110.
- Hernández, O. C., Otero, D. L., & Rodríguez, N. C. (2015). Autismo: Un acercamiento hacia el diagnóstico y la genética. *Revista De Ciencias Médicas De Pinar Del Río, 19*(1), 157-178.
- Hertz-Picciotto, I., Schmidt, R. J., & Krakowiak, P. (2018). Understanding environmental contributions to autism: Causal concepts and the state of science. *Autism Research: Official Journal of the International Society for Autism Research, 11*(4), 554-586. doi:10.1002/aur.1938
- Hodges, H., Fealko, C., & Soares, N. (2020). Autism spectrum disorder: Definition, epidemiology, causes, and clinical evaluation. *Translational Pediatrics, 9*(Suppl 1), S55.
- Hollingshead, A. B. (1975). Four factor index of social status.
- Holmes, T. H., & Rahe, R. H. (1967). The social readjustment rating scale. *Journal of Psychosomatic Research,*
- Hong, S., Vogelstein, J. T., Gozzi, A., Bernhardt, B. C., Yeo, B. T., Milham, M. P., & Di Martino, A. (2020). Towards neurosubtypes in autism. *Biological Psychiatry,*

Hossain, M. M., Khan, N., Sultana, A., Ma, P., McKyer, E. L. J., Ahmed, H. U., & Purohit, N. (2020).

Prevalence of comorbid psychiatric disorders among people with autism spectrum disorder: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Psychiatry Research*, 287, 112922.

Hu, C., Chen, W., Myers, S. J., Yuan, H., & Traynelis, S. F. (2016). Human GRIN2B variants in neurodevelopmental disorders. *Journal of Pharmacological Sciences*, 132(2), 115-121.

Hultman, C. M., Sandin, S., Levine, S. Z., Lichtenstein, P., & Reichenberg, A. (2011). Advancing paternal age and risk of autism: New evidence from a population-based study and a meta-analysis of epidemiological studies. *Molecular Psychiatry*, 16(12), 1203-1212. doi:10.1038/mp.2010.121

Hus, V., & Lord, C. (2014). The autism diagnostic observation schedule, module 4: Revised algorithm and standardized severity scores. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 44(8), 1996-2012.

Iakoucheva, L. M., Muotri, A. R., & Sebat, J. (2019). Getting to the cores of autism. *Cell*, 178(6), 1287-1298. doi:10.1016/j.cell.2019.07.037

Iossifov, I., O'Roak, B. J., Sanders, S. J., Ronemus, M., Krumm, N., Levy, D., . . . Wigler, M. (2014). The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature*, 515(7526), 216-221. doi:10.1038/nature13908

Izard, C. E. (2009). Emotion theory and research: Highlights, unanswered questions, and emerging issues. *Annual Review of Psychology*, 60, 1-25.

Jablensky, A. (2010). The diagnostic concept of schizophrenia: Its history, evolution, and future prospects. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 12(3), 271-287. doi:10.31887/DCNS.2010.12.3/ajablensky

James, S. J., Cutler, P., Melnyk, S., Jernigan, S., Janak, L., Gaylor, D. W., & Neubrandner, J. A. (2004).

Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(6), 1611-1617.

doi:10.1093/ajcn/80.6.1611

James, S. J., Melnyk, S., Fuchs, G., Reid, T., Jernigan, S., Pavliv, O., . . . Gaylor, D. W. (2009). Efficacy of

methylcobalamin and folinic acid treatment on glutathione redox status in children with autism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(1), 425-430. doi:10.3945/ajcn.2008.26615

James, S. J., Melnyk, S., Jernigan, S., Cleves, M. A., Halsted, C. H., Wong, D. H., . . . Gaylor, D. W. (2006).

Metabolic endophenotype and related genotypes are associated with oxidative stress in children with autism. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 141B(8), 947-956.

doi:10.1002/ajmg.b.30366

Janecka, M., Mill, J., Basson, M. A., Goriely, A., Spiers, H., Reichenberg, A., . . . Fernandes, C. (2017).

Advanced paternal age effects in neurodevelopmental disorders—review of potential underlying mechanisms. *Translational Psychiatry*, 7(1), e1019. doi:10.1038/tp.2016.294

Jobe, L. E., & Williams White, S. (2007). Loneliness, social relationships, and a broader autism phenotype

in college students. *Personality and Individual Differences*, 42(8), 1479-1489.

doi:10.1016/j.paid.2006.10.021

Josse, D. (1997). Revised Brunetâ€‘Lezine scale of psychomotor development of first childhood. *Paris,*

France: Etablissement Dâ€™Applications Psychotech,

Kamburov, A., Stelzl, U., Lehrach, H., & Herwig, R. (2013). The ConsensusPathDB interaction database: 2013 update. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D793-D800. doi:10.1093/nar/gks1055

Kanner, L. (1943). Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child*, 2(3), 217-250.

Kaufman, A. S., & Kaufman, N. L. (1990). Kaufman brief intelligence test. . *American Guidance Service, Inc., United States.*

Kenkel, W. M., Perkeybile, A., Yee, J. R., Pournajafi-Nazarloo, H., Lillard, T. S., Ferguson, E. F., . . . Connelly, J. J. (2019). Behavioral and epigenetic consequences of oxytocin treatment at birth. *Science Advances*, 5(5), eaav2244.

King, M. D., Fountain, C., Dakhllallah, D., & Bearman, P. S. (2009). Estimated autism risk and older reproductive age. *American Journal of Public Health*, 99(9), 1673-1679.
doi:10.2105/AJPH.2008.149021

King, S., & Laplante, D. P. (2005). The effects of prenatal maternal stress on children's cognitive development: Project ice storm. *Stress*, 8(1), 35-45.

Kinney, D. K., Miller, A. M., Crowley, D. J., Huang, E., & Gerber, E. (2008). Autism prevalence following prenatal exposure to hurricanes and tropical storms in louisiana. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 38(3), 481-488.

Kinney, D. K., Munir, K. M., Crowley, D. J., & Miller, A. M. (2008). Prenatal stress and risk for autism. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(8), 1519-1532.

- Klei, L., McClain, L. L., Mahjani, B., Panayidou, K., De Rubeis, S., Grahnat, A. S., . . . Xu, X. (2021). How rare and common risk variation jointly affect liability for autism spectrum disorder. *Molecular Autism*, 12(1), 1-13.
- Kolevzon, A., Gross, R., & Reichenberg, A. (2007). Prenatal and perinatal risk factors for autism: A review and integration of findings. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 161(4), 326-333. doi:10.1001/archpedi.161.4.326
- Kong, A., Frigge, M. L., Masson, G., Besenbacher, S., Sulem, P., Magnusson, G., . . . Stefansson, K. (2012). Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature*, 488(7412), 471-475. doi:10.1038/nature11396
- Kosfeld, M., Heinrichs, M., Zak, P. J., Fischbacher, U., & Fehr, E. (2005). Oxytocin increases trust in humans. *Nature*, 435(7042), 673-676. doi:10.1038/nature03701
- Kosmicki, J. A., Samocha, K. E., Howrigan, D. P., Sanders, S. J., Slowikowski, K., Lek, M., . . . Daly, M. J. (2017). Refining the role of de novo protein-truncating variants in neurodevelopmental disorders by using population reference samples. *Nature Genetics*, 49(4), 504-510. doi:10.1038/ng.3789
- Lai, M., Kasse, C., Besney, R., Bonato, S., Hull, L., Mandy, W., . . . Ameis, S. H. (2019). Prevalence of co-occurring mental health diagnoses in the autism population: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry*, 6(10), 819-829.
- Lam, K. S. L., & Aman, M. G. (2007). The repetitive behavior scale-revised: Independent validation in individuals with autism spectrum disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 37(5), 855-866. doi:10.1007/s10803-006-0213-z

- Laviola, G., Adriani, W., Rea, M., Aloe, L., & Alleva, E. (2004). Social withdrawal, neophobia, and stereotyped behavior in developing rats exposed to neonatal asphyxia. *Psychopharmacology*, 175(2), 196-205.
- Leiter, R. G. (1948). Leiter international performance scale, 1948 revision.
- Leppert, B., Havdahl, A., Riglin, L., Jones, H. J., Zheng, J., Smith, G. D., . . . Stergiakouli, E. (2019). Association of maternal neurodevelopmental risk alleles with early-life exposures. *JAMA Psychiatry*, 76(8), 834-842.
- Leshem, R., Bar-Oz, B., Diav-Citrin, O., Gbaly, S., Soliman, J., Renoux, C., & Matok, I. (2021). Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and serotonin norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs) during pregnancy and the risk for autism spectrum disorder (ASD) and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in the offspring: A true effect or a bias? A systematic review & meta-analysis. *Current Neuropharmacology*, 19(6), 896-906. doi:10.2174/1570159X19666210303121059
- Lewis, S. W., Owen, M. J., & Murray, R. M. (1989). Obstetric complications and schizophrenia: Methodology and mechanisms. *Schizophrenia: Scientific Progress*, 56-68.
- Lim, M. M., & Young, L. J. (2006). Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. *Hormones and Behavior*, 50(4), 506-517. doi:10.1016/j.yhbeh.2006.06.028
- Liu, X., Li, Y. I., & Pritchard, J. K. (2019). Trans effects on gene expression can drive omnigenic inheritance. *Cell*, 177(4), 1022-1034.e6. doi:10.1016/j.cell.2019.04.014

- Lønfeldt, N. N., Verhulst, F. C., Strandberg-Larsen, K., Plessen, K. J., & Lebowitz, E. R. (2019). Assessing risk of neurodevelopmental disorders after birth with oxytocin: A systematic review and meta-analysis. *Psychological Medicine*, 49(6), 881-890. doi:10.1017/S0033291718003021
- Lønfeldt, N. N., Strandberg-Larsen, K., Verhulst, F. C., Plessen, K. J., & Lebowitz, E. R. (2020). Birth with synthetic oxytocin and risk of childhood emotional disorders: A danish population-based study. *Journal of Affective Disorders*, 274, 112-117. doi:10.1016/j.jad.2020.04.067
- Loomes, R., Hull, L., & Mandy, W. P. L. (2017). What is the male-to-female ratio in autism spectrum disorder? A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 56(6), 466-474. doi:10.1016/j.jaac.2017.03.013
- LoParo, D., & Waldman, I. D. (2015). The oxytocin receptor gene (OXTR) is associated with autism spectrum disorder: A meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, 20(5), 640-646. doi:10.1038/mp.2014.77
- Lord, C., Rutter, M., DiLavore, P., Risi, S., Gotham, K., & Bishop, S. (2012). Autism diagnostic observation schedule—2nd edition (ADOS-2). *Los Angeles, CA: Western Psychological Corporation*,
- Lord, C., Elsabbagh, M., Baird, G., & Veenstra-Vanderweele, J. (2018). Autism spectrum disorder. *Lancet (London, England)*, 392(10146), 508-520. doi:10.1016/S0140-6736(18)31129-2
- Luescher, A. (2000). Compulsive behavior in companion animals. *Recent Advances in Companion Animal Behavior Problems*,
- Lundström, S., Haworth, C. M. A., Carlström, E., Gillberg, C., Mill, J., Råstam, M., . . . Reichenberg, A. (2010). Trajectories leading to autism spectrum disorders are affected by paternal age: Findings

- from two nationally representative twin studies. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 51(7), 850-856. doi:10.1111/j.1469-7610.2010.02223.x
- Lyall, K., Schmidt, R. J., & Hertz-Picciotto, I. (2014). Maternal lifestyle and environmental risk factors for autism spectrum disorders. *International Journal of Epidemiology*, 43(2), 443-464.
- Malhotra, D., McCarthy, S., Michaelson, J. J., Vacic, V., Burdick, K. E., Yoon, S., . . . Gershon, E. S. (2011). High frequencies of de novo CNVs in bipolar disorder and schizophrenia. *Neuron*, 72(6), 951-963.
- Marco, E. J., Hinkley, L. B. N., Hill, S. S., & Nagarajan, S. S. (2011). Sensory processing in autism: A review of neurophysiologic findings. *Pediatric Research*, 69(5 Pt 2), 48R-54R.
doi:10.1203/PDR.0b013e3182130c54
- Martínez-Morga, M., Quesada-Rico, M. P., Bueno, C., & Martínez, S. (2018). Bases neurobiológicas del trastorno del espectro autista y del trastorno por déficit de atención/hiperactividad: Diferenciación neural y sinaptogénesis. *Rev.Neurol.(Ed.Impr.)*, S97-S102.
- Maseda Prats, M. (2013). El autismo y las emociones. la teoría de la mente en los niños/as autistas. su afectación dentro del ámbito emocional.
- Matta, S. M., Hill-Yardin, E. L., & Crack, P. J. (2019). The influence of neuroinflammation in autism spectrum disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 79, 75-90. doi:10.1016/j.bbi.2019.04.037
- Matta, S. M., Moore, Z., Walker, F. R., Hill-Yardin, E. L., & Crack, P. J. (2020). An altered glial phenotype in the NL3R451C mouse model of autism. *Scientific Reports*, 10(1), 1-13. doi:10.1038/s41598-020-71171-y

- Mayo, S., Roselló, M., Monfort, S., Oltra, S., Orellana, C., & Martínez, F. (2015). Haploinsufficiency of the MYT1L gene causes intellectual disability frequently associated with behavioral disorder. *Genetics in Medicine*, 17(8), 683-684.
- McElhanon, B. O., McCracken, C., Karpen, S., & Sharp, W. G. (2014). Gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: A meta-analysis. *Pediatrics*, 133(5), 872-883.
- McGrath, J. J., Petersen, L., Agerbo, E., Mors, O., Mortensen, P. B., & Pedersen, C. B. (2014). A comprehensive assessment of parental age and psychiatric disorders. *JAMA Psychiatry*, 71(3), 301-309. doi:10.1001/jamapsychiatry.2013.4081
- McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytsky, A., . . . DePristo, M. A. (2010). The genome analysis toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Research*, 20(9), 1297-1303. doi:10.1101/gr.107524.110
- Méndez, J., & Pasaro, E. (1993). Aplicación de la genética molecular en síndrome X-frágil. aspectos citogenéticos y conductuales.
- Merchán-Naranjo, J., Mayoral, M., Rapado-Castro, M., Llorente, C., Boada, L., Arango, C., & Parellada, M. (2012). Estimation of the intelligence quotient using wechsler intelligence scales in children and adolescents with asperger syndrome. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 42(1), 116-122. doi:10.1007/s10803-011-1219-8
- Merikangas, Alison K., MPH, PhD, Calkins, M. E., PhD, Bilker, W. B., PhD, Moore, Tyler M., PhD, MSc, Gur, R. C., PhD, & Gur, Raquel E., MD, PhD. (2017). Parental age and offspring psychopathology in the

- philadelphia neurodevelopmental cohort. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 56(5), 391-400. doi:10.1016/j.jaac.2017.02.004
- Mierop, A., Mikolajczak, M., Stahl, C., Béna, J., Luminet, O., Lane, A., & Corneille, O. (2020). How can intranasal oxytocin research be trusted? A systematic review of the interactive effects of intranasal oxytocin on psychosocial outcomes. *Perspectives on Psychological Science: A Journal of the Association for Psychological Science*, 15(5), 1228-1242. doi:10.1177/1745691620921525
- Modabbernia, A., Velthorst, E., & Reichenberg, A. (2017). Environmental risk factors for autism: An evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. *Molecular Autism*, 8(1), 13. doi:10.1186/s13229-017-0121-4
- Moerkerke, M., Peeters, M., de Vries, L., Daniels, N., Steyaert, J., Alaerts, K., & Boets, B. (2021). Endogenous oxytocin levels in autism-A meta-analysis. *Brain Sciences*, 11(11) doi:10.3390/brainsci11111545
- Mohammadi, M. R., Zarafshan, H., & Ghasempour, S. (2012). Broader autism phenotype in iranian parents of children with autism spectrum disorders vs. normal children. *Iranian Journal of Psychiatry*, 7(4), 157-163. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23408558>
- Moortgat, S., Berland, S., Aukrust, I., Maystadt, I., Baker, L., Benoit, V., . . . Faivre, L. (2018). HUWE1 variants cause dominant X-linked intellectual disability: A clinical study of 21 patients. *European Journal of Human Genetics*, 26(1), 64-74.
- Muhle, R. A., Reed, H. E., Stratigos, K. A., & Veenstra-VanderWeele, J. (2018). The emerging clinical neuroscience of autism spectrum disorder: A review. *JAMA Psychiatry*, 75(5), 514-523.

- Murray, A. L., Booth, T., McKenzie, K., Kuenssberg, R., & O'Donnell, M. (2014). Are autistic traits measured equivalently in individuals with and without an autism spectrum disorder? an invariance analysis of the autism spectrum quotient short form. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 44(1), 55-64.
- Myers, S. J., Yuan, H., Kang, J., Tan, F. C. K., Traynelis, S. F., & Low, C. (2019). Distinct roles of GRIN2A and GRIN2B variants in neurological conditions. *F1000Research*, 8
- Nagarajan, R. P., Patzel, K. A., Martin, M., Yasui, D. H., Swanberg, S. E., Hertz-Picciotto, I., . . . Jiang, R. (2008). MECP2 promoter methylation and X chromosome inactivation in autism. *Autism Research*, 1(3), 169-178.
- Nayar, K., Sealock, J. M., Maltman, N., Bush, L., Cook, E. H., Davis, L. K., & Losh, M. (2021). Elevated polygenic burden for autism spectrum disorder is associated with the broad autism phenotype in mothers of individuals with autism spectrum disorder. *Biological Psychiatry*, 89(5), 476-485.
- Neale, B. M., Kou, Y., Liu, L., Ma'Ayan, A., Samocha, K. E., Sabo, A., . . . Makarov, V. (2012). Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature*, 485(7397), 242-245.
- NICE guidelines. (2014). Overview | intrapartum care for healthy women and babies | guidance | NICE. Retrieved from <https://www.nice.org.uk/guidance/cg190>
- Niemi, M. E. K., Martin, H. C., Rice, D. L., Gallone, G., Gordon, S., Kelemen, M., . . . Barrett, J. C. (2018). Common genetic variants contribute to risk of rare severe neurodevelopmental disorders. *Nature*, 562(7726), 268-271. doi:10.1038/s41586-018-0566-4

Nivard, M. G., Gage, S. H., Hottenga, J. J., Van Beijsterveldt, C. E., Abdellaoui, A., Bartels, M., . . .

Boomsma, D. I. (2017). Genetic overlap between schizophrenia and developmental psychopathology: Longitudinal and multivariate polygenic risk prediction of common psychiatric traits during development. *Schizophrenia Bulletin*, 43(6), 1197-1207.

Oberg, A. S., D'Onofrio, B. M., Rickert, M. E., Hernandez-Diaz, S., Ecker, J. L., Almqvist, C., . . . Bateman, B.

T. (2016). Association of labor induction with offspring risk of autism spectrum disorders. *JAMA Pediatrics*, 170(9), e160965. doi:10.1001/jamapediatrics.2016.0965

Otowa, T., Hek, K., Lee, M., Byrne, E. M., Mirza, S. S., Nivard, M. G., . . . Wolen, A. (2016). Meta-analysis of genome-wide association studies of anxiety disorders. *Molecular Psychiatry*, 21(10), 1391-1399.

Ousley, O., & Cermak, T. (2014). Autism spectrum disorder: Defining dimensions and subgroups. *Current Developmental Disorders Reports*, 1(1), 20-28. doi:10.1007/s40474-013-0003-1

Oviedo, N., Manuel-Apolinar, L., de la Chesnaye, E., & Guerra-Araiza, C. (2015). Aspectos genéticos y neuroendocrinos en el trastorno del espectro autista. *Boletín Médico Del Hospital Infantil De México*, 72(1), 5-14.

Page, J., Constantino, J. N., Zambrana, K., Martin, E., Tunc, I., Zhang, Y., . . . Messinger, D. (2016).

Quantitative autistic trait measurements index background genetic risk for ASD in hispanic families. *Molecular Autism*, 7(1), 39.

