

Autismo e Genética. Protocolo para o Estudo das Pessoas com Autismo

PILAR DE QUINHONES LEVY

*Laboratório de Genética
Faculdade de Medicina de Lisboa
Universidade de Lisboa*

Resumo

O síndrome autista tem um componente genético importante, sendo provavelmente uma situação com hereditariedade complexa.

Efectua-se uma revisão das bases genéticas do autismo, apresentando-se um protocolo de estudo a aplicar nas pessoas com autismo, de modo a identificar doenças associadas, permitir um aconselhamento genético e cálculo do risco de recorrência em cada família, e a escolha da melhor terapêutica.

Palavras-Chave: Autismo, Genética, Protocolo de estudo.

Summary

Protocol for the Study of Autistic Persons

Autism studies demonstrated the presence of strong genetic components and it is now considered a heritable mental disorder, possibly the result of multiple interacting genes.

We present a review of the genetic bases of autism, and propose a protocol to study autistic persons, as to identify associated disorders, and to permit an accurate genetic counselling and a proper therapy.

Key-Words: Autism, Genetic, Protocol of study.

Introdução

O autismo infantil é um síndrome comportamental com início nos primeiros anos de vida, caracterizado pela presença de um desenvolvimento acentuadamente anormal ou deficitário da interacção e comunicação social e um repertório acentuadamente restritivo de actividades e interesses. A sua incidência estima-se em cerca de 4-5/10.000 nascimentos com um predomínio para o sexo masculino de 4:1^(2, 17).

A etiopatogenia do autismo tem sido muito controversa, variando desde as hipóteses iniciais de Kanner de «culpabilização dos pais e da família», até ao conceito actual da existência de um síndrome autista⁽²⁷⁾. O autismo está assim incluído no grupo das Perturbações Globais do Desenvolvimento (PGD) (DSM-IV)⁽²⁾.

O modelo genético complexo para o autismo pode explicar a penetrância reduzida, a expressividade variável e a acção de uma ou mais mutações de genes que possam ser responsáveis pela susceptibilidade ao autismo.

O síndrome autista, hoje considerado como uma alteração orgânica do desenvolvimento de etiologia diversa, tem um componente genético importante, largamente determinado por diversos estudos em gémeos e famílias (agregação e ligação) e pela comprovação da presença de doenças genéticas bem definidas, responsáveis pela patologia. O autismo como síndrome comportamental representa portanto a expressão final de várias etiologias⁽³⁾.

Factores Genéticos

A possível etiologia genética do autismo tem vindo a ganhar maior importância ao longo dos anos. Estudos de DNA realizados em famílias, em gémeos mono e dizigotos, bem como em indivíduos adoptados, estiveram na base

Correspondência: Prof.ª Doutora Pilar de Quinhones – Levy
Laboratório de Genética
Faculdade de Medicina de Lisboa
Hospital de Santa Maria
1699 Lisboa Codex
Fax: 21 793 76 38
Email: levyp@esoterica.pt

Aceite para publicação em 22/02/2000.
Entregue para publicação em 18/10/99.

de estudos para a identificação de genes que predispuessem para o autismo.

Foram já descritos três tipos de associação genética.

1. Agregação familiar do autismo;
2. Agregação familiar com outras alterações do comportamento;
3. Associação do autismo a doenças genéticas bem definidas.

1. Agregação familiar do autismo

Estudos em gémeos revelaram uma concordância entre gémeos monozigotos significativamente mais alta (36% a 91%) do que entre gémeos dizigotos (0%-24%), não só para o autismo como também para anomalias cognitivas ou sociais ^(4, 15, 16).

O risco de autismo em irmãos de doentes afectados, se combinados os vários estudos existentes, é de cerca de 2,2%. Existe no entanto um risco superior se considerarmos também as outras formas de perturbação global do desenvolvimento (PGD) (3,6%) ^(16, 42, 43, 51). Assim o risco para o grupo das PGD é de cerca de 5%.

