



HAL
open science

Architecture génétique des troubles du spectre autistique dans les îles Féroé

Coralie Carton-Buonafine

► **To cite this version:**

Coralie Carton-Buonafine. Architecture génétique des troubles du spectre autistique dans les îles Féroé. Sciences agricoles. Université Sorbonne Paris Cité, 2018. Français. NNT : 2018USPCC117 . tel-02343507

HAL Id: tel-02343507

<https://theses.hal.science/tel-02343507>

Submitted on 2 Nov 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de doctorat
de l'Université Sorbonne Paris Cité
Préparée à l'Université Paris Diderot
Ecole Doctorale Bio Sorbonne Paris Cité (ED 562)
CNRS UMR 3571 Gènes, synapses et cognition
Génétique Humaine et Fonctions Cognitives - Institut Pasteur

Architecture Génétique des Troubles du Spectre Autistique dans les Îles Féroé

Par Coralie Carton-Buonafine

Thèse de doctorat de génétique

dirigée par le Professeur Thomas Bourgeron
soutenue publiquement à l'Institut Pasteur le 3 juillet 2018

JURY

Dr Chantal Desdouets (Paris 5)	Président du jury
Pr Laurence Faivre (Université de Dijon)	Rapporteur
Dr Emmanuelle Génin (Université de Brest)	Rapporteur
Pr Thierry Bienvenu (Paris 5)	Examineur
Dr Sophie Garnier (Paris 6)	Examineur
Pr Thomas Bourgeron (Paris 7)	Directeur de thèse

RESUME. Les Troubles du Spectre Autistique (TSA) forment un groupe hétérogène de troubles neurodéveloppementaux caractérisés par des déficits de l'interaction sociale et de la communication ainsi que la présence de comportements répétitifs et d'intérêts restreints.

Les TSA affectent environ un individu sur 68. Ils se manifestent généralement durant les trois premières années de vie mais, pour certains cas, les symptômes sont reconnus plus tard, quand les exigences sociales augmentent.

Les études de jumeaux et la récurrence des troubles dans certaines familles démontrent l'importance des facteurs génétiques dans la vulnérabilité aux TSA. Cependant, l'architecture génétique des TSA reste difficile à caractériser car elle est extrêmement hétérogène et il est très compliqué d'identifier, pour chacun des patients, la combinaison d'allèles à risque. Notre laboratoire a identifié la première voie génétique associée aux TSA – la voie NLGN-NRXN-SHANK- qui joue un rôle clé dans la plasticité synaptique.

Il existe un nombre de plus en plus grand de gènes associés aux TSA mais peu d'études ont été réalisées sur des cohortes épidémiologiques et dans des populations isolées.

L'analyse des données de génotypage et de séquençage d'exome de 357 individus issus des îles Féroé (36 patients, 136 apparentés des patients, 185 témoins) nous a permis de mettre en évidence un nombre plus important de Variations du Nombre de Copies (CNVs), un coefficient de consanguinité supérieur, un plus grand nombre de mutations homozygotes et délétères ainsi qu'un Polygenic Risk Score (ASD-PRS) supérieur chez les patients TSA comparés aux individus témoins.

Notre analyse confirme le rôle de plusieurs loci associés aux TSA (*NRXN1*, *ADNP*, délétion 22q11) et a permis d'identifier de nouvelles mutations tronquant la protéine (*GRIK2*, *ROBO1*, *NINL* et *IMMP2L*) ou récessives (*KIRREL3* et *CNTNAP2*) affectant des gènes déjà associés aux TSA.

Nous avons également mis en évidence trois nouveaux gènes candidats jouant un rôle important dans la plasticité synaptique (*RIMS4*, *KALRN* et *PLA2G4A*) à travers la présence de mutations *de novo* délétères chez des patients sans déficience intellectuelle.

En résumé, notre étude permet de mieux comprendre l'architecture génétique des TSA dans les populations isolées en soulignant à la fois l'impact des variants communs et des variants rares mais également en révélant le rôle de nouveaux gènes pour les TSA. Ces gènes codent pour des protéines essentielles pour le neurodéveloppement et l'identification de ces facteurs impliqués dans la formation et l'entretien des synapses pourrait ainsi fournir de nouvelles pistes afin de mieux comprendre les bases biologiques des TSA et de découvrir de nouvelles stratégies thérapeutiques. Il est cependant nécessaire de comprendre plus avant l'impact de la combinaison de différentes mutations sur la fonction neuronale afin de mieux caractériser l'architecture génétique des TSA.

Mots-clés. Troubles du Spectre Autistique (TSA) - population isolée - consanguinité - mutations *de novo* - mutations récessives - Copy Number Variants

SUMMARY. Autism Spectrum Disorders (ASDs) are a heterogeneous group of neurodevelopmental disorders characterized by deficits in social interaction and communication as well as the presence of repetitive behaviors and restricted interests.

ASD affects approximately one in 68 individuals. They usually occur during the first three years of life but, in some cases, symptoms are recognized later, when social demands increase.

There is a strong genetic component to ASD, as indicated by the recurrence risk in families and twin studies. However, the genetic architecture of ASD remains largely unknown because of its extreme heterogeneity. It is very challenging to identify, for each patient, the combination of risk alleles. Our laboratory identified the first genetic pathway associated with ASD – the NLGN-NRXN-SHANK pathway – playing a key role in synaptogenesis during development.

There are an increasing number of genes associated with ASDs but few studies have been conducted on epidemiological cohorts and isolated populations.

Here, we investigated 357 individuals from the Faroe Islands including 36 patients with ASD, 136 of their relatives and 185 non-ASD controls. Data from SNP array and whole exome sequencing revealed that patients had a higher burden of copy-number variants, higher inbreeding status, higher load of homozygous deleterious mutations, and a higher ASD polygenic risk score compared to controls.

We confirmed the role of several ASD-associated loci (*NRXN1*, *ADNP*, 22q11 deletion) and identified new truncating (*GRIK2*, *ROBO1*, *NINL* and *IMMP2L*) or recessive variants (*KIRREL3* and *CNTNAP2*) affecting genes already associated with ASD.

We have also identified three novel candidate genes playing key roles in synaptic plasticity (*RIMS4*, *KALRN* and *PLA2G4A*) carrying deleterious *de novo* mutations in patients without intellectual disability.

In summary, our study provides a better understanding of the genetic architecture of ASD in isolated populations by highlighting both the impact of common and rare variants but also by revealing the role of new genes for ASD. These genes code for proteins that are essential for neurodevelopment. The identification of these factors involved in synapse formation and maintenance could provide new leads to better understand the biological basis of ASD and find novel therapeutic strategies.

However, it is necessary to further understand the combined impact of different mutations on neuronal function in order to better characterize the genetic architecture of ASD.

Keywords. Autism Spectrum Disorders (ASD) - isolated population - inbreeding - *de novo* variants - recessive variants - Copy Number Variants

REMERCIEMENTS. Je tiens tout d'abord à remercier Thomas Bourgeron pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce projet si passionnant.

Je voudrais également exprimer ma reconnaissance aux membres du jury pour avoir accepté de s'intéresser à mon projet de thèse. Merci à Chantal Desdouets de présider mon jury de thèse. Merci à Emmanuelle Génin et Laurence Faivre d'avoir accepté d'être les rapporteuses de cette thèse malgré les délais un peu courts. Merci à Thierry Bienvenu et Sophie Garnier de participer à l'évaluation de ce travail.

Un énorme merci à Guillaume Huguet pour avoir accompagné si chaleureusement mes premiers pas dans le laboratoire et d'avoir été générateur d'autant d'énergie positive et de bonne ambiance.

Merci à Claire Leblond et Freddy Cliquet pour avoir apporté leur aide sur le projet et avoir permis de terminer l'article à temps. Merci également à Alexandre Mathieu, Julien Buratti et Thomas Kergrohen pour leur aide sur toute la partie bioinfo.

Mille mercis à Nathalie qui a toujours été là, du premier jour jusqu'au dernier, et qui a été d'une aide tellement précieuse pour toute la partie humide de ce projet. Merci pour ton soutien au fil des années, ton entrain et ton rire légendaire. Merci d'avoir noyé les moments difficiles dans des kilos de Crunch et merci pour toutes ces tartes normandes/fars bretons/gâteaux au chocolat.

Ces quelques lignes ne suffiront pas à remercier mes ex-co-bureaux, Marion et Ophélie pour leur amitié précieuse et tous ces moments d'échange, de rires et pour toutes les situations incroyables que nous ayons pu vivre ensemble. Vous êtes aussi loufoques qu'adorables et vous avez parsemé cette thèse de superbes souvenirs, merci, merci, merci.

Et bien sûr, merci à princesse Laura pour tous les débats endiablés et les bons moments passés ensemble.

Un grand merci à ma psychiatre préférée, Aline, avec qui je partage, entre autre, mon goût pour les baskets lumineuses.

Merci à mon co-thésard, Thibeault de m'avoir supporté pendant toutes ces années. Merci à Aline V. à Min et à Oscar, la nouvelle génération.

Merci aussi aux M1/M2 inoubliables : Jean pour tous ces fous rires et ces discussions sur la médecine, j'espère que tu seras à la hauteur !! Et, Julien Van-Gils pour tous nos débats un peu trop animés.

Un merci tout à fait spécial pour Sophie Calderari, qui m'a soutenue depuis mes premiers pas dans le monde de la recherche en M1 et jusqu'à aujourd'hui. Merci d'avoir toujours été là pour m'écouter et me conseiller.

Merci à Roberto d'être ce personnage si atypique, si riche et si agréable. Merci à Fred pour sa bonne humeur indéfectible. Merci à Anne-Claude pour sa bienveillance. Merci à Anna pour ces moments d'échange de bonnes adresses et ces moments Lalaland. Merci à Hany pour sa gentillesse. Merci à Jean-Pierre pour ces discussions enrichissantes et ces quelques morceaux de chocolat. Merci à Anne-Marie pour sa gentillesse et son écoute.

Je n'oublie pas tous les autres membres de l'équipe : Richard, Isabelle, Elodie, Thomas R., Guillaume D. qui font vivre ce labo au quotidien. Je voudrais aussi remercier Corinne pour son aide sur toutes les questions administratives au cours de ces quatre années et pour ses visites régulières et bien agréables dans notre bureau pour prendre des nouvelles.

Un grand merci à l'équipe du tutorat, Karin et Olivier et à Chantal, pour m'avoir accompagnée lors de la fin de cette thèse.

Merci à ma famille pour leur soutien lors de ce projet (et tous les autres d'ailleurs).

Enfin, je tiens à remercier mon binôme et mari, Mathieu, d'avoir vécu cette aventure de plus avec moi. Everything is just better with you.
Merci aussi à mon petit crabouille de m'avoir tenu compagnie lors de l'écriture de ce manuscrit et d'avoir donné un sens différent à cette fin de thèse.

A mon petit co-auteur,

SOMMAIRE

INTRODUCTION	9
1. Les Troubles du Spectre Autistique	10
1.1. <i>Clinique des Troubles du Spectre Autistique</i>	10
1.1.1. Historique de l'autisme	10
1.1.2. Prévalence des TSA	13
1.1.3. Outils diagnostiques	14
1.1.4. Comorbidités dans les TSA	17
1.1.5. Sex-ratio	19
1.1.5.1. Mécanismes génétiques.....	20
1.1.5.1.1. Risque lié au chromosome Y.....	20
1.1.5.1.2. Facteurs protecteurs liés au chromosome X.....	21
1.1.5.1.3. Pénétrance incomplète.....	23
1.1.5.2. Autres mécanismes	24
1.1.5.2.1. Effets de la testostérone	24
1.1.5.2.2. Différences phénotypiques.....	25
1.2. <i>Etiologie des Troubles du Spectre Autistique</i>	26
1.2.1. <i>Héritabilité des TSA</i>	27
1.2.2. Facteurs génétiques impliqués dans les TSA.....	28
1.2.2.1. Implication des variants fréquents.....	31
1.2.2.2. Implication des variants rares et <i>de novo</i>	36
1.2.2.2.1 Définition des variants rares et <i>de novo</i>	36
1.2.2.2.2 Cas de l'autisme syndromique	38
1.2.2.3. Implication de variants récessifs.....	43
1.2.2.4. Modèles génétiques des TSA	45
1.2.2.5. Gènes associés aux TSA	48
1.2.3. Facteurs épigénétiques	49
1.2.4. Facteurs environnementaux	53
1.2.5. Voies biologiques impliquées dans les TSA.....	54
1.2.5.1. Homéostasie synaptique	57
1.2.5.2. Remodelage de la chromatine et régulation de la transcription	59
1.2.5.3. Synthèse et dégradation protéique	60
1.3. <i>Thérapies actuelles</i>	63
2. Les îles Féroé	65
2.1. <i>Situation géographique</i>	65
2.2. <i>Histoire démographique</i>	68
2.3. <i>Isolat génétique</i>	69
2.3.1 Exemples d'études concluantes portant sur des isolats génétiques.....	72
2.3.2. Etudes épidémiologiques et génétiques dans les îles Féroé	73
2.4. <i>Les TSA dans les îles Féroé</i>	75
2.4.1 Epidémiologie.....	75
2.4.2 Facteurs environnementaux.....	80
2.4.2.1. Méthylmercure dans les îles Féroé	80
2.4.2.2. Carence en vitamine D dans les îles Féroé.....	83
OBJECTIFS	87
SUJETS ET METHODES	89
RESULTATS	93
DISCUSSION	149
1. Homogénéité génétique des îles Féroé	150
2. Consanguinité et TSA	151

3. Facteurs génétiques impliqués dans la vulnérabilité aux TSA dans les îles Féroé.....	153
3.1. <i>Identification de variants affectant des gènes déjà associés aux TSA</i>	154
3.1.1. <i>Variants de novo</i>	154
3.1.2. <i>Variants récessifs.....</i>	157
3.2. <i>Identification de nouveaux gènes candidats.....</i>	159
3.3.1. <i>RIMS4</i>	159
3.3.2. <i>KALRN</i>	159
3.3.3. <i>PLA2G4A.....</i>	161
4. Rôle combiné des différents types de variants dans la vulnérabilité aux TSA	163
4.1. <i>Implication des variants fréquents</i>	163
4.2. <i>Implications des variants rares</i>	165
5. Autres facteurs de vulnérabilité aux TSA	167
6. Points forts et points faibles de notre étude.....	169
CONCLUSION.....	171
PERSPECTIVES	175
REFERENCES.....	179

INTRODUCTION

1. Les Troubles du Spectre Autistique

1.1. Clinique des Troubles du Spectre Autistique

Les Troubles du Spectre Autistique (TSA) forment un groupe hétérogène de troubles neurodéveloppementaux caractérisés par des déficits de l'interaction sociale et de la communication ainsi que la présence de comportements répétitifs et d'intérêts restreints (Wing, 1997).