Pardo, C. A., & Eberhart, C. G. (2007). The neurobiology of autism. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 17(4), 434-447. doi:10.1111/j.1750-3639.2007.00102.x

- Parellada, M., Boada, L., Moreno, C., Llorente, C., Romo, J., Muela, C., & Arango, C. (2013). Specialty care programme for autism spectrum disorders in an urban population: A case-management model for health care delivery in an ASD population. *European Psychiatry*, 28(2), 102-109.
- Parellada, M., Penzol, M. J., Pina, L., Moreno, C., González-Vioque, E., Zalsman, G., & Arango, C. (2013). The neurobiology of autism spectrum disorders. *European Psychiatry*, 29(1), 11-19.
doi:10.1016/j.eurpsy.2013.02.005
- Parellada, M. (2020). What does the future hold for asperger syndrome? *Revista De Psiquiatria Y Salud Mental*, 13(3), 115-117.
- Parker, K. J., Oztan, O., Libove, R. A., Sumiyoshi, R. D., Jackson, L. P., Karhson, D. S., . . . Hardan, A. Y. (2017). Intranasal oxytocin treatment for social deficits and biomarkers of response in children with autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(30), 8119-8124. doi:10.1073/pnas.1705521114
- Parr, J. R., Le Couteur, A., Baird, G., Rutter, M., Pickles, A., Fombonne, E., & Bailey, A. J. (2011). Early developmental regression in autism spectrum disorder: Evidence from an international multiplex sample. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 41(3), 332-340. doi:10.1007/s10803-010-1055-2
- Platzer, K., Yuan, H., Schütz, H., Winschel, A., Chen, W., Hu, C., . . . Tang, S. (2017). GRIN2B encephalopathy: Novel findings on phenotype, variant clustering, functional consequences and treatment aspects. *Journal of Medical Genetics*, 54(7), 460-470.

- Qiu, C., Lin, J. C., Shi, J. M., Chow, T., Desai, V. N., Nguyen, V. T., . . . Xiang, A. H. (2020). Association between epidural analgesia during labor and risk of autism spectrum disorders in offspring. *JAMA Pediatrics*, 174(12), 1168-1175. doi:10.1001/jamapediatrics.2020.3231
- Randolph-Gips, M., & Srinivasan, P. (2012). Modeling autism: A systems biology approach. *Journal of Clinical Bioinformatics*, 2(1), 1-15.
- Reichenberg, A., Gross, R., Weiser, M., Bresnahan, M., Silverman, J., Harlap, S., . . . Lubin, G. (2006). Advancing paternal age and autism. *Archives of General Psychiatry*, 63(9), 1026-1032.
- Ripke, S., Neale, B. M., Corvin, A., Walters, J. T., Farh, K., Holmans, P. A., . . . Huang, H. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*, 511(7510), 421-427.
- Robinson, E. B., Koenen, K. C., McCormick, M. C., Munir, K., Hallett, V., Happé, F., . . . Ronald, A. (2011). Evidence that autistic traits show the same etiology in the general population and at the quantitative extremes (5%, 2.5%, and 1%). *Archives of General Psychiatry*, 68(11), 1113-1121.
- Roid, G. H., & Sampers, J. L. (2004). Merrill-palmer-revised: Scales of development. . *Stoelting*,
- Ronan, J. L., Wu, W., & Crabtree, G. R. (2013). From neural development to cognition: Unexpected roles for chromatin. *Nature Reviews. Genetics*, 14(5), 347-359. doi:10.1038/nrg3413
- Rutter, M., Le Couteur, A., & Lord, C. (2003). Autism diagnostic interview-revised. *Los Angeles, CA: Western Psychological Services*, 29(2003), 30.

- Sacco, R., Curatolo, P., Manzi, B., Militeri, R., Bravaccio, C., Frolli, A., . . . Persico, A. M. (2010). Principal pathogenetic components and biological endophenotypes in autism spectrum disorders. *Autism Research*, 3(5), 237-252. doi:10.1002/aur.151
- Sacco, R., Lenti, C., Sacconi, M., Curatolo, P., Manzi, B., Bravaccio, C., & Persico, A. M. (2012). Cluster analysis of autistic patients based on principal pathogenetic components. *Autism Research*, 5(2), 137-147. doi:10.1002/aur.1226
- Samocha, K. E., Kosmicki, J. A., Karczewski, K. J., O'Donnell-Luria, A. H., Pierce-Hoffman, E., MacArthur, D. G., . . . Daly, M. J. (2017). Regional missense constraint improves variant deleteriousness prediction. *BioRxiv*, 148353.
- Sanders, S. J., He, X., Willsey, A. J., Ercan-Sencicek, A. G., Samocha, K. E., Cicek, A. E., . . . State, M. W. (2015). Insights into autism spectrum disorder genomic architecture and biology from 71 risk loci. *Neuron*, 87(6), 1215-1233. doi:10.1016/j.neuron.2015.09.016
- Sandin, S., M.Sc, Hultman, C. M., Ph.D, Klevzon, A., M.D, Gross, Raz, M.D., M.Ph, MacCabe, James H., MRCPsych, Ph.D, & Reichenberg, A., Ph.D. (2012). Advancing maternal age is associated with increasing risk for autism: A review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 51(5), 477-486.e1. doi:10.1016/j.jaac.2012.02.018
- Sandin, S., Lichtenstein, P., Kuja-Halkola, R., Hultman, C., Larsson, H., & Reichenberg, A. (2017). The heritability of autism spectrum disorder. *Jama*, 318(12), 1182-1184. doi:10.1001/jama.2017.12141

- Satterstrom, F. K., Kosmicki, J. A., Wang, J., Breen, M. S., De Rubeis, S., An, J., . . . Buxbaum, J. D. (2020). Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism. *Cell*, 180(3), 568-584.e23. doi:10.1016/j.cell.2019.12.036
- Savaskan, E., Ehrhardt, R., Schulz, A., Walter, M., & Schächinger, H. (2008). Post-learning intranasal oxytocin modulates human memory for facial identity. *Psychoneuroendocrinology*, 33(3), 368-374. doi:10.1016/j.psyneuen.2007.12.004
- Savino, R., Carotenuto, M., Polito, A. N., Di Noia, S., Albenzio, M., Scarinci, A., . . . Messina, G. (2020). Analyzing the potential biological determinants of autism spectrum disorder: From neuroinflammation to the kynurenine pathway. *Brain Sciences*, 10(9), 631.
- Schaaf, C. P., Betancur, C., Yuen, R. K., Parr, J. R., Skuse, D. H., Gallagher, L., . . . Chen, C. (2020). A framework for an evidence-based gene list relevant to autism spectrum disorder. *Nature Reviews Genetics*, 21(6), 367-376.
- Schmidt, R. J. "The early life exposures assessment tool (ELEAT) for autism" . Paper presented at the 2013 *International Meeting for Autism Research*,
- Schneider, M. L., Moore, C. F., & Kraemer, G. W. (2004). Moderate level alcohol during pregnancy, prenatal stress, or both and limbic-hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis response to stress in rhesus monkeys. *Child Development*, 75(1), 96-109.
- Sebat, J., Lakshmi, B., Malhotra, D., Troge, J., Lese-Martin, C., Walsh, T., . . . Kendall, J. (2007). Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science*, 316(5823), 445-449.

Settanni, C. R., Bibbò, S., Ianiro, G., Rinninella, E., Cintoni, M., Mele, M. C., . . . Gasbarrini, A. (2021).

Gastrointestinal involvement of autism spectrum disorder: Focus on gut microbiota. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 15(6), 599-622. doi:10.1080/17474124.2021.1869938

Shelton, J. F., Tancredi, D. J., & Hertzâ€Picciotto, I. (2010). Independent and dependent contributions of advanced maternal and paternal ages to autism risk. *Autism Research*, 3(1), 30-39.

Shoubridge, C., Tarpey, P. S., Abidi, F., Ramsden, S. L., Rujirabanjerd, S., Murphy, J. A., . . . Proos, A. (2010). Mutations in the guanine nucleotide exchange factor gene IQSEC2 cause nonsyndromic intellectual disability. *Nature Genetics*, 42(6), 486-488.

Simonoff, E., Kent, R., Stringer, D., Lord, C., Briskman, J., Lukito, S., . . . Baird, G. (2020). Trajectories in symptoms of autism and cognitive ability in autism from childhood to adult life: Findings From a longitudinal epidemiological cohort. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 59(12), 1342-1352. doi:10.1016/j.jaac.2019.11.020

Simpson, K. R., & Atterbury, J. (2003). Trends and issues in labor induction in the united states: Implications for clinical practice. *Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing: JOGNN*, 32(6), 767-779. doi:10.1177/0884217503258528

Smallwood, M., Sareen, A., Baker, E., Hannusch, R., Kwessi, E., & Williams, T. (2016). Increased risk of autism development in children whose mothers experienced birth complications or received labor and delivery drugs. *ASN Neuro*, 8(4) doi:10.1177/1759091416659742

- Sniekers, S., Stringer, S., Watanabe, K., Jansen, P. R., Coleman, J. R. I., Krapohl, E., . . . Posthuma, D. (2017). Genome-wide association meta-analysis of 78,308 individuals identifies new loci and genes influencing human intelligence. *Nature Genetics*, 49(7), 1107-1112. doi:10.1038/ng.3869
- Soltys, S. M., Scherbel, J. R., Kurian, J. R., Diebold, T., Wilson, T., Hedden, L., . . . Loret de Mola, Julio Ricardo. (2020). An association of intrapartum synthetic oxytocin dosing and the odds of developing autism. *Autism: The International Journal of Research and Practice*, 24(6), 1400-1410. doi:10.1177/1362361320902903
- SPSS Inc. (2009). PASW statistics for windows, version 18.0. *Chicago*,
- State, M. W., & Šestan, N. (2012). The emerging biology of autism spectrum disorders. *Science*, 337(6100), 1301-1303.
- Stessman, H. A. F., Xiong, B., Coe, B. P., Wang, T., Hoekzema, K., Fenckova, M., . . . Eichler, E. E. (2017). Targeted sequencing identifies 91 neurodevelopmental-disorder risk genes with autism and developmental-disability biases. *Nature Genetics*, 49(4), 515-526. doi:10.1038/ng.3792
- Stevens, S. J., van Ravenswaaij-Arts, C. M., Janssen, J. W., Klein Wassink-Ruiter, J. S., van Essen, A. J., Dijkhuizen, T., . . . Smeets, E. E. (2011). MYT1L is a candidate gene for intellectual disability in patients with 2p25. 3 (2pter) deletions. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 155(11), 2739-2745.
- Stokholm, L., Juhl, M., Talge, N. M., Gissler, M., Obel, C., & Strandberg-Larsen, K. (2020). Obstetric oxytocin exposure and ADHD and ASD among danish and finnish children. *International Journal of Epidemiology*, doi:10.1093/ije/dyaa076

- Taylor, J. L., Debost, J. P. G., Morton, S. U., Wigdor, E. M., Heyne, H. O., Lal, D., . . . Robinson, E. B. (2019). Paternal-age-related de novo mutations and risk for five disorders. *Nature Communications*, *10*(1), 3043-9. doi:10.1038/s41467-019-11039-6
- Team, R. (2015). RStudio: Integrated development for R. *RStudio, Inc., Boston, MA URL*
Http://Www.Rstudio.Com, *42*, 14.
- Thapar, A., & Rutter, M. (2021). Genetic advances in autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, *51*(12), 4321-4332.
- Toma, C., Hervás, A., Balmaña, N., Vilella, E., Aguilera, F., Cuscó, I., . . . Ribasés, M. (2011). Association study of six candidate genes asymmetrically expressed in the two cerebral hemispheres suggests the involvement of BAIAP2 in autism. *Journal of Psychiatric Research*, *45*(2), 280-282.
- Varcin, K. J., Alvares, G. A., Uljarević, M., & Whitehouse, A. J. O. (2017). Prenatal maternal stress events and phenotypic outcomes in autism spectrum disorder. *Autism Research*, *10*(11), 1866-1877. doi:10.1002/aur.1830
- Velders, F., Dieleman, G., Cents, R., Bakermans-Kranenburg, M., Jaddoe, V., Hofman, A., . . . Tiemeier, H. (2012). Variation in the glucocorticoid receptor gene at rs41423247 moderates the effect of prenatal maternal psychological symptoms on child cortisol reactivity and behavior. *Neuropsychopharmacology (New York, N.Y.)*, *37*(11), 2541-2549. doi:10.1038/npp.2012.118
- Volkmar, F., MD, Siegel, M., MD, Woodbury-Smith, M., MD, King, B., MD, McCracken, J., MD, & State, Matthew, MD, PhD. (2014). Practice parameter for the assessment and treatment of children and

- adolescents with autism spectrum disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 53(2), 237-257. doi:10.1016/j.jaac.2013.10.013
- Wallace, A. E., Anderson, G. M., & Dubrow, R. (2008). Obstetric and parental psychiatric variables as potential predictors of autism severity. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 38(8), 1542-1554. doi:10.1007/s10803-007-0536-4
- Wang, C., Geng, H., Liu, W., & Zhang, G. (2017). Prenatal, perinatal, and postnatal factors associated with autism: A meta-analysis. *Medicine*, 96(18), e6696. doi:10.1097/MD.0000000000006696
- Wechsler, D. (2003). Wechsler intelligence scale for children – fourth edition (WISC-IV). . *San Antonio, TX: The Psychological Corporation.*,
- Wechsler, D. (2008). Wechsler adult intelligence scale—Fourth edition (WAIS–IV). . *San Antonio, TX: NCS Pearson*, 22(498),, 816-827.
- Weiner, D. J., Wigdor, E. M., Ripke, S., Walters, R. K., Kosmicki, J. A., Grove, J., . . . Wassink, T. H. (2017). Polygenic transmission disequilibrium confirms that common and rare variation act additively to create risk for autism spectrum disorders. *Nature Genetics*, 49(7), 978-985. doi:10.1038/ng.3863
- Weintraub, K. (2011). The prevalence puzzle: Autism counts. *Nature News*, 479(7371), 22-24.
- Weisman, O., Agerbo, E., Carter, C. S., Harris, J. C., Uldbjerg, N., Henriksen, T. B., . . . Dalsgaard, S. (2015). Oxytocin-augmented labor and risk for autism in males. *Behavioural Brain Research*, 284, 207-212. doi:10.1016/j.bbr.2015.02.028

- Wen, Y., Alshikho, M. J., & Herbert, M. R. (2016). Pathway network analyses for autism reveal multisystem involvement, major overlaps with other diseases and convergence upon MAPK and calcium signaling. *PloS One*, *11*(4), e0153329.
- Wheelwright, S., Auyeung, B., Allison, C., & Baron-Cohen, S. (2010). Defining the broader, medium and narrow autism phenotype among parents using the autism spectrum quotient (AQ). *Molecular Autism*, *1*(1), 10. doi:10.1186/2040-2392-1-10
- Wilfert, A. B., Turner, T. N., Murali, S. C., Hsieh, P., Sulovari, A., Wang, T., . . . Bakken, T. E. (2021). Recent ultra-rare inherited variants implicate new autism candidate risk genes. *Nature Genetics*, *53*(8), 1125-1134.
- Wing, L. (1981). Asperger's syndrome: A clinical account. *Psychological Medicine*, *11*(1), 115-129. doi:10.1017/s0033291700053332
- Wing, L. (2004). The spectrum of autistic disorders. *Hospital Medicine (London, England: 1998)*, *65*(9), 542-545. doi:10.12968/hosp.2004.65.9.15984
- Wray, N. R., Lee, S. H., Mehta, D., Vinkhuyzen, A. A., Dudbridge, F., & Middeldorp, C. M. (2014). Research review: Polygenic methods and their application to psychiatric traits. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, *55*(10), 1068-1087.
- Wray, N. R., Ripke, S., Mattheisen, M., Trzaskowski, M., Byrne, E. M., Abdellaoui, A., . . . Andlauer, T. M. (2018). Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. *Nature Genetics*, *50*(5), 668.

- Xiao, Z., Qiu, T., Ke, X., Xiao, X., Xiao, T., Liang, F., . . . Chu, K. (2014). Autism spectrum disorder as early neurodevelopmental disorder: Evidence from the brain imaging abnormalities in 2–3 years old toddlers. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 44(7), 1633-1640.
- Xiong, J., Chen, S., Pang, N., Deng, X., Yang, L., He, F., . . . Peng, J. (2019). Neurological diseases with autism spectrum disorder: Role of ASD risk genes. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 349. doi:10.3389/fnins.2019.00349
- Yatawara, C. J., Einfeld, S. L., Hickie, I. B., Davenport, T. A., & Guastella, A. J. (2016). The effect of oxytocin nasal spray on social interaction deficits observed in young children with autism: A randomized clinical crossover trial. *Molecular Psychiatry*, 21(9), 1225-1231. doi:10.1038/mp.2015.162
- Yip, B. H. K., Leonard, H., Stock, S., Stoltenberg, C., Francis, R. W., Gissler, M., . . . Sandin, S. (2017). Caesarean section and risk of autism across gestational age: A multi-national cohort study of 5 million births. *International Journal of Epidemiology*, 46(2), 429-439. doi:10.1093/ije/dyw336
- Zhang, L., Sun, Y., Chen, F., Wu, D., Tang, J., Han, X., . . . Wang, K. (2016). Psychometric properties of the autism-spectrum quotient in both clinical and non-clinical samples: Chinese version for mainland china. *BMC Psychiatry*, 16(1), 213. doi:10.1186/s12888-016-0915-5
- Zhou, J., Park, C. Y., Theesfeld, C. L., Wong, A. K., Yuan, Y., Scheckel, C., . . . Tajima, Y. (2019). Whole-genome deep-learning analysis identifies contribution of noncoding mutations to autism risk. *Nature Genetics*, 51(6), 973-980.
- Ziats, C. A., Patterson, W. G., & Friez, M. (2021). Syndromic autism revisited: Review of the literature and lessons learned. *Pediatric Neurology*, 114, 21-25. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2020.06.011

Zúñiga, A. H., Balmaña, N., & Salgado, M. (2017). Los trastornos del espectro autista (TEA). *Pediatría Integral*, 21(2), 92-108.

Anexos

Anexo 1. Consentimiento Informado estudio “Bases genéticas del autismo y esquizofrenia.”



Hospital General Universitario
Gregorio Marañón

Comunidad de Madrid

CODIGO:

SERVICIO:

DOCUMENTO DE INFORMACION AL PARTICIPANTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre y apellidos del participante:

Nombre y apellidos del médico que informa:

PROYECTO DE INVESTIGACION:

“Bases genéticas del autismo y esquizofrenia”

LUGAR DE REALIZACION: Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente. Departamento de Psiquiatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Unidad de Atención Médica Integral al paciente con Trastorno del Espectro del Autismo (AMI-TEA).

INTRODUCCIÓN: Antes de dar consentimiento para que su hijo/a participe en el proyecto, es importante que lea y comprenda la siguiente explicación. En ella se describen el objetivo, los procedimientos, beneficios y riesgos del estudio, las alternativas disponibles, y el derecho a retirarse del estudio en cualquier momento.

Esta hoja de consentimiento informado puede contener información que usted puede no comprender en su totalidad, por lo que no dude en solicitar a su médico que le aclare cualquier duda que se le plantee al respecto.

Usted debe saber que existe disponibilidad absoluta del médico que le está informando a ampliar la información si usted lo

desea.

DESCRIPCIÓN Y PROPÓSITO DEL ESTUDIO:

Explicación sencilla del objetivo, en qué consiste y la forma en que se va a llevar a cabo

Trastornos como los Trastornos del Espectro Autista (TEA), la Esquizofrenia y Otros Trastornos del Neurodesarrollo, parecen resultar de alteraciones en el desarrollo y funcionamiento cerebrales. En concreto, se han detectado alteraciones en genes relacionados con el desarrollo cerebral, la estructura de la sustancia blanca, la conectividad entre áreas cerebrales y entre neuronas, y la plasticidad neuronal.

