

## Análisis prospectivo de diagnóstico de las variantes de número de copias utilizando SNP microarrays en individuos con trastornos del espectro autista

Caroline Nava <sup>1, 2, 3, 4, 19</sup>, Boris Keren <sup>5, 19</sup>, Cyril Mignot <sup>4, 6, 7, 8</sup>, Agnès Rastetter <sup>1, 2, 3</sup>, Sandra Chantot-Bastarud <sup>9</sup>, Anne Faudet <sup>4</sup>, Eric Fonteneau <sup>5</sup>, Claire Amiet <sup>10</sup>, Claudine Laurent <sup>1, 2, 10</sup>, Aurélia Jacqueline <sup>4, 7, 8</sup>, Sandra Whalen <sup>4</sup>, Alexandra Afenjar <sup>4, 6, 7, 8, 11</sup>, Didier Périssé <sup>10, 12</sup>, Diane Doummar <sup>6</sup>, Nathalie Dorison <sup>6, 11</sup>, Marion Leboyer <sup>13, 14, 15, 16</sup>, Jean-Pierre Siffroi <sup>9</sup>, David Cohen <sup>10, 17</sup>, Alexis Brice <sup>1, 2, 3, 4, 18</sup>, Delphine Héron <sup>4, 6, 7, 8</sup> y Christel Depienne <sup>1, 2, 3, 4, 18</sup>

1. <sup>1</sup> INSERM, U975 (CRICM), Instituto del Cerebro y de la Moelle Epinière (ICM), Hôpital Pitié-Salpêtrière, París, Francia
2. <sup>2</sup> CNRS 7225 (CRICM), Hôpital Pitié-Salpêtrière, París, Francia
3. <sup>3</sup> Université Pierre et Marie Curie-Paris-6 (UPMC), UMR\_S 975, París, Francia
4. <sup>4</sup> AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Departamento de Genética y de Citogenética, Unidad funcional de genética clínica, París, Francia
5. <sup>5</sup> AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Departamento de Genética y de Citogenética, Unidad funcional de citogenética, París, Francia
6. <sup>6</sup> AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Servicio de Neuropediatría, París, Francia
7. <sup>7</sup> Centro de Referencia 'déficits intellectuelles de causes rares', París, Francia
8. <sup>8</sup> Grupo de Investigación Clínica (GRC) 'déficiência intellectuelle et autisme' UPMC, París, Francia
9. <sup>9</sup> AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Servicio de Genética y Embriología Médica, París, Francia
10. <sup>10</sup> AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Servicio de Psiquiatría del niño y del adolescente, París, Francia
11. <sup>11</sup> Centre de Référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs, Hôpital Armand Trousseau, París, Francia
12. <sup>12</sup> Centro de Autismo Diagnóstico, Pitié-Salpêtrière Hôpital, París, Francia
13. <sup>13</sup> INSERM, U955, Créteil, Francia
14. <sup>14</sup> Université Paris Est, Facultad de Medicina, Créteil, Francia
15. <sup>15</sup> AP-HP, Hôpital H Mondor - A. Chenevier, Pole de Psychiatrie, Créteil, Francia
16. <sup>16</sup> Fondation FondaMental, Créteil, Francia
17. <sup>17</sup> Instituto de Sistemas Inteligentes y Robóticos, CNRS UMR 7222, UPMC-Paris-6, París, Francia
18. <sup>18</sup> AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Departamento de Genética y de Citogenética, Unidad funcional de neurogenética molecular y celular, París, Francia

Correspondencia: Dr. C Depienne o Profesor A Brice, INSERM, U975 (CRICM), Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Hôpital Pitié-Salpêtrière, París 75013, Francia. Tel. : + 33 1 57 27 46 82; Fax: + 33 1 57 27 47 95; E-mail: [christel.depienne@upmc.fr](mailto:christel.depienne@upmc.fr) o [alexis.brice@upmc.fr](mailto:alexis.brice@upmc.fr)

<sup>19</sup> Estos autores contribuyeron igualmente a este trabajo.

Recibido el 11 de diciembre de 2012; Revisado el 23 de febrero de 2013; Aceptado el 28 de marzo de 2013  
Publicación en línea anticipada 1 de mayo de 2013

### Abstracto

**Se ha descubierto repetidamente que las variantes del número de copias (CNVs) causan o predisponen a trastornos del espectro autista (ASDs). Para fines de diagnóstico, se seleccionaron 194 individuos con ASDs para CNV utilizando Illumina SNP arrays. En varios probands, también analizamos genes candidatos localizados en supresiones heredadas para desenmascarar las variantes autosómicas recesivas. Tres CNVs, una triplicación *de novo* del cromosoma 15q11-q12 de origen paterno, una delección en el cromosoma 9p24 y una delección *de novo* 3q29, fueron identificados como la causa del trastorno en un individuo cada uno. Se consideró posible una causa autosómica recesiva en dos pacientes: una delección 1p31.1 homocigótica que abarcaba *PTGER3* y una delección de todo el gen *DOCK10* asociado con una variante rara de sentido erróneo hemizigoso. También identificamos varias CNVs privadas o recurrentes, la mayoría de las cuales fueron heredadas de padres**

asintomáticos. Aunque muy raras veces se detectaron NVC o variantes heredadas de forma autosómica recesiva, nuestros resultados apoyan principalmente la hipótesis de que la mayoría de las CNV contribuyen a los ASD en asociación con otras CNV o variantes puntuales localizadas en otras partes del genoma. La identificación de estas interacciones genéticas en individuos con TEA constituye un desafío formidable. Nuestros resultados apoyan principalmente la hipótesis de que la mayoría de CNVs contribuyen a los TEA en asociación con otras CNVs o variantes puntuales localizados en otras partes del genoma. La identificación de estas interacciones genéticas en individuos con TEA constituye un desafío formidable. Nuestros resultados apoyan principalmente la hipótesis de que la mayoría de CNVs contribuyen a los TEA en asociación con otras CNVs o variantes puntuales localizados en otras partes del genoma. La identificación de estas interacciones genéticas en individuos con TEA constituye un desafío formidable.

Palabras clave:

Copiar las variantes de número; desórdenes del espectro autista; Triplicación 15q11-q12; Herencia autosómica recesiva; Interacciones genéticas

## Introducción

El autismo es un trastorno neuropsiquiátrico caracterizado por interacciones y comunicación social dañadas, así como comportamientos restringidos, repetitivos y / o estereotipados. El término trastornos del espectro autista (TEA) ahora se utiliza comúnmente para designar este grupo de enfermedades de desarrollo altamente heterogéneas y complejas. El autismo se asocia con discapacidad intelectual (ID) en ~ 75 % en los pacientes y con epilepsia o anomalías EEG en ~ 15-25 % . Los TEA son más comunes en pacientes varones que en mujeres, en una proporción de 4: 1 que puede alcanzar 10: 1 en formas con habilidades cognitivas normales. <sup>1</sup>