Em famílias com mais de um membro afectado foram efectuados estudos de segregação, tendo sido considerados os vários tipos de hereditariedade possíveis. Os resultados dos vários estudos foram muito diversos, podendo-se concluir que o modelo de transmissão será complexo, existindo provavelmente uma interacção grave entre vários genes.

Os estudos de ligação genética no autismo são escassos e ainda inconclusivos; no entanto vários estudos têm sido efectuados na tentativa de identificar genes candidatos. Entre outros, foi identificada uma associação entre o autismo e o locus contendo o gene da hidroxilase da tirosina situado no cromossoma 11(11p15.5) ⁽²³⁾, com dois HRAS(c-Harvey-ras) ⁽²⁴⁾, com as regiões DXS453, DXS1001 e DXS287 do cromossoma X ^(21, 37), e com o alelo A1 do receptor D₂ da dopamina ⁽⁷⁾.

Cook e col, 1997, no seu estudo, apesar de não encontrar evidência de ligação entre o autismo e o gene HTT, refere que uma variante do promotor do gene transportador de serotonina é transmitido preferencialmente dos pais para o filho autista.

Muito interessante é o estudo efectuado por um consórcio internacional que encontrou ligação a uma região do cromossoma 7q, perto da localização de um locus implicado nas alterações graves da linguagem ⁽²⁵⁾.

Sendo reconhecido que o autismo é uma perturbação heterogénea, a variabilidade do fenotipo não foi explicada pelos factores etiológicos. Não foi possível ainda associar nem as doenças médicas associadas, nem a ligação a

determinadas localizações génicas aos diferentes subgrupos do fenotipo.

2. Agregação familiar de outras patologias

O estudo das famílias de doentes autistas levou à identificação frequente nos seus membros de anomalias cognitivas e/ou sociais, alterações do comportamento, dificuldades de aprendizagem e deficiência mental, além da presença de perturbações do humor, psicoses e/ou depressões. Estas são muito frequentes nos progenitores, particularmente nos pais, podendo sugerir um espectro mais alargado da perturbação autística ^(39, 40, 52).

3. Associação a doenças genéticas e outras entidades patológicas

A percentagem de doenças orgânicas, principalmente as que atingem o sistema nervoso central, associadas ao síndrome autístico varia conforme os estudos, desde 10 a 59% ⁽³⁵⁾, sendo considerada uma percentagem consensual de 10-25%.

As doenças encontradas com maior frequência são o síndrome do X frágil (8%); e a esclerose tuberosa (8-11%) ^(18, 31, 44, 48). As alterações cromossómicas são frequentes, e é importante a sua detecção não só para fins de diagnóstico etiológico, mas também na tentativa de localizar no genoma genes candidatos ⁽¹⁹⁾.

A associação entre o autismo e o síndrome do X frágil, além da semelhança comportamental entre as duas entidades, levou à investigação ainda não confirmada da existência de um mecanismo de amplificação de tripletos no autismo à semelhança do que acontece no síndrome X frágil ⁽¹⁴⁾.

Os mecanismos presentes na base da associação do autismo à esclerose tuberosa não estão ainda esclarecidos; no entanto, pensa-se que o gene alterado da ET poderá ter uma influência determinante no aparecimento de autismo ⁽⁴⁸⁾.

Em relação às alterações cromossómicas presentes nos doentes com autismo, e presumindo existir no autismo o envolvimento de vários genes situados em vários cromossomas, não é possível à data incluir ou excluir qualquer dos cromossomas. No entanto o cromossoma 15, braço longo e o X poderão ser importantes para a base do autismo. Outros cromossomas relevantes poderão ser o 5, 8, 13, 17 e 18 ⁽¹⁹⁾.

O autismo aparece associado a outras patologias, tais como a deficiência mental moderada ou grave em 67 a 88% dos doentes autistas ^(17, 18), e a depressão em 9-35%, esta principalmente nos doentes adoles-

centes e adultos que se apercebem das suas incapacidades (29, 33, 52).