En esta investigación vamos a estudiar genes relacionados con todos los aspectos mencionados (genes candidatos) y otras variantes genéticas que puedan aumentar el riesgo de padecer cualquiera de estos trastornos. Para ello necesitamos analizar el material genético de pacientes y sus familiares, para poder estudiar tanto aquellos casos heredables como los que aparecen como nuevos casos en familias sin antecedentes.

Si usted decide participar, se le extraerá una muestra de unos 40 ml de sangre (30 en el caso de los niños) para el almacenamiento de sus productos derivados (plasma, células y ADN). El ADN está presente en todas las células, y determina características de las personas que tienen que ver con la salud y con la enfermedad. La muestra de sangre la recogerá el personal sanitario de nuestro hospital o el que habitualmente le realice los análisis de sangre. Toda la información personal que se recopile o genere en el estudio quedará protegida de acuerdo con la legislación vigente. La información clínica, si usted decide participar en este estudio, se almacenará en el Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, codificada.

La genética de enfermedades complejas como los TEA, la esquizofrenia y otros trastornos del neurodesarrollo es también compleja y está en continua evolución. Por ello, planteamos almacenar parte de la sangre extraída para poder analizarla si aparecen nuevos genes relacionados con su patología o nuevas herramientas de análisis que justifiquen nuevos estudios.

Por ello, se le invita a colaborar en la creación de una colección de muestras biológicas de pacientes con TEA y esquizofrenia, para poder tener muestras disponibles para la investigación genética de pacientes y familiares, campo en amplio desarrollo y en el que se van generando hipótesis constantemente.

El almacenamiento de estas muestras constituye la “Colección de muestras biológicas de Trastornos del Espectro Autista y Otros Trastornos del Neurodesarrollo” (a partir de ahora denominada “Colección” en este documento) del Servicio de Psiquiatría del

Niño y del Adolescente, Departamento de Psiquiatría del Hospital General Universitario Gregorio Marañón”, dada de alta en el Registro Nacional de Biobancos (Sección Colecciones) del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) con el número c.0001481), que será almacenado y gestionado en el Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente y en el Repositorio de colecciones de ADN de la Fundación Pública Gallega de Medicina Xenómica que almacena muestras del CIBERSAM (Centro de Investigación en Red de Salud Mental), que está declarado en dicha Comunidad Autónoma, está aprobado por el patronato de la Fundación y el SERGAS, y colabora con el CIBERSAM. Esto permitirá a los científicos disponer de muestras para investigar: 1) qué genes influyen en el desarrollo de los TEA/esquizofrenia o en la protección del desarrollo de los mismos, 2) cómo están influenciados estos genes por el entorno y, 3) qué genes influyen en la eficacia/resistencia a tratamientos específicos.

Firmando el consentimiento, usted autoriza a que la Colección ceda las muestras biológicas a terceros con destino a proyectos de investigación relacionados con el área de investigación de la Colección. Sólo se cederán muestras para su utilización en proyectos de investigación que hayan sido valorados positivamente por un Comité de Ética de la Investigación, y autorizados por la autoridad sanitaria. Los datos clínicos relevantes para cruzar con la información genética también podrán ser cedidos. Ningún dato de identificación personal será cedido.

No obstante lo indicado en el apartado anterior sobre la cesión de muestras biológicas a terceros, sólo se iniciará en tanto en cuanto el repositorio de muestras al que se transfieran las muestras de la Colección esté autorizado como tal.

Descripción de las consecuencias seguras del procedimiento

Usted proporcionará las muestras de forma totalmente voluntaria.

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que no recibirá recompensa económica. No recibirá recompensa económica o de otro tipo por las muestras y datos proporcionados, y éstas no tendrán valor comercial.

El no proporcionar su consentimiento no tendrá ninguna consecuencia en su tratamiento clínico.

Tampoco recibirá otros beneficios directos, excepto en el caso de hallarse información que pudiera ser clínicamente relevante para usted. Sin embargo, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de sus muestras y datos de las otras muchas personas que participen, supondrán una valiosa fuente de información que revertirá en un mejor conocimiento de estos trastornos.

Se le tomará un volumen relativamente pequeño de sangre venosa mediante una punción en el brazo.

Las muestras estarán codificadas de forma que la identidad del donante será anónima para los investigadores. El código de seguridad, que servirá para asociar los datos con Vd. en los supuestos en que esta identificación fuere necesaria para su

beneficio y de conformidad con lo previsto en la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, estará en poder únicamente del personal responsable dependiente del centro sanitario donde ha sido atendido y no se transferirá al Repositorio de colecciones de ADN de la Fundación Pública Gallega de Medicina Xenómica. Los investigadores, por tanto, no podrán conocer su identidad personal, pero sí datos como su sexo o edad, manteniendo siempre la debida confidencialidad conforme a la legislación vigente.

El Equipo de Investigación del Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente del Hospital General universitario Gregorio Marañón mantendrá la titularidad de las muestras.

A partir de las muestras donadas se aislarán las células contenidas en las mismas y se extraerán los ácidos nucleicos sobre los que se realizarán los análisis genéticos; además se obtendrá suero y plasma para estudios fenotípicos.

Los productos obtenidos de las muestras y los datos asociados a las mismas se archivarán y quedarán custodiados, por un periodo mínimo de 5 años, en las instalaciones de la Colección.

Los productos obtenidos de las muestras y los datos asociados a las mismas podrán ser empleados posteriormente en estudios de Investigación sobre TEA o esquizofrenia y sus factores de riesgo realizados por otros centros nacionales o extranjeros, siempre que: 1) hayan sido considerados de interés científico. 2) cumplan los requisitos establecidos por los comités externos Científicos y de Expertos Asesores en cuestiones Éticas, Económicas, Medio-ambientales, jurídicas y Sociales.

Los análisis genéticos y fenotípicos realizados serán tratados estadísticamente, exclusivamente para fines de investigación biomédica de acuerdo a lo descrito anteriormente.

Los profesionales responsables de la custodia de las muestras y datos asociados a las mismas garantizarán que la identidad del donante no sea accesible a los investigadores, cuando datos o muestras sean transferidas a un investigador dentro de ese centro o de otro centro.

La información será almacenada en soporte informático. Los datos registrados serán tratados estadísticamente, de forma codificada, para los fines de investigación científica que se describieron anteriormente.

En todo momento el donante tendrá acceso a los datos registrados, siempre que expresamente lo solicite.

El tratamiento de los datos personales se realizará conforme lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, y la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica.

Los resultados del estudio podrán ser comunicados en reuniones científicas, congresos médicos o publicaciones científicas. Siempre se mantendrá una estricta confidencialidad sobre la identidad del sujeto fuente.

Derechos de acceso y revocación

Los datos que se obtengan de los estudios no le serán comunicados, excepto en el caso de que dichos hallazgos tengan una implicación significativa para su salud. Sin embargo, en la Colección quedará un resumen de la información general obtenida de cada proyecto que estará disponible para aquellos donantes que expresamente lo soliciten.

Sin embargo, usted tiene derecho a decidir que no desea recibir dicha información.

Existe la posibilidad de que los datos que se obtengan tengan importancia también para sus familiares biológicos lo que, en su caso, haremos constar para que usted sea quien decida la oportunidad de comunicarles dicha información.

Usted tiene derecho a conocer en qué investigaciones se están utilizando sus muestras.

Usted tiene derecho a revocar su consentimiento en todo momento.

En caso de que usted revoque su consentimiento las muestras serán anonimizadas. Los efectos de la revocación no se extenderán a los datos resultantes de las investigaciones que se hayan llevado a cabo previamente a la misma.

En el caso de que la muestra se anonimice, se romperá irreversiblemente todo vínculo que permita relacionar las muestras y los datos almacenados con su persona.

Descripción de las consecuencias seguras del procedimiento siempre que se consideren relevantes:

La donación de sangre apenas tiene efectos secundarios; como mucho, podría aparecer un pequeño hematoma en la zona de punción, que desaparecería en unos días.

Algunas personas tienen fobia a las agujas, y el procedimiento podría generarles ansiedad

Descripción de los riesgos típicos:

Ninguno

Descripción de los riesgos que, siendo infrecuentes, pero no excepcionales, se consideran graves:

Ninguno

Contraindicaciones:

Ninguna

Descripción de riesgos personalizados: _____

Declaración del paciente:

Expongo y manifiesto que:

- ☐ He recibido información adecuada y suficiente acerca de los extremos indicados en los apartados previos, así como alternativas diferentes al procedimiento si las hubiera.
- ☐ Estoy satisfecho con la información recibida, he aclarado mis dudas y se que puedo revocar este consentimiento sin que precise dar ninguna razón, y sin que ello suponga un deterioro de la calidad de la asistencia recibida.
- ☐ Que se me ha expuesto claramente la posibilidad de retirarme del presente estudio cuando lo estime oportuno.
- ☐ Doy mi consentimiento para que se extraigan mis muestras y para que se conserven en las instalaciones del Servicio de Psiquiatría del Hospital General Universitario Gregorio Marañón y del Repositorio de colecciones de ADN de la Fundación Pública Gallega de Medicina Xenómica, para su utilización y cesión a terceros en futuras investigaciones en el área de TEA y Otros Trastornos del Neurodesarrollo.
- ☐ Doy mi consentimiento para que en el futuro los investigadores de este proyecto contacten conmigo si no queda muestra disponible, o ésta está deteriorada, y está justificado continuar con la investigación del tema de este proyecto.

Participante: Nombre y apellidos en mayúscula, fecha y firma (mayor de 12 años y con capacidad de consentir)

Investigador: Nombre y apellidos en mayúscula, fecha y firma

En caso de que el donante sea menor de edad deberán firmar

Padres o Tutor: Nombre y apellidos en mayúscula, fecha y firma

**** Sólo rellenar en caso de no desear que se le comuniquen los datos relevantes sobre su salud que se obtengan a partir de los estudios que se realicen con sus muestras biológicas.***

Fecha y firma:

*** Sólo rellenar en caso de revocación del consentimiento.**

Fecha y firma:

Hoja de información adicional sobre protección de datos para participantes en estudios de investigación del Servicio de Psiquiatría del Niño y el Adolescente

A partir del 25 de mayo de 2018 es de plena aplicación la nueva legislación en la UE sobre datos personales, en concreto el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD). Por ello, es importante que conozca la siguiente información:

- Además de los derechos que ya conoce (acceso, modificación, oposición y cancelación de datos) ahora también puede limitar el tratamiento de datos que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero (portabilidad) los datos que usted ha facilitado para el estudio. Para ejercitar sus derechos, diríjase al investigador principal del estudio. El archivo del investigador será almacenado durante el periodo que sea necesario para la ejecución de la investigación, y según los requisitos legales vigentes. Así mismo tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho.
- Tanto el Centro como el Promotor son responsables respectivamente del tratamiento de sus datos y se comprometen a cumplir con la normativa de protección de datos en vigor. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, de manera que no se incluya información que pueda identificarle, y sólo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a ninguna otra persona salvo a las autoridades sanitarias, cuando así lo requieran o en casos de urgencia médica. Los Comités de Ética de la Investigación, los representantes de la Autoridad Sanitaria en materia de inspección y el personal autorizado por el Promotor, únicamente podrán acceder para comprobar los datos personales, los procedimientos del estudio clínico y el cumplimiento de las normas de buena práctica clínica (siempre manteniendo la confidencialidad de la información).
- Tendrá derecho a revocar el uso de sus datos.
- El Investigador principal está obligado a conservar los datos recogidos para el estudio mientras tengan utilidad para el cumplimiento de los fines del estudio. Posteriormente, su información personal solo se conservará por el centro para el cuidado de su salud y por el promotor para otros fines de investigación científica si usted hubiera otorgado su consentimiento para ello, y si así lo permite la ley y requisitos éticos aplicables.
- Si realizáramos transferencia de sus datos codificados fuera de la UE a las entidades de nuestro grupo, a prestadores de servicios o a investigadores científicos que colaboren con nosotros, los datos del participante quedarán protegidos con salvaguardas tales como contratos u otros mecanismos por las autoridades de protección de datos. Si el participante quiere saber más al respecto, puede contactar con el investigador principal del estudio.

Estudio/s en los que participa:

Acuse de recibo:

En Madrid, a _____

Nombre y apellidos: _____

Firma: _____

Anexo 2. Consentimiento Informado estudio “Estudio de genotipos diferenciales asociados a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastornos del Espectro Autista.”

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE Y LA FAMILIA

Nombre y apellidos del paciente:	
Nombre y apellidos del médico que informa:	

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: Estudio de genotipos diferenciales asociados a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastornos del Espectro Autista.

FINANCIACIÓN DEL PROYECTO: Convocatoria 2014 de Ayudas de Proyectos de Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: María José Parellada Redondo.

LUGAR DE REALIZACIÓN: Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente. Departamento de Psiquiatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Unidad de Atención Médica Integral al paciente con Trastorno del Espectro del Autismo (AMI-TEA).

INTRODUCCIÓN: Antes de dar consentimiento para participar en el proyecto, es importante que lea y comprenda la siguiente explicación. En ella se describen el objetivo, los procedimientos, beneficios y riesgos del estudio, las alternativas disponibles, y el derecho a retirarse del estudio en cualquier momento.

Esta hoja de consentimiento informado puede contener información que usted puede no comprender en su totalidad, por lo que no dude en solicitar a su médico/el de su hijo que le aclare cualquier duda que se le plantee al respecto.

DESCRIPCIÓN Y PROPÓSITO DEL ESTUDIO: El propósito de este proyecto es el estudio de una amplia variedad de componentes que pudieran estar implicados en la aparición del autismo y relacionarlos con las diferentes formas clínicas en que los Trastornos del Espectro Autista se presentan en los pacientes.

Explicación del objetivo del procedimiento, en qué consiste y la forma en que se va a llevar a cabo: Los Trastornos del Espectro Autista (TEA) comprenden un grupo de trastornos del neurodesarrollo de etiología desconocida que se caracterizan por i) deficiencias persistentes en la comunicación social y en la interacción social en diversos contextos y ii) por patrones restrictivos y repetitivos de comportamiento, intereses o actividades.

Los TEA, como otros trastornos psiquiátricos complejos, incluyen un grupo de enfermedades o trastornos con causas distintas y presentación final conductual común. El origen neurobiológico de los TEA es hoy en día incontestable, con múltiples datos de investigación biológica que apoyan esta tesis, a pesar de no haber una etiología aun claramente definida. Dentro de los avances en neurobiología del autismo, el mayor avance en las últimas décadas ha tenido lugar en cuanto a las bases genéticas del autismo. Así mismo las diferencias en cómo se presenta el trastorno en los pacientes hace necesaria también una sistematización de diferencias clínicas entre unos y otros casos en forma de grupos categoriales que permita una mejor predicción de curso, pronóstico y tratamiento.

En este estudio pretendemos relacionar distintos mecanismos causales o de proceso de enfermedad conocidos actualmente en el autismo, con formas de presentación diferentes.

Para ello necesitamos realizar una exploración general con recogida de datos psiquiátricos y físicos, así como de muestras biológicas (sangre, orina y heces) en pacientes con Trastorno del Espectro Autista y sus progenitores. Todo ello se realizará en el hospital.

Toda la información personal que se recopile o genere en el estudio quedará protegida de acuerdo con la legislación vigente. La información clínica, si usted decide participar en este estudio, se almacenará en el Servicio de Psiquiatría del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, codificada.

Descripción de las consecuencias seguras del procedimiento:

La exploración clínica de los síntomas será realizada por un psiquiatra del niño y del adolescente o un psicólogo con experiencia en la exploración de pacientes con autismo.

La extracción de sangre apenas tiene efectos secundarios mínimos; como mucho, podría aparecer un pequeño hematoma en la zona de punción, que desaparecería en unos días. Algunos pacientes con TEA tienen fobia a las agujas, y el procedimiento podría generarles ansiedad.

Usted proporcionará las muestras de forma totalmente voluntaria y no recibirá recompensa económica.

El no proporcionar su consentimiento no tendrá ninguna consecuencia en su tratamiento clínico.

Tampoco recibirá otros beneficios directos, excepto en el caso de hallarse información que pudiera ser clínicamente relevante para usted. Sin embargo, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de sus muestras y datos de las otras muchas personas que participen, supondrán una valiosa fuente de información que revertirá en un mejor conocimiento de estos trastornos.

Las muestras estarán codificadas de forma que la identidad del participante y sus progenitores será anónima para los investigadores. El código de seguridad, que servirá para asociar los datos con Vd. en los supuestos en que esta identificación fuere necesaria para su beneficio y de conformidad con lo previsto en la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, estará en poder únicamente del personal responsable dependiente del centro sanitario donde ha sido atendido. Los investigadores, por tanto, no podrán conocer su identidad personal, pero sí datos como su sexo o edad, manteniendo siempre la debida confidencialidad conforme a la legislación vigente.

A partir de las muestras de sangre se aislarán las células contenidas en las mismas y se extraerán los ácidos nucleicos sobre los que se realizarán los análisis genéticos; además se obtendrá suero y plasma para estudios fenotípicos.

Se pretende recoger además ADN para nuestra “Colección de muestras biológicas de Trastornos del Espectro Autista y Otros Trastornos del Neurodesarrollo del Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente, Departamento de Psiquiatría del Hospital General Universitario Gregorio Marañón” con el que ya contamos con más de 400 muestras de pacientes con un primer episodio de psicosis, autismo, familiares y controles sanos. Con la recogida de muestras de ADN, futuros estudios pretenden determinar si existe algún factor que nos pueda ayudar a diagnosticar precozmente a estos pacientes y predecir si algunos de ellos presentarán en el futuro alguna enfermedad del grupo de las psicosis, como la esquizofrenia, o del autismo. Así, los estudios se proponen investigar genes que pudieran estar relacionados con la transmisión de la enfermedad. También se proponen examinar la relación existente entre factores genéticos y la respuesta a los tratamientos farmacológicos. Estas muestras serán almacenadas y gestionadas en el Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente del Hospital General Universitario Gregorio Marañón y en el Repositorio de colecciones de ADN de la Fundación Pública Gallega de Medicina Xenómica que almacena muestras del CIBERSAM (Centro de Investigación en Red de Salud Mental).

Los datos genéticos y exploraciones clínicas realizadas serán tratadas estadísticamente, exclusivamente para fines de investigación biomédica de acuerdo a lo descrito anteriormente.

Aunque el donante podrá conocer para qué estudios de investigación ha sido utilizadas sus muestras y datos personales, no se le podrá comunicar ningún resultado personal obtenido del estudio de las mismas. En todo momento el donante tendrá acceso a los datos registrados, siempre que expresamente lo solicite.

El tratamiento de los datos personales se realizará conforme lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, y la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica.

Los resultados del estudio podrán ser comunicados en reuniones científicas, congresos médicos o publicaciones científicas. Siempre se mantendrá una estricta confidencialidad sobre la identidad del sujeto fuente.

Descripción de los riesgos típicos: Ninguno

Descripción de los riesgos que, siendo infrecuentes, pero no excepcionales, se consideran graves: Ninguno

Contraindicaciones: Ninguna

Descripción de riesgos personalizados. _____ DERECHOS DE ACCESO Y REVOCACIÓN

En todo momento, el participante mantendrá el derecho de acceso, rectificación, cancelación y oposición (ARCO) a los datos registrados, siempre que expresamente lo solicite, de acuerdo con la legislación vigente, ejercitándolos ante el promotor de este estudio.

Los datos que se obtengan de los estudios no le serán comunicados, excepto en el caso de que dichos hallazgos tengan una implicación significativa para su salud. Sin embargo, usted tiene derecho a decidir que no desea recibir dicha información.

Existe la posibilidad de que los datos que se obtengan tengan importancia también para sus familiares biológicos lo que, en su caso, haremos constar para que usted sea quien decida la oportunidad de comunicarles dicha información.

Usted tiene derecho a conocer en qué investigaciones se están utilizando sus muestras.

Usted tiene derecho a revocar su consentimiento en todo momento.

En caso de que usted revoque su consentimiento las muestras serán anonimizadas. Los efectos de la revocación no se extenderán a los datos resultantes de las investigaciones que se hayan llevado a cabo previamente a la misma.