Como se indica por el aumento del riesgo de recurrencia en las familias y la concordancia en parejas de gemelos, los TEA se determinan genéticamente en gran medida. <sup>1, 2</sup> Estudios recientes han demostrado que los TEA pueden ser causados por mutaciones puntuales, deleciones, duplicaciones y anomalías cromosómicas raras y altamente penetrantes que pueden surgir *de novo* o ser heredadas. <sup>3, 4, 5, 6, 7, 8, 9</sup> Los trastornos monogénicos conocidos representan el 2-5 % de los casos sindrómicos; El síndrome X frágil suele ser la causa más frecuente, seguido por el síndrome de macrocefalia PTEN y la esclerosis tuberosa, cada uno de los cuales representa < 1 % de las personas con TEA. <sup>1, 10</sup> Se encuentran grandes variantes de número de copias (CNVs) en el 5-10 % de los pacientes autistas, especialmente en aquellos con ASDs sindrómicos. <sup>5, 11, 12</sup> Varias CNVs se han identificado repetidamente en individuos con ASD, tales como deleciones o duplicaciones en los cromosomas 15q11-q13, 16p11.2, 7q11.23 y 22q13. <sup>4, 5, 13</sup> Las CNVs privadas en individuos con autismo a menudo alteran los genes que codifican proteínas sinápticas, tales como neuroliginas, neurexinas y proteínas SHANK, o proteínas de adhesión celular neuronal, las cuales tienen papeles importantes en neurodesarrollo y / o neurotransmisión. <sup>3, 14, 15, 16, 17</sup> Sin embargo, la mayoría de CNVs y variantes en genes implicados en el autismo hasta ahora se encuentran también en otros trastornos del neurodesarrollo, tales como ID sin rasgos autistas y / o la esquizofrenia. <sup>12, 18</sup> Estudios recientes apuntan a la herencia poligénica u oligógena. <sup>6, 17, 19</sup> De hecho, la mayoría de las anomalías identificadas se han asociado con fenotipos muy variables y parecen insuficientes para causar ASDs por sí mismos. Es probable que las interacciones genéticas (epistasia) entre variantes raras tengan un papel importante en la etiología de los TEA. <sup>15, 16, 17</sup> Sin embargo, la mayoría de las CNV y variantes de los genes implicados en el autismo hasta ahora también se encuentran en otros trastornos del desarrollo neurológico tales como el ID sin rasgos autistas y / o esquizofrenia. <sup>12, 18</sup> Estudios recientes apuntan a la herencia poligénica u oligógena. <sup>6, 17, 19</sup> De hecho, la mayoría de las anomalías identificadas se han asociado con fenotipos muy variables y parecen insuficientes para causar ASDs por sí mismos. Es

probable que las interacciones genéticas (epistasias) entre variantes raras tengan un papel importante en la etiología de los TEA. <sup>15, 16, 17</sup> Sin embargo, la mayoría de las CNV y variantes de los genes implicados en el autismo hasta ahora también se encuentran en otros trastornos del desarrollo neurológico tales como el ID sin rasgos autistas y / o esquizofrenia. <sup>12, 18</sup> Estudios recientes apuntan a la herencia poligénica u oligógena. <sup>6, 17, 19</sup> De hecho, la mayoría de las anomalías identificadas se han asociado con fenotipos muy variables y parecen insuficientes para causar ASDs por sí mismos. Es probable que las interacciones genéticas (epistasias) entre variantes raras tengan un papel importante en la etiología de los TEA. La mayoría de las CNV y las variantes de los genes implicados en el autismo hasta ahora también se encuentran en otros trastornos del desarrollo neurológico, tales como ID sin rasgos autistas y / o esquizofrenia. <sup>12, 18</sup> Estudios recientes apuntan a la herencia poligénica u oligógena. <sup>6, 17, 19</sup> De hecho, la mayoría de las anomalías identificadas se han asociado con fenotipos muy variables y parecen insuficientes para causar ASDs por sí mismos. Es probable que las interacciones genéticas (epistasias) entre variantes raras tengan un papel importante en la etiología de los TEA. La mayoría de las CNV y las variantes de los genes implicados en el autismo hasta ahora también se encuentran en otros trastornos del desarrollo neurológico, tales como ID sin rasgos autistas y / o esquizofrenia. <sup>12, 18</sup> Estudios recientes apuntan a la herencia poligénica u oligógena. <sup>6, 17, 19</sup> De hecho, la mayoría de las anomalías identificadas se han asociado con fenotipos muy variables y parecen insuficientes para causar ASDs por sí mismos. Es probable que las interacciones genéticas (epistasias) entre variantes raras tengan un papel importante en la etiología de los TEA. <sup>18</sup> Estudios recientes apuntan a la herencia poligénica o oligogénico. <sup>6, 17, 19</sup> De hecho, la mayoría de las anomalías identificadas se han asociado con fenotipos muy variables y parecen insuficientes para causar ASDs por sí mismos. Es probable que las interacciones genéticas (epistasias) entre variantes raras tengan un papel importante en la etiología de los TEA. <sup>18</sup> Estudios recientes apuntan a la herencia poligénica o oligogénico. <sup>6, 17, 19</sup> De hecho, la mayoría de las anomalías identificadas se han asociado con fenotipos muy variables y parecen insuficientes para causar ASDs por sí mismos. Es probable que las interacciones genéticas (epistasias) entre variantes raras tengan un papel importante en la etiología de los TEA.

En este estudio, hemos examinado 194 sujetos con ASD utilizando SNP microarrays para evaluar las causas genómicas y establecer el diagnóstico de síndrome genético. Se consideró que tres trombolíticas heterocigóticas, una triplicación *de novo* del cromosoma 15q11-q12 de origen paterno, una deleción distal en el cromosoma 9p24 y una deleción *de novo* 3q29, y una deleción homocigótica en el cromosoma 1p31.1 que abarca *PTGER3* causan probablemente el trastorno en cuatro Personas. Además, se seleccionaron genes candidatos ubicados en deleciones heredadas para desenmascarar las variantes autosómicas recesivas en tres pacientes, y se encontró una rara variante missense en *DOCK10* asociado con una deleción heredada en el cromosoma 2q en un individuo.

## materiales y métodos

### Descripción de Cohort

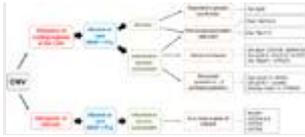
En este estudio se incluyeron por primera vez 200 sujetos con ASD (168 varones y 32 mujeres) reclutados en el Centre de Référence déficience intellectuelle de causes rares, en el Centre Diagnostic Autisme, en el Hospital Pitié-Salpêtrière de París, Fondation Lejeuné 'durante un período de 3 años (2009-2011). Los casos índice fueron evaluados con la entrevista diagnóstica de autismo revisada (ADI-R): 167 casos índice (83,5 %) tenían autismo con ID y 33 (16,5 %) tenían síndrome de Asperger o autismo de alto funcionamiento basado en los criterios DSM IV-TR ; 85 % (170 / 200) de los pacientes eran casos esporádicos. El examen sistemático preliminar incluyó el cariotipo, el cribado del síndrome X frágil y los análisis metabólicos o genéticos específicos, Incluyendo análisis de hibridación *in situ por* fluorescencia (FISH) de regiones implicadas en síndromes Williams-Beuren y Smith-Magenis y selección del gen *RAI1* para pacientes seleccionados que presentan características clínicas compatibles. Estos análisis permitieron un diagnóstico clínico en seis varones, uno con síndrome X frágil, dos con