Les TSA affectent environ un individu sur 68 (McCarthy, 2014). Ils se manifestent généralement durant les trois premières années de la vie mais, pour certains cas, les symptômes sont reconnus plus tard, quand les exigences sociales augmentent.

1.1.1. Historique de l'autisme

Le terme « autisme » provient du grec « autos » qui signifie « soi ». Il a été utilisé la première fois en 1910 par le psychiatre suisse Paul Eugen Bleuler afin de décrire une sous-catégorie de patients schizophrènes particulièrement renfermés, introvertis et égocentriques.

En 1943, Leo Kanner, un pédopsychiatre américano-autrichien, publie un article qui décrit 11 enfants (8 garçons et 3 filles) présentant des « perturbations autistiques du contact affectif ». Les caractéristiques partagées par ces enfants, telles qu'« une solitude autistique extrême » et « un désir anxieux et obsessionnel d'immuabilité » (grande résistance au changement dans leur vie quotidienne et leur environnement) forment selon Kanner un « syndrome unique ». Il note également la présence de troubles du langage (retards de langage, écholalies) (Kanner, 1968).

Un an plus tard, le pédiatre autrichien Hans Asperger décrit, quant à lui, quatre garçons présentant une « psychopathie autistique » caractérisée par « un manque d'empathie, une capacité réduite à créer des liens sociaux, une conversation unidirectionnelle, un intérêt extrême pour un sujet particulier ainsi que des mouvements maladroits » malgré des capacités intellectuelles supérieures à la normale (Asperger, 1944).

Cependant, ce n'est qu'en 1980 que l'« autisme infantile » apparaît en tant que catégorie diagnostique dans le Manuel Diagnostique et Statistique des Troubles Mentaux (DSM-III). Avant le DSM-III, les enfants présentant des traits autistiques étaient considérés comme atteints de « schizophrénie infantile ». Depuis le DSM-III, et à chaque sortie d'une nouvelle version du DSM, la définition de l'autisme a considérablement évolué.

Dans le DSM-IV (1994), la définition de l'autisme a été étendue via l'ajout d'une catégorie diagnostique de Troubles Envahissants du Développement où sont listés différents troubles: les troubles autistiques, le syndrome d'Asperger, les troubles envahissants du développement non spécifiés (TED-NOS), le syndrome de Rett et les troubles désintégratifs de l'enfance.

Dans la dernière version de ce manuel (DSM-V), parue en 2013, ces diagnostics, qui étaient jusqu'ici considérés comme distincts, sont désormais regroupés dans une catégorie unique appelée « Troubles du Spectre Autistique » (à l'exception du syndrome de Rett). Cette nouvelle catégorie diagnostique est plus

flexible et rend mieux compte à la fois de l'hétérogénéité clinique de ces troubles à travers la notion de spectre.

Dans le DSM-IV, l'autisme était défini par une triade de symptômes comprenant un déficit de l'interaction sociale, la présence de troubles du langage et de la communication et celle de comportements et intérêts stéréotypés, répétitifs, restreints. Dans le DSM-5, les « Troubles du Spectre Autistique » sont désormais définis par deux critères diagnostiques majeurs : un déficit de l'interaction et de la communication sociale et la présence de comportements et intérêts répétitifs et restreints.

Ces critères diagnostiques doivent être présents dès la petite enfance mais il se peut qu'ils ne soient reconnus que plus tard, lorsque l'enfant rencontre des difficultés face aux exigences sociales ou éducatives.

Au delà de ces deux critères, des « spécificateurs » sont désormais employés afin de mieux décrire la symptomatologie. Ainsi, la présence de troubles du langage, qui ne fait plus partie des critères diagnostiques, est mentionnée parmi ces « spécificateurs ».

Par ailleurs, trois niveaux de sévérité sont désormais listés et mettent en avant l'hétérogénéité des difficultés rencontrées par les patients dans leur vie quotidienne.

Ainsi, la notion de spectre est une dimension importante de cette nouvelle classification car elle reflète à la fois la diversité des patients en terme de sévérité de symptômes mais aussi la reconnaissance du chevauchement entre ces troubles qui étaient autrefois considérés séparément.

1.1.2. Prévalence des TSA

Les premières études épidémiologiques visant à estimer la prévalence de l'autisme ont été menées entre 1966 et 1973. A cette époque, la prévalence moyenne était estimée en Europe à 4,4/10 000 et l'autisme était alors considéré comme un trouble rare (Gillberg and Wing, 1999).

Depuis, cette prévalence n'a cessé d'augmenter. Dès les années 1980 et lorsque l'usage des critères diagnostiques du DSM-III a été mis en place, la prévalence de l'autisme a été, en moyenne, estimée à 7,7/10 000 (Gillberg and Wing, 1999).

Les études épidémiologiques menées dans les années 1990 montrent, quant à elles, une prévalence moyenne de 9,6/10 000. (Gillberg and Wing, 1999).

Les rapports, plus récents, du Centers for Disease Control and Prevention (CDC) continuent de témoigner de l'augmentation de cette prévalence, avec une estimation, de 6,7/1000 en 2000, 9,0/1000 en 2006, 11,3/1000 en 2008.

Actuellement, le CDC estime qu'un enfant sur 68 (McCarthy, 2014) voire un enfant sur 45 (Zablotsky et al., 2015) serait atteint de TSA.

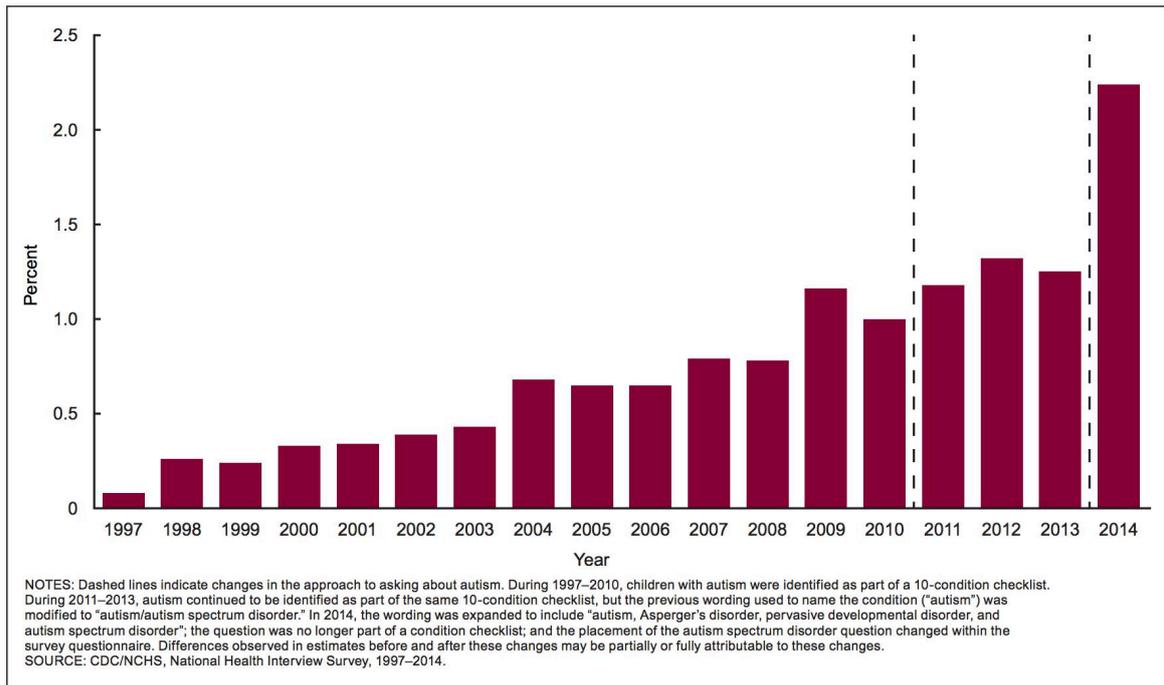


Figure 3. Estimated lifetime prevalence of children aged 3–17 years with parent-reported diagnosis of autism spectrum disorder, by survey year: United States, 1997–2014

Figure 1. Prévalence estimée des TSA chez les enfants de 3 à 17 ans au cours des vingt dernières années (Center for Disease Control and Prevention 2015). CDC/NCHS, National Health Interview Survey, 1997–2014.

Les raisons de l’augmentation de cette prévalence sont encore très largement discutées. Elle pourrait être attribuée à une plus grande attention portée à l’autisme, une meilleure identification des troubles, l’élargissement des critères diagnostiques de l’autisme ou à une réelle augmentation de l’incidence (due à des facteurs environnementaux par exemple) mais aussi à une combinaison de tous ces facteurs (Matson and Kozlowski, 2011).

1.1.3. Outils diagnostiques

Les TSA, en tant que troubles neurodéveloppementaux, peuvent présenter une symptomatologie relativement changeante avec l’âge selon les différentes étapes de

maturation du système nerveux. Ainsi, les enfants atteints de TSA peuvent se développer très différemment les uns des autres (Coleman et al., 2012).

Les premiers signes des TSA, qu'ils soient subtiles ou majeurs, apparaissent généralement vers 18 mois mais il est recommandé d'attendre d'avoir un diagnostic final après 30 mois. En effet, même si, dans la plupart des cas, les anomalies neurodéveloppementales ont une origine prénatale, il faut parfois attendre un certain temps avant que les symptômes n'apparaissent clairement.

Il est, par ailleurs, plus facile de juger des déficits de communication sociale après l'âge de 2 ans. Certains patients sont diagnostiqués dans la petite enfance, d'autres lors de l'entrée à l'école primaire ou de la puberté mais certains cas ne sont diagnostiqués qu'à l'âge adulte.

Il existe également une variabilité en ce qui concerne la stabilité diagnostique des patients. Certains patients diagnostiqués dans l'enfance remplissent toujours les critères diagnostiques à l'âge adulte mais pour d'autres, le diagnostic peut évoluer. Il existe même certains cas pour lesquels un diagnostic précoce avait été établi dans l'enfance mais où les symptômes ont disparu à l'âge adulte et d'autres cas où, inversement, l'intensité des symptômes a nettement augmenté lors de l'adolescence (Coleman et al., 2012).

Il est aujourd'hui établi qu'un diagnostic précoce est préférable car il permet la mise en place d'une prise en charge précoce visant à améliorer le pronostic et le bénéfice clinique (Fernell et al., 2013; Zwaigenbaum et al., 2015).

Il existe de nombreux outils pour détecter les TSA chez les enfants en bas âge. Le plus utilisé est le Baby and Infant Screen for Children with aUtism Traits

(BISCUIT, Matson et al., 2011) mais il existe aussi la version modifiée de la Checklist for Autism in Toddlers (M-CHAT, Baron-Cohen et al., 1992).

Pour les autres enfants et les adultes, il existe plusieurs outils de criblage et de diagnostique comme :

- l'ADI-R (Autism Diagnostic Interview-Revised, Lord et al., 1994) est une version révisée de l'ADI (Le Couteur, Rutter, Lord, Rios, Robertson, Holdgrafer et al, 1989) consiste en un entretien global semi-structuré avec un informant (souvent l'un des parents) et évalue les interactions sociales réciproques, la communication et le langage ainsi que les comportements stéréotypés en fonction des critères du DSM-IV.
- l'ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule, (Lord et al., 2000) est un protocole d'observation directe, semi-structuré et standardisé qui évalue les troubles en situation d'interaction sociale et de communication à travers des jeux ou une conversation (en fonction du niveau de langage).
- le DISCO (Diagnostic Interview for Social and Communication Disorder, Wing et al., 2002) consiste en un entretien semi-structuré entre l'examineur et généralement l'un des deux parents, développé afin de servir pour la clinique et pour la recherche.
- La SRS (Social Responsiveness Scale, Constantino, 2002. The Social Responsiveness Scale. Los Angeles: Western Psychological Services) est un questionnaire destiné aux parents ou aux enseignants afin d'identifier les déficits sociaux ainsi que les traits autistiques de l'enfant

Ces différents outils diagnostic sont adaptables chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte.

1.1.4. Comorbidités dans les TSA

En plus des caractéristiques autistiques, plusieurs comorbidités sont fréquemment identifiées chez les patients atteints de TSA. Ces comorbidités peuvent être d'origine génétique, neurodéveloppementale, cognitive, comportementale ou même environnementale.

Parmi les troubles neuropsychiatriques fréquemment associés figurent les déficiences intellectuelles (DI) (30-70%), l'épilepsie (5-38%), les tics, les TDAH (30-80%), les troubles bipolaires (11-25%), les troubles anxieux (15-80%), les troubles de l'humeur (2-57%), les troubles du comportement alimentaire et les troubles du sommeil (50-80%)(Coleman et al., 2012; Frye et al., 2016; Mannion and Leader, 2013; Mannion et al., 2014; Mansour et al., 2017; Munesue et al., 2008; Reynolds and Malow, 2011).

Cette co-occurrence importante de symptômes au sein de différents troubles neuropsychiatriques/développementaux mène à penser qu'une approche plus holistique prenant d'avantage en compte le chevauchement de ces troubles serait nécessaire. Dans ce but, une classification appelée ESSENCE (Early Symptomatic Syndromes Eliciting Neurodevelopmental Clinical Examinations) a été mise en place par Gillberg (Gillberg, 2010). Cette classification n'est pas une catégorie diagnostique mais elle permet d'englober ces nombreux troubles se manifestant dès la petite enfance et pouvant co-exister afin de mieux rendre compte de leur chevauchement.

En dehors de ces comorbidités neuropsychiatriques/développementales, d'autres comorbidités médicales peuvent être présentes. Des recherches récentes montrent une fréquence plus élevée d'eczéma, d'allergies, d'asthme, d'infections

ORL, de troubles gastro-intestinaux ou encore de céphalées chez les patients avec TSA (Kohane et al., 2012).

En conséquence, la mortalité est également augmentée chez les individus TSA avec des taux 3 à 10 fois supérieurs à ceux de la population générale (Bilder et al., 2013; Woolfenden et al., 2012). Les causes principales de ces décès plus précoces sont des complications provenant de ces comorbidités médicales comme les troubles respiratoires et gastro-intestinaux ou encore l'épilepsie (Bilder et al., 2013; Mouridsen et al., 2008; Shavelle et al., 2001; Woolfenden et al., 2012).

Il a également été montré que les adultes avec TSA ont un risque plus important de développer un diabète, une maladie coronarienne ou encore un cancer si une prévention n'est pas mise en place suffisamment tôt (Tyler et al., 2011).

Les enfants TSA ont également une vulnérabilité plus grande au rachitisme, une ostéomalacie ou une déminéralisation osseuse (Neumeyer et al., 2015).