As crises convulsivas são mais frequentes nos autistas do que na população geral, sendo a sua prevalência média de 19-25% (28, 36). A prevalência das crises convulsivas aumenta gradualmente durante a infância, atingindo um pico na adolescência. 25-30% dos adultos têm ou já tiveram convulsões (41, 47). Não existe no entanto uma crise convulsiva típica do autismo.

A epilepsia é uma parte integrante das manifestações clínicas da disfunção cerebral presente no autismo. A sua incidência situa-se entre 26-47%, enquanto que, na população geral, é de 0,5% e em indivíduos com atraso mental moderado de 3-12%. Esta prevalência aumentada pode ser específica do autismo (5, 12, 53, 54, 55).

Factores pré-natais e perinatais

Para além dos factores genéticos, têm sido também considerados para o esclarecimento da múltipla etiopatogenia do síndrome autista, o ambiente pré-natal e perinatal (13, 17). A idade das mães e pais de autistas na altura do nascimento da criança afectada (mais velhos), a ordem e mês de nascimento, tem também implicada como factor etiológico (50); no entanto nenhum estudo foi conclusivo. Existe, no entanto, uma diminuição da optimalidade obstétrica nas crianças com PGD.

Estudos Bioquímicos

Os estudos bioquímicos, no que se refere ao autismo têm sido muito importantes, quer no esclarecimento de algumas etiologias, quer na sua terapêutica.

Muitos parâmetros têm sido avaliados tais como, a serotonina, a dopamina, as catecolaminas, o AMP cíclico, os neuropéptidos e os minerais (magnésio, potássio e cálcio) entre outros. A serotonina como neurotransmissor tem sido o parâmetro mais estudado e que se tem revelado da maior importância (32, 33).

Em 1961, Shain e Freedman identificaram pela primeira vez um aumento da serotonina em 30% de doentes com autismo infantil, o que veio a ser confirmado por muitos outros autores (8).

Alguns postulam que um aumento consistente da serotonina nos membros de uma família (doentes e sãos) indica uma associação com factores genéticos ou uma predisposição para o autismo (1, 30, 38).

Os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela hiperserotoninémia no autismo não são ainda conhecidos. Tem sido formulada a hipótese da hiperserotoninémia ser devida a um aumento da recaptação e/ou à diminuição da

libertação da 5-HT, tendo portanto um grupo heterogéneo de causas.

Nos doentes autistas que apresentem valores de serotonina alterados devem ser pesquisados os síndromes com hiper ou hiposerotoninémia que foram já identificados como associados, ou mesmo responsáveis, pelo autismo (26, 32, 33, 38) (Quadro I).

QUADRO I

Doenças associadas ao autismo com alteração dos níveis de serotonina

Hiperserotoninémia

Hipotiroidismo congénito
Rubéola congénita
Espasmos infantis
Esclerose tuberosa
Síndrome de Williams
Toxoplasmose congénita
47 XXY

Hiposerotoninémia

Fenilcetonúria (não tratada)
Trissomia 21
Síndrome de Cornelia deLange
Síndrome de Lesch-Nyhan
Encefalite precoce do sarampo

Serotoninémia normal

Síndrome do X-Frágil

Levantando-se a hipótese da relação directa entre a hiperserotoninémia e as limitações cognitivas e comportamentais nos doentes com perturbações globais do desenvolvimento, nas quais o autismo está incluído, nos últimos anos têm sido efectuados ensaios terapêuticos com diversos fármacos que influenciam os níveis de serotonina.

Têm sido utilizados naqueles estudos, ansiolíticos como a buspirona e anti-depressivos inibidores específicos da recaptação da serotonina, como a fenfluramina, fluvoxamina e fluoxetina (9, 20, 33, 34, 35). Os resultados têm sido controversos, referindo, no entanto, alguns autores uma melhoria em áreas comportamentais como a auto-agressão, agitação, estereotipias, atenção e agressão.

A fluoxetina tem sido a droga que melhores resultados tem evidenciado, não só no autismo, mas também nos doentes com o síndrome do X frágil com ou sem autismo.

As áreas cerebrais no autismo

Foram desenvolvidos vários modelos correlacionando a patologia adquirida e os modelos animais, com o padrão de comportamento presente na perturbação autista.