un cromosoma 15 supernumerario de origen materno, uno con una delección 7q11.23, uno con una delección 17p11.2 y otro con una mutación *RAI1*. Estos seis individuos fueron excluidos de otros análisis. El análisis de CNV se realizó por lo tanto en 194 sujetos. Consentimiento informado, se obtuvo de cada individuo o su / sus padres antes de la extracción de sangre. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las directrices y la legislación francesa. Estos análisis permitieron un diagnóstico clínico en seis varones, uno con síndrome X frágil, dos con un cromosoma 15 supernumerario de origen materno, uno con una delección 7q11.23, uno con una delección 17p11.2 y otro con una mutación *RAI1*. Estos seis individuos fueron excluidos de otros análisis. El análisis de CNV se realizó por lo tanto en 194 sujetos. Consentimiento informado, se obtuvo de cada individuo o su / sus padres antes de la extracción de sangre. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las directrices y la legislación francesa. Estos análisis permitieron un diagnóstico clínico en seis varones, uno con síndrome X frágil, dos con un cromosoma 15 supernumerario de origen materno, uno con una delección 7q11.23, uno con una delección 17p11.2 y otro con una mutación *RAI1*. Estos seis individuos fueron excluidos de otros análisis. El análisis de CNV se realizó por lo tanto en 194 sujetos. Consentimiento informado, se obtuvo de cada individuo o su / sus padres antes de la extracción de sangre. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las directrices y la legislación francesa. Estos seis individuos fueron excluidos de otros análisis. El análisis de CNV se realizó por lo tanto en 194 sujetos. Consentimiento informado, se obtuvo de cada individuo o su / sus padres antes de la extracción de sangre. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las directrices y la legislación francesa. Estos seis individuos fueron excluidos de otros análisis. El análisis de CNV se realizó por lo tanto en 194 sujetos. Consentimiento informado, se obtuvo de cada individuo o su / sus padres antes de la extracción de sangre. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las directrices y la legislación francesa.

#### **Arrays SNP de alta densidad**

El ADN genómico se extrajo de células sanguíneas usando procedimientos convencionales de fenol-cloroformo o solución salina. Los casos de índices y los padres de individuos con CNVs posiblemente patógenos fueron genotipados utilizando microarrays 370CNV-Quad ( $n = 20$ ), 660W-Quad ( $n = 27$ ) o cytoSNP-12 ( $n = 147$ ) (Illumina, San Diego, CA, ESTADOS UNIDOS). Se realizaron experimentos de microarray Illumina automatizados de acuerdo con las especificaciones del fabricante. La adquisición de imágenes se realizó utilizando un sistema iScan (Illumina). El análisis de imágenes y la automatización de llamadas CNV se realizó utilizando GenomeStudio v.2011.1 y CNVPartition v.3.1.6 con el umbral de confianza predeterminado de 35. También se utilizó un umbral de tamaño de 20 kb para los individuos analizados con 660W-Quad microarrays, como CNVs < 20 kb detectado por estos arrays demostrado ser falsos positivos. Las CNVs identificadas se compararon sistemáticamente con las presentes en la Base de Datos de Variantes Genómicas (DGV), excluyendo los estudios basados en BAC, utilizando un oleoducto interno de bioinformática, para evaluar su frecuencia en poblaciones de control. Sólo se consideraron CNVs idénticos (breakpoints y número de copias) a o totalmente incluidos en los descritos en la DGV; Se consideraron novedosos microordenamientos que se superponían parcialmente a CNVs descritos en DGV o con un número de copias discordantes. Las CNV con una frecuencia menor de alelos  $\geq 1\%$  en al menos un estudio que comprendía  $\geq 30$  controles se excluyeron de un análisis posterior. CNVs que abarcan regiones de codificación, y con una frecuencia  $< 1\%$ , Fueron considerados como posiblemente perjudiciales y fueron buscados en los padres de los pacientes cuando el ADN estaba disponible ( Figura 1 ]. Las frecuencias de CNV se compararon con las pruebas exactas de Mann-Whitney o de Fisher unilateral. Los genes candidatos presentes en las CNV se compararon con los presentes en AutDB (<http://www.mindspec.org/autdb.html>).<sup>20</sup>

#### **Figura 1.**



Estrategia utilizada para la selección de CNV raras, posiblemente perjudiciales. Los criterios incluyeron la presencia de regiones codificantes en la NVC, una frecuencia aleatoria menor (MAF) <1 % en la DGV, una *nueva* aparición de la NVC, una asociación previa con ASDs, la recurrencia de NVC raras en nuestra cohorte y la Presencia de genes de interés (es decir, expresada en el cerebro y con una función relacionada con la de los genes previamente involucrados en los ASDs). Las CNV destacadas en este estudio se indican en cursiva para cada subcategoría.

[Figura completa y leyenda \(98 K \)](#)

### **Análisis de genes candidatos por secuenciación de Sanger**

Se diseñaron pares de cebadores específicos (disponibles a petición) para examinar las regiones codificantes de *DOCK10*, *DOCK8*, *NYAP2*, *SMARCA2* y *ATP2C2* en un contexto de investigación. Las reacciones de secuencia directa e inversa se realizaron con el Kit de Reacción Lisos de Secuencia de Ciclo de Terminador Big Dye (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Los productos de la secuencia purificada con G50 se ejecutaron en un secuenciador automatizado ABI 3730 (Applied Biosystems) y los datos se analizaron con el software Seqscape v.2.6 (Applied Biosystems). Las variantes de Missense se evaluaron *in silico* para posible patogenicidad usando PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), SIFT (<http://sift.bii.a-star.edu.sg/>) y SNPs &

### **Análisis de marcadores de microsatélites**

Tres marcadores de microsatélites en la región 15q11-q13 (D15S128, D15S122 y D15S822) se utilizaron para seguir la transmisión de los alelos, como ya se ha descrito.<sup>13</sup>

### **La fluorescencia *in situ* hibridación**

Para confirmar los resultados de la matriz, se realizaron análisis de FISH en linfocitos de sangre periférica con las sondas subtelomere 9p, UBE3A (Cytocell, Cambridge, UK) y RP1-196F4 en 3q29, de acuerdo con las recomendaciones del proveedor.

### **Análisis de metilación**

Se realizó el análisis de metilación Total para el sujeto con el 15q11-q12 triplicación (8082), un paciente con síndrome de Angelman presenta con rasgos autistas, se informó anteriormente,<sup>13</sup> y dos controles machos jóvenes por IntegraGen SA (Evry Francia). Se llevó a cabo la conversión de bisulfito de ADN para convertir nucleótidos de citosina no metilados en uracilo. El DNA convertido se hibridó en Infinity HumanMethylation450 BeadChips (Illumina), de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Microarrays fueron escaneados con un Illumina BeadArray Reader, y los datos fueron analizados utilizando GenomeStudio (Illumina).