Trouble ESSENCE	Prévalence
TSA	1%
Déficience intellectuelle	1,5%
Trouble Déficit de l'Attention / Hyperactivité	5%
Trouble d'Acquisition de la Coordination	5%
Trouble Oppositionnel avec Provocation	4%
Trouble de la Parole et de la Communication	2-4%
Tics ou syndrome de Gilles de la Tourette	1%
Trouble bipolaire	1%
Trouble Réactionnel de l'Attachement	0,5-1%
Syndromes avec phénotype comportemental	1%
Syndromes épileptiques rares	0,01%
Total (prenant en compte le chevauchement)	7-10%

Tableau 1. Liste des différents troubles ESSENCE et leurs fréquences. (Adapté de Gillberg, 2010).

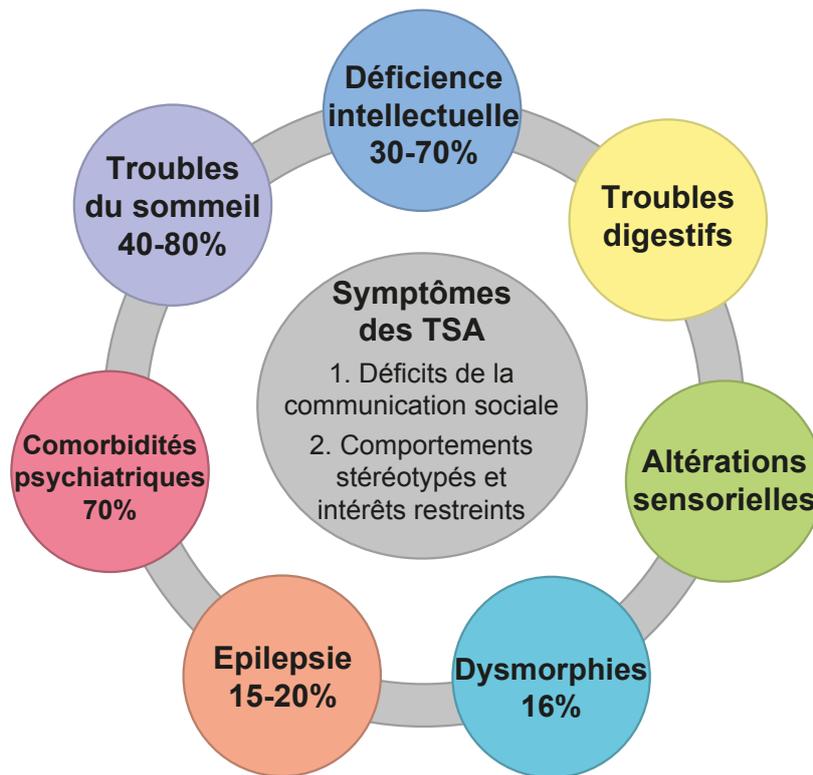


Figure 2. Symptômes clés et principales comorbidités des TSA

1.1.5. Sex-ratio

Il existe, dans la prévalence des TSA, comme pour d'autres troubles neuropsychiatriques comme les TDAH ou le syndrome de Tourette, un biais masculin assez prononcé. Le sex-ratio est, en moyenne, de quatre garçons atteints pour une fille atteinte.

A ce jour, les mécanismes responsables de ce biais masculin n'ont pas encore été complètement élucidés mais il est estimé que plusieurs facteurs, à la fois biologiques et sociaux, entrent en jeu. Il existerait alors des facteurs protecteurs liés au sexe féminin mais aussi des facteurs de risque liés au sexe masculin. Ces facteurs pourraient être génétiques, épigénétiques ou environnementaux (Constantino, 2017).

Une observation intéressante est que ce déséquilibre diminue avec la sévérité des symptômes et notamment la présence d'une déficience intellectuelle. Ainsi, lorsque le QI de l'enfant est inférieur à 50, le sex-ratio est <2 :1 alors qu'il monte jusqu'à 8 :1 chez les patients atteints de TSA sans déficience intellectuelle (Miles et al., 2005).

1.1.5.1. Mécanismes génétiques

Il existe bien évidemment des différences sur le plan génétique impliquant notamment des gènes situés sur les chromosomes sexuels comme en témoigne la présence de traits autistiques chez des individus porteurs de caryotypes anormaux comme les individus atteints du syndrome de Klinefelter (47,XXY) (Bishop et al., 2011; Geschwind et al., 2000; van Rijn and Swaab, 2011; Tartaglia et al., 2010) ou du syndrome de Turner (45,X) (Skuse et al., 1997) mais aussi chez les patients atteintes du syndrome de Rett et les patients atteints d'X-fragile ainsi que l'association aux TSA de nombreux gènes liés à l'X (par exemple, NLGN3 et NLGN4X).

Cependant, les gènes portés par les chromosomes sexuels ne peuvent être que partiellement responsables de la vulnérabilité aux TSA puisque la majorité des gènes à risque sont autosomaux.

1.1.5.1.1. Risque lié au chromosome Y

Il existerait alors des gènes à risque spécifiques du chromosome Y, comme le gène SRY. Le gène SRY code pour un facteur de transcription comportant une boîte HMG (High Mobility Group) qui reconnaît des séquences spécifiques de certaines régions régulatrices de l'expression des gènes afin de stimuler leur transcription.

Même si SRY est majoritairement exprimé dans les testicules, il est aussi exprimé dans d'autres tissus comme le cœur, les poumons, le foie, le rein et certaines régions cérébrales. Dans le cerveau humain, SRY est exprimé dans le rostre médian de l'hypothalamus et dans les cortex frontaux et temporaux (Mayer et al., 1998).

Il a été montré que SRY régulerait positivement la biosynthèse de catécholamines cérébrales (Milsted et al., 2004) et qu'il régulerait également l'expression du gène *MAOA* (monoamine oxidase A) codant pour une enzyme impliquée dans le métabolisme des catécholamines (Wu et al., 2009). De façon intéressante, *MAOA* a été associé aux TSA lors de plusieurs études (Cohen et al., 2011, 2003; Verma et al., 2014; Yoo et al., 2009) et il a été montré que le métabolisme des catécholamines pourrait être impliqué dans l'étiologie de plusieurs troubles neuropsychiatriques à dominance masculine (Harrison and Tunbridge, 2008; Martin'eau et al., 1994; Radoeva et al., 2014; Tunbridge and Harrison, 2010).

1.1.5.1.2. Facteurs protecteurs liés au chromosome X

Bien que les individus de sexe féminin aient deux chromosomes X, seul l'un des deux est généralement exprimé. Un mécanisme épigénétique appelé « inactivation du chromosome X » permet d'inhiber l'expression des gènes d'un des deux chromosomes afin d'empêcher un déséquilibre de dosage génique par rapport aux individus de sexe masculin.

L'inactivation du chromosome X se déroule au stade blastocyste et est supposé être aléatoire. Certaines cellules exprimeront alors soit l'allèle paternel, soit l'allèle maternel, entraînant un mosaïcisme au sein d'un même tissu.

Ainsi, chez les individus de sexe féminin, les effets d'une mutation sur un allèle du chromosome X peuvent être atténués car cet allèle ne sera exprimé qu'environ dans la moitié des cellules.

De façon intéressante, environ 15% des gènes présents sur le chromosome X échappent à cette inactivation et peuvent être toujours exprimés même s'ils sont situés sur le chromosome inactivé (Berletch et al., 2011). Cela suggère un éventuel besoin d'avoir deux copies de certains gènes afin que le développement puisse se faire normalement chez les individus de sexe féminin (Marco and Skuse, 2006). Il n'est alors pas impossible que certains gènes liés à l'X aient des effets spécifiques au sexe de l'individu. En effet, même s'ils sont transcrits chez les deux sexes, le dosage génique peut-être plus important chez les individus de sexe féminin, soit avant que l'inactivation ait lieu soit parce que certains gènes échappent à cette inactivation.

Une étude récente, analysant l'inactivation du chromosome X de plus de 5500 transcriptomes issus de 29 tissus post-mortem de 449 individus et de 940 transcriptomes de cellules uniques issus de 4 individus, a pu montrer que, pour au moins 23% des gènes du chromosome X, l'inaction du chromosome X était incomplète et qu'il existait bien un échappement à cette inactivation, entraînant ainsi une plus grande diversité phénotypique et pouvant engendrer des différences sexe-spécifiques dans l'expression de ces gènes (Tukiainen et al., 2017).

Par ailleurs, il peut exister, chez certaines femmes, une inactivation biaisée du chromosome X en faveur du chromosome maternel ou du chromosome paternel. Ce mécanisme d'inactivation biaisé est rare dans la population générale (Amos-Landgraf et al., 2006) mais il est relativement plus fréquent chez les femmes porteuses de mutations liées à l'X (Cazzola et al., 2000; M Plenge et al., 2002) probablement en conséquence d'un avantage des cellules porteuses de l'un des allèles favorisant leur

croissance par exemple (Muers et al., 2007). En 2008, une étude du laboratoire a montré qu'au niveau populationnel il n'y avait pas d'augmentation du taux d'inactivation biaisé du chromosome X chez les patientes TSA et leurs mères par rapport à des femmes témoins. Cependant, dans cette même étude, les individus de sexe féminin de trois familles porteuses de mutations liées à l'X (*NLGN3*, *ATRX*, *MECP2*) présentaient une inactivation biaisée du chromosome X suggérant que ce type d'analyse pourrait aider pour l'identification de cas de TSA avec des mutations liées à l'X (Gong et al., 2008).

Enfin, la présence de régions à empreinte parentale sur le chromosome X pourrait également avoir un effet sur les différences liées au sexe dans les capacités sociales. Par exemple, Skuse et collaborateurs ont observé des différences dans la sévérité des déficits sociaux chez des patientes atteintes du syndrome de Turner en fonction de l'origine parentale de leur chromosome X. Les déficits étaient plus importants si le chromosome X était d'origine maternelle. Il ont alors émis l'hypothèse de l'existence d'une région provenant du chromosome X paternel qui serait protectrice vis-à-vis des déficits sociaux (Skuse et al., 1997).

Ainsi, les individus de sexe masculins seraient plus à risque pour ces déficits et donc pour les TSA puisque seul le chromosome X maternel est hérité alors que les individus de sexe féminin possèdent à la fois la copie maternelle et paternelle.

1.1.5.1.3. Pénétrance incomplète

L'analyse des données génétiques de la Simons Simplex Collection (SSC) a mis en évidence que les CNVs *de novo* portés par les filles TSA affectaient, en moyenne, un plus grand nombre de gènes par rapport aux garçons TSA (Sanders et al., 2011),

notamment au niveau des microduplications (Levy et al., 2011). De plus, les gènes touchés par ces CNVs étaient fonctionnellement plus importants (Gilman et al., 2011).

Par ailleurs, Pinto et collaborateurs ont montré que les filles TSA étaient statistiquement plus souvent porteuses de CNVs à forte pénétrance et qu'elles étaient également plus susceptibles d'avoir une délétion d'un gène cible de la protéine FMRP (Pinto et al., 2014).

Une autre étude montre des taux de mutations plus élevés chez les filles atteintes de troubles neurodéveloppementaux par rapport garçons atteints (Jacquemont et al., 2014).

Ensemble, ces études suggèrent l'existence d'un seuil de tolérance aux mutations plus élevé chez les individus de sexe féminins.

De façon intéressante, une étude de 2009 a montré que le sex-ratio des TSA diminuait quand l'âge du père lors de la conception augmentait. Ainsi, lorsque le père était âgé de moins de 30 ans, le sex-ratio était de 6,2 :1 alors que lorsque le père avait plus de 45 ans à la conception, il descendait à 1,2 :1 (Anello et al., 2009).

1.1.5.2. Autres mécanismes

1.1.5.2.1. Effets de la testostérone

Certaines études montrent un effet de la testostérone sur le développement cérébral lors des périodes pré- et post-natales (Auyeung et al., 2010; Baron-Cohen et al., 2005) qui rendrait le cerveau masculin plus vulnérable durant le neurodéveloppement (Auyeung et al., 2013; Constantino and Charman, 2012).

Il a, par ailleurs, été montré que les niveaux de testostérone fœtaux étaient négativement corrélés avec certains traits sociaux comme la fréquence de contacts visuels, la richesse du vocabulaire de l'enfant, la qualité des relations sociales, l'empathie et la capacité à reconnaître des émotions complexes (Chapman et al., 2006). En revanche, il existait une corrélation positive entre les dosages de testostérone fœtaux et la présence d'intérêts restreints.

Enfin, certaines études ont mis en évidence une corrélation positive entre les niveaux de testostérone fœtaux et la présence de traits autistiques chez des enfants âgés entre 18 et 24 mois (Auyeung et al., 2010, 2012) et entre 6 et 10 ans (Auyeung et al., 2009).

1.1.5.2.2. Différences phénotypiques

Il existe également des différences entre les garçons et les filles TSA concernant certains traits autistiques. Certains symptômes sont ainsi plus importants chez les garçons, comme les stéréotypies, les comportements et intérêts répétitifs restreints. Par ailleurs, ils présentent plus souvent un comportement agressif et de l'hyperactivité. Les filles, quant à elles, souffrent plus souvent d'anxiété ou de dépression. Ces différences pourraient être en partie responsables du biais masculin dans la prévalence des TSA puisque le comportement des garçons TSA attirerait plus l'attention et ils seraient ainsi plus aisément diagnostiqués (Giarelli et al., 2010).

Certaines études montrent également que les filles TSA auraient de meilleures capacités sociales et émotionnelles par rapport aux garçons TSA et qu'elles seraient

capables de camoufler leurs déficits sociaux en mémorisant et imitant les comportements sociaux typiques (Head et al., 2014; Kreiser and White, 2014; Wing, 1981).

Il est aussi possible que la surreprésentation masculine dans les TSA soit due à un biais des outils diagnostiques, comme l'ADOS ou l'ADI-R, qui sont plus à même de détecter ces troubles chez les garçons et ne prennent que trop peu en considération les symptômes plus subtiles présents chez les filles (Baron-Cohen et al., 2011).

Par exemple, une étude récente du laboratoire, menée sur deux cohortes indépendantes, a montré qu'il existait des différences significatives entre les patients masculins et féminins au niveau de plusieurs items de l'ADI-R. Les patients masculins présentaient des scores supérieurs pour les items « préoccupations inhabituelles », « intérêts restreints » et « jeu imaginatif » alors que les filles atteintes de TSA présentaient des scores supérieurs pour les items « diversité des expressions faciales utilisées pour communiquer », « auto-mutilation » et « compétence en dessin » (Beggiato et al., 2017).