En el caso de que la muestra se anonimice, se romperá irreversiblemente todo vínculo que permita relacionar las muestras y los datos almacenados con su persona.

CONFIDENCIALIDAD: Se ha considerado en la realización del proyecto el cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, para garantizar la confidencialidad. Ni los nombres, ni cualquier otro dato que puedan llevar a la identificación de los pacientes y sus progenitores que participen en el estudio serán publicados en ninguno de los trabajos que se deriven de esta investigación. Cada uno de los adultos o niños o adolescentes que participen en el estudio recibirá un código con el que será identificado a lo largo del estudio, ningún otro dato de carácter personal será difundido o utilizado.

Los productos obtenidos de las muestras y los datos asociados a las mismas se archivarán y quedarán custodiados, por un periodo mínimo de 5 años, en las instalaciones del Hospital General Universitario Gregorio Marañón; como determina la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica, art. 52.

Estas muestras estarán custodiadas de forma que sólo tendrá acceso a las mismas el personal autorizado. Únicamente las personas directamente implicadas en el estudio conocerán los resultados del análisis genético, con lo cual la confidencialidad quedará totalmente salvaguardada. Toda la información personal que se recopile o genere en el estudio quedará protegida de acuerdo con la legislación vigente. La información clínica, si usted decide participar en este estudio, se almacenará en el Servicio de Psiquiatría del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, codificada.

COSTE/COMPENSACIÓN: No existe ningún coste por participar en este estudio. Su participación en esta investigación es altruista. No obtendrá beneficios clínicos directos ni compensación económica alguna por participar en el estudio, pero los resultados nos ayudarán a entender mejor las causas de la enfermedad, lo que se espera derivará en el desarrollo de mejores y más eficaces tratamientos en el futuro.

CONSENTIMIENTO INFORMADO (versión para pacientes menores de 12 años o sin capacidad de consentir)

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: Estudio de genotipos diferenciales asociados a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastornos del Espectro Autista.

FINANCIACIÓN DEL PROYECTO: Convocatoria 2014 de Ayudas de Proyectos de Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: María José Parellada Redondo.

LUGAR DE REALIZACIÓN: Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente. Departamento de Psiquiatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Unidad de Atención Médica Integral al paciente con Trastorno del Espectro del Autismo (AMI-TEA).

Yo, _____

(Nombre en mayúsculas del tutor legal del participante)

En calidad de _____

(relación con el participante)

del participante ____

Declaración del paciente: (señalar con una X)

He recibido información sobre el estudio y alternativas.

Estoy satisfecho con la información recibida, he aclarado mis dudas y sé que puedo retirar este consentimiento sin dar ninguna razón, ante el investigador principal de este proyecto (Drª Mara Parellada) y sin que ello suponga que me traten de otra manera.

Consiento libremente participar en este estudio.

Acepto que los datos y muestras biológicas de mi hijo sean utilizados en otros estudios relacionados con el trastorno estudiado pertenecientes a los programas del grupo de investigación “Bases neurobiológicas y psicológicas de los trastornos mentales. Trastornos del neurodesarrollo” del Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Las muestras únicamente serán empleadas en el estudio de otras enfermedades mentales relacionadas con la que se explica en este Consentimiento Informado; y los estudios contarán con la aprobación del Comité de Ética de Investigación Científica del Hospital Gregorio Marañón.

Autorizo a que los responsables del estudio puedan acceder al historial clínico del paciente con el fin de consultar e incorporar a la base de datos del presente estudio anteriores evaluaciones realizadas en el contexto clínico o en el de otra investigación en la que haya participado de cara a minimizar el número de evaluaciones extra a realizar en el presente estudio.

Acepto que los investigadores contacten conmigo en el futuro para ofrecerme participar en otros estudios.

Yo **DOY / NO DOY** (tachar lo que no proceda) **mi conformidad para que se me comuniquen** los datos relevantes sobre la salud de mi hijo que se obtengan a partir de los estudios que se realicen con mi muestra biológica.

Fecha:

Firma padre, madre o representante legal:(DNI):

Nombre y apellidos en mayúscula del **Investigador** y firma:

En caso de revocación del consentimiento:

Fecha, nombre y firma del investigador que informa: _____

Nombre del participante: _____

Nombre del representante: _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO (versión para paciente mayor de edad y con capacidad de consentir)

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: Estudio de genotipos diferenciales asociados a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastornos del Espectro Autista.

FINANCIACIÓN DEL PROYECTO: Convocatoria 2014 de Ayudas de Proyectos de Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: María José Parellada Redondo.

LUGAR DE REALIZACIÓN: Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente. Departamento de Psiquiatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Unidad de Atención Médica Integral al paciente con Trastorno del Espectro del Autismo (AMI-TEA).

Yo, _____

(participante)

Declaración del paciente: (señalar con una X)

He recibido información sobre el estudio y alternativas.

Estoy satisfecho con la información recibida, he aclarado mis dudas y sé que puedo retirar este consentimiento sin dar ninguna razón, ante el investigador principal de este proyecto (Dr^a Mara Parellada) y sin que ello suponga que me traten de otra manera.

Consiento libremente participar en este estudio.

Acepto que mis datos y muestras biológicas sean utilizados en otros estudios relacionados con el trastorno estudiado pertenecientes a los programas del grupo de investigación “Bases neurobiológicas y psicológicas de los trastornos mentales. Trastornos del neurodesarrollo” del Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Las muestras únicamente serán empleadas en el estudio de otras enfermedades mentales relacionadas con la que se explica en este Consentimiento Informado; y los estudios contarán con la aprobación del Comité de Ética de Investigación Científica del Hospital Gregorio Marañón.

Autorizo a que los responsables del estudio puedan acceder al historial clínico del paciente con el fin de consultar e incorporar a la base de datos del presente estudio anteriores evaluaciones realizadas en el contexto clínico o en el de otra investigación en la que haya participado de cara a minimizar el número de evaluaciones extra a realizar en el presente estudio.

Acepto que los investigadores contacten conmigo en el futuro para ofrecerme participar en otros estudios.

Yo **DOY / NO DOY** (tachar lo que no proceda) **mi conformidad para que se me comuniquen** los datos relevantes sobre mi salud que se obtengan a partir de los estudios que se realicen con mi muestra biológica.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha:

Firma del participante:

(DNI):

Nombre y apellidos en mayúscula del **Investigador** y firma:

En caso de revocación del consentimiento:

Fecha, nombre y firma del investigador que informa: _____

Nombre del participante: _____

Firma del participante:

CONSENTIMIENTO INFORMADO (versión para la madre)

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: Estudio de genotipos diferenciales asociados a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastornos del Espectro Autista.

FINANCIACIÓN DEL PROYECTO: Convocatoria 2014 de Ayudas de Proyectos de Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: María José Parellada Redondo.

LUGAR DE REALIZACIÓN: Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente. Departamento de Psiquiatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Unidad de Atención Médica Integral al paciente con Trastorno del Espectro del Autismo (AMI-TEA).

Yo, _____

(madre del paciente)

Declaración del participante: (señalar con una X)

He recibido información sobre el estudio y alternativas.

Estoy satisfecho con la información recibida, he aclarado mis dudas y sé que puedo retirar este consentimiento sin dar ninguna razón, ante el investigador principal de este proyecto (Dr^a Mara Parellada) y sin que ello suponga que me traten de otra manera.

Consiento libremente participar en este estudio.

Acepto que mis datos sean utilizados en otros estudios relacionados con el trastorno estudiado pertenecientes a los programas del grupo de investigación "Bases neurobiológicas y psicológicas de los trastornos mentales. Trastornos del neurodesarrollo" del Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Las muestras únicamente serán empleadas en el estudio de otras enfermedades mentales relacionadas con la que se explica en este Consentimiento Informado; y los estudios contarán con la aprobación del Comité de Ética de Investigación Científica del Hospital Gregorio Marañón.

Autorizo a que los responsables del estudio puedan acceder a mi historial clínico con el fin de recabar la información clínica pertinente sobre el embarazo-obstetricia del paciente vinculada al estudio de investigación en el que está participando.

Acepto que los investigadores contacten conmigo en el futuro para ofrecerme participar en otros estudios.

Yo **DOY / NO DOY** (tachar lo que no proceda) **mi conformidad para que se me comuniquen** los datos relevantes sobre mi salud que se obtengan a partir de los estudios que se realicen con mi muestra biológica.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha:

Firma del participante:

(DNI):

Nombre y apellidos en mayúscula del **Investigador** y firma:

En caso de revocación del consentimiento:

Fecha, nombre y firma del investigador que informa: _____

Nombre del participante: _____

Firma del participante: _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO (versión para el padre)

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: Estudio de genotipos diferenciales asociados a fenotipos distintivos en una muestra de 200 pacientes con Trastornos del Espectro Autista.

FINANCIACIÓN DEL PROYECTO: Convocatoria 2014 de Ayudas de Proyectos de Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: María José Parellada Redondo.

LUGAR DE REALIZACIÓN: Servicio de Psiquiatría del Niño y del Adolescente. Departamento de Psiquiatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Unidad de Atención Médica Integral al paciente con Trastorno del Espectro del Autismo (AMI-TEA).

Yo, _____

(padre del paciente)

Declaración del participante: (señalar con una X)

He recibido información sobre el estudio y alternativas.

Estoy satisfecho con la información recibida, he aclarado mis dudas y sé que puedo retirar este consentimiento sin dar ninguna razón, ante el investigador principal de este proyecto (Dr^a Mara Parellada) y sin que ello suponga que me traten de otra manera.

Consiento libremente participar en este estudio.

Acepto que mis datos sean utilizados en otros estudios relacionados con el trastorno estudiado pertenecientes a los programas del grupo de investigación "Bases neurobiológicas y psicológicas de los trastornos mentales. Trastornos del neurodesarrollo" del Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Las muestras únicamente serán empleadas en el estudio de otras enfermedades mentales relacionadas con la que se explica en este Consentimiento Informado; y los estudios contarán con la aprobación del Comité de Ética de Investigación Científica del Hospital Gregorio Marañón.

Autorizo a que los responsables del estudio puedan acceder a mi historial clínico con el fin de recabar la información clínica pertinente sobre el embarazo-obstetricia del paciente vinculada al estudio de investigación en el que está participando. **(No cumplimentar en caso de no proceder).**

Acepto que los investigadores contacten conmigo en el futuro para ofrecerme participar en otros estudios.

Yo **DOY / NO DOY** (tachar lo que no proceda) **mi conformidad para que se me comuniquen** los datos relevantes sobre mi salud que se obtengan a partir de los estudios que se realicen con mi muestra biológica.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha:

Firma del participante:

(DNI):

Nombre y apellidos en mayúscula del **Investigador** y firma:

En caso de revocación del consentimiento:

Fecha, nombre y firma del investigador que informa: _____

Nombre del participante: _____

Firma del participante:

Hoja de información adicional sobre protección de datos para participantes en estudios de investigación del Servicio de Psiquiatría del Niño y el Adolescente

A partir del 25 de mayo de 2018 es de plena aplicación la nueva legislación en la UE sobre datos personales, en concreto el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD). Por ello, es importante que conozca la siguiente información:

- Además de los derechos que ya conoce (acceso, modificación, oposición y cancelación de datos) ahora también puede limitar el tratamiento de datos que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero (portabilidad) los datos que usted ha facilitado para el estudio. Para ejercitar sus derechos, diríjase al investigador principal del estudio. El archivo del investigador será almacenado durante el periodo que sea necesario para la ejecución de la investigación, y según los requisitos legales vigentes. Así mismo tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho.
- Tanto el Centro como el Promotor son responsables respectivamente del tratamiento de sus datos y se comprometen a cumplir con la normativa de protección de datos en vigor. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, de manera que no se incluya información que pueda identificarle, y sólo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a ninguna otra persona salvo a las autoridades sanitarias, cuando así lo requieran o en casos de urgencia médica. Los Comités de Ética de la Investigación, los representantes de la Autoridad Sanitaria en materia de inspección y el personal autorizado por el Promotor, únicamente podrán acceder para comprobar los datos personales, los procedimientos del estudio clínico y el cumplimiento de las normas de buena práctica clínica (siempre manteniendo la confidencialidad de la información).
- Tendrá derecho a revocar el uso de sus datos.
- El Investigador principal está obligado a conservar los datos recogidos para el estudio mientras tengan utilidad para el cumplimiento de los fines del estudio. Posteriormente, su información personal solo se conservará por el centro para el cuidado de su salud y por el promotor para otros fines de investigación científica si usted hubiera otorgado su consentimiento para ello, y si así lo permite la ley y requisitos éticos aplicables.
- Si realizáramos transferencia de sus datos codificados fuera de la UE a las entidades de nuestro grupo, a prestadores de servicios o a investigadores científicos que colaboren con nosotros, los datos del participante quedarán protegidos con salvaguardas tales como contratos u otros mecanismos por las autoridades de protección de datos. Si el participante quiere saber más al respecto, puede contactar con el investigador principal del estudio.

Estudio/s en los que participa:

Acuse de recibo:

En Madrid, a _____

Nombre y apellidos: _____

Firma: _____

Anexo 3. Cuaderno de recogida de datos obstétrico

ESCALA DE COMPLICACIONES OBSTÉTRICAS DE LEWIS

Lewis SW, Owen MJ, Murray RM. Obstetric complications and schizophrenia: methodology and mechanisms. in: Schulz SC, Tamminga CA, editors, Schizophrenia: scientific progress. New York (NY) US: Oxford University Press; 1989. p. 56–68.

PREPARTO						
	Definitivo	Dudoso	Puntuación			
1	Rubeola o sífilis		Definitivo		Ausente	No evaluable
2	Incompatibilidad Rhesus		Definitivo		Ausente	No evaluable
3	Pre-eclampsia severa o que ocasiona una temprana hospitalización o inducción	Pre-eclampsia no especificada	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
4	Hemorragias antes del parto o amenaza de aborto		Definitivo		Ausente	No evaluable
PARTO						
	Definitivo	Dudoso	Puntuación			
5	Ruptura prematura de membrana > 24 horas		Definitivo		Ausente	No evaluable
6	Duración del parto >36 horas o < 3 horas	Parto > 24 horas o “largo” o “difícil” o “precipitado” no especificado	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
7	Nacimiento gemelar y complicado	Nacimiento gemelar no especificado	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
8	Prolapso de cordón	Cordón enredado o alrededor del cuello	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
9	Edad gestacional <37 o >42 semanas	Prematuro o hipermaduro no especificado	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
10	Cesárea complicada o de emergencia	Cesárea no especificada	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
11	Presentación de nalgas o anormal		Definitivo		Ausente	No evaluable
12	Fórceps dificultoso o de alto riesgo	Fórceps u otro instrumental no especificado	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
13	Peso al nacimiento < 2.000 gr	Peso < 2.500 gr o “pequeño” no especificado	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
14	Incubadora > 4 semanas	Incubadora o reanimación o “azul” no especificado	Definitivo	Dudoso	Ausente	No evaluable
15		Importante anomalía física		Dudoso	Ausente	No evaluable

Fecundación in vitro: ☐ SI ☐ NO Parto inducido con oxitocina: ☐ SI ☐ NO

Edad gestacional: ____ semanas ☐ ND Peso al nacer: _____ gr. ☐ ND

Apgar (1'/5') ____/____ ☐ ND Apgar (categorial) Normal (>7) ☐ No Normal ☐

- Si incompatibilidad Rhesus positiva, ¿recibió Inmunoglobulina anti D? ☐ SI ☐ NO ☐ ND
- Si nacimiento gemelar: ☐ Monocigótico (gemelos idénticos) ☐ Dicigótico (gemelos mellizos)

CONDICIONES MATERNAS DURANTE EL EMBARAZO Y PARTO

Esta encuesta pretende conocer su salud y condiciones médicas que podría haber tenido a 3 meses antes de su embarazo, durante el embarazo y durante el parto (procedimientos, pruebas y complicaciones médicas). No compartiremos las respuestas con nadie, y es importante que seas lo más honesto posible. Marque y conteste a las preguntas de todos los aplicables. Si no conoce o no recuerda la respuesta, marque ND.

PREGUNTAS SOBRE CONDICIONES OBSTÉTRICAS DE SU EMBARAZO Y PARTO:

1.	¿Necesitó usted o su pareja algún tratamiento médico para quedarse embarazada?	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
2.	En caso <i>afirmativo (sólo opción 1)</i> , señale todas las opciones aplicables:	☐ Problemas en la ovulación ☐ Síndrome del ovario poliquístico ☐ Alteración en las trompas de Falopio ☐ Endometriosis ☐ Problemas con el útero ☐ Disminución de reserva ovárica / Menopausia ☐ Infertilidad Inexplicable ☐ Sin pareja masculina
3.	En caso <i>afirmativo (sólo opción 1)</i> , señale todos los tratamientos médicos a los que fue usted o su pareja sometidos:	☐ Asesoramiento médico ☐ Tratamientos para mejorar la ovulación ☐ Cirugía para corregir las trompas de Falopio ☐ Cirugía para la endometriosis ☐ Cirugía para corregir el útero: (extirpación de septo o mioma) ☐ Fecundación in vitro ☐ Inseminación artificial ☐ Donación ovocitos/espermática ☐ Cirugía masculina: Tratamiento con varicocele o reversión de la vasectomía
4.	En la ecografía del primer trimestre, ¿se midió el parámetro de Translucencia Nucal (TN) y dio alguna alteración? (<i>prueba que se emplea para descartar Síndrome de Down/Trisomía del 21</i>)	☐ SI ☐ NO ☐ ND
5.	Durante su embarazo, ¿se tomó en algún momento una biopsia de vellosidades coriónicas? (<i>prueba donde se toma muestra de placenta a través de la vagina o del abdomen para descartar algunos problemas fetales</i>)	☐ SI ☐ NO ☐ ND
6.	Durante su embarazo, ¿se realizó una amniocentesis? (<i>prueba donde se toma una muestra de líquido amniótico a través del abdomen para descartar algunos problemas fetales</i>)	☐ SI ☐ NO ☐ ND
7.	¿Recibió usted alguna vacuna durante su embarazo?	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
8.	En caso <i>afirmativo (sólo opción 1)</i> , marque todas las opciones aplicables:	☐ Influenza ☐ Hepatitis A ☐ Hepatitis B ☐ Tétanos / Difteria ☐ Tétanos / Difteria / Pertussis

		☐ Tos ferina ☐ Meningocócica ☐ Neumocócica ☐ Otra: _____
9.	¿Cómo se puso usted de parto?	☐ 1. Espontáneamente ☐ 2. Mi ginecólogo/tocólogo me indujo el parto ☐ 3. ND
10.	Si su parto fue inducido (sólo opción 2), señale que tratamientos o maniobras se realizaron para inducirle el parto:	☐ Pastillas orales ☐ Medicación vía vaginal/rectal ☐ Medicación vía intravenosa ☐ Maniobras mecánicas sobre el cuello uterino ☐ Rotura de saco amniótico ☐ Otros: _____ ☐ ND
11.	Mientras se encontraba de parto, ¿le administraron Oxitocina para acelerar el proceso?	☐ SI ☐ NO ☐ ND
12.	Durante el parto y post parto, ¿tuvo alguna infección uterina que requiriera al administración de antibiótico?	☐ SI ☐ NO ☐ ND
13.	¿Cómo nació su bebé?	☐ Vía vaginal ☐ Por cesárea ☐ ND
14.	¿Fue el nacimiento de su bebé asistido con alguno de estos instrumentos?	☐ Sí, con fórceps ☐ Sí, con ventosa. ☐ Sí, con fórceps y ventosa. ☐ No, sin ningún instrumento. ☐ ND
15.	¿Su bebé expulsó el meconio antes de nacer? (dentro de la bolsa amniótica)	☐ SI ☐ NO ☐ ND

PREGUNTAS ACERCA DE LAS ALERGIAS DURANTE SU EMBARAZO:

Durante cualquier momento de su embarazo, ¿tuvo alergia a alguno de los siguientes elementos?