## **Resultados**

Un total de 130 CNVs que abarcan al menos un exón y ausente o raro (menor frecuencia de alelo <1 %) en la DGV se encontraron en 94 sujetos con TEA ([Tabla Suplementaria S1](#)). Estas CNVs incluyeron una triplicación, 82 duplicaciones, 46 deleciones heterocigotas y una deleción homocigótica. El tamaño de las CNV osciló entre 5 y 4480 kb, con una mediana de 138 kb. ADN de ambos padres de 48 pacientes estaba disponible para la investigación de la transmisión de la CNV. Tres CNVs, una triplicación de 15q11-q12, una deleción en el cromosoma 3q29 y una duplicación de 16p11.2, estaban ausentes de ambos padres, demostrando que ocurrieron *de novo* en el caso índice ([Tabla 1](#) y [Datos Clínicos Complementarios](#)). Setenta y cuatro CNVs (26 supresiones y 48 duplicaciones) fueron heredados de un padre asintomático. Una

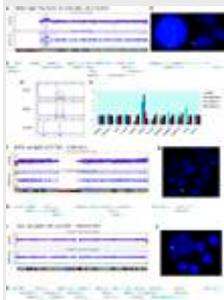
deleción homocigótica en el cromosoma 1p31.1, que abarca el gen *PTGER3*, se encontró en un paciente; Esta deleción era heterocigótica en ambos padres, que eran ambos de las Islas Comores.

**Tabla 1 - Resumen de la CNV de interés reportado en este estudio y principales características clínicas de los pacientes.**

[Mesa completa](#)

Tres NVC, todas confirmadas por el análisis de FISH, fueron consideradas como la causa probable de ASD, en base a su gran tamaño, ausencia de individuos sanos, presencia *de novo* y / o presencia en síndromes previamente reportados asociados con ID y ASD: a *de novo* Triplicación de la región 15q11-q12 en un sujeto masculino (familia 772), una deleción de la región 9p24 en una hembra (familia 15) y una deleción de 3q29 en un macho (familia 1315) ( [Figura 2](#) y [Figura Suplementaria S3](#) ). La triplicación de 15q11-q12 *de novo* abarcó 4,48 Mb e incluyó la región crítica Angelman / Prader-Willi entre los puntos de ruptura BP2 y BP3. El análisis de los marcadores de microsatélites en la región crítica reveló que la triplicación era de origen paterno y resultó de una recombinación interchromosomal ya que incluía dos alelos paternos diferentes. El análisis FISH indicó que las tres copias paternas estaban localizadas en el mismo cromosoma en el locus 15q11-q12. *El análisis de metilación de genes localizados dentro de la región triplicada confirmó valores de metilación aumentados para UBE3A y valores de metilación disminuidos para SNRPN*. Curiosamente, este análisis también reveló anormal valores de metilación de los genes no impresos en la región, incluyendo *OCA2* y *GABRG3*. La deleción *de novo* en el cromosoma 3q29, hallada en un individuo con autismo de alto funcionamiento, abarcó 1. 6 Mb y abarcó 22 genes. La deleción en el cromosoma 9p24 abarcó 3,8 Mb y abarcó 13 genes, incluyendo *SMARCA2*, que codifica una proteína perteneciente al complejo FMRP, y *DOCK8*. Sólo el ADN de la madre, que no tenía la deleción, estaba disponible.

**Figura 2.**



Identificación de tres VCN patógenas: triplicación 15q11q12 (familia 772, paciente 8082), deleción 9p24 (familia 15, paciente 8378) y deleción 3q29 (familia 1315, paciente 433). ( **Un** ) perfiles de matriz de SNP de la paciente con la triplicación (8082): el eje Y indica el registro R (arriba) y la frecuencia B alelo (abajo); El eje X indica la posición en el cromosoma 15. La línea roja ( perfil de relación log R ) corresponde a la serie de suavizado media (Genomestudio). ( **B** ) Confirmación de la triplicación mediante análisis FISH con una sonda específica de *UBE3A* (en rojo) sobre metafases y núcleos de células sanguíneas periféricas. Las flechas apuntan a la triplicación ( **c** ) Detalles de los genes incluidos en la triplicación. ( **D** ) Microsatélite (D15S822) análisis que muestra dos alelos heredados del padre en el proband. ( **E** ) los índices de metilación de genes incluidos en la región triplicado que muestran metilación

anormal de *UBE3A* y *SNRPN* en el paciente 8082 y la comparación con un paciente con síndrome de Angelman. ( **F** ) perfiles del SNP del paciente con la deleción 9p24: el eje Y indica el log R (arriba) y la frecuencia del alelo B (abajo); El eje X indica la posición en el cromosoma 9. ( **g** ) Confirmación de la deleción (mostrada por la flecha) mediante análisis FISH con una sonda específica a la región subtelomérica 9p (verde) sobre metafases de células sanguíneas periféricas. ( **H** ) Detalles de los genes incluidos en la deleción. ( **I** ) perfiles de la matriz SNP del paciente con deleción 3q29: el eje Y indica el log R (arriba) y la frecuencia del alelo B (abajo); El eje X indica la posición en el cromosoma 3. ( **j** ) Confirmación de la deleción (mostrada por la flecha) mediante análisis FISH con una sonda específica de la región 3q29 (RP1-196F4, verde) sobre metafases y núcleos de células sanguíneas periféricas. ( **K** ) Detalles de los genes incluidos en la deleción. ( **J** ) Confirmación de la deleción (mostrada mediante la flecha) mediante análisis FISH con una sonda específica de la región 3q29 (RP1-196F4, verde) sobre metafases y núcleos de células sanguíneas periféricas. ( **K** ) Detalles de los genes incluidos en la deleción. ( **J** ) Confirmación de la deleción (mostrada mediante la flecha) mediante análisis FISH con una sonda específica de la región 3q29 (RP1-196F4, verde) sobre metafases y núcleos de células sanguíneas periféricas. ( **K** ) Detalles de los genes incluidos en la deleción.

[Figura completa y leyenda \(493 K \)](#)

La duplicación de la región pericentromérica 16p11.2, encontrada en cuatro sujetos de 194 ( 2 % ), fue la CNV más recurrente ( [Figura complementaria S4](#) ). El ADN parental estaba disponible para tres pacientes: la duplicación fue heredada del padre en dos pacientes (familias 845 y 1122) y ocurrió *de novo* en uno (familia 885). Siete CNVs comunes a al menos dos pacientes o cinco diferentes CNVs alterando un gen común se encontraron en 25 casos adicionales. Estas CNVs incluyeron una duplicación de *APOO* en el cromosoma X en dos pacientes, una supresión de *C2ORF63* en dos pacientes, una supresión y una duplicación de *CTNNA3* en un paciente cada uno, que estaban todos ausentes de la DGV, Y una duplicación que abarca los genes *DNAH5* y *TRIO* en el cromosoma 5, que se encuentran en dos pacientes. Por otra parte, CNVs raras, tales o como supresiones heredadas de la madre en el cromosoma X que alteran *DMD* , *ASMT* y *DDX53* (aguas arriba de *PTCHD1* ), o CNVs que abarcan *PARK2* , *RB1CC1* , *ICA1* y *NXPH1* se informó anteriormente en ASD. [18](#) , [20](#) *ASMT* y *DDX53* (aguas arriba de *PTCHD1* ), o CNVs que abarcan *PARK2* , *RB1CC1* , *ICA1* y *NXPH1* se informó previamente en ASD. [18](#) , [20](#) *ASMT* y *DDX53* (aguas arriba de *PTCHD1* ), o CNVs que abarcan *PARK2* , *RB1CC1* , *ICA1* y *NXPH1* se informó previamente en ASD. [18](#) , [20](#)

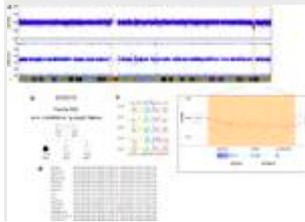
Veintinueve pacientes tenían más de una rara, potencialmente patógena CNV. Dos de estos individuos, en los que se pudo evaluar la herencia, habían heredado una NVC de cada padre ausente de la DGV, lo que sugiere que la combinación de las NVC podría ser patogénica. Curiosamente, se observaron múltiples CNVs raros en 28 individuos con TEA y el ID ( 17 % ), pero sólo una persona con síndrome de Asperger de 33 ( 3 % ,  $P = 0,025$ ; [Tabla 2](#) ). Este resultado sugiere que las combinaciones de CNV son patogénicas debido a los efectos aditivos o epistáticos y que una carga de CNVs raras con más frecuencia conduce a autismo de bajo funcionamiento.