1.2. Etiologie des Troubles du Spectre Autistique

Les TSA ont une étiologie complexe, résultant de l'interaction de facteurs génétiques et environnementaux. Cependant, des études d'agrégation familiale ainsi que des études de jumeaux ont permis de mettre en évidence l'importance de la composante génétique de l'autisme.

1.2.1. Héritabilité des TSA

Les études de jumeaux représentent une méthodologie puissante afin d'estimer la contribution des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux dans l'apparition d'un phénotype.

Ces études comparent généralement le taux de concordance du phénotype entre jumeaux monozygotes (MZ) et dizygotes (DZ). Les jumeaux MZ partagent, en théorie, l'intégralité de leur génome alors que les jumeaux DZ partagent en moyenne 50% de leur génome. Dans les deux cas, ils partagent également le même environnement péri- et post-natal. La comparaison des concordances phénotypiques entre jumeaux MZ et DZ permet alors d'avoir une mesure de l'importance des facteurs génétiques dans le développement de ce phénotype.

La première étude de jumeaux sur les TSA a été publiée par Folstein et Rutter en 1977 suite au recrutement, au Royaume-Uni, de 21 paires de jumeaux (11 MZ et 10 DZ) dont au moins l'un était atteint de TSA. Les critères diagnostiques étaient ceux de Kanner et les résultats de l'étude étaient révolutionnaires à cette époque puisqu'ils montraient, de façon solide, l'importance des facteurs génétiques dans la vulnérabilité aux TSA.

La première étude comprenant plus d'une centaine de paires de jumeaux (Missouri Twin Study) date de 2000 et trouvait un taux de concordance entre MZ de 73% alors qu'il n'était que de 37% pour les DZ ainsi qu'une héritabilité de 76% (Constantino and Todd, 2000). En 2006, l'étude de jumeaux sur la cohorte de la Twins Early Development Study (3419 paires de jumeaux) retrouvait une héritabilité de 71-77% (Ronald et al., 2006).

L'étude de Colvert et al de 2015 sur 6423 paires de jumeaux (toujours de la Twins Early Development Study) a révélé un taux de concordance entre jumeaux MZ

allant de 77 à 99 % alors qu'il n'est que de 22 à 65% pour les jumeaux DZ et estime que l'héritabilité serait de 56 à 95% selon la méthode diagnostique (56% avec l'ADI-R, 76% avec l'ADOS et 95% avec une méthode regroupant plusieurs outils diagnostiques). Cela souligne l'importance de l'évaluation diagnostique dans ces études (Colvert et al., 2015).

Plus récemment, une méta-analyse des études de jumeaux a estimé une héritabilité des TSA entre 64 et 91% (Tick et al., 2016).

Par ailleurs, les études d'agrégation familiales montrent également l'importance des facteurs génétiques dans l'étiologie des TSA. La plus grande étude d'agrégation familiale a été publiée en 2014 par Sandin et collaborateurs sur un échantillon de plus de 2 millions d'enfants suédois (dont près de 20 000 enfants avec TSA) a calculé le risque relatif qu'un individu soit atteint de TSA lorsqu'un autre membre de la famille est atteint, par rapport au risque qu'un individu soit atteint lorsqu'aucun membre de la famille ne l'est. Ce risque relatif était de 153 pour les jumeaux MZ ; 8,2 pour les jumeaux DZ ; 10,3 chez les frères et sœurs ; 3,3 et 2,9 pour les demi-frères/sœurs maternels et paternels respectivement ; 2,0 pour les cousins (Sandin et al., 2014).

Cependant, malgré l'importance de l'héritabilité des TSA, il reste difficile à ce jour d'identifier leurs causes, notamment en raison de la forte variabilité phénotypique des patients.

1.2.2. Facteurs génétiques impliqués dans les TSA

Le génome de chaque individu comporte, en moyenne, 3 millions de variations génétiques par rapport à la séquence référence du génome humain. La plupart de ces

mutations sont soit des mutations ponctuelles n'affectant qu'un seul nucléotide, que l'on appelle communément des SNVs (Single Nucleotide Variants), soit des petites variations structurelles comme des insertions ou délétions appelés indels (2-1000 paires de bases) ou encore des Variations du Nombre de Copies (CNVs) lorsque ces microduplications ou microdélétions ont une taille supérieure à 1000 paires de bases.

La très grande majorité de ces variants sont fréquents, affectant plus de 5% de la population. Cependant, chaque individu possède environ 130 000 variants rares et 40 à 110 variants associés à certaines maladies et listés dans la base de donnée Human Gene Mutation Database (Fu et al., 2013; The Genome of the Netherlands Consortium, 2014; Xue et al., 2012).

L'importance d'un variant dans l'établissement d'un certain trait phénotypique ou d'une maladie est estimée en fonction de sa fréquence dans la population générale, sa taille d'effet, c'est-à-dire la puissance de son association avec le trait étudié, et sa pénétrance, définie comme la proportion d'individus porteurs du génotype qui exprime le phénotype.

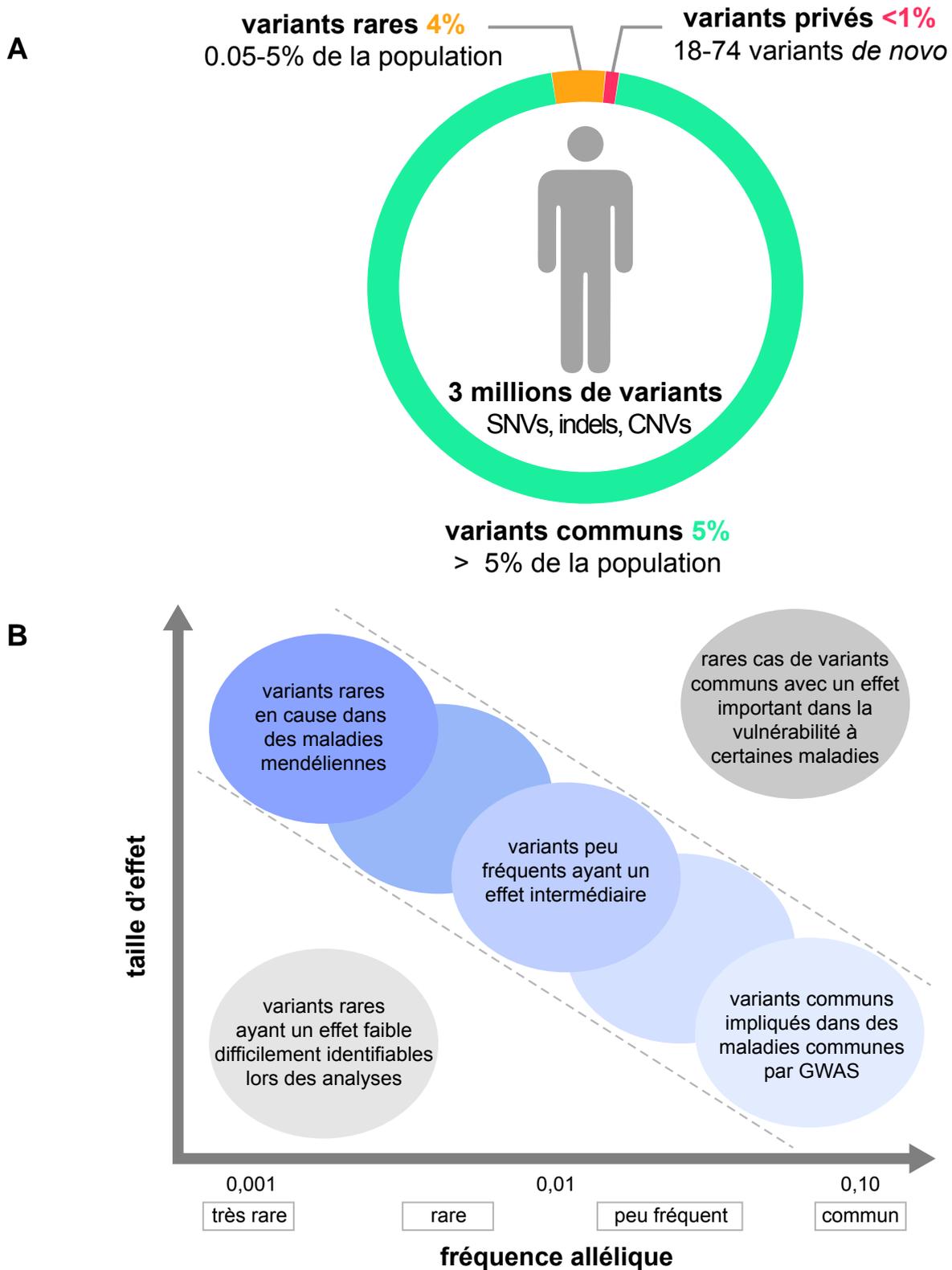


Figure 3. (A) Proportions des différentes fréquences de variants au sein du génome d'un individu (B) Les différentes catégories et la détection des variants liés à des pathologies en fonction de leur fréquence allélique et leur taille d'effet. La majorité des études génétiques se concentrent sur l'identification des catégories de variants dans la zone pointillée. (Adapté de McCarthy et al., 2008)

1.2.2.1. Implication des variants fréquents

Les variants fréquents sont définis comme des variations de séquence par rapport au génome de référence humain mais qui sont présentes dans plus de 1% de la population. Ils sont également appelés polymorphismes.

Plusieurs études visant à estimer l'héritabilité des TSA à travers des données de génotypage de marqueurs fréquents ont mis en évidence le rôle des variants communs dans le développement des TSA. Il est ainsi probable que plusieurs variants fréquents, avec des effets limités, puissent, de façon additive, contribuer à la vulnérabilité aux TSA (Klei et al., 2012; Lee et al., 2013; Gaugler et al., 2014).

Lors d'une étude récente, il a même été montré que la vulnérabilité aux TSA était majoritairement attribuable aux variants fréquents puisqu'ils représenteraient 49% du risque contre 3% pour les mutations rares et 3% pour les mutations de novo (Gaugler et al., 2014).

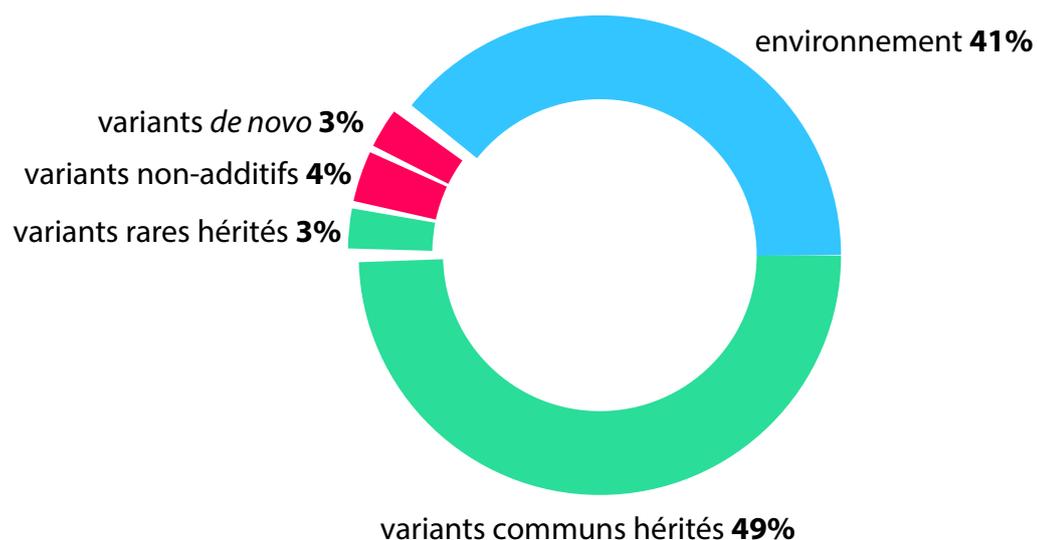


Figure 4. Contribution des différents types de variants impliqués dans la vulnérabilité aux TSA, adapté de Gaugler et al 2014.

L'identification de ces variants fréquents reste cependant épineuse puisqu'ils sont nombreux et que leurs effets sont faibles. De nombreuses études d'associations pangénomiques (GWAS) ont été menées dans le but d'identifier des SNPs associés aux TSA.

Trois GWAS indépendants permettant l'association de marqueurs dépassant le seuil de significativité pangénomique ont été menées. Deux de ces études ont été menées sur 500 000 SNPs et ont permis l'association significative de deux loci différents, rs4307059 (5p14.1) à proximité des gènes *CDH9* et *CDH10* (Wang et al., 2009) codant pour des protéines d'adhésion cellulaire et rs10513025 (5p15.2) à proximité du gène *SEMA5A* codant pour une protéine du guidage axonal (Weiss et al., 2009). La troisième a été menée sur 1 million de SNPs a mis en évidence l'association du marqueur rs4141463 (20p12.1) dans une région intronique du gène *MACROD2* dont la fonction n'est pas encore bien connue (Anney et al., 2010).

Ces résultats n'ont pas pu être répliqués depuis, possiblement en raison des tailles d'échantillons et des effets trop faibles lors des études aboutissant à un pouvoir statistique réduit.

Ces difficultés proviennent probablement également de la forte hétérogénéité phénotypique des TSA. Certaines analyses ont donc été menées en utilisant des phénotypes quantitatifs ou des sous-phénotypes mais cela n'a pas suffi à augmenter le pouvoir statistique (Chaste et al., 2015; Connolly et al., 2013).

Depuis, des collaborations internationales, regroupant différentes cohortes et augmentant ainsi la taille d'échantillon ont été entreprises afin de combiner les

données de génotypage de cohortes indépendantes et d'augmenter le pouvoir statistique des études d'association.

En 2017, une grande méta-analyse regroupant 14 cohortes indépendantes et plus de 7000 patients a été publiée (The Autism Spectrum Disorders Working Group of The Psychiatric Genomics Consortium, 2017). Cependant, malgré cette augmentation considérable de la taille d'échantillon et du pouvoir statistique, aucun SNP ni aucun gène n'a pu être associé aux TSA de façon significative à l'échelle du génome entier. Ces résultats ne sont pas surprenants car, lors de l'étude d'autres maladies, des cohortes dix fois plus grandes ont été nécessaires afin de trouver des résultats répliquables. Par exemple, les GWAS portant sur la schizophrénie ont pu identifier dix fois plus de loci en augmentant la taille d'effectif de 10 000 patients à 50 000 participants (Geschwind and State, 2015). Cependant, l'étude a tout de même permis l'identification de marqueurs probablement impliqués dans les TSA, à proximité des gènes *CUEDC2* (CUE domain containing 2), *PITX3* (Pituitary Homeobox 3), *HDAC4* (Histone Deacetylase 4) et *MACROD2* (Macro domain-containing 2), à travers la réplication des résultats dans une cohorte indépendante. Par ailleurs, certains groupes de gènes associés à la structure et à la fonction synaptiques (gènes codant pour des protéines PDZ domain-binding, des protéines impliquées dans la voie beta-caténine, l'activité des récepteur glutamatergiques et dans la formation de jonctions adhérentes) étaient enrichis en mutations chez les patients. De plus, cette méta-analyse a permis d'estimer une corrélation génétique entre les TSA et la schizophrénie d'environ 23%.