		¿En caso <i>afirmativo (sólo opción 1)</i> , a qué componente?	¿Tuvo alguna reacción alérgica durante su embarazo a algún alérgeno en particular?
1. Sustancias ambientales	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ Polen ☐ Otras esporas ☐ Polvo ☐ Pelo o piel de animal ☐ Otros _____	☐ Polen ☐ Otras esporas ☐ Polvo ☐ Pelo o piel de animal ☐ Otros _____
2. Alimentos	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ Leche de vaca ☐ Soja ☐ Huevos ☐ Trigo ☐ Cacahuets ☐ Nueces ☐ Mariscos ☐ Otros _____	☐ Leche de vaca ☐ Soja ☐ Huevos ☐ Trigo ☐ Cacahuets ☐ Nueces ☐ Mariscos ☐ Otros _____
3. Fármacos	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ Penicilinas ☐ Sulfamidas ☐ Insulina ☐ Contrastes yodados ☐ Otros _____	☐ Penicilinas ☐ Sulfamidas ☐ Insulina ☐ Contrastes yodados ☐ Otros _____

PREGUNTAS SOBRE CONDICIONES MÉDICAS CRÓNICAS QUE PUEDE HABER PADECIDO EN LOS 3 MESES ANTERIORES O DURANTE SU EMBARAZO:

¿En cualquier momento durante los tres meses antes de quedarse embarazada o durante su embarazo fue usted tratada de alguna de las siguientes condiciones?		¿En caso <i>afirmativo (sólo opción 1)</i> , cuándo? Marque todas las aplicables.	¿Recibió algún tratamiento por esta condición? <i>(en caso afirmativo, especifique cuál en la tabla indicada al final del apartado)</i>
1. Asma	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ En los 3 meses anteriores al embarazo. ☐ Embarazo: 1º T ☐ Embarazo: 2º T ☐ Embarazo: 3º T	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
2. Patología tiroidea (<i>hiper o hipotiroidismo</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ En los 3 meses anteriores al embarazo. ☐ Embarazo: 1º T ☐ Embarazo: 2º T ☐ Embarazo: 3º T	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
3. Azúcar alto / Diabetes (<i>DM1 o DM2 diagnosticada antes del embarazo, NO INCLUYE DIABETES GESTACIONAL</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ En los 3 meses anteriores al embarazo. ☐ Embarazo: 1º T ☐ Embarazo: 2º T ☐ Embarazo: 3º T	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
4. Diabetes gestacional	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ En los 3 meses anteriores al embarazo. ☐ Embarazo: 1º T ☐ Embarazo: 2º T ☐ Embarazo: 3º T	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
5. Tensión alta/hipertensión (<i>diagnosticada antes de su embarazo, NO INCLUYE PREECLAMPSIA O TOXEMIA</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ En los 3 meses anteriores al embarazo. ☐ Embarazo: 1º T ☐ Embarazo: 2º T ☐ Embarazo: 3º T	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
6. Procedimientos dentales (<i>limpieza dental, implante, ortodoncia, etc.</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ En los 3 meses anteriores al embarazo. ☐ Embarazo: 1º T ☐ Embarazo: 2º T ☐ Embarazo: 3º T	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND

En caso de que haya respondido que SÍ RECIBIÓ ALGÚN TRATAMIENTO en la tabla superior, rellene a continuación con todos los tratamientos aplicables:

Motivo del tratamiento (<i>ej: brote de asma</i>)	Nombre del tratamiento y dosis (<i>si recuerda</i>)	¿Durante cuánto tiempo? (<i>ej: una semana en el 1ºT, todo el 2º y 3ºT, sólo el 3ºT</i>)
1.		
2.		
3.		

PREGUNTAS SOBRE CONDICIONES MÉDICAS O INTERVENCIONES QUE USTED PUDO PADECER DURANTE SU EMBARAZO

¿En cualquier momento durante su embarazo fue usted tratada de alguna de las siguientes condiciones?		¿Recibió algún tratamiento por esta condición? <i>(en caso afirmativo, especifique cuál en la tabla indicada al final del apartado)</i>
1. Anemia	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
2. Hemorragia previa al parto y amenaza de aborto <i>(durante las 20 primeras semanas de embarazo)</i>	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
3. Amenaza de parto prematuro <i>(desde la semana 20 hasta el final de su embarazo)</i>	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
4. Pre-eclampsia o toxemia	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
5. Náuseas y vómitos muy graves	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
6. Crecimiento intrauterino retardado <i>(su bebé era más pequeño de lo que correspondía para su edad gestacional)</i>	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
7. Incompetencia cervical y cerclaje cervical <i>(cuello del útero no termina de cerrar correctamente, y por ello hacen el cerclaje)</i>	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
8. Placenta previa <i>(la placenta ocluía el cérvix y tuvo que practicarse una cesárea)</i>	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
9. Cualquier otra condición que requirió atención médica durante su embarazo (NO incluya infecciones) . Ej: operaciones, caídas, accidente de tráfico, etc.	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND Especifique: _____	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
11. alguna condición por la que usted acudiera a psicólogo/psiquiatra	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND Especifique: _____	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
10. Depresión <i>(diagnosticada por medico)</i> . (PREGUNTARLA INCLUIDA EN LA PREGUNTA ANTERIOR)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND

En caso de que haya respondido que SÍ RECIBIÓ ALGÚN TRATAMIENTO durante el embarazo en la tabla superior, rellene a continuación con todos los tratamientos aplicables:

Motivo del tratamiento (<i>ej: depresión</i>)	Nombre del tratamiento y dosis (<i>si recuerda</i>)	¿Durante cuánto tiempo? (<i>ej: una semana en el 1ºT, todo el 2º y 3ºT, sólo el 3ºT</i>)
1.		
2.		
3.		

PREGUNTAS SOBRE INFECCIONES QUE USTED PUDO PADECER DURANTE SU EMBARAZO:

¿En cualquier momento durante su embarazo padeció usted alguna de las siguientes infecciones?	En caso <i>afirmativo (opción 1)</i> , ¿cuándo tuvo la infección?	¿Recibió algún tratamiento por esta infección? <i>(en caso afirmativo, especifique cuál en la tabla indicada al final del apartado)</i>
1. Gripe ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
2. Fiebre (>38'5 grados) ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
3. Infección del tracto urinario / riñón ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
4. Infección de la vesícula ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
5. Brote de herpes genital ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
6. Infección vaginal bacteriana / vaginosis ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
7. Candidiasis ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
8. Tricomoniasis (vaginal) ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
9. Infección vaginal por Streptococo grupo B (detectada en cultivo de las 36 semanas) ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
10. Toxoplasmosis (gatos) ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
11. Varicela ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
12. Otras infecciones (ej: neumonía, sinusitis, bronquitis, infección de la piel, etc). ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND En caso afirmativo,	☐ 1er Trim. ☐ 2do Trim. ☐ 3er Trim. ☐ ND	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND

	¿cuál/cuáles? <u> </u>		
--	--	--	--

En caso de que haya respondido que SÍ RECIBIÓ ALGÚN TRATAMIENTO durante el embarazo en la tabla superior, rellene a continuación con todos los tratamientos aplicables:

Motivo del tratamiento <i>(ej: infección de orina, candidiasis)</i>	Nombre del tratamiento y dosis <i>(si recuerda)</i>	¿Durante cuánto tiempo? <i>(ej: una semana en el 1ºT, todo el 2º y 3ºT, sólo el 3ºT)</i>
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		

PREGUNTAS SOBRE EL USO DE OTROS MEDICAMENTOS EN LOS 3 MESES PREVIOS A SU EMBARAZO, DURANTE SU EMBARAZO O DURANTE LA LACTANCIA:

¿En cualquier momento durante 3 meses previos a su embarazo, durante su embarazo o durante la lactancia tomó usted alguna de estas medicaciones?	(en caso afirmativo, especifique cuál en la tabla indicada al final del apartado)
1. Fármacos prescritos de fiebre, dolor, inflamación (ej: <i>mórficos, naproxeno, metadona, celecoxib</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
2. Fármacos no prescritos de fiebre, dolor, inflamación (ej: <i>paracetamol, aspirina, codeína, ibuprofeno</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
3. Fármacos para la migraña (ej: <i>triptanes, topimarato</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
4. Relajantes musculares (ej: <i>diacepam/Valium, baclofeno</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
5. Antihistamínicos (ej: <i>loratadina, cetirizina, difenhidramina</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
6. Farmacos para el acné (ej: <i>Roacutan / isotretinoína, peróxido de benzoilo</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
7. Hipnóticos/sedantes (ej: <i>zoplicona, zolpidem, zaleplon</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
8. Tratamiento hormonal anticonceptivo (ej: <i>píldora combinada, minipíldora, anillo vaginal, DIU</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
9. Tratamiento hormonal para quedarse embarazada (ej: <i>tratamiento para estimulación ovárica FSH, GnRH</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
10. Tratamiento psiquiátrico para otra causa diferente de depresión (ej: <i>imipramina, loracepam, haloperidol, olanzapina</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
11. Medicación anticonvulsiva - antiepiléptica (ej: <i>carmabacepina, levetiracetam, topimarato, ácido valproico</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
12. Fármacos para el resfriado (ej: <i>dextrometorfano, Frenadol o similares</i>)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
13. Otros tratamientos farmacológicos (NO INCLUIR antibióticos)	☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND

En caso de que haya respondido que SÍ RECIBIÓ ALGUNA DE LAS MEDICACIONES de la tabla superior, rellene los datos de esas medicaciones a continuación:

Motivo del tratamiento (ej: migraña, medicación antiepiléptica)	Nombre del tratamiento y dosis (si recuerda)	¿Cuándo inició usted esta medicación? <i>Escriba, de entre estas opciones, todas las aplicables:</i> ☐ Tratamiento habitual previo al embarazo ☐ Solamente los 3 meses previos al embarazo ☐ 1ºT ☐ 2ºT ☐ 3ºT ☐ Durante lactancia	¿Durante cuánto tiempo? <i>(ej: todo el embarazo, una semana durante la lactancia, una semana en el 1ºT, sólo el 2ºT, sólo el 3ºT, todo el 2º y 3º T)</i>
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

PREGUNTAS SOBRE EL CONSUMO DE OTRAS SUSTANCIAS EN LOS 3 MESES PREVIOS A SU EMBARAZO, DURANTE SU EMBARAZO O DURANTE LA LACTANCIA:

¿En cualquier momento durante 3 meses previos a su embarazo, durante su embarazo o durante la lactancia tomó usted alguna de estas sustancias?	En caso <i>afirmativo (opción 1)</i> , señale cuándo consumió esas sustancias (<i>marque todas las aplicables</i>):	¿Cuánta cantidad de esa sustancia consumió?	¿Intentó abandonar el uso de esta sustancia durante este periodo?
1. Tabaco (cigarrillos) ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 3 meses previos ☐ 1º T ☐ 2º T ☐ 3º T ☐ Durante lactancia ☐ ND		☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
2. Cigarrillos electrónicos ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 3 meses previos ☐ 1º T ☐ 2º T ☐ 3º T ☐ Durante lactancia ☐ ND		☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
3. Otras sustancias con nicotina (<i>ej: parches, chicles</i>) ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND En caso afirmativo, ¿cuál/cuáles? _____	☐ 3 meses previos ☐ 1º T ☐ 2º T ☐ 3º T ☐ Durante lactancia ☐ ND		☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
4. Alcohol ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND En caso afirmativo, ¿cuál/cuáles? _____	☐ 3 meses previos ☐ 1º T ☐ 2º T ☐ 3º T ☐ Durante lactancia ☐ ND		☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
5. Marihuana / Hachís ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND	☐ 3 meses previos ☐ 1º T ☐ 2º T ☐ 3º T ☐ Durante lactancia ☐ ND		☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND
6. Otras drogas de consumo (<i>ej: cocaína, heroína, LSD</i>) ☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND En caso afirmativo, ¿cuál/cuáles? _____	☐ 3 meses previos ☐ 1º T ☐ 2º T ☐ 3º T ☐ Durante lactancia ☐ ND		☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND

¿Alguien que vivía en su casa fumaba cigarrillos, cigarrillos electrónicos o cualquier otra sustancia dentro de su casa mientras estaba usted embarazada/3 meses previos/lactancia?

☐ 1. SI ☐ 2. NO ☐ 3. ND

En caso *afirmativo (opción 1)*, señale cuándo consumió esas sustancias:

☐ 3 meses previos ☐ 1º T ☐ 2º T ☐ 3º T ☐ Durante lactancia ☐ ND

Especifique cantidad (*ej: una cajetilla al día, 2 cajetillas por semana*) _____

ESCALA DE REAJUSTE SOCIAL DE HOLMES Y RAHE

Este cuestionario pretende medir la magnitud de los **acontecimientos vitales estresantes durante su embarazo**. A través de este indicador se quiere explicar el efecto de los acontecimientos vitales estresantes sobre el sistema familiar.

☐ 1. Muerte del cónyuge	☐ 23. Cambio de responsabilidad en el trabajo
☐ 2. Divorcio	☐ 24. Hijo/a deja el hogar
☐ 3. Separación Matrimonial	☐ 25. Problemas legales
☐ 4. Encarcelación	☐ 26. Logro personal notable
☐ 5. Muerte de un familiar cercano	☐ 27. Cónyuge comienza o deja de trabajar
☐ 6. Lesión o enfermedad personal	☐ 28. Comienzo o fin de la escolaridad
☐ 7. Matrimonio	☐ 29. Cambio en las condiciones de la vida
☐ 8. Despido del trabajo	☐ 30. Revisión de hábitos personales
☐ 9. Paro	☐ 31. Problemas con el jefe
☐ 10. Reconciliación matrimonial	☐ 32. Cambio de turno o de condiciones laborales
☐ 11. Jubilación	☐ 33. Cambio de residencia
☐ 12. Cambio en la salud de un miembro familiar	☐ 34. Cambio de lugar de estudio
☐ 13. Drogadicción y/o alcoholismo	☐ 35. Cambio de actividades de ocio
☐ 14. Embarazo	☐ 36. Cambio de actividad religiosa
☐ 15. Dificultades o problemas sexuales	☐ 37. Cambio de actividades sociales
☐ 16. Incorporación de un nuevo miembro a la familia	☐ 38. Cambio en el hábito de dormir
☐ 17. Reajuste de un negocio	☐ 39. Cambio en el nº de reuniones familiares
☐ 18. Cambio de situación económica	☐ 40. Cambio de hábitos alimentarios
☐ 19. Muerte de un amigo íntimo	☐ 41. Vacaciones
☐ 20. Cambio en el tipo de trabajo	☐ 42. Navidades
☐ 21. Mala relación con el cónyuge	☐ 43. Leves transgresiones de la ley
☐ 22. Juicio por crédito o hipoteca	Pregunta global. Percepción de embarazo estresante: SI / NO

Anexo 4. Tabla suplementaria 1.1

Perteneciente al Trabajo 1. Análisis exploratorio de los rasgos autistas de los padres, la edad de concepción y el riesgo poligénico en los trastornos del espectro autista.

Tabla suplementaria 1.1. Valores de transmisión poligénica (pTDT) del TEA y de los trastornos comórbidos estudiados (TEA, SCZ, MDD, TDAH, ANX y TOC) en toda la población española de tríos de TEA (N= 379). Se utilizaron varios umbrales de p con el fin de seleccionar el punto de corte óptimo para el cálculo de la ERP. También se incluye información relativa a las estadísticas de resumen de los GWAS utilizadas en el presente estudio. Se proporciona el número de casos y controles de los GWAS de cada trastorno analizado. Los SNPs utilizados antes de la agrupación fueron los comunes en los datos de exoma de las muestras españolas de ASC y las estadísticas de resumen de GWAS (ver métodos).

Sample acronym	Disorder	N cases	N controls	SNPs in common after clumping	Source	pTDT values						
						P < 0.001	P < 0.01	P < 0.05	P < 0.1	P < 0.2	P < 0.5	P < 1
ASD	Autism spectrum disorder	18382	27969	51715	Grove et al., 2019	0.705	0.345	0.772	0.715	0.532	0.306	0.319
SCZ	Schizophrenia	35476	46839	51713	Ripke et al., 2014	0.224	0.290	0.219	0.451	0.188	0.295	0.278
MDD	Major depressive disorder	135458	344901	56323	Wray et al., 2018	0.258	0.019	0.022	0.191	0.567	0.420	0.170
ADHD	Attention deficit/hyperactivity disorder	20183	35191	52276	Demontis et al., 2019	0.737	0.301	0.633	0.372	0.559	0.406	0.531
ANX	Anxiety	7016	14745	53568	Otowa et al., 2016	0.627	0.219	0.822	0.933	0.557	0.424	0.485
OCD	Obsessive compulsive disorder	2688	7037	53140	Genetics IOCDF, 2018	0.343	0.437	0.557	0.206	0.373	0.620	0.633

Anexo 5. Tabla suplementaria 3.2

Perteneciente al Trabajo 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

Tabla suplementaria 3.2. Información relativa a las estadísticas de resumen de los GWAS utilizadas en el presente estudio. Se proporciona el número de casos y controles de los GWAS de cada trastorno analizado. Los SNPs utilizados antes de la agrupación fueron los comunes en los datos de exoma de las muestras españolas de ASC y las estadísticas de resumen del GWAS (ver métodos).

Ejemplo de acrónimo	Trastorno	N casos	N controles	SNPs en común después de la agrupación	SNPs genotipados	SNPs imputados	Fuente
ASD	Trastornos del espectro autista	18382	27969	51698	2110 (4.08%)	49588 (95.92%)	Grove et al., 2019
SCZ	Esquizofenia	35476	46839	51713	1831 (3.54%)	49882 (96.46%)	Ripke et al., 2014
MDD	Trastorno depresivo mayor	135458	344901	56323	2062 (3.66%)	54261 (96.34%)	Wray et al., 2018
ADHD	Trastorno por déficit de atención/hiperactividad	20183	35191	52276	1549 (2.96%)	50727 (97.04%)	Demontis et al., 2019
EA	Nivel de estudios	1132881	-	74514	2239 (3.09%)	72275 (96.91%)	Lee et al., 2018

Anexo 6. Tabla suplementaria 3.3

Perteneciente al Trabajo 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

Tabla suplementaria 3.3. Transmisión poligénica del TEA y del trastorno relacionado en los tríos OXT (N=78) y No_OXT (N=65). Los valores en negrita representan la transmisión significativa de las puntuaciones poligénicas. Los valores en rojo representan los casos con significación estadística tras 1000 permutaciones aleatorias de los valores de pTDT.

TRAIT	pTDT	Csup (95%)	Cinf (95%)	P value (two sided_One sample t-test)	Permutation P value (*P < 0.05)
ASD	-0,122819264	0,102100349	-0,347738878	P = 0,280	
ASD	0,285850482	0,546252469	0,025448494	P = 0,032	*
ADHD	-0,109660433	0,134940748	-0,354261615	P = 0,375	
ADHD	0,40461936	0,707618557	0,101620164	P = 0,0097	*
SCZ	0,130450491	0,312913877	-0,052012894	P = 0,159	
SCZ	0,035528832	0,214693282	-0,143635617	P = 0,693	
MDD	0,150691771	0,417412632	-0,11602909	P = 0,264	
MDD	0,148571308	0,414567272	-0,117424656	P = 0,269	
EA	0,071450046	0,346312762	-0,203412669	P = 0,606	
EA	0,001921348	0,301130406	-0,29728771	P = 0,990	

Anexo 7. Tabla suplementaria 3.4

Perteneciente al Trabajo 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

Tabla suplementaria 3.4. Interacción proteína-proteína (PPI) entre los genes mutados en los tríos OXT y Non_OXT. Sólo se consideraron las de alta confianza en STRINGdb v11.0. Se comparó la conectividad esperada y la observada en cada caso. El enriquecimiento en PPIs se realizó para OXT, Non_OXT y TODOS los genes mutados, por separado.