**[Tabla 2 - Comparación del número de CNVs identificados en pacientes con ASD + ID y HF-ASD.](#)**

[Mesa completa](#)

Las deleciones hemizigóticas heredadas de padres asintomáticos podrían desenmascarar variantes autosómicas recesivas localizadas en el otro alelo. <sup>21</sup> Las regiones de codificación de tres pacientes con deleciones que abarcan uno o más genes candidatos, seleccionados sobre la base de su expresión en el cerebro y su función, se analizaron adicionalmente. No se detectaron variantes patogénicas por secuenciación de *SMARCA2* y *DOCK8* en el alelo no delecionado de la niña con la deleción 9p24. De manera similar, la secuenciación de *ATP2C2*, un gen en el que se ha informado que las variantes modulan las habilidades lingüísticas, <sup>22</sup> detectaron variantes no patógenas en una mujer adoptada con síndrome de Asperger, *Que tenía una deleción de 86 kb en el cromosoma 16 que contenía sólo ATP2C2 y KIAA1609* (familia 725). En contraste, la secuenciación de *DOCK10* y *NYAP2* en un paciente masculino con una deleción de 1,9 Mb en el cromosoma 2q heredado de su madre asintomática, que contenía sólo estos dos genes (familia 625), identificó una variante de sentido erróneo raro en el estado hemizigous en *DOCK10* ( C.6460G> A / p.Asp2154Asn, rs111356042, frecuencia de alelo menor = 0,0004 en la población europea y 0,0369 en la población afroamericana). Polyphen-2 predijo que era posiblemente perjudicial. El paciente, que era el único hijo afectado de la pareja, tenía tanto la deleción como la variante missense,

**Figura 3.**



Identificación de una deleción que abarca *DOCK10* asociado con el c.6460 G> A / p.Asp2154Asn en un paciente masculino. ( **Un** ) perfiles de matriz de SNP de los pacientes con la deleción y los detalles de los genes incluyen la deleción: el eje Y indica el registro R (arriba) y la frecuencia B alelo (abajo); El eje X indica la posición en el cromosoma 2. ( **b** ) Pedigrí de la familia 625 y análisis de segregación de la deleción y la variante c.6460G> A / p.Asp2154Asn. ( **C** ) Electroferogramas secuenciales que muestran la variante c.6460G> A / p.Asp2154Asn en el estado hemizigico en el probando de la familia 625 y en el estado heterozigótico en su padre.

[Figura completa y leyenda \(293 K\)](#)

Aunque nuestro análisis se centró primero en CNVs que contienen regiones codificantes, también se detectaron seis NVC raras, en seis pacientes, que eran intrónicas o intergénicas, pero se encuentra dentro o cerca de los genes que codifican contactinas o neuroquinas: una duplicación intrónica en *NLGN1* se detectó en tres pacientes, una duplicación entre *CNTN4* y *CNTN6* estuvo presente en tres pacientes y se identificaron deleciones intrónicas en *CNTN4* y *CNTN5* en dos individuos no relacionados. Además, cinco CNV intronic ausente de bases de datos y que abarca genes implicados en la neurotransmisión o el desarrollo del sistema nervioso (*AGBL4*, *LRRTM4*, *UNC5C*, *CADM1*, *GPHN*) en cinco individuos ([cuadro complementario S2](#)). Estas variantes podrían contribuir a los TEA alterando regiones reguladoras de los genes, aunque esta hipótesis es difícil de probar en ausencia de datos de expresión.

## Discusión

Muchos estudios han demostrado recientemente la importante contribución de las CNV raras al rompecabezas genético de los TEA. Sin embargo, la importancia clínica de las NVC en individuos con TEA ha sido más rara vez investigada. <sup>23</sup>, <sup>24</sup> En este estudio, se presentan los resultados de un análisis de diagnóstico utilizando Illumina SNP

microarrays en 194 sujetos con ASDs que habían sido contratados prospectivamente. La cohorte incluyó inicialmente 200 pacientes, pero seis individuos fueron excluidos del análisis de la NVC porque se estableció un diagnóstico mediante exámenes preliminares. Las CNV que abarcan al menos un exón y raras en la DGV se encontraron en 94 sujetos con TEA (48 %). Sin embargo, este análisis nos permitió hacer un diagnóstico probable en sólo 3 de los 194 pacientes (1,5 %). Sin embargo,

Nuestros resultados confirman la implicación frecuente de las ganancias de copias en la región 15q11-q12 en ASD, que se encuentran en 3 de cada 200 pacientes (1,5 %). El sujeto masculino con triplicación 15q11-q12 de origen paterno tuvo un fenotipo muy leve, en comparación con otros pacientes con triplicaciones de esta región, incluyendo relativamente buena preservación del lenguaje y adquisición de lectura y escritura. Por el contrario, los dos pacientes con cromosoma 15 supranumerario (detectado antes del análisis de microarrays) tenían un origen materno y tenían ID severa y epilepsia además del autismo. Las duplicaciones y triplicaciones de esta región impresa en individuos con TEA suelen ser de origen materno. Sin embargo, ocasionalmente se han reportado duplicidades de origen paterno.<sup>13, 25</sup> Nuestros hallazgos indican que las duplicaciones y triplicaciones 15q11-q12 de origen paterno pueden ser menos penetrantes o asociarse con un fenotipo más leve que las de origen materno. Esto sugiere que la desregulación tanto de los genes impresos (incluyendo *UBE3A*) y no impresos genes en la región 15q11-q13 contribuir al desarrollo de ASDs. Curiosamente, tanto impreso (*UBE3A* y *SRNP*) y no impresos genes (*OCA2* y *GABRG3*) situado en la región triplicada había anormal valores de metilación en el paciente con el 15q11-q12 triplicación. Las desregulaciones epigenéticas que afectan a los genes que codifican los receptores GABA<sub>A</sub> en el cerebro de individuos con anomalías del número de copias 15q11-q13 se han informado previamente.<sup>26</sup>