Afin de pouvoir identifier correctement des variants communs de vulnérabilité aux TSA, il faudrait encore augmenter très largement la taille des cohortes (Geschwind and State, 2015).

Dans le but de prendre en compte, de façon additive, la contribution de plusieurs variants fréquents ayant des effets limités, de nombreuses études ont utilisé une méthodologie appelée Score de Risque Polygénique ou Polygenic Risk Score (PRS). Ces PRS permettent de regrouper les effets génétiques d'un ensemble de marqueurs qui n'atteignent pas, de façon individuelle, le seuil de significativité lors des études d'associations (Chatterjee et al., 2013; Dudbridge, 2013; International Schizophrenia Consortium, 2009).

Ainsi, le PRS d'un individu dépend de la somme de ses génotypes pondérés par leurs tailles d'effet sur le phénotype étudié. Les tailles d'effet sont généralement estimées à partir de résultats de GWAS publiés et seuls les variants en dessous d'un certain seuil de P-value sont inclus dans le PRS. Le PRS reflète donc, pour un individu donné, les facteurs de risque génétiques pour la maladie étudiée attribuables aux variants communs. Cette approche peut être utilisée pour établir une base génétique commune entre différentes maladies proches ou pour estimer la vulnérabilité d'un individu de développer une certaine maladie. Le PRS a, tout d'abord, été utilisé avec succès lors d'une étude GWAS sur la schizophrénie, montrant un chevauchement des risques génétiques entre schizophrénie et trouble bipolaire (International Schizophrenia Consortium, 2009).

Lors de l'une des premières utilisations du PRS pour les TSA, en 2012, une étude GWAS sur une cohorte de plus de 1300 familles a permis de prédire le risque de TSA dans une seconde cohorte indépendante de plus de 1400 familles (Anney et

al., 2012). En 2013, une étude menée sur 33 332 patients atteints de troubles neuropsychiatriques (TSA, TDAH, schizophrénie, trouble bipolaire et trouble dépressif majeur) et 27 888 individus témoins a montré qu'il existait un chevauchement entre le PRS calculé sur la cohorte des patients TSA et celle des patients schizophrènes, démontrant ainsi une étiologie génétique commune entre les deux troubles (Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2013).

Plus récemment, une étude a montré une corrélation positive entre le PRS pour les TSA et les capacités cognitives générales, la mémoire logique et l'intelligence verbale dans une cohorte d'individus témoins, suggérant ainsi que les variants communs impliqués dans la vulnérabilité aux TSA joueraient un rôle dans les aptitudes cognitives générales (Clarke et al., 2016). Lors d'une autre étude, le PRS pour les TSA a également été associé à une meilleure réussite universitaire (Bulik-Sullivan et al., 2015).

Weiner et collaborateurs ont réalisé, en 2017, une étude, sur plus de 6000 familles avec un enfant TSA, étendant la célèbre méthodologie du test de déséquilibre de transmission (TDT) à celle des PRS. Lors d'un TDT, les fréquences de transmission de variants génétiques des parents à leurs enfants sont calculées et les variants transmis, de façon significative, plus que la moitié du temps d'un parent hétérozygote non atteint à un enfant atteints sont considérés comme associés au phénotype.

A travers cette nouvelle approche, les auteurs ont montré à nouveau que les variants communs prédictifs des TSA, de la schizophrénie et de la réussite universitaire étaient associés à la vulnérabilité aux TSA dans leurs familles, et ce,

indépendamment de la présence de déficience intellectuelle chez les patients. L'étude retrouve également un rôle des variants communs dans la vulnérabilité aux TSA, même chez les patients porteurs de mutations *de novo* extrêmement délétères (Weiner et al., 2017).

De façon intéressante, une étude, publiée en 2017, se basant sur le même principe que le PRS a mis en évidence un enrichissement, au sein des variants communs associés aux TSA, en marques de sélection positive. L'étude suggère que, bien qu'il semble que les variants rares à risque dans les TSA soient soumis à une sélection purificatrice, les variants communs, seraient, quant à eux, sélectionnés positivement en raison des avantages qu'ils confèrent en terme de capacités cognitives (Polimanti and Gelernter, 2017).

1.2.2.2. Implication des variants rares et *de novo*

Puisque les variants fréquents, malgré leur rôle prépondérant, restent difficilement identifiables, c'est à travers l'identification de mutations rares et *de novo* que la découverte de gènes associés et la compréhension des mécanismes sous-tendant les TSA ont été les plus fructueuses.

1.2.2.2.1 Définition des variants rares et *de novo*

Les variants rares sont présents chez moins d'1 % de la population. Ces variants peuvent être hérités ou bien *de novo*, lorsque le variant est porté par l'enfant mais par aucun des deux parents. Ces variants apparaissent soit lors du développement embryonnaire précoce soit dans lors de la gamétogenèse chez l'un des parents (Goldmann et al., 2016). Ces variants *de novo*, peuvent être, tout comme les variants hérités, des CNVs, des indels, ou des SNVs.

Les études montrent un taux de mutation d'environ 1.10^{-8} mutations par nucléotide par génération donnant alors lieu à 44-82 mutations *de novo* par génome (Campbell and Eichler, 2013; Kong et al., 2012).

Les SNVs *de novo* sont presque 4 fois plus souvent d'origine paternelle, probablement en raison du nombre plus élevé de divisions cellulaires lors de la spermatogenèse. Leur nombre augmente avec l'âge du père à la conception avec, en moyenne, 2 mutations *de novo* supplémentaires chaque année (Kong et al., 2012).

Les CNVs *de novo*, quant à eux, proviennent aussi souvent du père que de la mère (Glessner et al., 2009; Pinto et al., 2014; Sanders et al., 2011).

Un grand nombre d'études se sont intéressées aux CNVs, détectés à travers l'usage de puces de génotypage de plus ou moins haute définition et ont permis l'identification de CNVs *de novo* associés aux TSA (Levy et al., 2011; Marshall et al., 2008; Sanders et al., 2011; Sebat et al., 2007; Szatmari et al., 2007). Ces études montrent que la quantité de CNVs *de novo* chez les patients serait supérieure à celles des individus témoins. Ces études montrent que 5 à 15% des patients TSA seraient porteurs de CNVs *de novo* alors que c'est le cas pour seulement 1 à 2% de la population générale (Glessner et al., 2009; Pinto et al., 2014).

Par ailleurs, les patients présenteraient également en moyenne un nombre de mutations ponctuelles exoniques *de novo* supérieur à leurs frères et sœurs non atteints (1,02 vs 0,79 mutation par exome) mais ils seraient porteurs de 2 à 3 fois plus de mutations *de novo* LGD (De Rubeis et al., 2014; Iossifov et al., 2014; Krumm et al., 2014; Neale et al., 2012; O'Roak et al., 2012a; Samocha et al., 2014).

Certaines mutations *de novo* suffisamment pénétrantes pour être responsable des troubles de l'enfant seraient retrouvées dans 11% des patients issus de familles simplex, où un seul membre de la famille est atteint (Sanders et al., 2015). Ces mutations « causales » sont plus fréquemment retrouvées chez des individus ayant des TSA plus sévères, accompagnés de déficience intellectuelle (Bourgeron, 2015).

De façon intéressante, il est également possible de retrouver des mutations *de novo* augmentant la vulnérabilité aux TSA chez des patients issus de familles multiplex où plusieurs individus sont atteints (Yuen et al., 2015).

Les variants rares hérités sont plus difficiles à interpréter car leur pénétrance est souvent incomplète (Stein et al., 2013) mais il a été montré, lors d'une étude sur plus de 2000 familles, que les patients présentaient d'avantage de mutations rares et tronquantes dans des gènes intolérants aux mutations (Krumm et al., 2015).

Par ailleurs, certains CNVs rares et hérités, identifiés lors de certaines études, impliquent les mêmes gènes que certains CNVs *de novo*, ce qui souligne également leur rôle dans l'étiologie des TSA (Fernandez et al., 2010; Vaags et al., 2012).

1.2.2.2.2 Cas de l'autisme syndromique

Chez certains patients, il est possible de trouver une seule mutation rare et endommageante, suffisamment pénétrante et affectant un gène important pour le neurodéveloppement, qui pourrait à elle-seule expliquer les TSA de l'individu.

C'est notamment le cas de l'autisme syndromique où les TSA sont une manifestation de syndromes génétiques connus qui concernent environ 10% des

patients TSA (Benvenuto et al., 2009). Les troubles sont alors souvent accompagnés de caractères dysmorphiques.

Cependant, les causes génétiques identifiées dans l'autisme syndromique ne sont pas spécifiques des TSA puisqu'au sein de chacun de ces syndromes, il existe des individus avec et sans autisme.

Ces causes génétiques peuvent être des anomalies chromosomiques ou des mutations ponctuelles fortement pénétrantes. L'étude des mutations responsables de l'autisme syndromique a permis de fournir les premières pistes sur les voies biologiques altérées dans les TSA.

Syndrome	Mutations	Phénotypes
X fragile	<i>FMR1</i>	Dysmorphies faciales, hypotonie, déficience intellectuelle, troubles de l'apprentissage, troubles du langage, retard de développement, déficit attentionnel, TSA
Syndrome de Rett	<i>MECP2</i>	Régression développementale, microcéphalie, déficit cognitif et moteur, épilepsie, stéréotypies, TSA sévères.
Sclérose Tubéreuse	TSC1, TSC2	Tumeurs cérébrales, implication de plusieurs organes (reins, poumons, cœur, yeux et peau), déficit intellectuel, troubles de l'apprentissage, automutilation, trouble obsessionnel compulsif, TDAH, épilepsie, agressivité, TSA
Neurofibromatose	NF1	Troubles de la pigmentation, neurofibromes, scoliose, tumeur de l'iris, déficit cognitif, épilepsie, TSA
Syndrome de Williams-Beuren	7q11.23 del	Troubles cardiaques et gastro-intestinaux, strabisme, hyperacousie, phonophobie, troubles visuels, syndrome cérébelleux, hypertonie, retard moteur, déficience intellectuelle, déficit d'inhibition sociale, TSA
Dup15q	Dup 15q11-q13, GABRB3	Hypotonie, dysmorphies faciales, petite taille, retard moteur et cognitif, retard de langage, troubles du comportement, épilepsie, TSA
Syndrome de Prader-Willi	Del 15q11-q13 sur l'allèle paternel	Dysmorphies faciales, hypogonadisme, hypopigmentation, de petites mains et pieds, hyperphagie, obésité morbide, trouble obsessionnel compulsif, trouble de l'humeur et du comportement, TSA
Syndrome d'Angelman	Del 15q11-q13 sur l'allèle maternel	Dysmorphies faciales, strabisme, troubles du sommeil, retard de développement, troubles du langage, ataxie, déficit attentionnel, épilepsie, TSA
16p11.2	16p11 del	Dysmorphies, hypotonie, surpoids, retard de langage, troubles de l'apprentissage, épilepsie, TSA
22q11	22q11.2 dup	Retard de croissance, hypotonie, retard de développement psychomoteur, troubles de l'apprentissage, déficience intellectuelle, TSA
Syndrome de DiGeorge	22q11.2 del	Dysfonctionnement de différents organes (cœur, reins, système digestif, squelette), dysmorphies faciales, bec de lièvre, anomalies immunitaires, hypocalcémie, perte d'audition, retard moteur, troubles de l'apprentissage, troubles psychiatriques (schizophrénie, anxiété, troubles de l'humeur), TDAH, TSA
Syndrome de Phelan-McDermid	22q13.3 del <i>SHANK3</i>	Dysmorphies, ptose, troubles rénaux, hypotonie, retard de croissance, déficience intellectuelle, hyposensibilité à la douleur, retard ou absence de langage, TSA

1.2.2.2a Le syndrome de l'X fragile

Le syndrome de l'X fragile représente l'une des causes héritées les plus fréquentes dans la déficience intellectuelle avec une prévalence d'environ 1:5000–7000 garçons atteints et 1:4000–6000 filles. Les troubles sont plus sévères chez les garçons. 30-50% des garçons atteints et 25% des filles atteintes présentent des TSA (M. Wadell et al., 2013; Talisa et al., 2014; Wheeler et al., 2015). La variation génétique en cause dans le syndrome de l'X fragile est une expansion de triplets CGG dans la région 5'UTR du gène *FMR1*, sur le chromosome X, aboutissant à une hyperméthylation du promoteur du gène et donc une répression de la synthèse de la protéine FMRP (Oberlé et al., 1991). FMRP est une protéine qui se lie à l'ARN et qui régule négativement la traduction de nombreux gènes impliqués dans le développement et la plasticité synaptique. Elle régule notamment l'expression de gènes associés aux TSA comme les neuroligines, les neurexines, les SHANK (Darnell et al., 2011).

1.2.2.2b Le syndrome de Rett

Le syndrome de Rett est un trouble lié à l'X qui affecte environ 1 fille sur 10 000. 25 à 40 % des patientes présentent des TSA (Moss and Howlin, 2009). Ce syndrome est causé par la présence de mutations dans le gène *MECP2* qui code pour un facteur de transcription se liant aux îlots CpG méthylés. *MECP2* est fortement exprimée dans le cerveau et est impliquée dans la synaptogenèse (Lyst and Bird, 2015).

1.2.2.2c Sclérose tubéreuse

La sclérose tubéreuse est un trouble neuropsychiatrique autosomique dominant affectant environ 1 personne sur 6000-10 000 et causé par des mutations dans le gène *TSC1* ou le gène *TSC2*. 60% des patients présentent des TSA (Moss and Howlin, 2009). Les mutations de ces gènes entraînent une hyperactivation de la voie mTOR, induisant une synthèse de protéines dendritiques anormale et l'altération des épines dendritiques (Ornoy et al., 2016).

1.2.2.2d SHANK et Phelan-McDermid

Les délétions de *SHANK3* (région 22q13) sont associées au syndrome de Phelan-McDermid et aux TSA. Les gènes *SHANK* (*SHANK1*, *SHANK2* et *SHANK3*) codent pour des protéines d'échafaudage synaptique et ont tous les trois été associés aux TSA. Lors d'une méta-analyse, des CNVs ou des mutations tronquantes des gènes *SHANK* ont été retrouvés dans près d'1% des patients TSA. De façon intéressante, il existe un gradient de sévérité des TSA en fonction du gène muté avec une déficience intellectuelle plus prononcée chez les patients ayant des mutations de *SHANK3* (Leblond et al., 2014).