Sample	# nodes	# edges	Average node degree	Average clustering coeff	expected number of edges	PPI enrichment p-
OXT	33	7	0.424	0.242	2	0.00194
Non_OXT	17	1	0.118	0.118	0	0.244
ALL	44	10	0.455	0.212	3	0.00211

Anexo 8. Tabla suplementaria 3.5

Perteneciente al Trabajo 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

Tabla suplementaria 3.5. Enriquecimiento funcional para los genes que albergan dnPTV en los tríos OXT (N=78) y No_OXT (N=65). Los análisis de enriquecimiento de conjuntos de genes se realizaron a través de los procesos biológicos de la ontología genética utilizando Consensus-Path DB (<http://cpdb.molgen.mpg.de/>). Se estudiaron 33 y 17 genes mutados en los sujetos con TEA de los tríos OXT y no_OXT, respectivamente, utilizando todos los genes mutados (N= 3085) como fondo para el análisis de enriquecimiento. Se utilizó un valor de corte p de 0,01 y un valor de corte q (valor p corregido por FDR) de 0,05. Sólo se consideraron los conjuntos de genes con más de 2 genes superpuestos.

GENES MUTATED IN NON_OXT TRIOS (N=17)

Gene ontology term	category level	set size	candidates contained	p-value	q-value
GO:0006996 organelle organization	BP 3	3859(668)	11 (1.6%)	0.000112	0.009
GO:0006325 chromatin organization	BP 3	803(137)	5 (3.6%)	0.000599	0.024
GO:0009628 response to abiotic stimulus	BP 2	1151(166)	5 (3.0%)	0.00144	0.0384
GO:0016043 cellular component organization	BP 2	6398(1089)	12 (1.1%)	0.00233	0.0384
GO:0050789 regulation of biological process	BP 2	11539(1724)	15 (0.9%)	0.00248	0.0384
GO:0022412 cellular process involved in reproduction in multicellular organism	BP 2	350(55)	3 (5.5%)	0.00295	0.0384
GO:0008219 cell death	BP 2	2202(310)	6 (1.9%)	0.00427	0.0444
GO:0051276 chromosome organization	BP 4	1211(206)	6 (2.9%)	0.000496	0.0471

GENES MUTATED IN OXT TRIOS (N=33)

Gene ontology term	category level	set size	candidates contained	p-value	q-value
GO:0016570 histone modification	BP 5	460(89)	6 (6.7%)	0.000319	0.0229
GO:0007611 learning or memory	BP 2	253(35)	4 (11.4%)	0.000485	0.0262
GO:0016569 covalent chromatin modification	BP 4	480(95)	6 (6.3%)	0.000455	0.0273
GO:0050890 cognition	BP 4	292(41)	4 (9.8%)	0.000896	0.0273
GO:0051171 regulation of nitrogen compound metabolic process	BP 4	5904(858)	18 (2.1%)	0.00123	0.0273
GO:0051276 chromosome organization	BP 4	1211(206)	8 (3.9%)	0.00126	0.0273
GO:0080090 regulation of primary metabolic process	BP 4	6071(878)	18 (2.1%)	0.00166	0.0273
GO:0060255 regulation of macromolecule metabolic process	BP 4	6156(881)	18 (2.0%)	0.00173	0.0273
GO:0031323 regulation of cellular metabolic process	BP 4	6130(893)	18 (2.0%)	0.00206	0.0273
GO:0090304 nucleic acid metabolic process	BP 4	5174(738)	16 (2.2%)	0.00207	0.0273
GO:0044271 cellular nitrogen compound biosynthetic process	BP 4	4906(676)	15 (2.2%)	0.0025	0.0273
GO:0034654 nucleobase-containing compound biosynthetic process	BP 4	4222(605)	14 (2.3%)	0.00254	0.0273
GO:0019438 aromatic compound biosynthetic process	BP 4	4296(611)	14 (2.3%)	0.00281	0.0273
GO:0018130 heterocycle biosynthetic process	BP 4	4285(612)	14 (2.3%)	0.00285	0.0273
GO:0009893 positive regulation of metabolic process	BP 4	3537(478)	12 (2.5%)	0.00304	0.0273
GO:0034645 cellular macromolecule biosynthetic process	BP 4	4867(701)	15 (2.1%)	0.00366	0.0278
GO:0009889 regulation of biosynthetic process	BP 4	4246(631)	14 (2.2%)	0.00385	0.0278
GO:1901362 organic cyclic compound biosynthetic process	BP 4	4434(634)	14 (2.2%)	0.00403	0.0278
GO:0009891 positive regulation of biosynthetic process	BP 5	1983(261)	9 (3.4%)	0.00138	0.0301
GO:0031325 positive regulation of cellular metabolic process	BP 5	3251(442)	12 (2.7%)	0.00152	0.0301
GO:0010556 regulation of macromolecule biosynthetic process	BP 5	4031(599)	14 (2.3%)	0.0023	0.0301
GO:0019219 regulation of nucleobase-containing compound metabolic process	BP 5	4070(608)	14 (2.3%)	0.00267	0.0301
GO:0033043 regulation of organelle organization	BP 5	1282(232)	8 (3.4%)	0.00271	0.0301
GO:0031326 regulation of cellular biosynthetic process	BP 5	4174(619)	14 (2.3%)	0.00319	0.0301
GO:0051173 positive regulation of nitrogen compound metabolic process	BP 5	3128(418)	11 (2.6%)	0.00334	0.0301
GO:0036211 protein modification process	BP 4	4097(582)	13 (2.2%)	0.00546	0.0346
GO:0009059 macromolecule biosynthetic process	BP 4	5010(731)	15 (2.1%)	0.00561	0.0346
GO:0045637 regulation of myeloid cell differentiation	BP 5	249(32)	3 (9.4%)	0.00474	0.0356
GO:0010604 positive regulation of macromolecule metabolic process	BP 5	3268(439)	11 (2.5%)	0.00494	0.0356
GO:0006464 cellular protein modification process	BP 5	4097(582)	13 (2.2%)	0.00546	0.0358
GO:0006259 DNA metabolic process	BP 4	1028(161)	6 (3.7%)	0.0069	0.0404
GO:0051129 negative regulation of cellular component organization	BP 5	701(117)	5 (4.3%)	0.00791	0.0417
GO:0006351 transcription, DNA-templated	BP 5	3645(537)	12 (2.2%)	0.0081	0.0417
GO:0043412 macromolecule modification	BP 4	4303(608)	13 (2.1%)	0.00804	0.0426
GO:0032774 RNA biosynthetic process	BP 5	3705(546)	12 (2.2%)	0.00927	0.0445
GO:0048523 negative regulation of cellular process	BP 4	4670(697)	14 (2.0%)	0.00986	0.0461

Anexo 9. Tabla suplementaria 3.6

Perteneciente al Trabajo 3. La exposición a la oxitocina en el parto y su relación con el deterioro cognitivo y la arquitectura genética del autismo.

Tabla suplementaria 3.6. Enriquecimiento de la expresión génica específica del tipo de célula para los genes mutados en los tríos OXT y Non_OXT. Los valores de expresión de varias réplicas de tipos celulares fueron normalizados log2 y promediados. La especificidad para los cinco tipos de células del SNC se calculó con la función specificity.index del paquete R pSI. La significación se evaluó mediante la prueba exacta de Fisher para diferentes índices de especificidad (pSI), seguida de la corrección FDR de los valores p. Los valores significativos se muestran en negrita.

Non_OXT	0,05 - adjusted	0,01 - adjusted	pSI 0,001 - adjusted	1e-04 - adjusted
FETAL_ASTRO	0,990020743	1	1	1
MATURE_ASTRO	0,851511038	1	1	1
NEURONS	0,017163519	0,023202911	0,078452649	0,66327109
OLIGO	1	1	1	1
MICROGLÍA	1	1	1	1
ENDOTHELIAL	1	1	1	1
WHOLE_CORTEX	0,135785703	0,428702015	1	1

OXT	0,05 - adjusted	0,01 - adjusted	pSI 0,001 - adjusted	1e-04 - adjusted
FETAL_ASTRO	0,619502248	0,758493559	1	1
MATURE_ASTRO	0,781616921	1	1	1
NEURONS	0,302486408	0,217007518	0,352423936	1
OLIGO	0,781616921	0,758493559	1	1
MICROGLÍA	0,781616921	1	1	1
ENDOTHELIAL	1	1	1	1
WHOLE_CORTEX	0,541947614	1	1	1

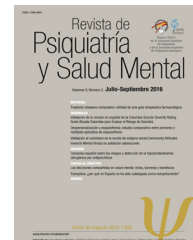
Anexo 10. Publicación Estudio 1.

García-Alcón, A., González-Peñas, J., Penzol, M. J., Gerez, D., Burdeus, M., Weckx, E., ... & Parellada, M. (2021). An exploratory analysis of parental autism traits, age at conception and polygenic background in Autism Spectrum Disorders. *Revista de Psiquiatría y Salud Mental*.



Revista de Psiquiatría y Salud Mental

www.elsevier.es/saludmental



ORIGINAL ARTICLE

An exploratory analysis of parental autism traits, age at conception and polygenic background in Autism Spectrum Disorders

Alicia García-Alcón^{a,b,c,*}, Javier González-Peñas^{a,c,◇}, María José Penzol^{a,c},
Diego Gerez^{a,c}, Mónica Burdeus^{a,c}, Elisa Weckx^b, Álvaro Andreu-Bernabeu^{a,c},
Carmen Moreno^{a,b,c}, Mara Parellada^{a,b,c}

^a Department of Child and Adolescent Psychiatry, Institute of Psychiatry and Mental Health, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Spain

^b School of Medicine, Universidad Complutense, Madrid, Spain

^c Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IISGM), CIBERSAM, Madrid, Spain

Received 23 September 2021; accepted 2 December 2021

KEYWORDS

Autism;
Parental autistic
traits;
Polygenic risk scores;
Advanced parental
age

Abstract

Introduction: Advanced parental age (APA) has been associated with an increased risk for autism in the offspring. One explanatory model includes delayed fatherhood in parents with autistic traits.

Material and methods: We investigated (1) whether autistic traits in parents, evaluated with the Autism-spectrum Quotient (AQ), correlate with APA in 128 families, (2) in 83 trios with genetic data available, whether AQ correlated with polygenic vulnerability calculated by Polygenic Risk Scores (PRS). We stratified the analyses by as per DSM-IV autism subtypes and by parental sex.

Results: We found a statistically significant relation between AQ and APA ($r=0.207$, $p=8.39 \times 10^{-4}$, $n=256$), significantly only in mothers ($r=0.233$, $p=8.23 \times 10^{-3}$, $n=128$) and in Asperger Syndrome (AS) ($r=0.319$, $p=0.034$, $n=44$). There was a significant association between PRS and AQ in the mothers of the participants with AS (β (95%CI) = 3.28 (0.03–6.59); $p=0.047$).

Conclusions: These results show that, in this sample, older mothers present more autistic traits, and APA seems to relate to an AS profile. Furthermore, PRS is significantly associated with maternal AQ of AS subjects. Consequently, a higher polygenic maternal contribution (both by AQ and PRS) seems to contribute to an AS profile.

© 2021 SEP y SEPB. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

* Corresponding author.

E-mail address: alicia.alcon@iisgm.com (A. García-Alcón).

◇ Authors have equally contributed.

<https://doi.org/10.1016/j.rpsm.2021.12.001>

1888-9891/© 2021 SEP y SEPB. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Please cite this article as: A. García-Alcón, J. González-Peñas, M.J. Penzol et al., An exploratory analysis of parental autism traits, age at conception and polygenic background in Autism Spectrum Disorders, Revista de psiquiatría y salud mental (Barcelona), <https://doi.org/10.1016/j.rpsm.2021.12.001>

PALABRAS CLAVE

Autismo;
Rasgos autistas de los
padres;
Puntuaciones de
riesgo poligénico;
Edad avanzada de los
padres

Análisis exploratorio de los rasgos de autismo de los padres, la edad de concepción y el riesgo poligénico en los trastornos del espectro autista

Resumen

Introducción: La edad avanzada de los padres (APA) se ha asociado con un mayor riesgo de autismo en la descendencia. Un modelo explicativo incluye el retraso de la paternidad en los progenitores con rasgos autistas.

Material y métodos: Se investigó: 1) si los rasgos autistas en los progenitores, evaluados con el cociente de espectro autista (AQ), se correlacionan con la APA en 128 familias; 2) en 83 tríos con datos genéticos disponibles, si el AQ se correlacionaba con la vulnerabilidad poligénica calculada por las puntuaciones de riesgo poligénico (PRS). Se estratificaron los análisis según los subtipos de autismo del DSM-IV y según el sexo de los progenitores.

Resultados: Encontramos una relación estadísticamente significativa entre el AQ y la APA ($r = 0,207$, $p = 8,39 \times 10^{-4}$, $n = 256$), significativamente solo en las madres ($r = 0,233$, $p = 8,23 \times 10^{-3}$, $n = 128$) y en el síndrome de Asperger (AS) ($r = 0,319$, $p = 0,034$, $n = 44$). Hubo una asociación significativa entre PRS y AQ en las madres de los participantes con AS (β [IC 95%] = 3,28 [0,03-6,59]; $p = 0,047$).

Conclusiones: Estos resultados muestran que, en esta muestra, las madres de mayor edad presentan más rasgos autistas, y la APA parece relacionarse con un perfil de AS. Además, la APA se asocia significativamente con el AQ materno de los sujetos con AS. En consecuencia, una mayor contribución materna poligénica (tanto por AQ como por PRS) parece contribuir a un perfil AS. © 2021 SEP y SEPB. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Introduction

Autism Spectrum Disorders (ASD) conform a group of neurodevelopmental disorders with an estimated prevalence between 8 and 17 cases per 1000 in the general population.¹⁻³ Researchers have described a multifactorial etiology that may combine genetic and environmental factors. Some recent reviews emphasize the importance of how non-genetic factors interact with genetic factors, increasing the risk of autism.^{4,5} Among non-genetic factors, advanced parental age at conception (APA) has been associated with increased risk for autism and other neurodevelopmental disorders in offspring.^{4,6,7-10} These studies have mainly reported that older fathers have increased risk of having children affected by ASD. Researchers have proposed that *de novo* mutations in male germ cells accumulated during aging increase the risk of neurodevelopmental disorders as schizophrenia or autism.^{11,12} However, *de novo* mutations only account for a part of the risk associated with APA,¹³ and other researchers have proposed alternative (but not mutually exclusive) explanatory models, including the possibility that delayed fatherhood is a consequence of autistic traits in the progenitor.¹⁴ Delayed motherhood has also been associated with an increased risk of ASD in the offspring,¹⁵ particularly in high-functioning subjects,^{16,17} with no data on the possible mechanisms.

Autistic traits seem to be continuously distributed in the general population, according to studies that have administered autistic-traits questionnaires to non-clinical population (such as the Autism-Spectrum Quotient for adults (AQ)).¹⁸ Autistic traits have also been evaluated in specific populations^{18,19}; for example, AQ has been used to compare parents of ASD subjects with parents of typically developing children in China, Istanbul, Iran, Australia and other

countries.²⁰⁻²³ Parents of ASD participants in those studies showed higher AQ scores than parents of control participants.

Gratten et al.¹⁴ suggested that autism traits in parents would be associated with an increased common variation risk for autism and subsequently with higher autism polygenic risk scores (PRS). To our knowledge, that association has not yet been explored. The latest ASD Genome Wide Association Studies (GWAS)²⁴ demonstrated that the polygenic contribution in Asperger Syndrome (AS) is almost double that of other subtypes of ASD. Therefore, patients with AS might be the most informative ASD population for exploring the relationship between AQ and PRS and delayed parenthood.

The main objectives of this study were to examine whether autistic traits in parents of ASD subjects, measured via the Autism Spectrum Quotient (AQ), correlate with parental age at conception, and dissect to what extent this correlation differs according to ASD subtype diagnosis. We also explored the relationship between autistic traits in the parents and polygenic vulnerability. Finally, we surveyed the relationship between autistic traits in mothers and fathers.

We hypothesized that (i) advanced parental age at the time of conception would correlate with parental autism traits (AQ scores), particularly in fathers of subjects with AS, and (ii) polygenic contribution in parents would correlate with AQ measures.

Methods

Participants

The recruitment of subjects with ASD took part at a specialized outpatient clinic, AMITEA (Comprehensive

Medical Care-Autism Spectrum Disorders),²⁵ at the Child and Adolescent Department of Psychiatry, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain. The inclusion criteria for this study were: at least 3 years of age, Spanish as a first language, and a diagnosis of ASD in the offspring. The subjects were included in the "Study of differential pathophysiological pathways associated with distinctive phenotypes in a sample of 200 patients with Autism Spectrum Disorder" funded by F.I.S. Carlos III, Ministry of Economy and Competitiveness PI14/02103 and the samples stored at the Ministry of Health Collection of ASD (sample # C.000148). The Hospital's Clinical Research Ethics Committee approved procedures and ASD subjects and their parents or legal guardians gave written informed consent. All procedures contributing to this work comply with the ethical standards of the relevant national and institutional committees on human experimentation and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2008.

Demographic and clinical data

The diagnosis was given by Child psychiatrists with extensive experience in ASD and research training in the Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS),²⁶ following standard procedures.²⁷ The procedure included taking developmental, medical and psychiatric histories, review of previous reports, and non-structured observation of the child. When necessary, the ADOS and/or the Autism Diagnostic Interview – Revised (ADI-R)²⁸ were administered. Finally, clinical judgment taking into account all the above information and the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition Text Revision and Fifth Edition (DSM-IV-TR and/or DSM-5)²⁹ criteria were applied. In order to check if autistic traits were differentially present in parents of subjects with different subtypes of ASD, we divided the sample according to DSM-IV-TR in Asperger Syndrome (AS), Autistic Disorder (AUT) and Pervasive Developmental Disorder, Not Otherwise Specified (PDD-NOS).

For descriptive purposes we collected any available evaluations of the patients that reflected cognitive performance, including Intelligent Quotient (IQ) or cognitive development index in cases without language or early age. Since those instruments have a mean of 100 and a standard deviation 15 reference values, for our purpose, the results of these instruments were combined in a single index, which we called cognitive index. Cognitive performance and autistic severity were not collected as part of this study. In a subsample of the patients included for current analyses this information was available. We report this data only for descriptive purposes.

Demographic data from ASD subjects and their parents (age, sex, ethnicity, age at conception) and the ASD-subjects' early clinical presentation (developmental regression, age of recognition of first autism symptoms and language impairment) were collected using a self-devised structured interview with both parents. Previous studies have used age range categories to define parental age, following the ones exposed by Lundström in 2010³⁰: <25, 25–34, 35–44, 45–50, and >51 years. Other authors define advanced parental age as 10 years older than average.¹⁴ Given the lack of available consensus in the literature with regards to a

cut-off point that categorizes parental age as advanced or not and the nature of the variable per se, in this study parental age at conception was measured as a continuous variable.

Parental autism traits

Parental autism traits were evaluated with the Spanish version of the autism-spectrum quotient for adults (AQ).¹⁸ The AQ is a self-report questionnaire consisting of 50 statements, with 4 possible answers each. The results are presented as a total score, which quantifies the level of autism traits (in our case in parents of ASD subjects).

Polygenic risk scores

For the polygenic risk scores (PRS), we used exome data from 242 ASD trios from Madrid (Spain) sequenced as part of the Autism Sequencing Consortium (ASC). Exome sequencing was performed at the Broad Institute Genomics Platform using an Illumina HiSeq sequencer. Variant calling was performed at the entire consortium dataset as explained by its main publication.³¹ Briefly, raw sequencing data were processed using the Genome Analysis Toolkit (GATK)³² to produce variant files in VCF 4.1 format. Genetic variants within Major Histocompatibility Complex (MHC) were removed. Variant call accuracy was estimated using the GATK Variant Quality Score Recalibration (VQSR) approach. Calls with a depth of coverage less than 10 or greater than 1000 were filtered out.