Várias áreas cerebrais foram sugeridas, no entanto só algumas se puderam correlacionar com as alterações encontradas nos estudos de imagiologia e histo-anatômicos.

Os lobos frontais, temporais, o sistema límbico, o mesencéfalo, o tronco cerebral, o cerebelo e as estruturas relacionadas têm sido sugeridos ^(6, 11, 22, 23).

Baseados em estudos de imagiologia e anatômicos as estruturas cerebrais com anomalias encontradas no autismo foram múltiplas. O cerebelo é a única estrutura em que se encontram alterações pelos dois métodos.

A alteração encontrada com maior frequência por ressonância magnética é a hipoplasia cerebelar, resultante de uma redução no número das células de Purkinje, provavelmente devida a disgenesia cerebelar ^(22, 45).

O papel do cerebelo como estrutura principal envolvida na patologia do autismo ainda não está bem definida. Serão necessários mais estudos para que se possa concluir esta especificidade.

Conclusão

O autismo é provavelmente uma situação dotada de heterogeneidade genética, ou seja, múltiplos genótipos resultam num mesmo fenótipo.

O modelo genético complexo para o autismo pode explicar a penetrância reduzida, a expressividade variável e a acção de uma ou mais mutações de genes que possam ser responsáveis pela susceptibilidade ao autismo.

Apesar dos factores genéticos terem um peso substancial na etiologia do autismo, diversos estudos sugeriram a presença de determinantes ambientais. A não concordância de 100% em gémeos monozigotos, as complicações pré-natais e obstétricas elevadas, a presença de malformações minor aumentadas sugerem um atraso ou disrupção precoce no desenvolvimento.

A integração com igual peso de técnicas como a genética molecular, a citogenética, a neuroquímica e a neuropatologia, podem vir a dar um importante contributo para o esclarecimento das bases genéticas do autismo.

A identificação de que muitos fenótipos comportamentais podem ser causados (relativamente) por alterações simples dos genes, veio renovar o interesse nesta área. Também a recente existência de métodos de ligação genética veio trazer mais um método importante para o seu estudo.

A presença de um síndrome autista em determinadas situações genéticas e em famílias, mas não em outras, leva a pensar na possível existência de um ou mais genes que predisponham para o autismo.

Como consequência do Projecto Genoma Humano estão actualmente acessíveis diversos marcadores polimór-

ficos altamente informativos. Estes marcadores poderão possibilitar a identificação de genes responsáveis pelo autismo. A identificação de genes candidatos poderá trazer mais clareza à fisiopatologia deste síndrome.

A identificação por Cook e col, 1997, de que o gene transportador de serotonina poderá representar um loci de susceptibilidade para o autismo, aumenta a importância da identificação das famílias em que exista concordância nos níveis de serotonina (hiperserotoninémia) de modo a poderem no futuro ser eventualmente incluídos num estudo de genética molecular com o fim de se detectarem genes candidatos.

O autismo é uma situação psicologicamente pesada para as famílias, tendo muitas vezes um efeito disruptivo. Por vezes, repete-se na mesma geração ou nas seguintes. O papel do geneticista será importante para determinar o cálculo do risco de recorrência do autismo – o mais preciso possível – em cada família.

Um protocolo de estudo deve ser aplicado a todos os doentes com alterações de comportamento sugestivas de autismo (Quadro II).

QUADRO II

Protocolo para o Estudo de Pessoas com Autismo

1. História clínica:

Anamnese; Observação clínica: Observação minuciosa do doente, lembrando sempre as patologias já conhecidas como associadas ou responsáveis pelo autismo.

2. Exames auxiliares de diagnóstico

- a) Estudo metabólico sangue e urina.
Incluindo doseamento aminoácidos, ácidos orgânicos, carboidratos, purinas e pirimidinas; lactato e piruvato; muco e oligossacáridos, ácido úrico.
- b) Estudo cromossómico com método de bandas G e eventual pesquisa de X frágil
- c) Estudo de genética molecular do X frágil
- d) Doseamento dos níveis de serotonina plaquetária (doente, pai e mãe)
- e) Electroencefalograma
- f) Ressonância Magnética (preferencialmente) ou tomografia axial computadorizada crânio-encefálica.