La segunda anomalía estructural que se consideró probablemente causante es una deleción de la región 9p24. Se sabe que las deleciones que abarcan esta región, que son generalmente *de novo* pero de mayor tamaño ([Figura complementaria S3](#)), causan el síndrome de deleción 9p, un trastorno caracterizado por ID, trigonocefalia, dismorfismo facial y reversión sexual en varones. Curiosamente, el autismo se informó en 4 de cada 100 pacientes con este síndrome,<sup>27</sup> lo que sugiere que esta región contiene genes que contribuyen al autismo en ciertas condiciones. Por otra parte, las deleciones en el cromosoma 9p24.3 que abarca *C9orf66*, *CBWD1*, *DOCK8* y *FOXD4* se identificaron recientemente en dos individuos con ASD (frecuencia estimada a 0.05 %).<sup>5</sup> La supresión encontrado en nuestro paciente femenina abarcaba 13 genes, incluyendo *DOCK8* y *SMARCA2*. Es probable que esta deleción haya ocurrido *de novo* en el proband, que tenía un deterioro severo del lenguaje y el síndrome de West además del autismo, al igual que la mayoría de las deleciones que abarcaban esta región en la literatura, aunque esto no pudo ser demostrado formalmente debido a la indisponibilidad de El ADN del padre. *SMARCA2* codifica una proteína que pertenece al complejo FMRP, deficiente en el síndrome X frágil y está implicada en una gran red de interacciones con otras proteínas relacionadas con el ASD tales como *TSC1* y *NLGN3*.<sup>28, 29</sup> Para probar la hipótesis de que las variantes adicionales en *SMARCA2* y / o *DOCK8* contribuyen al autismo, secuenciado los exones de estos dos genes en el paciente con la supresión 9p, pero no se identificaron, variantes posiblemente patógenos poco frecuentes. Recientemente, se identificaron mutaciones no sinónimas heterocigóticas o deleciones parciales en *SMARCA2* como la causa del síndrome de Nicolaidis-Baraitser, una condición autosómica dominante con ID síndromico.<sup>30</sup> Se identificaron posibles variantes patogénicas. Recientemente, se identificaron mutaciones no sinónimas heterocigóticas o deleciones parciales en *SMARCA2* como la causa del síndrome de Nicolaidis-Baraitser, una condición autosómica dominante con ID síndromico.<sup>30</sup> Se identificaron posibles variantes patogénicas. Recientemente, se identificaron mutaciones no sinónimas heterocigóticas o deleciones parciales en *SMARCA2* como la causa del síndrome de Nicolaidis-Baraitser, una condición autosómica dominante con ID síndromica.<sup>30</sup>

La tercera anomalía probablemente causal fue una deleción *de novo* en el cromosoma 3q29. El síndrome de microdeleción 3q29 se ha descrito recientemente como un nuevo

síndrome, probablemente causado por la recombinación homóloga no-alélica. <sup>31</sup> Se asocia generalmente con dismorfismo, ID, malformaciones congénitas variables de leves a moderados y TEA en 27 % de los casos. <sup>32</sup> Este CNV también se ha descubierto recientemente en los individuos con esquizofrenia. <sup>33</sup> Nuestra paciente con esta delección no tenía la dismorfia clásica y tenía una inteligencia normal. Sólo dos pacientes con inteligencia normal y delección 3q29 se describieron previamente. <sup>34, 35</sup> Entre los 22 genes incluidos en la delección de 1,6 Mb,

A diferencia de estos tres arreglos microreales, la contribución de las CNVs identificadas a la CIA permaneció poco clara en la mayoría de los casos, como las duplicaciones 16p11.2 identificadas en cuatro individuos. Las delecciones y duplicaciones que implican una región pericentromérica del cromosoma 16 que abarca ~ 600 kb y contiene 28-35 genes son recurrentes y recíprocos debido a duplicaciones segmentarias altamente homólogas. Aunque la duplicación se asoció repetidamente con el autismo y la esquizofrenia, <sup>5, 36, 37, 38</sup> se caracteriza por una gran variabilidad fenotípica, que va desde fenotipos normales a malformaciones congénitas graves y no se segrega perfectamente con autismo en familias multiplexas. Estas observaciones sugieren que el 16p11.

La NVC se heredó de padres asintomáticos en el 96 % de los casos en los que se pudo evaluar la herencia. Posiblemente, las CNV heredadas desempeñan un papel en la etiología de los TEA en combinación con otros factores genéticos en la delección / duplicación o en cualquier otra parte del genoma. Para identificar mutaciones recesivas localizadas en el alelo no eliminado, se seleccionaron tres pacientes con delecciones raras que abarcan un pequeño número de genes candidatos seleccionados en función de su función y expresión en el cerebro. Este enfoque nos permitió detectar una rara, posiblemente deletérea missense variante en *DOCK10 en trans* con una delección de todo el gen. Esta variante y la delección se asociaron en el caso índice, pero no su hermano y hermana sanos, que es compatible con la herencia autosómica recesiva. Las CNV que involucran *DOCK10* son extremadamente raras; No se encontraron en la DGV o en 8329 controles, y estuvieron presentes en sólo 2 de 15 767 pacientes. [Se han reportado](#) <sup>38</sup>NVC que abarcan a otros miembros de la familia DOCK (Dedicator of CytoKinesis), tales como *DOCK4* y *DOCK8* (localizados en la delección 9p24), en ASDs. <sup>5, 39</sup> Sin embargo, es necesario identificar casos adicionales de ASD con mutaciones en este gen para confirmar que las mutaciones autosómicas recesivas en *DOCK10* pueden causar ASD. [Se han reportado](#) <sup>38</sup>NVC que abarcan a otros miembros de la familia DOCK (Dedicator of CytoKinesis), tales como *DOCK4* y *DOCK8* (localizados en la delección 9p24), en ASDs. <sup>5, 39</sup> Sin embargo, es necesario identificar casos adicionales de ASD con mutaciones en este gen para confirmar que las mutaciones autosómicas recesivas en *DOCK10* pueden causar ASD. [Se han reportado](#) <sup>38</sup>NVC que abarcan a otros miembros de la familia DOCK (Dedicator of CytoKinesis), tales como *DOCK4* y *DOCK8* (localizados en la delección 9p24), en ASDs. <sup>5, 39</sup> Sin embargo, es necesario identificar casos adicionales de ASD con mutaciones en este gen para confirmar que las mutaciones autosómicas recesivas en *DOCK10* pueden causar ASD.

Otro posible caso de ASD autosómico recesivo fue una hembra con una delección homocigótica en el cromosoma 1p31.1, que abarca exones alternativamente empalmados del gen *PTGER3*. Esta delección homocigótica abarcó 43 kb y se localizó en una región homocigótica más grande (15 Mb). *PTGER3* codifica EP3, uno de los cuatro receptores de la prostaglandina E2, que tiene muchas funciones biológicas, incluyendo inhibición de la secreción de ácido gástrico, inhibición de la reabsorción de sodio y agua en el riñón, contracciones uterinas, fiebre en respuesta a estímulos exógenos y endógenos y modulación de neurotransmisor En neuronas centrales y periféricas. [Los](#) ratones que carecen de Ep3 tienen un fenotipo leve y complejo, incluyendo una respuesta febril alterada, <sup>41</sup> una respuesta alterada de la hormona adrenocorticotrópica a la endotoxina bacteriana, <sup>42</sup>la inflamación alérgica exagerada, <sup>43</sup> la obesidad, el aumento de la actividad motora <sup>44</sup> y el aumento de la supervivencia a la infección bacteriana. <sup>45</sup>*PTGER3* se expresa como al menos nueve variantes de empalme múltiple que tienen idénticas propiedades de unión al ligando pero que interactúan con diferentes segundos mensajeros. <sup>46</sup> El homocigotos *PTGER3* eliminación identificado en

nuestro altera paciente seis de los nueve isoformas ( [Figura complementario S5](#) ). Este paciente, que tenía 5 años de edad cuando fue examinado por última vez, tenía autismo típico con un retraso leve. Estaba muy agitada, alta y no obesa;