Exome-based VCF files after QC filtering were then imputed at the Michigan Imputation Server (<https://imputationserver.sph.umich.edu/>). We used the 1000 Genome Project phase 3 v.5 reference panel in order to capture genomic variants beyond the exome. Then PRS were calculated using this imputed data as the target sample and GWAS *summary statistics* from the PGC repository (<https://www.med.unc.edu/pgc/results-and-downloads>) as the discovery sample,²⁴ following previous work.³³ Next ASD PRS was assigned to each individual from the target sample as the sum of the number of effect alleles weighted by their effect in the independent discovery sample. Only biallelic variants with an imputation quality score > 0.9 and minor allele frequency (MAF) > 0.1% were considered. Indels were also excluded. Clumping was performed using PLINK v1.9 code "*-clump-r2 0.1 -clump-kb 500*". We used *Flip Strand* to identify and remove ambiguous positions. We generated different PRS using various P thresholds from the discovery sample ($p < 0.01$, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 and 1). In order to select the appropriate P threshold, we calculated PRS from both parents and performed polygenic transmission scores (pTDT), as previously performed in ASD.³⁴ We selected the PRS whose p threshold had the lowest p-value in pTDT ([supplementary table](#)). Common variants do account for a great part of ASD liability. However, a large recent GWAS study comprising close to 20,000 patients and 30,000 controls has shown that a PRS that includes variants associated with common ASD-comorbidities to the risk associated with ASD-related variants explains more of the ASD risk than the PRS calculated only with ASD-related variants.³⁵ Therefore, we calculated PRS for other disorders with well-known

comorbidity with autism³⁶ in the same target sample (Major Depression (MDD), Attention Deficit and Hyperactivity Disorder (ADHD), Obsessive Compulsive Disorder (OCD), Generalized Anxiety (ANX) and Schizophrenia (SCZ); summary statistics were used). A combined PRS (PRScomb), using ASD and comorbid disorders summary statistics was calculated,^{37–41} following a previously published model.³⁵ The combinatorial model requires weighing each disorder's relative contribution, so we used an estimated value from transmission t test from parents to offspring, for each disorder separately. Then we constructed the combinatorial PRS model using the estimated values to weight each comorbid disorder's contribution to the PRScomb score. Analyses using ASD PRS instead of PRScomb show similar but no significant results (data not shown).

Maternal and paternal separated and combined PRS were used to study their association with AQ measures in the whole sample and dividing by ASD subtypes. To simplify, we will refer to PRScomb as PRS throughout the results section.

In order to assess the relationship between PRS and AQ measures, linear regression models were performed, using sex and the first 10 multidimensional scaling (MDS) ancestry components as covariates. PLINK 1.9 was used to calculate the 10 MDS ancestry components from exome-imputed data for the 242 ASD trios from Madrid.

Rare *de novo* variant analysis

Rare damaging variation across the ASD trios with available exome and parental AQ data ($N=83$ out of 128) was extracted from sequencing data generated by the Autism Sequencing Consortium (ASC). We have considered protein truncating *de novo* rare variation (dnPTV) as nonsense, frameshift, or splicing variants at loss-of-function intolerant genes ($pLI>0.9$) and present at ExAC [<http://exac.broadinstitute.org/>] or 1000 genomes database [<http://www.internationalgenome.org/>] at an allelic frequency less than 0.1% in European population. In order to remove likely artifacts, we only considered singleton variants for the analyses.

Statistical analysis

We describe all variables used with the mean and standard deviation for continuous variables and frequencies and percentages for discrete variables.

Normality of distribution of the quantitative variables (parental age, AQ total scores and PRS) was assessed with the Kolmogorov-Smirnov test. These analyses suggested that the AQ total score, parental age and PRS had non normal distributions ($p<0.05$).

The relationship between autism traits in parents and age at conception was assessed with the Spearman correlation. Linear regression models were used to analyze the contribution from PRS to AQ measures, using sex and MDS ancestry components as covariates. Analyses were performed by subsampling by ASD subtype and considering mothers and fathers separately. Relationship between AQ and *de novo* genetic variation (dnPTV) was evaluated by logistic regression models using dnPTV as dependent variable (1 for presence/0 for absence of variant) and AQ as

Table 1 Clinical characteristics of the sample.

	N, %
<i>DSM-IV ASD diagnosis</i>	
Autistic disorder	70, 54.7
Asperger syndrome	22, 17.2
PDD NOS	36, 28.1
<i>Developmental regression</i>	
Yes	42, 32.8
<i>Epilepsy</i>	
Yes	12, 9.4
<i>Language level</i>	
No language	26, 20.8
Single words	16, 12.8
Simple phrases	32, 25.6
Complex language	551, 40.8
<i>Age of onset of ASD symptoms</i>	
<1 year	38, 29.7
>1 year	90, 70.3
<i>Intellectual disability (IQ<70)</i>	
Yes	31, 35.6
PDD NOS: Pervasive Developmental Disorder – Not Otherwise Specified.	

independent variable, considering mothers and fathers separately.

For descriptive purposes, we evaluated possible differences in autism traits in parents depending on their sex (using the *U* Mann-Whitney test) and whether parents were matched according to their autism traits (using the Spearman correlation). Then the Wilcoxon test was used to check if our sample's values were equivalent to the biggest previous European sample in the literature.⁴² Finally, we compared the distribution of AQ scores in our sample (fathers and mothers separately) with the Wheelwright study's population⁴² using compliance testing.

Statistical analyses were performed using R v.3.6.0.⁴³ or PASW Statistics 18.0 for Windows,⁴⁴ with a significance *p*-value threshold set at <0.05.

Results

This study included 128 subjects with ASD (almost 90% male and Caucasian) between the ages of 3 and 36, mean age 11.85 (SD 7.72) and both of their parents. Full details of the clinical characteristics of the ASD individuals are shown in Table 1.

Parents of the 128 ASD subjects ($n=256$) were also evaluated. Mothers' ages ranged from 22 to 48 years old, mean age 32.62 (SD 4.66) and fathers' ages from 22 to 58, mean age 34.64 (SD 5.62).

Parental ASD traits and age at conception

In this dataset, a statistically significant positive relationship was found between parental age at conception and AQ total scores ($\rho=0.207$, $p=8.39 \times 10^{-4}$, $n=256$). Separately, this correlation is present in mothers ($\rho=0.233$,

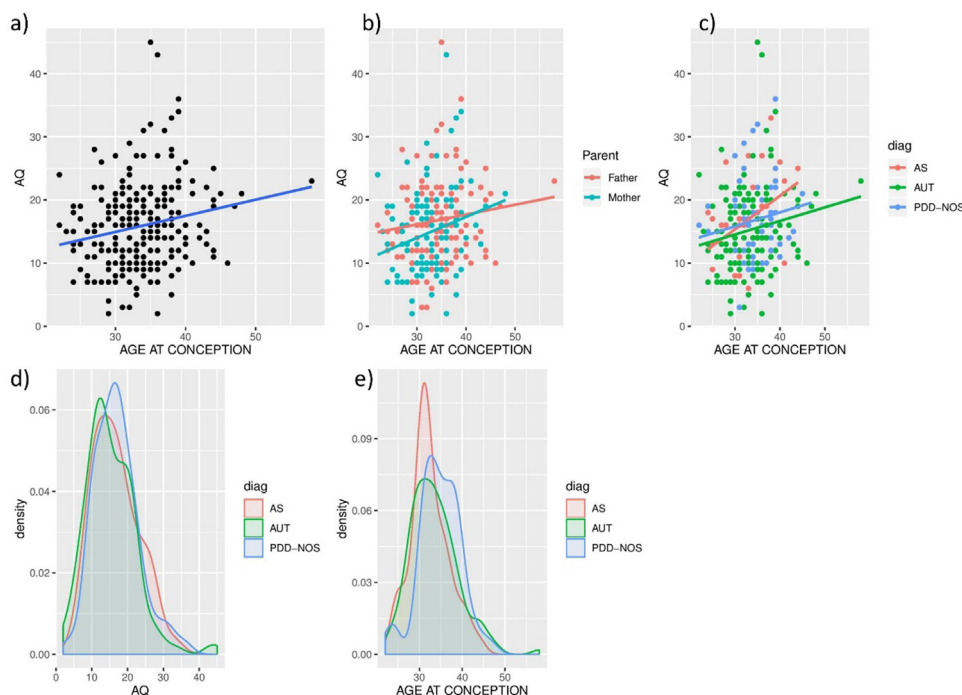


Figure 1 Relationship between parental autistic traits (AQ) and age at conception. Spearman correlation was calculated for the (a) general sample ($\rho=0.207$, $p=8.39 \times 10^{-4}$, $n=256$), (b) divided according to parents' sex (mothers $\rho=0.233$, $p=8.23 \times 10^{-3}$, $n=128$, fathers $\rho=0.123$, $p=0.166$, $n=128$) (c) according to DSM-IV subtypes (in AS $\rho=0.319$, $p=0.034$, $N=44$; in AUT $\rho=0.200$, $p=0.069$, $N=131$; in PDD-NOS $\rho=0.142$, $p=0.272$, $N=62$). Density plots are shown for (d) AQ values (Kruskal-Wallis test- $p>0.05$ in any case) and (e) age at conception' (PDD-NOS – AS Kruskal-Wallis test- $p=0.00364$; PDD-NOS – ASD Kruskal-Wallis test- $p=0.020$).

$p=8.23 \times 10^{-3}$, $n=128$, but not in fathers ($\rho=0.123$, $p=0.166$, $n=128$). See Fig. 1a, b for these results. When analyzing these correlations by different subtypes of autism, significant positive correlations were found in the case of subjects with AS ($\rho=0.319$, $p=0.034$, $N=44$) but not in the AUT ($\rho=0.200$, $p=0.069$, $N=131$) or PDD-NOS ($\rho=0.142$, $p=0.272$, $N=62$) subsamples (Fig. 1c). Given the small sample size we did not proceed to subdivide the correlations with different types of autism by parental sex.

No differences in parental AQ values were found across ASD subtypes (Fig. 1d; KW test – $p>0.05$ in any case).

Age at conception in parents of subjects with PDD-NOS (age (95%CI)=34.74 (33.76–36.08)) is higher than in parents of subjects with AS (Age (95%CI)=32.39 (31.04–33.74); Kruskal-Wallis test- $p=0.00364$; Fig. 1e) or AUT (Age (95%CI)=33.47 (32.53–34.41); Kruskal-Wallis test- $p=0.020$; Fig. 1e), with no significant difference between AS and AUT parents' age (Kruskal-Wallis test- $p=0.351$). Results in Fig. 1d, e indicate that, in spite of the higher correlation between age at conception and parental AQ observed in AS trios (Fig. 1c), older parents are at higher risk for PDD-NOS than AS or AUT autistic subtypes.

Parental ASD traits and polygenic risk score by autism subtype

We calculated PRS on those trios with parental AQ and exome information available, ($N=83$ out of 128). As

explained in Methods, PRS calculations were performed using imputed exome data and available summary statistics from ASD, and weighing other comorbid disorders. We used a linear regression model to study whether PRS significantly explained AQ scores in the surveyed DSM-IV ASD subtypes, considering sex and 10 first multidimensional scaling (MDS) ancestry components as covariates in the model.

There is a trend toward significance between parental PRS and AQ measures in the parents of the AS subsample (β (95%CI)=1.9 (–0.29 to 4.08); $p=0.086$; Fig. 2), but not in the AUT or PDD-NOS subsamples ($p>0.1$; Fig. 2).

As the relationship between age at conception and AQ differed for mothers and fathers of AS trios, we also divided the PRS analysis in both parents independently for AS subtype. Higher PRS was associated with increased AQ across mothers of subjects with AS (β (95%CI)=3.28 (0.03–6.59); $p=0.047$), but not across fathers of these subjects (β (95%CI)=0.67 (–3.34 to 4.68); $p=0.701$; Fig. 2).

We have also evaluated the relationship between parental AQ and presence of dnPTV across the affected children. No significance was observed when evaluating the effect of probands dnPTV on parental AQ, either across mothers (β (95%CI)=–0.012 (–0.102 to 0.077); $p=0.790$) or fathers (β (95%CI)=–0.043 (–0.138 to 0.052); $p=0.377$).

ASD traits in the parents of ASD subjects

Fathers had significantly higher AQ scores than mothers ($U=6759.5$ $p=0.009$), with AQ mean score being 16.79

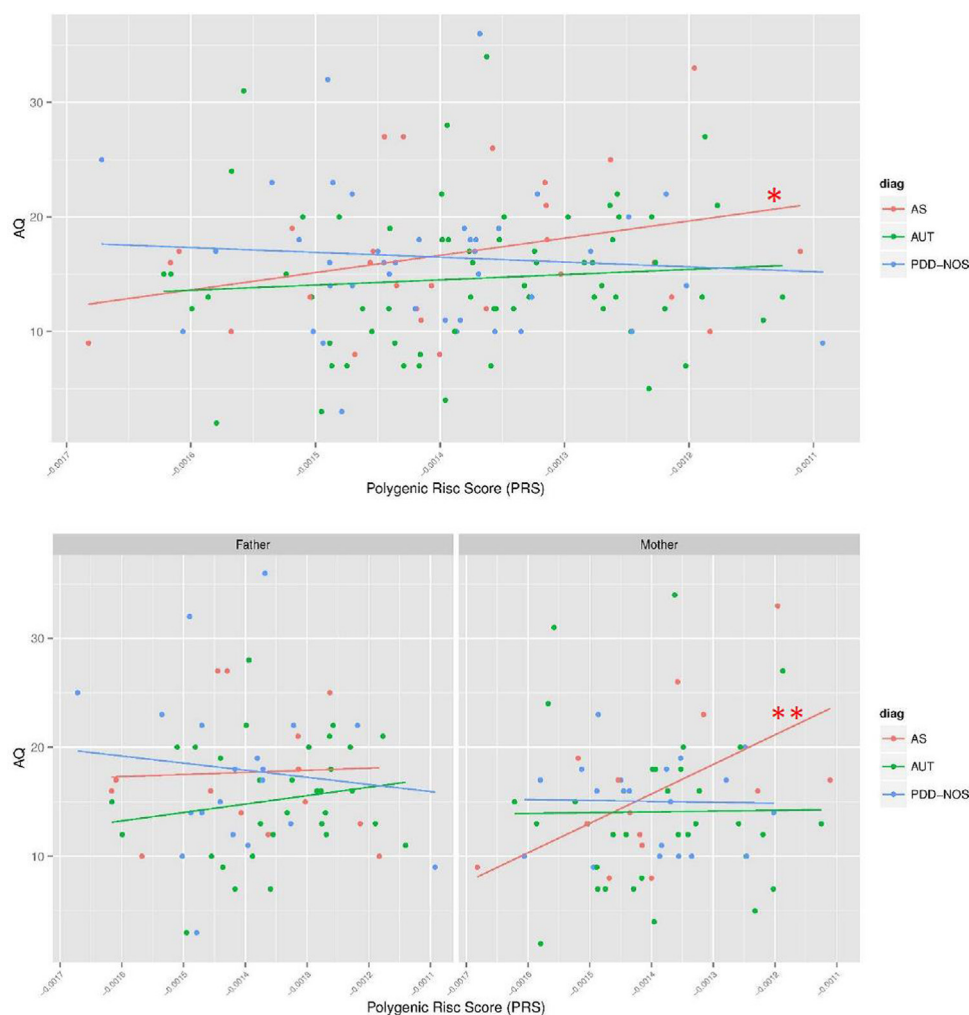


Figure 2 Associations between PRS and AQ measures in parents of ASD trios. Regression models were performed for the three DSM-IV subtypes (AS, AUT and PDD-NOS) and, additionally, for mothers (AS_MOTHERS) and fathers (AS_FATHERS) of AS trios. To facilitate comparison of effects, the PRS were standardized. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$.

SD = 6.56 (range 3–45) and 14.84 SD = 6.5 (range 2–43) for fathers and mothers, respectively. There was a significant positive modest relationship between AQ scores of both parents $r = .234$ $p = 0.008$.

Given that there are no Spanish data on the distribution of ASD traits (measured with the AQ) among parents of individuals with autism, we decided to compare our results with those from the original British sample. Therefore, we compared the distribution and mean values of ASD parents from our sample (more than 80% of Spanish origin) with those from the Wheelwright et al. sample of the British population⁴² (see Fig. 3). In that sample 41.5% of the offspring were reported to have autism, 41.38% Asperger syndrome (AS), 10.56% high functioning autism (HFA) and 6.56% pervasive development disorder (in our sample these percentages were 55% autism, 15.6% AS and 29% pervasive development disorder). Our sample had lower mean values in AQ test than Wheelwright et al.: mothers mean = 16.4 vs 14.84 (95%CI) (13.73–16.01) and fathers mean = 19.2 vs 16.79 (95%CI) (15.71–18) (mothers $Z = -3.202$ $p = 0.001$, fathers $Z = -4.466$ $p < .001$) so we rejected the assumption that our population is equivalent to Wheelwright et al. In fact, we noted that

Wheelwright et al.'s range of scores exceeded our maximum scores (Fig. 3).

Discussion

We show that, within a sample of parents of ASD subjects, there is a direct and significant relationship between autistic traits (as measured with the AQ questionnaire) and age at conception. This supports our main hypothesis. However, the relationship is dependent on sex, as mothers, but not fathers, account for the significant part of the relationship. Moreover, our results show differential correlations when the proband sample is divided into DSM-IV subtypes: in our sample, there is only a significant relationship between AQ and parental age of AS subjects.

Interestingly, we found that fathers showed more autistic traits than mothers, and that PDD-NOS subjects were conceived at an older parental age.

Although our data need replication and may not be robust enough due to a small sample size, our results support the hypothesis that advanced parental age could be a

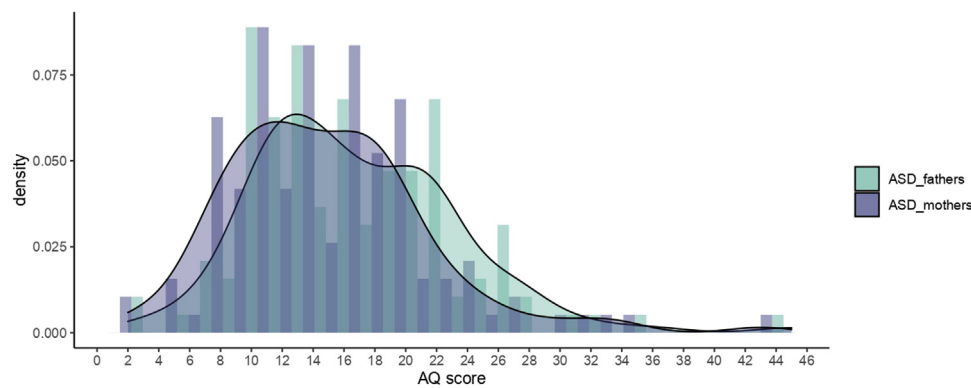


Figure 3 Autism Spectrum Quotient (AQ) scores and its density in parents of Autism Spectrum Disorders (ASD) probands, by sex, in HGUGM sample.

consequence of autistic traits in the progenitors,¹⁴ at least for mothers.

There is consistent evidence of biological and genetic overlap between ASD and autistic traits in the general population⁴⁵ with higher estimates of heritability for autistic traits than for ASD per se.⁴⁶ AS has been described as a distinct biological subtype of ASD based on the latest GWAS to date, with higher contribution from common genetic variation.³⁵ Our results here suggest an impact of maternal AQ in ASD risk which is restricted to AS trios. Therefore, our data support the hypothesis that mothers with more autistic traits do conceive offspring more frequently diagnosed with AS.

PRS estimations have been proven to be useful in analyzing the contribution of common genetic variation from a particular disease or trait.^{47–49} In our dataset, a combined-PRS using ASD and comorbid disorders' contributions³³ significantly predicted maternal, but not paternal, AQ in AS subjects, while de novo variation does not. This result could be explained, in part, by the polygenic overlap between AS and related psychiatric conditions.^{50,51} The results do not retain significance after multiple testing correction but do converge with the results describing the relationship between AQ and age at conception. We strongly encourage further studies aiming to replicate these findings to ensure a larger sample size.