1.2.2.2e Les syndromes de Prader-Willi et d'Angelman

Le syndrome de Prader-Willi est causé par la perte d'empreinte sur la région 15q11.2-13 paternelle, avec une prévalence d'environ 1/10 000 à 1/30 000 (Angulo et al., 2015), et le syndrome d'Angelman par la perte d'empreinte sur la région 15q11.2-13 maternelle, avec une prévalence d'environ 1/10 000 à 1/20 000 (Bird, 2014). Ces erreurs d'empreinte se produisent lors de la gaméto-genèse et entraînent une perte d'expression des gènes paternels dans le syndrome de Prader-Willi et une perte

d'expression du gène *UBE3A* (dont l'allèle maternel est celui qui est normalement exprimé) dans le syndrome d'Angelman (Nicholls et al., 1998).

1.2.2.2f Le syndrome de DiGeorge ou syndrome vélocardiofacial

Le syndrome de DiGeorge, appelé également syndrome cardio-vélo-facial, affecte près d'une personne sur 4000 et est causé par des délétions de la région 22q11.2 contenant plus de 30 gènes différents (McDonald-McGinn and Sullivan, 2011).

Cependant, même chez ces patients, où l'on estime qu'une seule mutation est suffisamment pénétrante pour expliquer les troubles, il est possible de retrouver d'autres variants participant à la vulnérabilité aux TSA. En effet, une étude portant sur plus de 2 000 enfants atteints de troubles neurodéveloppementaux sévères, porteurs de CNVs associés à une déficience intellectuelle et des anomalies congénitales a montré que 10% d'entre eux présentaient également un deuxième grand CNV (Girirajan et al., 2012).

1.2.2.3. Implication de variants récessifs

Peu de stratégies sont disponibles pour identifier des variants récessifs impliqués dans les troubles neurodéveloppementaux. La méthode la plus utilisée est celle de la cartographie d'homozygotie. Le plus souvent, elle est employée afin d'identifier des gènes à risque dans des familles consanguines, où les parents sont apparentés. Dans la majorité des cas, les parents sont cousins germains et partagent environ 1/8 de leurs allèles.

Cependant, des mutations homozygotes ont également été retrouvées chez des patients dont les parents n'ont qu'un lien de parenté très ancien, comme c'est le cas dans certaines populations, et même chez des patients dont les parents ne présentaient aucun lien de parenté (Gibson, 2006; Nalls et al., 2009). Il est donc possible de réaliser des analyses d'homozygotie sur des cohortes entières afin d'identifier des mutations récessives impliquées dans des troubles neurodéveloppementaux/neuropsychiatriques avec une composante génétique complexe et hétérogène (Bond et al., 2002; Lencz et al., 2007; Piao et al., 2004; Schuurs-Hoeijmakers et al., 2012).

Plusieurs études ont été menées afin d'identifier des régions ou des variants récessifs à risque dans les TSA.

Morrow et collaborateurs ont mis en évidence, chez des familles consanguines, la présence de délétions homozygotes participant largement à la vulnérabilité aux TSA. Ils ont, par ailleurs, montré que les patients avec des parents apparentés étaient plus susceptibles d'être porteurs de mutations causales héritées, probablement autosomiques et récessives (Morrow et al., 2008).

Sur cette même cohorte, Yu et collaborateurs ont effectué des analyses de séquençage d'exomes qui ont permis d'identifier des mutations homozygotes de *AMT*, *PEX7*, *SYNE1*, *VPS13B*, *PAH* et *POMGNT1* (Yu et al., 2013).

Une analyse d'homozygotie sur les données de séquençage d'exomes menée sur 16 patients TSA, issus de familles non consanguines mais dont les parents ont un lien de parenté ancien, de l'Autism Genetic Research Exchange (AGRE). L'analyse a permis d'identifier des mutations homozygotes ségrégeant parfaitement avec les TSA dans 4 familles et impliquant quatre nouveaux gènes candidats (*UBE3B*, *CLTCL1*, *NCKAP5L* et *ZNF18*) (Chahrour et al., 2012).

Enfin, Casey et collaborateurs, à travers l'analyse des régions homozygotes plus fréquemment partagées par les patients que par leurs apparentés témoins (sur 1400 trios de l'Autism Genome Project), ont montré qu'il existait des haplotypes homozygotes à risque chez les patients et que ceux-ci étaient enrichis en gènes associés aux TSA (Casey et al., 2012).

L'ensemble de ces données démontre un rôle des variants récessifs dans la vulnérabilité aux TSA au moins chez certains patients.

Une étude de 2013, portant sur plus de 900 patients et plus de 800 individus témoins, a mis en évidence que les patients avaient, en moyenne, deux fois plus de knock-outs complets de gènes, dus à la présence de mutations LGD rares homozygotes ou hétérozygotes composites, par rapport aux individus témoins et que ces mutations pourraient expliquer jusqu'à 3% de la vulnérabilité aux TSA (Lim et al., 2013).

1.2.2.4. Modèles génétiques des TSA

Différents modèles de transmission des TSA ont été proposés pour intégrer l'ensemble des connaissances actuelles sur leur architecture génétique et les différents rôles des variants en cause. L'état de nos connaissances indiquerait plutôt un modèle dans lequel la majeure partie du risque génétique résiderait dans l'effet additif de variants fréquents à laquelle s'ajouterait un rôle des mutations rares, *de novo* et héritées.

Cependant, il est supposable que, selon les familles, différents modèles existent, faisant intervenir un nombre d'allèles variable. On distingue ainsi les familles à « haut risque » et à « bas risque ».

Les familles à « haut-risque » seraient celles dont le génome des parents comporterait un nombre important de variants communs à risque participant de façon additive à la vulnérabilité aux TSA. Dans ces familles, l'enfant cumulerait alors un trop grand nombre de ces variants et dépasserait ainsi le « seuil de risque » nécessaire au développement des troubles.

A l'inverse, les familles à « bas-risque » sont celles dont le fond génétique ne contient que peu de variants communs à risque. Chez l'enfant, il faudra alors un plus grand nombre de mutations rares et délétères pour provoquer l'apparition des troubles. Dans ces cas, une mutation *de novo* suffisamment pénétrante peut être en cause dans les TSA.

Entre ces deux types de familles, il existerait également des familles à « risque intermédiaire » où la capacité du fond génétique à tamponner l'apparition de mutations rares et délétères serait variable en fonction du nombre de variants communs à risque présents. Plus la charge en variants communs à risque du fond génétique sera grande, moins il faudra de mutations rares et fortement pénétrantes avant l'apparition de TSA (Bourgeron, 2015).

En conclusion, la vulnérabilité aux TSA fait intervenir tous les types de variants, qu'ils soient communs, rares ou *de novo*, démontrant ainsi la complexité de ces troubles avec un grand nombre de facteurs de risque génétiques différents dans la population.

L'ensemble des analyses génétiques (caryotypes, analyses de CNVs et WES) retrouve une cause génétique dans presque 25% des cas et plus de 1000 gènes ont été associés aux TSA (la liste est disponible sur le site de Simons Foundation Autism Research Initiative). Pourtant, aucun de ces gènes ne peut expliquer plus d'1% des cas de TSA, ce qui confirme leur grande hétérogénéité génétique (Huguet et al., 2013).

Aujourd'hui, les analyses de génome entier sont plus abordables et sont donc de plus en plus fréquentes et pourraient permettre l'identification de mutations dans des régions non codantes et/ou régulatrices potentiellement en cause dans les TSA (C Yuen et al., 2017; Michaelson et al., 2012; Turner et al., 2016; Yuen et al., 2015).

Par exemple, une étude récente menée sur plus de 800 familles a pu montrer un excès de transmission de variants structuraux paternels, affectant des promoteurs ou des UTRs, aux patients par rapport à leurs frères et sœurs non atteints (Brandler et al., 2017).

Cependant, lors d'une étude récente de séquençage de génome sur plus de 500 familles, les auteurs n'ont pas identifié une contribution importante des mutations *de novo* ou rares détectées dans les séquences non codantes dans la vulnérabilité aux TSA. Ces résultats doivent néanmoins être interprétés prudemment car il faut tenir compte des difficultés actuelles rencontrées lors de l'analyse des variants non-codants. Ces difficultés sont notamment dues à l'absence d'équivalence du code génétique utilisé lors de l'analyse de séquences exoniques et permettant de déterminer l'impact fonctionnel d'un variant mais elles sont également probablement dues à la taille importante du génome non codante et au grand nombre de catégories de variants non-codants. Il semblerait tout de même que le risque relatif liés à la présence de variants rares dans les séquences non-codante soit modeste et qu'il

faudra probablement de très grandes cohortes afin d'identifier de tels variants à risque (Werling et al., 2017).

1.2.2.5. Gènes associés aux TSA

Les premiers gènes associés aux TSA ont pu être identifiés grâce aux formes syndromiques dans lesquelles un CNV pénétrant confère la partie majeure du risque.

L'association de gènes aux TSA à travers les études de séquençage d'exome provient essentiellement d'analyses de mutations *de novo* LGD, se basant sur l'observation de plusieurs mutations de ce type affectant le même gène chez plusieurs patients non apparentés (Neale et al., 2012; Sanders et al., 2012a). Iossifov et collaborateurs ont, de cette façon, pu associer 27 gènes aux TSA en analysant les données de la SSC comprenant plus de 2500 familles (Iossifov et al., 2014).

He et collaborateurs ont mis au point une méthode d'inférence reposant sur un modèle bayésien appelé Transmission And De novo Association (TADA) permettant d'identifier de nouveaux gènes candidats pour les TSA en fonction de la quantité de mutations *de novo* et héritées détectées chez les patients et les témoins pondérée par le type de chaque mutation. La méthode TADA serait plus complète puisqu'elle permet de combiner l'analyse des variants *de novo* et hérités en donnant un poids plus fort à certains types de variants. Par exemple, un variant *de novo* LGD sera considéré comme plus impactant qu'un variant *de novo* faux-sens et un variant *de novo* faux-sens aura plus de poids qu'un variant LGD hérité. Cette méthode permet donc d'estimer le risque associé à certains gènes à travers leur enrichissement en variants endommageants par rapport à ce qui serait attendu par le hasard. Les auteurs ont ainsi pu identifier, lors de cette première étude, 33 gènes, appelés « gènes

TADA » (He et al., 2013). Une seconde étude a ensuite permis l'identification d'un total de « 65 gènes TADA ». (Sanders et al., 2015).

1.2.3. Facteurs épigénétiques

L'épigénétique regroupe l'ensemble des processus moléculaires capables de réguler, positivement ou négativement, l'expression des gènes sans modifier la séquence d'ADN primaire. L'ensemble des marques épigénétiques permet ainsi de définir le profil d'expression spatiotemporel des gènes. L'épigénome peut donc être considéré comme une interface entre le génome et l'environnement. Même si l'épigénome est programmé durant le développement embryonnaire et foetal, les marques épigénétiques sont transmissibles au cours de la mitose et peuvent l'être également au cours de la méiose et de la gamétogenèse. Elles sont, par définition, réversibles mais elles peuvent avoir des conséquences irréversibles lors de certaines étapes clés du développement.

Les mécanismes épigénétiques modifiant l'expression des gènes sont nombreux mais les plus étudiés sont ceux qui entraînent une modification de la structure de la chromatine.

Le remodelage de la chromatine permet de réguler l'accessibilité de l'ADN aux facteurs de transcription. Les deux principaux mécanismes intervenant dans le remodelage de la chromatine : la méthylation de l'ADN assurée par des ADN méthyltransférases notamment au niveau des îlots CpG et la modification post-traductionnelle des histones. L'hyperméthylation de l'ADN entraîne la condensation de la chromatine et permet donc de réguler négativement l'expression de gènes. A l'inverse, l'hypométhylation favorise la transcription (Portela and Esteller, 2010).

Il existe quatre types majeurs de modifications post-traductionnelles des histones : l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation et l'ubiquitination. La combinaison de ces modifications constitue « le code épigénétique des histones » qui sera reconnu par divers domaines protéiques afin de réguler la transcription.

Il existe également d'autres mécanismes épigénétiques, faisant notamment intervenir des ARN non-codants et des micro-ARNs, qui, en s'appariant à l'ARNm d'un gène, peuvent empêcher sa traduction ou même entraîner sa dégradation (Wilson and Doudna, 2013).

La présence de mutations délétères affectant des gènes impliqués dans des processus épigénétiques ou des régions soumises à des mécanismes épigénétiques comme les gènes à empreinte peut ainsi altérer l'expression des gènes et augmenter la vulnérabilité de développer certaines troubles, comme les TSA.

Des facteurs épigénétiques pourraient entrer en jeu dans la vulnérabilité aux TSA. D'une part, parce que les jumeaux monozygotes montrent une concordance incomplète et d'autre part, parce que de nombreux gènes codant pour des protéines impliquées dans des processus épigénétiques (appelés « épigènes ») ont été associés à des troubles neurodéveloppementaux comme la déficience intellectuelle ou les TSA. Parmi ces gènes, certains codent pour des protéines ayant pour rôle le dépôt de certaines marques épigénétiques (DNA-méthyltransférases, les histone-méthyltransférases, histone-acétylases), d'autres l'effacement de ces marques (histones déacétyltransférases, lysines déméthylases), la lecture des marques (protéines à domaine bromo, chromo ou Tudor), des facteurs de remodelage de la chromatine (comme CHD8) et des régulateurs épigénétiques de régions à empreinte (comme ZPF57). D'autres ont des effets plus indirects à travers l'intervention d'ARN non codants ou le recrutement de methyl-CpG-binding proteins afin de modifier les histones et réguler la transcription.

De façon intéressante, plusieurs formes d'autisme syndromique sont le résultat de mutations altérant des épigènes.

Par exemple, le rôle de la protéine MeCP2, altérée dans le syndrome de Rett, est de réguler négativement la transcription en se liant à l'ADN méthylé et en formant un complexe avec HDAC1 permettant ainsi la condensation de la chromatine (Nan et al., 1998). Par ailleurs, la répression de l'expression du gène *FMR1* dans le syndrome de l'X fragile est le résultat d'une hyperméthylation de sa région 5'UTR causée par l'expansion des îlots CpG (Oberlé et al., 1991) et les syndromes d'Angelman et de Prader-Willi sont respectivement dus à des pertes ou gains de méthylation au niveau de gènes soumis à empreinte parentale (Nicholls et al., 1998).