En conjunto, nuestros resultados muestran que los síndromes genéticos asociados con deleciones o duplicaciones genómicas son una causa rara de ASDs. La búsqueda de CNVs en individuos con ASD debe ser perseguida, sin embargo, ya que puede conducir a un diagnóstico y asesoramiento genético apropiado en un pequeño número de casos. La asociación del análisis de CNV con la secuenciación de exome para buscar sistemáticamente las causas autosómicas recesivas de ASD podría aumentar la proporción de diagnósticos positivos. Sin embargo, son probables en muchos casos de autismo los modelos oligogénicos o multihit, en los que la asociación de la CNV heredada rara con mutaciones puntuales contribuye al trastorno. Dos de nuestros sujetos apoyan esta hipótesis; Cada uno tenía dos CNVs nuevas, privadas, heredadas de padres asintomáticos, Lo que sugiere que uno de los CNVs no era suficiente para causar ASD, pero que una combinación de los dos reordenamientos fue perjudicial. La observación de múltiples NVC raras en el 17 % de los sujetos con ASD e ID, pero sólo uno con síndrome de Asperger (3 % ), también sugiere que los efectos de las CNVs son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#) La observación de múltiples NVC raras en el 17 % de los sujetos con ASD e ID, pero sólo uno con síndrome de Asperger (3 % ), también sugiere que los efectos de las CNVs son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#) La observación de múltiples NVC raras en el 17 % de los sujetos con ASD e ID, pero sólo uno con síndrome de Asperger (3 % ), también sugiere que los efectos de las CNVs son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#) Sugiere también que los efectos de las CNV son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#) Sugiere también que los efectos de las CNV son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#) Sugiere también que los efectos de las CNV son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#) Sugiere también que los efectos de las CNV son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#) Sugiere también que los efectos de las CNV son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#) Sugiere también que los efectos de las CNV son aditivos o que algunas combinaciones son patógenas. Dos estudios recientes apoyan la teoría del "modelo de dos impactos" en individuos con TEA. [19](#) . [47](#) El siguiente reto en los TEA, por tanto, es entender las interacciones entre raras VNC y otras variantes raras en pacientes individuales y de tener en cuenta las interacciones ambientales que también pueden modular el riesgo de desarrollar TEA. [48](#)

## Conflicto de intereses

Los autores no declaran ningún conflicto de intereses.

## Referencias

1. Miles JH: Trastornos del espectro autista - una revisión genética. *Genet Med* 2011; **13** : 278 - 294. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
2. Ozonoff S, Young GS, Carter A y cols . : Riesgo de recurrencia de trastornos del espectro autista: un estudio de Baby Siblings Research Consortium. *Pediatría* 2011; **128** : e488 - e495. | [PubMed](#) |
3. Glessner JT, Wang K, Cai G y cols . : La variación del número de copias del genoma en todo el autismo revela la ubiquitina y los genes neuronales. *Naturaleza* 2009; **459** : 569 - 573. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
4. Bucan M, Abrahams BS, Wang K y cols . : Los análisis genómicos de las variantes del número de copias exónicas en un estudio familiar apuntan a nuevos genes de susceptibilidad al autismo. *PLoS Genet* 2009; **5** : e1000536. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
5. Sanders SJ, Ercan-Sencicek AG, Hus V y cols . : Las múltiples CNVs recurrentes *de novo* , incluidas las duplicaciones de la región del síndrome de Williams 7q11.23, están fuertemente asociadas con el autismo. *Neuron* 2011; **70** : 863 - 885. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
6. O'Roak BJ, Vives L, Girirajan S y otros : Los aumentos esporádicos del autismo revelan una red altamente interconectada de la proteína *demutaciones de novo* . *Naturaleza* 2012; **485** : 246 - 250. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
7. Sanders SJ, Murtha MT, Gupta AR y cols . : Las mutaciones de *novoreveladas* por la secuenciación de todo el exome están fuertemente asociadas con el autismo. *Naturaleza* 2012; **485** : 237 - 241. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
8. Neale BM, Kou Y, Liu L y col . : Patrones y tasas de mutaciones exónicas *de novo* en trastornos del espectro autista. *Naturaleza* 2012; **485** : 242 - 245. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
9. Szatmari P, Paterson AD, Zwaigenbaum L y otros : Cartografía de los loci de riesgo de autismo usando el enlace genético y los reordenamientos cromosómicos. *Nat Genet* 2007; **39** : 319 - 328. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
10. Schaaf CP, Zoghbi HY: Resolver el rompecabezas del autismo algunas piezas a la vez. *Neuron* 2011; **70** : 806 - 808. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
11. Levy D, Ronemus M, Yamrom B y otros : Variación rara *de novo* y transmitida del número de copias en trastornos del espectro autista. *Neuron* 2011; **70** : 886 - 897. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
12. Guilmatre A, Dubourg C, Mosca AL y otros : Reordenamientos recurrentes en genes sinápticos y del neurodesarrollo y vías biológicas compartidas en esquizofrenia, autismo y retraso mental. *Arch Gen Psychiatry* 2009; **66** : 947 - 956. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
13. Depienne C, Moreno-De-Luca D, Heron D y cols . : Detección de reordenamientos genómicos y anomalías de metilación de la región 15q11-q13 en trastornos del espectro autista. *Biol Psiquiatría* 2009; **66** : 349 - 359. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
14. Gai X, Xie HM, Perin JC y col . : Variación estructural rara de los genes de sinapsis y neurotransmisión en el autismo. *Mol Psiquiatría* 2012; **17** : 402 - 411. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
15. Jamain S, Quach H., Betancur C y otros : Las mutaciones de los genes ligados al X que codifican los neuroliginas NLGN3 y NLGN4 están asociadas con autismo. *Nat Genet* 2003; **34** : 27-29. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |

16. Durand CM, Betancur C, Boeckers TM y cols . : Las mutaciones en el gen que codifica la proteína sináptica SHANK3 están asociadas con trastornos del espectro autista. *Nat Genet* 2007; **39** : 25-27. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
17. Leblond CS, Heinrich J, Delorme R y cols . : Los análisis genéticos y funcionales de las mutaciones SHANK2 sugieren un modelo de éxito múltiple de trastornos del espectro autista. *PLoS Genet* 2012; **8** : e1002521. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
18. Betancur C: heterogeneidad etiológica en los trastornos del espectro autista: más de 100 desórdenes genéticos y genómicos y sigue contando. *Brain Res* 2011; **1380** : 42 - 77. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
19. Schaaf CP, Sabo A, Sakai Y et al : Heterozigosis oligogénica en individuos con trastornos del espectro autista de alto funcionamiento. *Hum Mol Genet* 2011; **20** : 3366 - 3375. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
20. Basu SN, Kollu R, Banerjee-Basu S: AutDB: un recurso de referencia genética para la investigación del autismo. *Nucleic Acids Res* 2009; **37**: D832 - D836. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
21. Hochstenbach R, Poot M, Nijman IJ y col . : Descubrimiento de variantes desenmascaradas por deleciones hemizigóticas. *Eur J Hum Genet* 2012; **20** : 748 - 753. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
22. Newbury DF, Winchester L, Addis L. y otros : CMIP y ATP2C2 modulan la memoria fonológica a corto plazo en el deterioro del lenguaje. *Am J Hum Genet* 2009; **85** : 264 - 272. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) |
23. Salyakina D, Cukier HN, Lee JM y cols . : Las variantes del número de copias en las familias con trastornos del espectro autista extendido revelan candidatos potencialmente implicados en el riesgo de autismo. *PLoS One* 2011; **6** : e26049. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
24. Van Daalen E, Kemner C, Verbeek NE y otros : Social Responsiveness Análisis basado en escala del impacto clínico de las variaciones del número de copias en el autismo. *Neurogenética* 2011; **12** : 315 - 323. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
25. Veltman MW, Thompson RJ, Craig EE et al : Una duplicación heredada paternalmente en la región crítica del síndrome de Prader-Willi /Angelman: estudio de casos y familias. *J Autism Dev Disord* 2005; **35**: 117 - 127. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) |
26. Los genes receptores GABAA son normalmente expresados bialélicamente en el cerebro pero están sujetos a desregulación epigenética en trastornos del espectro autista. *Hum Mol Genet* 2007; **16** : 691 - 703. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
27. Vinci G, Chantot-Bastarud S, El Houate B, Lortat-Jacob S, Brauner R, McElreavey K: Asociación de deleción 9p, 46, XY disgenesia gonadal y trastorno del espectro autista. *Mol Hum Reprod* 2007; **13** : 685 - 689. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
28. Sakai Y, Shaw CA, Dawson BC y cols . : El interactome de la proteína revela caminos moleculares convergentes entre desórdenes del autismo. *Sci Transl Med* 2011; **3** : 86ra49. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
29. Gilman SR, Iossifov I, Levy D, Ronemus M, Wigler M, Vitkup D: Variantes *de novo* raras asociadas con autismo implican una gran red funcional de genes implicados en la formación y función de las sinapsis. *Neuron* 2011; **70** : 898 - 907. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
30. Van Houdt JK, BA de Nowakowska, Sousa SB y otros : Las mutaciones missense del Heterozygous en SMARCA2 causan el síndrome de Nicolaides-Baraitser. *Nat Genet* 2012; **44** : 445 - 449, S441. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |

31. Willatt L, Cox J, Barber J *et al* : 3q29 Síndrome de microdelección: caracterización clínica y molecular de un nuevo síndrome. *Am J Hum Genet* 2005; **77** : 154 - 160. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
32. Quintero-Rivera F, Sharifi-Hannauer P, Martínez-Agosto JA: Resultados autistas y psiquiátricos asociados al síndrome de microdelección 3q29: relato de caso y revisión. *Am J Med Genet A* 2010; **152A** : 2459 - 2467.
33. Mulle JG, Dodd AF, McGrath JA *y col* . : Las microdeleciones de 3q29 confieren alto riesgo de esquizofrenia. *Am J Hum Genet* 2010; **87** : 229 - 236. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
34. Cobb W, Anderson A, Turner C, Hoffman RD, Schonberg S, Levin SW: 1,3 Mb de delección *de novo* en la banda cromosómica 3q29 asociada con la inteligencia normal en un niño. *Eur J Med Genet* 2010; **53** : 415 - 418. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
35. Li F, Lisi EC, Wohler ES, Hamosh A, Batista DA: síndrome de microdelección intersticial 3q29: un caso heredado asociado con defecto cardíaco y cognición normal. *Eur J Med Genet* 2009; **52** : 349 - 352. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
36. Weiss LA, Shen Y, Korn JM *et al* : Asociación entre microdelección y microduplicación a 16p11.2 y autismo. *N Engl J Med* 2008; **358** : 667 - 675. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
37. Sahoo T, Theisen A, Rosenfeld JA *et al* : variantes número de copias de loci de susceptibilidad de la esquizofrenia se asocian con un espectro de expresión y retrasos en el desarrollo y problemas de conducta. *Genet Med* 2011; **13** : 868 - 880. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
38. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S *et al* : Un mapa de morbilidad de la variación del número de copia del retraso del desarrollo. *Nat Genet* 2011; **43** : 838 - 846. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
39. Maestrini E, Pagnamenta AT, Lamb JA *et al* : de alta densidad estudio de asociación SNP y número de copia análisis de la variación de los loci AUTS1 y AUTS5 implicar a la región del gen IMMP2L-DOCK4 en susceptibilidad al autismo. *Mol Psychiatry* 2010; **15** : 954 - 968. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) |
40. Momiyama T, Todo N, Sugimoto Y, Ichikawa A, Narumiya S: Despolarización de la membrana mediante la activación del subtipo EP3 del receptor EP de las prostaglandinas de neuronas serotoninérgicas putativas en el núcleo del rafe dorsal de la rata. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1996; **353** : 377 - 381. | [PubMed](#) |
41. Ushikubi F, Segi E, Sugimoto Y *y otros* : Disfunción de la respuesta febril en ratones carentes del subtipo de receptor de prostaglandina E EP3. *Nature* 1998; **395** : 281 - 284. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
42. Matsuoka Y, Furuyashiki T, Bito H. *et al* : Alteración de la respuesta de la hormona adrenocorticotrópica a la endotoxina bacteriana en ratones deficientes en los subtipos EP1 y EP3 del receptor de prostaglandina E. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100** : 4132 - 4173. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
43. Kunikata T, Yamane H, Segi E *y otros* : Supresión de la inflamación alérgica por el subtipo de receptor de prostaglandina E EP3. *Nat Immunol* 2005; **6** : 524 - 531. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
44. Sanchez-Alavez M, Klein I, Brownell SE *y col* . : Alimentación nocturna y obesidad en el ratón deficitario en EP3R. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104** : 3009 - 3014. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |
45. Aronoff DM, Lewis C, Serezani CH *et al* : E-prostanoide 3 delección receptor mejora la defensa del huésped pulmonar y protege a los ratones de la muerte en grave *Streptococcus pneumoniae* infección. *J Immunol* 2009; **183** : 2642 - 2649. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |

46. Sugimoto Y, Narumiya S: Prostaglandina E receptores. *J Biol Chem* 2007; **282** : 11613 - 11617. | [Artículo](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
47. La identificación de dos variantes de número de copias heredadas en un varón con autismo apoya dos modelos de heterocigosidad golpeados y compuestos de autismo. *Am J Med Genet B* 2012; **159B** : 710 - 717.
48. Guinchat V, Thorsen P, Laurent C, Latas C, Bodeau N, Cohen D: Factores de riesgo pre y perinatal y neonatal para el autismo. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2012; **91** : 287 - 300. | [Artículo](#) | [PubMed](#) |

## Expresiones de gratitud

Agradecemos a la plataforma P3S, la Plateau Technique Mutualisé du GHU Est y la plataforma de genotipado y secuenciación del ICM para asistencia técnica y el banco de ADN y células de CRICM para la extracción de ADN y cultivo celular. También damos las gracias al Dr. Merle Ruberg por la lectura crítica del manuscrito y Sophie Rivaud-Pechoux por su ayuda con el análisis estadístico. Este estudio fue financiado por AP-HP (DHOS), la Fundación de Francia, ERA-NET NEURON EUHFAUTISM e INSERM.