In regard to the higher polygenic maternal contribution to the risk of AS in offspring described here (both by AQ and PRS analyses), a recent study reported that maternal PRS contributes to neurodevelopmental disorders in offspring by increasing the risk for exposure to certain adverse environments during pregnancy.⁵² As an early neurodevelopmental disorder,⁵³ ASD outcomes in offspring may be more affected by maternal than paternal environment.⁵⁴

ASD subtypes disappeared from recent versions of psychiatric classifications (DSM-5 and ICD-11) due to the lack of evidence to support them at the time of these versions release. Also, AS is progressively vanishing as an eponym.⁵⁵ However, as mentioned in the introduction, recent genomic data shows a differential genetic architecture in AS in comparison with other DSM-IV subtypes of ASD, with the former having a larger polygenic contribution. Therefore, we

maintained DSM-IV terminology for the purpose of the present work.

We also encountered a significant correlation between paternal and maternal age at conception in line with previous findings⁵⁶; and a modest significant correlation between paternal and maternal autistic traits, in line with assortative mating mechanisms.^{57,58} These correlations make it difficult to disentangle possible sex-specific effects of parental age at conception. However, previous works have observed that advanced maternal age increases the risk for autism in the offspring regardless of paternal age, but not vice versa,⁵⁹ which further supports the hypothesis that paternal de novo variation and maternal polygenic contribution increase the risk of ASD in the offspring.

Both mothers and fathers reported lower scores than British population reference values in the self-rated AQ questionnaire.⁴² In light of our results, it is possible that the higher proportion of AS cases in the British sample could contribute to the higher AQ scores in their parents. Even so, in the absence of Spanish reference values it is difficult to interpret this result. We need to wait until Spanish reference values are available to understand the differences between the two populations. We must also take into account that the AQ in the undiagnosed population, in our case parents of individuals with ASD, is possibly not measuring the same ASD traits as it would do in the ASD population, but rather an extended autism phenotype.⁶⁰

One of the main limitations of this study is the self-reported nature of autistic traits assessment and the absence of a measure of cognitive abilities in parents, which probably influences the way they see themselves and also modulates the risk for conceiving high or low-functioning ASD subjects. The absence of actual data on psychiatric comorbidities in the parents is also a limitation. Finally, the main limitation is the small sample size, which precludes, among other problems, applying multiple comparisons correction and the inclusion of offspring sex as a variable to be considered. Therefore, the analyses should be rendered exploratory and the results preliminary. Further studies using different and larger cohorts must be performed in order to have a to confirm these results and overcome the main limitation of the available sample size.

Conclusions

The results of this study suggest that there is a relationship between autistic traits and advanced age at conception in mothers. Parental age seems to correlate with an Asperger Syndrome profile within an ASD offspring sample, rather than an autism or PDD profile. PRS seems to be only modestly associated with autistic traits in mothers of subjects with AS. All in all, a higher polygenic maternal contribution (both by AQ and PRS analyses) is a risk factor for an Asperger phenotype in the offspring.

Authors' contributions

A.G.A., J.G.P. and M.P. designed research, with some contribution from the rest of authors; A.G.A. and J.G.P. performed research and data analysis with some contribution from rest of authors; A.G.A. and J.G.P. wrote the paper. All authors reviewed the manuscript.

Conflict of interest

The authors do not report any conflict of interest related to this work.

Acknowledgements

This work was supported by the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities, Instituto de Salud Carlos III (FIS PI14/02103 and FIS PI17/00819), co-financed by ERDF Funds from the European Commission, "A way of making Europe", CIBERSAM., Madrid Regional Government (B2017/BMD-3740 AGES-CM-2), European Union Structural Funds and European Union Seventh Framework Program and H2020 Program; Fundación Familia Alonso, Fundación Alicia Koplowitz and Fundación Mutua Madrileña. From the Hospital Universitario Gregorio Marañón we are grateful to patients and families who kindly participated in this project. Exome sequencing was performed at the Mount Sinai Research Center, New York, United States of America, as our ASD cohort is part of the Autism Sequencing Consortium (ASC) sample. AGA has been a recipient of a pre-doctoral fellowship (Formación de Profesorado Universitario FPU) from Spanish Ministry of Education, Culture and Sport (ref.: FPU16/01740), and this article is part of her PhD studies.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.rpsm.2021.12.001>.

References

1. Baxter AJ, Brugha TS, Erskine HE, Scheurer RW, Vos T, Scott JG. The epidemiology and global burden of autism spectrum disorders. *Psychol Med*. 2015;45:601–13.
2. Baio J, Wiggins L, Christensen DL, Maenner MJ, Daniels J, Warren Z, et al. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities

- monitoring network 11 sites, United States, 2014. *MMWR Surveill Summ*. 2018;67:1.
3. Fombonne E. Editorial: The rising prevalence of autism. *J Child Psychol Psychiatry*. 2018;59:717–20.
4. Modabbernia A, Velthorst E, Reichenberg A. Environmental risk factors for autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. *Mol Autism*. 2017;8:13.
5. Emberti Gialloreti L, Mazzone L, Benvenuto A, Fasano A, Garcia Alcon A, Kraneveld A, et al. Risk and protective environmental factors associated with autism spectrum disorder: evidence-based principles and recommendations. *J Clin Med*. 2019;8:217.
6. Wang C, Geng H, Liu W, Zhang G. Prenatal, perinatal, and post-natal factors associated with autism. *Medicine*. 2017.
7. Hultman CM, Sandin S, Levine SZ, Lichtenstein P, Reichenberg A. Advancing paternal age and risk of autism: new evidence from a population-based study and a meta-analysis of epidemiological studies. *Mol Psychiatry*. 2011;16:1203–12.
8. McGrath JJ, Petersen L, Agerbo E, Mors O, Mortensen PB, Pedersen CB. A comprehensive assessment of parental age and psychiatric disorders. *JAMA Psychiatry*. 2014;71:301–9.
9. Janecka M, Mill J, Basson MA, Goriely A, Spiers H, Reichenberg A, et al. Advanced paternal age effects in neurodevelopmental disorders—review of potential underlying mechanisms. *Transl Psychiatry*. 2017;7:e1019.
10. Reichenberg A, Gross R, Weiser M, Bresnahan M, Silverman J, Harlap S, et al. Advancing paternal age and autism. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63:1026–32.
11. Malaspina D, Harlap S, Fennig S, Heiman D, Nahon D, Feldman D, et al. Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2001;58:361–7.
12. Kong A, Frigge ML, Masson G, Besenbacher S, Sulem P, Magnusson G, et al. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature*. 2012;488:471–5.
13. Taylor JL, Debost JPG, Morton SU, Wigdor EM, Heyne HO, Lal D, et al. Paternal-age-related de novo mutations and risk for five disorders. *Nat Commun*. 2019;10:3043–9.
14. Gratten J, Wray NR, Peyrot WJ, McGrath JJ, Visscher PM, Goddard ME. Risk of psychiatric illness from advanced paternal age is not predominantly from de novo mutations. *Nat Genet*. 2016;48:718–24.
15. King MD, Fountain C, Dakhallallah D, Bearman PS. Estimated autism risk and older reproductive age. *Am J Public Health*. 2009;99:1673–9.
16. Merikangas, Alison K, Calkins ME, Bilker WB, Moore TM, Gur RC, et al. Parental age and offspring psychopathology in the Philadelphia neurodevelopmental cohort. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2017;56:391–400.
17. Sandin S, Hultman CM, Kolvezon A, Gross Raz MD, MacCabe JH, Reichenberg A, et al. Advancing maternal age is associated with increasing risk for autism: a review and meta-analysis. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2012;51, 477, 486.e1.
18. Baron-Cohen S, Wheelwright S, Skinner R, Martin J, Clubley E. The autism-spectrum quotient (AQ): evidence from asperger syndrome/high-functioning autism, males and females, scientists and mathematicians. *J Autism Dev Disord*. 2001;31:5–17.
19. Jobe LE, Williams White S. Loneliness, social relationships, and a broader autism phenotype in college students. *Pers Individ Diff*. 2007;42:1479–89.
20. Zhang L, Sun Y, Chen F, Wu D, Tang J, Han X, et al. Psychometric properties of the Autism-Spectrum Quotient in both clinical and non-clinical samples: Chinese version for Mainland China. *BMC Psychiatry*. 2016;16:213.
21. Bora E, Aydin A, Saraç T, Kadak MT, Köse S. Heterogeneity of subclinical autistic traits among parents of children with autism spectrum disorder: identifying the broader autism phenotype with a data-driven method. *Autism Res*. 2017;10:321–6.
22. Mohammadi MR, Zarafshan H, Ghasempour S. Broader autism phenotype in Iranian parents of children with autism spectrum

- disorders vs. normal children. *Iran J Psychiatry*. 2012; 7:157–63.
23. Bishop DVM, Maybery M, Maley A, Wong D, Hill W, Hallmayer J. Using self-report to identify the broad phenotype in parents of children with autistic spectrum disorders: a study using the Autism-Spectrum Quotient. *J Child Psychol Psychiatry*. 2004;45:1431–6.
24. Grove J, Ripke S, Als TD, Mattheisen M, Walters R, Won H, et al. Common risk variants identified in autism spectrum disorder. *BioRxiv*. 2017:224774.
25. Parellada M, Boada L, Moreno C, Llorente C, Romo J, Muela C, et al. Specialty care programme for autism spectrum disorders in an urban population: a case-management model for health care delivery in an ASD population. *Eur Psychiatry*. 2013;28:102–9.
26. Lord C, Rutter M, DiLavore P, Risi S, Gotham K, Bishop S. Autism diagnostic observation schedule, 2nd edition (ADOS-2). Los Angeles, CA: Western Psychological Corporation; 2012.
27. Volkmar F, Siegel M, Woodbury-Smith J, King B, McCracken J, State M. Practice parameter for the assessment and treatment of children and adolescents with autism spectrum disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2014;53:237–57.
28. Rutter M, Le Couteur A, Lord C. Autism Diagnostic Interview-Revised, vol. 29. Los Angeles, CA: Western Psychological Services; 2003. p. 30.
29. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®). American Psychiatric Pub.; 2013.
30. Lundström S, Haworth CMA, Carlström E, Gillberg C, Mill J, Råstam M, et al. Trajectories leading to autism spectrum disorders are affected by paternal age: findings from two nationally representative twin studies. *J Child Psychol Psychiatry*. 2010;51:850–6.
31. Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, De Rubeis S, An J, et al. Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism. *Cell*. 2020;180, 568, 584.e23.
32. McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernysky A, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res*. 2010;20:1297–303.
33. Costas J, Carrera N, Alonso P, Gurriarán X, Segalàs C, Real E, et al. Exon-focused genome-wide association study of obsessive-compulsive disorder and shared polygenic risk with schizophrenia. *Transl Psychiatry*. 2016;6:e768.
34. Weiner DJ, Wigdor EM, Ripke S, Walters RK, Kosmicki JA, Grove J, et al. Polygenic transmission disequilibrium confirms that common and rare variation act additively to create risk for autism spectrum disorders. *Nat Genet*. 2017;49:978–85.
35. Grove J, Ripke S, Als TD, Mattheisen M, Walters RK, Won H, et al. Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder. *Nat Genet*. 2019;51:431–44.
36. Caamaño M, Boada L, Merchán-Naranjo J, Moreno C, Llorente C, Moreno D, et al. Psychopathology in children and adolescents with ASD without mental retardation. *J Autism Dev Disord*. 2013;43:2442–9.
37. Demontis D, Walters RK, Martin J, Mattheisen M, Als TD, Agerbo E, et al. Discovery of the first genome-wide significant risk loci for attention deficit/hyperactivity disorder. *Nat Genet*. 2019;51:63–75.
38. Arnold PD, Askland KD, Barlassina C, Bellodi L, Bienvenu OJ, Black D, et al. Revealing the complex genetic architecture of obsessive-compulsive disorder using meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2018;23:1181.
39. Otowa T, Hek K, Lee M, Byrne EM, Mirza SS, Nivard MG, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies of anxiety disorders. *Mol Psychiatry*. 2016;21:1391–9.
40. Ripke S, Neale BM, Corvin A, Walters JT, Farh K, Holmans PA, et al. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*. 2014;511:421–7.
41. Wray NR, Ripke S, Mattheisen M, Trzaskowski M, Byrne EM, Abdellaoui A, et al. Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. *Nat Genet*. 2018;50:668.
42. Wheelwright S, Auyeung B, Allison C, Baron-Cohen S. Defining the broader, medium and narrow autism phenotype among parents using the Autism Spectrum Quotient (AQ). *Mol Autism*. 2010;1:10.
43. Team R. RStudio: Integrated Development for R, vol. 42. Boston, MA: RStudio, Inc.; 2015. p. 14. <http://www.rstudio.com>
44. SPSS Inc. PASW statistics for windows, version 18.0. Chicago. 2009.
45. Bralten J, Van Hulzen KJ, Martens MB, Galesloot TE, Vasquez AA, Kiemeny LA, et al. Autism spectrum disorders and autistic traits share genetics and biology. *Mol Psychiatry*. 2018;23:1205–12.
46. Robinson EB, Koenen KC, McCormick MC, Munir K, Hallett V, Happé F, et al. Evidence that autistic traits show the same etiology in the general population and at the quantitative extremes (5%, 2.5%, and 1%). *Arch Gen Psychiatry*. 2011;68: 1113–21.
47. Clarke T, Lupton MK, Fernandez-Pujals AM, Starr J, Davies G, Cox S, et al. Common polygenic risk for autism spectrum disorder (ASD) is associated with cognitive ability in the general population. *Mol Psychiatry*. 2016;21: 419–25.
48. Nivard MG, Gage SH, Hottenga JJ, Van Beijsterveldt CE, Abdellaoui A, Bartels M, et al. Genetic overlap between schizophrenia and developmental psychopathology: longitudinal and multivariate polygenic risk prediction of common psychiatric traits during development. *Schizophr Bull*. 2017;43: 1197–207.
49. Wray NR, Lee SH, Mehta D, Vinkhuyzen AA, Dudbridge F, Middeldorp CM. Research review: polygenic methods and their application to psychiatric traits. *J Child Psychol Psychiatry*. 2014;55:1068–87.
50. Gonzalez-Peñas J, Costas J, García-Alcón A, Penzol MJ, Rodríguez J, Rodríguez-Fontenla C, et al. Psychiatric comorbidities in Asperger Syndrome are related with polygenic overlap and differ from other Autism subtypes. *Transl Psychiatry*. 2020.
51. Guo W, Samuels JF, Wang Y, Cao H, Ritter M, Nestadt PS, et al. Polygenic risk score and heritability estimates reveals a genetic relationship between ASD and OCD. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2017;27:657–66.
52. Leppert B, Havdahl A, Riglin L, Jones HJ, Zheng J, Smith GD, et al. Association of maternal neurodevelopmental risk alleles with early-life exposures. *JAMA Psychiatry*. 2019; 76:834–42.
53. Xiao Z, Qiu T, Ke X, Xiao X, Xiao T, Liang F, et al. Autism spectrum disorder as early neurodevelopmental disorder: evidence from the brain imaging abnormalities in 2–3 years old toddlers. *J Autism Dev Disord*. 2014;44:1633–40.
54. Lyall K, Schmidt RJ, Hertz-Picciotto I. Maternal lifestyle and environmental risk factors for autism spectrum disorders. *Int J Epidemiol*. 2014;43:443–64.
55. Parellada M. What does the future hold for Asperger syndrome? *Revista de psiquiatría y salud mental*. 2020;13:115–7.
56. Croen LA, Najar DV, Fireman B, Grether JK. Maternal and paternal age and risk of autism spectrum disorders. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2007;161:334–40.
57. Page J, Constantino JN, Zambrana K, Martin E, Tunc I, Zhang Y, et al. Quantitative autistic trait measurements index background genetic risk for ASD in Hispanic families. *Mol Autism*. 2016;7:39.

58. Connolly S, Anney R, Gallagher L, Heron EA. Evidence of assortative mating in autism spectrum disorder. *Biol Psychiatry*. 2019;86:286–93.
59. Shelton JF, Tancredi DJ, Hertz-Picciotto I. Independent and dependent contributions of advanced maternal and paternal ages to autism risk. *Autism Res*. 2010;3:30–9.
60. Murray AL, Booth T, McKenzie K, Kuenssberg R, O'Donnell M. Are autistic traits measured equivalently in individuals with and without an autism spectrum disorder? An invariance analysis of the Autism Spectrum Quotient Short Form. *J Autism Dev Disord*. 2014;44:55–64.

Anexo 11. Publicación Estudio 3.

García-Alcón, A., González-Peñas, J., Weckx, E., Penzol, M. J., Gurriarán, X., Costas, J., ... & Parellada, M. (2022). Oxytocin Exposure in Labor and its Relationship with Cognitive Impairment and the Genetic Architecture of Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 1-14.



Oxytocin Exposure in Labor and its Relationship with Cognitive Impairment and the Genetic Architecture of Autism

Alicia García-Alcón^{1,2,3} · Javier González-Peñas^{1,3} · Elisa Weckx² · M. J. Penzol^{1,3} · Xaquín Gurriarán^{1,3} · Javier Costas⁴ · Covadonga M. Díaz-Caneja^{1,3} · Carmen Moreno^{1,2,3} · Patricia Hernández^{1,3} · Celso Arango^{1,2,3} · Mara Parellada^{1,2,3}

Accepted: 14 December 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2022

Abstract

Whether there is a relationship between oxytocin (OXT) use in labor and the risk of autism (ASD), and the nature of such relationship, is unclear. By integrating genetic and clinical data in a sample of 176 ASD participants, we tested the hypothesis that OXT is a marker for abnormal prenatal development which leads to impairments in the process of labor. OXT-exposed ASD had more obstetric complications ($P=0.031$), earlier onset of symptoms ($P=0.027$), poorer cognitive development ($P=0.011$), higher mutation burden across neurodevelopment genes ($P=0.020$; $OR=5.33$) and lower transmission of polygenic risk for ASD ($P=0.0319$), than non-exposed ASD. OXT seems to constitute a risk indicator rather than a risk factor for ASD, which is relevant for diagnostic and genetic counselling.

Keywords Autism · Obstetric conditions · Oxytocin exposure in labor · Genetics · Cognition

Introduction

Autism Spectrum Disorders (ASD) form a group of neurodevelopmental disorders characterized by persistent deficits in social communication and social interaction and the presence of restricted and repetitive patterns of behavior, interests, and activities (American Psychiatric Association, 2013). Although intellectual disability and language impairment are not core symptoms of ASD, they are significantly

associated with the prognosis of ASD patients. Therefore, intellectual and language ability are now considered relevant clinical specifiers that need to be added to a diagnosis of ASD in the DSM.5 (Dietz et al., 2007).

Genetic and environmental factors interact in the etiopathology of ASD (Parellada, Boada, et al., 2013; Parellada, Penzol, et al., 2013). Common prevalence figures range between 8 and 17 cases per 1000 in the general population (Baxter et al., 2015), (Baio et al., 2018), (Fombonne, 2018). Much of the variance in the rapid increase in prevalence of ASD in recent decades has been attributed to increased awareness among professionals and the general population, along with broadening of the concept of autism and diagnostic accretion (Fombonne, 2018). Additionally, questions have arisen concerning the effect of modern environmental factors that may contribute to increased rates of deviant development and the presence of autism phenotypes (Emberti Gialloreti et al., 2019). Compelling evidence supports the association of obstetric variables with risk of ASD. Some of these obstetric risk factors have been identified as low birth weight, increased duration of gestation, induced labor, and intrapartum hypoxia (Hadjkacem et al., 2016; Kolevzon et al., 2007; Modabbernia et al., 2017; Smallwood et al., 2016; Wang et al., 2017). Also, oxytocin exposure in labor has also been associated with an increased risk of ASD

Alicia García-Alcón and Javier González-Peñas have equally contributed to this work.

✉ Alicia García-Alcón
alicia.alcon@iisgm.com

- ¹ Department of Child and Adolescent Psychiatry, Institute of Psychiatry and Mental Health, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
- ² School of Medicine, Universidad Complutense, Madrid, Spain
- ³ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IISGM), Madrid. CIBERSAM, Madrid, Spain
- ⁴ Instituto de Investigación Sanitaria (IDIS) de Santiago de Compostela, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS), Servizo Galego de Saúde (SERGAS), Santiago de Compostela, Galicia, Spain