Só assim será possível o esclarecimento da etiopatogenia do autismo, a aplicação de uma eventual terapêutica específica e o aconselhamento genético.

Aconselhamento genético no autismo

Presentemente no decurso de um aconselhamento genético no autismo apenas podemos dar o risco de recorrência ⁽⁴⁹⁾.

Como cerca de 10-25% das pessoas com autismo têm uma doença médica ou genética associada devem

efectuar-se todos os estudos que nos permitam a identificação, de por exemplo, o síndrome do X frágil, a esclerose tuberosa ou alterações cromossómicas ou metabólicas, visto serem as mais frequentes.

Nos doentes em que for diagnosticada doença genética associada, o risco de recorrência será o dessa situação, mais o risco geral do autismo.

No entanto à data 90% dos doentes vão ter um autismo idiopático, assim o risco de recorrência em irmãos de propósito é de cerca de 5% (1/20), em relação ao síndrome autístico. Para comparação podemos lembrar os pais de que o risco da população geral para a deficiência física ou mental é de 1/50.

Não nos devemos esquecer de verificar se na família em causa o autismo apresenta algum modo de transmissão mendeliano (como o ligado ao X).

Para terminar é de referir que o prognóstico das pessoas com autismo é reservado. As suas capacidades serão dependentes principalmente do seu Q.I.. Nas pessoas com autismo a intervenção deve ser efectuada por uma equipa multidisciplinar que aborde várias áreas:

- Diagnóstico, informação à família e acompanhamento; informação aos Pais e família do que é o autismo;
- Estudo etiológico, aconselhamento genético;
- Intervenção comportamental individualizada;
- Ambiente estruturado, incluindo ritualização das rotinas diárias;
- Exercício físico (incluindo corrida lenta e natação), reduz algumas das alterações comportamentais como a agressividade, a hiperactividade e alterações do sono;
- Educação, com ênfase para as actividades diárias da vida e interesses que possam num futuro servir de actividade laboral;
- Terapêutica farmacológica: Exemplos:
Epilepsia – não medicar com benzodiazepinas (efeito paradoxal);
Hiperactividade, depressão – medicar com fluoxetina?
Dieta – fenilcetonúria, instituir dieta sem fenilalanina;
- Acompanhamento psicológico das famílias;
- Ajuda à família, financeira, logística, etc.;
- Perspectivas de futuro.