Cependant, les études portant sur les modifications épigénétiques impliquées dans les TSA ne sont que peu nombreuses mais l'une d'entre elles a permis de mettre en évidence des différences de méthylation de plusieurs régions entre les patients TSA et leurs jumeaux monozygotes non-atteints (Wong et al., 2014). Certaines études ont montré qu'il existait, chez les patients TSA, une hyperméthylation des gènes *BCL2* et *RORA* (Nguyen et al., 2010), du gène *OXTR* (Gregory et al., 2009) codant pour le récepteur à l'ocytocine, hormone connue pour son rôle important dans le comportement social (Zik and Roberts, 2015) ou encore des anomalies de la méthylation d'autres gènes associés aux TSA tels que *BDNF* (brain-derived neurotrophic factor), *EN2* (engrailed-2) et *5-HT2A* (récepteur sérotoninergique) (James et al., 2013; Kundakovic et al., 2015).

Une étude de 2014 sur le méthylome interrogeant plus de 450 000 positions couvrant le génome entier a permis d'identifier 4 régions différentiellement méthylées dans les cerveaux post-mortem des patients par rapport aux individus témoins (dont trois dans le cortex temporal supérieur et une dans le cervelet). L'étude

a notamment mis en évidence une hypométhylation de la région régulatrice du gène *PRRT1* (proline rich transmembrane protein 1). Des mutations dans d'autres gènes de la famille *PRRT* ont été associées à différents troubles neurologiques et neurodéveloppementaux (Ladd-Acosta et al., 2014).

Plus récemment, une étude d'association de l'histone acétylome (Histone Acetylome-Wide Association Study ou HAWAS) a été menée sur 45 cerveaux post-mortem de patients TSA et 49 cerveaux post-mortem d'individus témoins (Sun et al., 2016). L'étude a montré que près de 70% des patients TSA, atteints de formes syndromiques ou idiopathiques, partageaient une signature acétylome concernant plus de 5000 éléments cis-régulateurs dans les cortex pré-frontaux et temporaux. La plupart des modifications de la chromatine seraient donc communes à ces différentes formes de TSA mais ne seraient pas attribuables à des SNPs agissant en *cis* mais plutôt à d'autres facteurs comme des facteurs environnementaux, des SNPs agissant en *trans*, des indels ou CNVs (Krumm et al., 2015).

Les auteurs ont ainsi mis en évidence un enrichissement en gènes impliqués dans les canaux ioniques, la fonction synaptique et l'excitabilité neuronale parmi les loci avec une augmentation de l'acétylation H3K27 et un enrichissement en gènes impliqués dans la morphogenèse du système digestif, la signalisation chémokine, la désacétylation et les processus immunitaires liés à la microglie. Ainsi, malgré l'hétérogénéité extrême des causes primaires des TSA, il est possible qu'elles convergent vers des modifications épigénomiques communes, associées à des fonctions spécifiques, et donnant lieu à certains des symptômes clés des TSA.

1.2.4. Facteurs environnementaux

Même si la composante génétique des TSA est extrêmement importante, il a été montré que plusieurs facteurs environnementaux pouvaient augmenter leur vulnérabilité, notamment en interagissant avec ces facteurs génétiques à travers des mécanismes épigénétiques.

Il a été montré que durant certaines périodes de son développement, le cerveau était particulièrement sensible aux effets environnementaux. Ainsi, l'exposition, durant le développement embryonnaire et/ou foetal, à certaines substances dites neurotoxiques augmenterait le risque de développer des troubles neurodéveloppementaux.

Certains facteurs gestationnels, comme l'exposition à l'acide valproïque (médicament anti-épileptique), le thalidomide (médicament immunomodulateur, précédemment utilisé comme sédatif et antiémétique pendant la grossesse), le misoprostol (un analogue synthétique de la prostaglandine E1 utilisé comme antiulcéreux) ou encore au virus de la rubéole ou au cytomégalovirus, durant la grossesse, ont un impact si important que, chez certains patients, ils ont été établis comme la cause primaire de leurs TSA. Par ailleurs, la neurotoxicité des métaux lourds (le plomb, le méthylmercure) et des biphényles polychlorés a été démontrée lors de nombreuses études (Persico and Merelli, 2015).

D'autres facteurs de risques ont été rapportés par certaines études, comme la présence de différentes pathologies chez la mère pendant la grossesse, comme le diabète (Ornoy et al., 2015), la pré-éclampsie (Buchmayer et al., 2009) mais ces résultats auraient besoin d'être répliqués.

Certains déficits vitaminiques ont également été associés aux TSA, comme un déficit en vitamine D (voir partie facteurs environnementaux dans les îles Féroé) ou encore un déficit en acide folique (vitamine B9) (Surén et al., 2013) même si cette dernière association reste à renforcer.

1.2.5. Voies biologiques impliquées dans les TSA

Chaque gène de vulnérabilité aux TSA identifié permet de mieux caractériser les mécanismes sous-tendant ces troubles. De façon intéressante, de nombreux gènes associés aux TSA convergent vers les mêmes voies biologiques : régulation de la transcription et remodelage de la chromatine, synthèse de protéine et métabolisme cellulaire, développement et fonction synaptiques (De Rubeis et al., 2014; Ebrahimi-Fakhari and Sahin, 2015; Glessner et al., 2009; Kelleher and Bear, 2008; Pinto et al., 2014; Sakai et al., 2011; Südhof, 2008) .

Voineagu et collaborateurs ont analysé les cerveaux post-mortem de 19 patients et de 17 témoins. En se concentrant sur 3 régions cérébrales impliqués dans les TSA, ils ont pu montrer qu'il existait des différences d'expression pour plusieurs modules de co-expression de gènes synaptiques, immunitaires et des marqueurs gliaux (Voineagu et al., 2011). Chez les patients, les gènes synaptiques étaient régulés positivement alors que les gènes liés à l'immunité étaient régulés négativement. Par ailleurs, l'étude a montré que les profils d'expression variaient de façon significative entre les cortex frontaux et temporaux chez les témoins alors que ce n'était pas le cas pour les patients.

Les études neuro-anatomiques ont rapporté une fréquence augmentée des macrocéphalies (plus de 15% des patients) (Sacco et al., 2015) et des anomalies

connectivité neuronale chez les patients TSA (Herbert et al., 2003, 2004; Baron-Cohen and Belmonte, 2005; Herbert, 2005; Just et al., 2007).

Des anomalies de l'architecture de plusieurs régions cérébrales, comme le lobe frontal et le lobe pariéto-temporal, le cervelet et le système limbique sous-cortical (amygdale et hippocampe), ont également été mises en évidence (Courchesne et al., 2003, 2007, 2011; Hazlett et al., 2005; Nordahl et al., 2012).

Lange et collaborateurs ont étudié les différences de développement cérébral de la petite enfance à l'âge adulte entre 100 patients TSA et 56 individus témoins. Ils ont mis en évidence un volume cérébral supérieur chez les enfants atteints de TSA par rapport aux enfants neurotypiques et inférieur chez les adolescents TSA par rapport aux adolescents neurotypiques. Ainsi, les modifications neuroanatomiques liées aux TSA seraient dynamiques et ne seraient pas les mêmes en fonction de l'âge des patients (Lange et al., 2015).

Par ailleurs, certaines études ont rapporté des différences d'architecture cellulaire cérébrale, telles que des modifications du nombre de neurones, de leur densité ou encore la présence de couches corticales peu définies ou désorganisées (Courchesne et al., 2011; van Kooten et al., 2008; Oblak et al., 2010; Santos et al., 2011; Simms et al., 2009; Stoner et al., 2014).

Cependant, la plupart de ces résultats n'ont pas été répliqués sur de grandes cohortes et il existe de grandes divergences entre les résultats des différentes études neuroanatomiques. Par exemple, une étude plus récente de notre groupe n'a pas pu retrouver de différences significatives entre le volume du cervelet chez les patients et chez les individus témoins (Traut et al., 2017).

D'autres approches ont également été employées pour mieux comprendre ces mécanismes. Ainsi, plusieurs modèles animaux ainsi que des cellules pluripotentes induites ont été développés pour étudier les effets biologiques de variations génétiques identifiées.

Du point de vue moléculaire, de nombreuses études ont mis en évidence une convergence de certains sous-groupes de gènes associés aux TSA en utilisant des réseaux de co-expression et/ou d'interactions protéine-protéine (PPI) ainsi que d'autres ressources d'annotation de gènes.

O'Roak et collaborateurs ont ainsi pu montrer que 39% des mutations *de novo* les plus délétères identifiées lors de leur étude affectaient des gènes fortement interconnectés dans un réseau comprenant des gènes impliqués dans les voies beta-caténine et p53, le remodelage de la chromatine, l'ubiquitination et le développement neuronal (O'Roak et al., 2012a).

En 2013, Parikshak et collaborateurs ont intégré différentes listes de gènes associés aux TSA et à la déficience intellectuelle (issus de plusieurs bases de données dont SFARI et AutDB) dans des réseaux de co-expression et d'interaction représentant les relations fonctionnelles, à l'échelle du génome entier, durant les périodes de neurodéveloppement fœtales et post-natales (Parikshak et al., 2013). Lors de cette étude, les auteurs ont montré que gènes associés aux TSA convergeaient vers des modules impliqués dans différentes fonctions biologiques du développement cortical, dont la régulation précoce de la transcription et le développement synaptique.

Willsey et collaborateurs ont étudié, en utilisant les données de transcriptomique du cerveau humain, le profil d'expression spatio-temporel de 9

gènes très fortement associés aux TSA, pour lesquels des mutations *de novo* LGD récurrentes ont été identifiées chez plusieurs patients (*ANK2*, *CHD8*, *GRIN2B*, *CUL3*, *DIRK1A*, *KATNAL2*, *POGZ*, *SCN2A*, *TBR1*) (Willsey et al., 2013). Ils ont ainsi pu démontrer une forte convergence de ces gènes vers les neurones de projection glutamatergiques des couches 5 et 6 des cortex humains préfrontaux et somatosensoriel-moteur entre la 16e et 25e semaine de gestation.

1.2.5.1. Homéostasie synaptique

La voie synaptique occupe un rôle central dans les mécanismes en cause des TSA, et certaines formes d'autisme peuvent être considérées comme des synaptopathies.

En effet, un grand nombre de mutations dans des protéines synaptiques comme les neuroligines (Jamain et al., 2003), les neurexines (Szatmari Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements 2007 Gauthier et al., 2011; Kim et al., 2008) et les SHANKs (Berkel et al., 2010; Durand et al., 2007; Sato et al., 2012) ont été rapportées.

Ces dysfonctionnements de protéines synaptiques conduiraient à des défauts de transmissions aux synapses excitatrices et inhibitrices, ce qui altérerait alors la balance excitation/inhibition au niveau des neurones post-synaptiques. Ce déséquilibre est considéré comme un mécanisme clé dans le développement de TSA.

Il se trouve que différents gènes associés aux TSA codent pour des récepteurs au glutamate, comme la sous-unité GluR6v du récepteur kainate (Jamain, 2002), *GRM8* (metabotropic glutamate receptor) (Serajee et al., 2003), et les sous-unités

GRIN2A (Barnby et al., 2005) et GRIN2B (O’Roak et al., 2012b, 2012a) de NMDAR (N-methyl-D-aspartic Acid Receptor).

Ce déséquilibre entre courants excitateurs et inhibiteurs pourrait également être dû à des anomalies du système GABAergique chez les patients. En effet, une diminution de l’expression d’une enzyme nécessaire à la synthèse de GABA, la GAD (Glutamic Acide Decarboxylase) ainsi que la présence de récepteurs GABA altérés ont été observés dans des cerveaux de patients TSA (Fatemi et al., 2002, 2010). Par ailleurs, des mutations des récepteurs GABRA3 et GABRB3 ont également été reportées (Piton et al., 2013; Warriar et al., 2013).

Il pourrait également exister un rôle du système sérotonergique dans ce déséquilibre puisqu’il a été montré que certains patients TSA présentaient une augmentation des niveaux de sérotonine plasmatique et urinaire par rapport aux individus témoins (Burgess et al., 2006; Cook and Leventhal, 1996) (Cook and Leventhal, 1996; Burgess et al., 2006). De plus, plusieurs gènes codant pour des acteurs du système sérotonergiques ont été associés aux TSA, tels que *5-HTT* (Cook et al., 1997) et *TPH2* (Coon, 2005).

Plusieurs mutations affectant des neuroligines ou des neurexines ont été retrouvées chez des patients avec TSA, déficience intellectuelle et chez des patients schizophrènes (Glessner et al., 2009; Jamain et al., 2003; Kim et al., 2008; Laumonnier et al., 2004; Leblond et al., 2012; O’Roak et al., 2012a; Szatmari et al., 2007; Walsh et al., 2008). Des mutations du gène *CNTNAP2* codant pour une protéine neuronale transmembranaire faisant partie de la famille des neurexines ont également été rapportées chez des patients atteints de TSA, troubles du langage et d’épilepsie (Alarcón et al., 2008; Arking et al., 2008; Bakkaloglu et al., 2008; Vernes

et al., 2008). Les neurexines et neuroligines sont des protéines synaptiques transmembranaires d'adhésion cellulaire. Les neurexines sont pré-synaptiques et se lient aux neuroligines, qui sont, elles, post-synaptiques. Cette interaction est importante pour la formation et le maintien des synapses et permet de réguler l'équilibre entre courant excitateur et inhibiteur dans les neurones post-synaptiques (Craig and Kang, 2007; Graf et al., 2004; Prange et al., 2004; Südhof, 2008).

Les protéines SHANKs sont, quant à elles, des protéines d'échafaudage présentes au niveau de la densité post-synaptique (composition de complexes protéiques synaptiques spécifiques au niveau de la membrane post synaptique). (Sheng and Kim, 2000). L'implication de ces protéines provient dans un premier temps de la délétion de *SHANK3* dans le syndrome de Phelan-McDermid (voir partie autisme syndromique). Depuis, de nombreuses mutations de *SHANK3* ont été rapportées chez des patients TSA (Durand et al., 2007) ainsi que des mutations de *SHANK2* et *SHANK1* (Berkel et al., 2010; Leblond et al., 2012; Pinto et al., 2010; Sato et al., 2012).

Cette hypothèse de déséquilibre « excitation/inhibition » dans les TSA est également appuyée par la prévalence élevée d'épilepsie chez les patients (voir partie comorbidités).

1.2.5.2. Remodelage de la chromatine et régulation de la transcription

Plusieurs gènes associés aux TSA jouent un rôle clé dans la régulation du remodelage de la chromatine et de la transcription, comme *MECP2* dans le syndrome de Rett, *MEF2C* (myocyte-specific enhancer factor 2C), *HDAC4* (histone deacetylase

4), *CHD8* (chromodomain-helicase DNA binding protein 8), *CTNNB1* (catenin beta 1). L'expression de ces gènes est parfois elle-même régulée par l'activité neuronale et a ainsi un impact sur la connectivité neuronale et la plasticité synaptique (Bourgeron, 2015).