Bibliografia

1. Abramson RK, Wright HH, Carpenter R, Brennan W, Lumpuy O, Cole E, Young SR. Elevated blood serotonin in autistic probands and their first degree relatives. *J Autism Dev Disord* 1989; 19(3): 397-407.
2. American Psychiatric Association. DSM-IV, Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais, 1.ª Ed., 1996, Climesi Editores, Lisboa.
3. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, Rutter M. Autism as a strongly genetic disorder: Evidence from a British twin study. *Psychol Med* 1995; 25: 63-77.
4. Bailey A, Palferman S, Heavey L, Le Couteur A. Autism: The phenotype in relatives. *J Autism Dev Disord* 1998; 28(5): 369-92.
5. Carod FJ, Prats JM, Gharraizar C, Zuaco E. Evaluacion clinico-radiologica del autismo infantil y de los sindromes epilepticos presentes en el autismo. *Rev Neurol* 1995; 23(124): 1203-7.
6. Ciesielski KT, Harris RJ, Hart BL, Pabst HF. Cerebellar hypoplasia and frontal lobe cognitive deficits in disorders of early childhood. *Neuropsychologia*. 1997; 35(5): 643-55.
7. Comings DE, Comings BG, Muhleman D, e col. The dopamine D₂ receptor locus modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA* 1991; 266(13): 1793-1800.
8. Cook EH. Autism: reviews of neurochemical investigation. *Synapse* 1990; 6: 292-308.
9. Cook EH, Rowlett R, Jaselskis C, Leventhal BL. Fluoxetine treatment of children and adults with autistic disorder and mental retardation. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1992; 31(4): 739-45.
10. Cook EH, Courchesne E, Lord C, e col. Evidence of linkage between the serotonergic transporter and autistic disorder. *Mol Psychiatry* 1997; 2: 247-50.
11. Damásio AR, Maurer RG. A neurological model for childhood autism. *Arch Neurol* 1978; 35: 777-86.
12. Deonna T, Ziegler AL, Moura-Serra J, Innocenti G. Autistic regression in relation to limbic pathology and epilepsy: report of two cases. *Dev Med Child Neurol* 1993; 35(2): 166-76.
13. Deykin EY, MacMahon M. Pregnancy, delivery and neonatal complications among autistic children. *AJDC* 1980; 134: 860-4.
14. Feinstein C, Reiss AL. Autism: The point of view from fragile X studies. *J Autism Dev Disord* 1998; 28(5): 393-405.
15. Folstein S, Rutter M. Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs. *J Child Psychol Psychiatry* 1977; 18: 297-321.
16. Folstein SE, Piven J. Etiology of Autism: Genetic influences. *Pediatrics* 1991; 87 (supl.): 767-73.
17. Gillberg C, Coleman M. The Biology of the Autistic syndromes. 2.ª ed, London, MacKeith Press, 1992.
18. Gillberg C, Coleman M. Autism and medical disorders: a review of the literature. *Dev Med Child Neurol* 1996; 38: 191-202.
19. Gillberg C, Chromosomal disorders and Autism. *J Autism Dev Disord* 1998; 28(5): 415-25.
20. Hagerman RJ, Fulton HJ, Leaman A, Riddle J, Hagerman K, Sobesky W. A survey of fluoxetine therapy in fragile X syndrome. *Dev Brain Dysfunct* 1994; 7: 155-64.
21. Hallmayer J, Hebert JM, Spiker D, e col. Autism and the X chromosome-multipoint sib pair analysis. *Arch Gen Psychiatry* 1996; 53(11): 985-9.
22. Hashimoro T, Tayama M, Murakawa K, Yoshimoto T, Miyazaki M, e col. Development of brainstem and cerebellum in autistic patients. *J Autism Dev Disord* 1995; 25(1): 1-18.
23. Héroult J, Martineau J, Petit E, Perrot A, Sauvage D, Barthélémy C. Genetic markers in autism association study on short arm cr 11. *J Autism Dev Disord* 1994; 24(2): 233-6.
24. Héroult J, Petit E, Martineau J, Perrot A, Lenoir P, Cherpi C. Autism and genetics: clinical approach and association study with two markers of HRAS gene. *Am J Med Genet* 1995; 60(4): 276-81.
25. International Molecular Genetic Study of Autism Consortium. A full genome screen for autism with evidence for linkage to a region on chromosome 7q. *Hum Mol Genetic* 1998; 7(3): 571-8.
26. Jackson A III, Hagerman R, Levitas A. Serotonin levels in fragile X autistic patients. *J Autism Dev Disord* 1984; 14(4): 451-2.

27. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child* 1943; 2: 217-50.
28. Kemper T, Bauman M. The contribution of neuropathologic studies to the understanding of autism. *Neurol Clin* 1993; 11(1): 175-87.
29. Lainhart JE, Folstein SE. Affective disorders in people with autism: a review of published cases. *J Autism Dev Disord* 1994; 24(5): 587-601.
30. Leboyer M, Philippe A, Bouvard M, Guilloud-Bataille M, Bondoux D, Tabuteau F, Feingold J, Mouren-Simeoni MC, Launay JM. Whole blood serotonin and plasma beta-endorphin in autistic probands and their first-degree relatives. *Biol Psychiatry* 1999; 45(2): 158-63.
31. Levy PQ. Fragile X screening in autistic patients. Apresentado em mesa redonda no Congresso Internacional, «Les causes génétique du retard mental». Caen, Outubro, 1995.
32. Levy P, Bicho MP: «Serotonina Plaquetária como marcador biológico de Autismo. *Acta Médica Portuguesa* 1997; 12: 927-31.
33. Levy PQ: Contribuição para o estudo da etiopatogenia genética do autismo (resumo de tese de doutoramento). *Revista FML* 1999; 4(3): 157-70.
34. Markowitz PI. Effects of Fluoxetina on self-injurious behaviour in the developmental disable. *J Clin Psychopharmacol* 1992; 12(1): 27-31.
35. Mehlinger R, Schettner WA, Poznanski E. Fluoxetine and autism. *J Am Acad Adolesc Psychiatry* 1990; 29(6): 985.
36. Minshew NJ. Indices of Neural Function in Autism: clinical and biologic implications. *Pediatrics* 1991; 87 (supp): 774-80.
37. Petit E, Hérault J, Reynaud e col. X chromosome and infantile autism. *Biol Psychiatry* 1996; 40(6): 457-64.
38. Piven J, Tsai G, Nehem E. Platelet serotonin, a possible marker for familiar autism. *J Autism Dev Disord* 1991; 21(1): 51-9.
39. Piven J, Palmer P, Jacobi D, Childress D, Arndt S. Broader autism phenotype – evidence from a family history study of multiple – incidence autism families. *Am J Psychiatry* 1997; 154(2): 185-90.
40. Piven J, Palmer P. Psychiatric disorder and the broad autism phenotype – evidence from a family study of multiple – incidence autism families. *Am J Psychiatry* 1999; 156(4): 557-63.
41. Rapin I. Autistic children: diagnosis and clinical features. *Pediatrics* 1991; 87 (Supp): 751-60.
42. Ritvo ER, Freeman BJ, Mason – Brothers A, Mo A, Ritvo AM. Concordance for the syndrome of autism in 40 pairs of afflicted twins. *Am J Psychiatry* 1985; 142: 74-7.
43. Rutter M, Bailey A, Bolton P, Le Couteur A. Autism and Known medical conditions: myth and substance. *J Child Psychol Psychiatr* 1994; 35(2): 311-22.
44. Rutter M. Autism research: Prospects and priorities. *J Autism Dev Disord* 1996; 26(2): 257-75.
45. Schaefer GB, Thompson JN, Bodensteiner JB, McConnell JM, Kimberling WS, Gay CT, Dutton WD, Huching DC, Gray SB. Hypoplasia of the cerebellar vermis in neurogenetics syndromes. *Ann Neurol* 1996; 39(3): 382-5.
46. Shain RJ, Freedman DX. Studies on 5-hydroxyindole metabolism in autistic and other mentally retarded children. *J Pediatrics* 1961; 58: 315-20.
47. Smalley SL, Asarnow RF, Spence MA. Autism and genetics. *Arch Gen Psychiatry* 1988; 45: 953-61.
48. Smalley SL. Autism and tuberous Esclerosis. *J Autism Dev Disord* 1998; 28(5): 407-14.
49. Simonoff E. Genetic counseling in autism and pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord* 1998; 28(5): 447-56.
50. Steinhasen H, Gobel D, Breinhinger M, Wohlleben B. Maternal age and autistic children. *J Dev Behavioral Pediatrics* 1984; 5: 343-5.
51. Szatmari P, Jones MB, Zwaigenbaum L, MacLean JE. Genetic of autism: Overview and new directions. *J Autism Dev Disord* 1998; 28(5): 351-68.
52. Tsai LY. Brief report: Comorbid psychiatric disorders of autistic disorder. *J Autism Dev Disord* 1996; 26(2): 159-63.
53. Tuchman RF. Transtornos pervasivos del desarrollo. Perspectiva neurológica. *Rev Neurol (Bare)* 1996; 24 (135): 1446-50.
54. Tuchman RF, Rapin I. Regression in pervasive developmental disorders: Seizures and epileptiform electroencephalogram correlates. *Pediatrics* 1997; 99(4): 560-6.
55. Wong V. Epilepsy in children with autistic spectrum disorder. *J Child Neurology* 1993; 8: 316-22.