1.2.5.3. Synthèse et dégradation protéique

La voie de signalisation mTOR influence la plasticité synaptique en régulant localement la synthèse protéique (Tang and Schuman, 2002) en réponse à la disponibilité de certains nutriments, de l'énergie disponible, du stress, des hormones et des facteurs mitogènes (Klann and Dever, 2004; Sarbassov et al., 2005) et des perturbations de cette voie de signalisation pourraient être impliquées dans la pathogenèse des TSA, comme le suggère son implication dans plusieurs formes d'autisme monogénique (Kelleher and Bear, 2008).

En effet, plusieurs gènes associés aux TSA codent pour des protéines régulant négativement la voie mTOR, *NF1* (Neurofibromin 1) (Marui et al., 2004), *SYNGAP1* (RAS GTPase-activating protein 1) (Hamdan et al., 2011), *TSC1/TSC2* (tuberous sclerosis complex) (Leung and Robson, 2007; Smalley, 1998) et *PTEN* (phosphatase and tensin homolog) (Butler et al., 2005; Herman et al., 2007).

Il a, par ailleurs, été montré que les souris knock-out pour *Fmr1* présentent une suractivation de la voie mTOR (Sharma et al., 2010). Or, de nombreux gènes associés aux TSA sont des cibles de FMRP, *TSC2*, *NF1*, *NLGN2*, *NRXN1* (Darnell et al., 2011).

La dégradation des ARNm non-sens est un processus de contrôle qualité qui régule de façon importante l'expression des gènes. Il s'agit d'une voie biologique de surveillance qui dégrade les transcrits contenant des codons stops précoces. De tels

transcrits apparaissent dans le cas de mutations non-sens ou bien entraînant un décalage du cadre de lecture, une anomalie d'épissage ou des erreurs de transcription. La dégradation des ARNm non-sens intervient donc afin de détruire ces transcrits afin qu'ils ne soient pas traduits en protéines potentiellement délétères (Nicholson and Mühlemann, 2010)

Plusieurs études montrent que la dégradation des ARNm non-sens joue un rôle important dans le développement cérébral et des mutations du gène *UPF3B* qui code pour une protéine clé de ce processus de dégradation, ont été rapportées chez des patients atteints de troubles neurodéveloppementaux (Addington et al., 2011; Laumonnier et al., 2010; Szyszka et al., 2012; Tarpey et al., 2007).

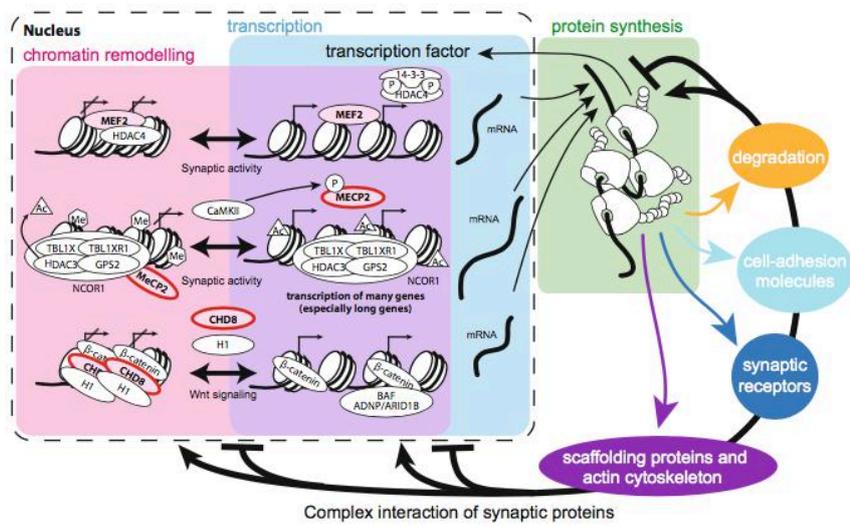
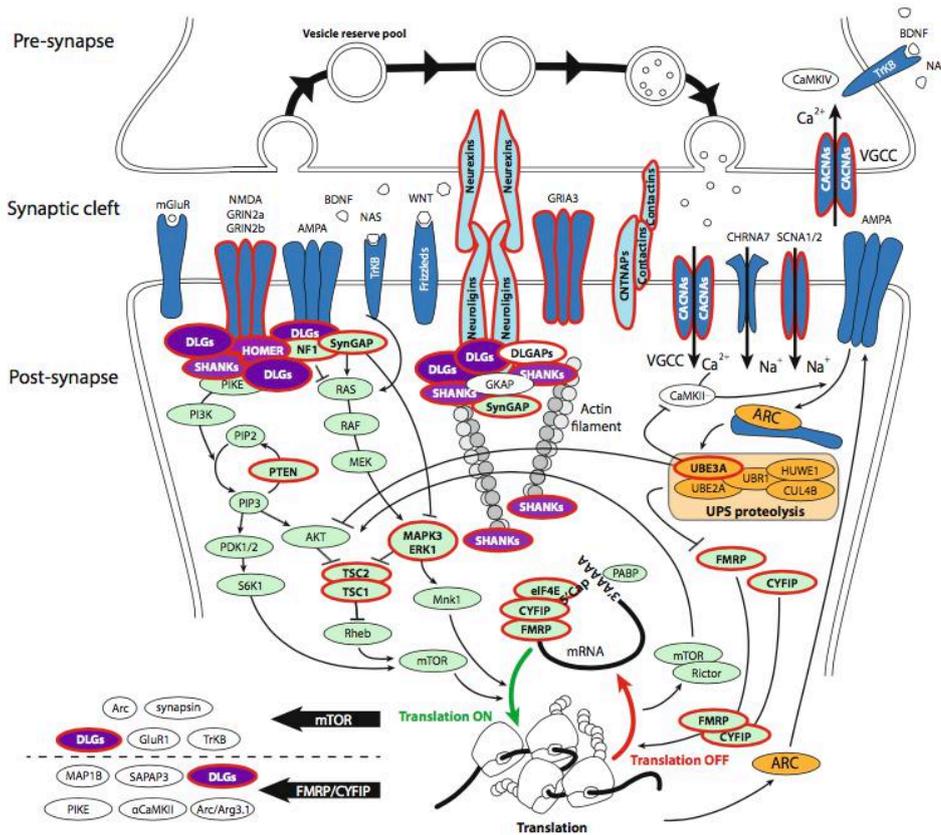


Figure 5. Principales voies biologiques associées aux TSA : le remodelage de la chromatine, la régulation de la transcription, de la synthèse et de la dégradation protéique, le cytosquelette et les fonctions synaptiques. Les protéines associées aux TSA sont entourées en rouge. (Bourgeron, 2016).

1.3. Thérapies actuelles

A ce jour, il n'existe aucun traitement efficace pour les personnes avec TSA. Leur prise en charge se fait essentiellement à travers des thérapies comportementales afin d'améliorer la qualité de vie des patients à travers l'apprentissage et l'amélioration des capacités cognitives et adaptatives ainsi que de l'autonomie. Il est parfois estimé que le succès de ces stratégies est amélioré quand elles sont entreprises de façon précoce, idéalement avant l'âge de 3 ans. (Zwaigenbaum et al., 2015).

Les méthodes de thérapie comportementale les plus répandues sont l'ABA (Applied Behavior Analysis) ou encore le modèle d'intervention précoce de Denver, destiné aux jeunes enfants (entre 12 et 48 mois), qui se base sur la méthode ABA mais dans un cadre développemental mettant les relations et les interactions avec l'enfant au centre de l'intervention.

Par ailleurs, il est possible d'administrer un traitement pharmacologique afin d'atténuer certains symptômes, notamment certaines comorbidités. Par exemple, des molécules anti-psychotiques (risperidone et aripiprazole) peuvent être prescrites afin de réduire les stéréotypies et l'irritabilité chez les patients. Des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine sont parfois également utilisés pour améliorer les comportements répétitifs et des inhibiteurs de la recapture de noradrénaline en cas de TDAH.

Certaines études montrent un effet bénéfique du lithium sur les troubles de l'humeur de certains patients (Siegel et al., 2014).

La prescription de mélatonine est de plus en plus fréquente pour réduire les troubles du sommeil présents chez de nombreux patients (Andersen et al., 2008; Garstang and Wallis, 2006; Wright et al., 2011).

Plus récemment, une nouvelle piste de traitement par un diurétique, le bumétanide, s'est montrée prometteuse, en améliorant les comportements autistiques, lors de plusieurs cliniques (Lemonnier et al., 2017).

2. Les îles Féroé

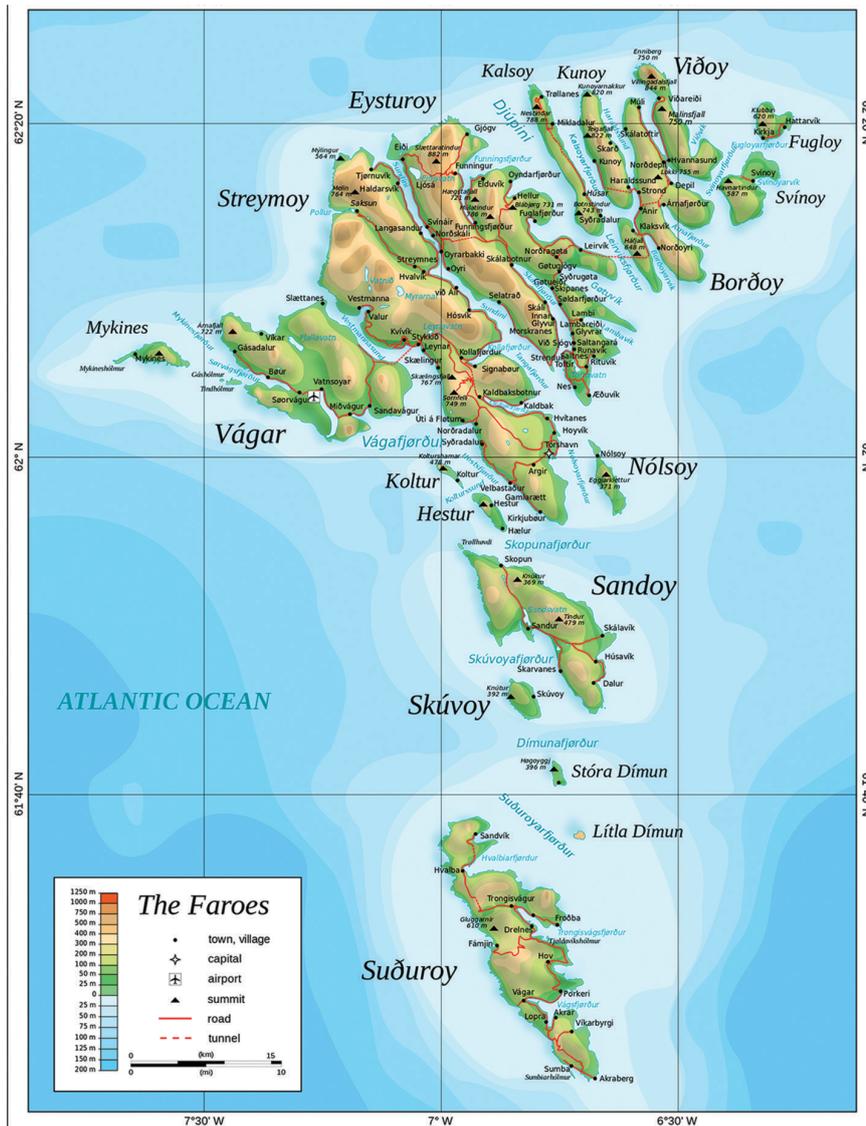
2.1. Situation géographique

Les îles Féroé sont situées au cœur du Gulf Stream dans l'océan Atlantique nord, à équidistance approximative entre l'Ecosse, la Norvège et l'Islande. Il s'agit d'un archipel de 1 399 km² constitué 18 îles principales dont la plupart sont reliées par des tunnels (les autres sont accessibles par bateau ou par hélicoptère). Depuis 1948, l'archipel est une province autonome et reçoit d'importantes subventions annuelles de la part du Danemark.

En 2016, les îles Féroé comptaient 49 117 habitants (ce qui correspondrait approximativement au nombre d'habitants de la ville d'Evry dans l'Essonne).

L'archipel compte seulement deux villes, Tórshavn, la capitale (12 648 habitants en 2015) et Klaksvik (4 615 habitants en 2015). Le reste de la population vit dans des zones rurales ou de petits villages.

A



B



Figure 6. (A) Situation géographique et carte des îles Féroé. (B) Le lac Sørvágsvatn se jettant dans l'Océan Atlantique Nord (C) Tórshavn, capitale des îles Féroé

2.2. Histoire démographique

On estime que l'origine de la population des îles Féroé date du IXe siècle, quand les Vikings originaire de l'ouest de la Norvège ont colonisé l'archipel. Cependant, les données paléobotaniques suggèrent la présence d'individus deux siècles plus tôt mais ces individus auraient probablement quitté l'archipel avant l'invasion Viking.

Le nombre d'habitants est resté très réduit pendant des siècles (un recensement de 4773 habitants a été établi en 1769) mais la population a ensuite connu une forte expansion, atteignant 9 000 habitants au XIXe siècle et plus de 49 000 habitants aujourd'hui.

Les flux migratoires au départ et en provenance des îles Féroé ont été très limités en raison de leur position géographique, du monopole commercial présent de 1380 à 1856 et d'une législation, présente à l'époque, visant à éviter la dépopulation.

L'expansion de la population a donc été principalement due à la natalité résultant de l'amélioration des conditions de vie des individus et de l'augmentation de l'espérance de vie.

La population a également connu des périodes de goulot d'étranglement dues à des épidémies, comme celle de variole en 1709, ou encore à des épisodes de famines.

Ainsi, l'histoire démographique des îles Féroé suggère que la diversité génétique de la population Féroïenne serait réduite.

Des études génomiques récentes ont révélé que les chromosomes Y des Féroïens avaient, en moyenne, pour 87% une composante scandinave (Jorgensen et al., 2002) et que l'ADN mitochondrial 84% de composante écossaise/irlandaise (Als et al., 2006).

La population Féroïenne possède ainsi une asymétrie plus importante que les autres population scandinaves puisque seules 17% des femmes qui se sont initialement installées aux îles Féroé étaient d'origine scandinave alors que 83% provenaient des îles britanniques.

2.3. Isolat génétique

Une population isolée correspond à une population constituée à partir d'un petit groupe d'individus fondateurs (soit lors de la colonisation d'un nouveau territoire ou bien suite à des épisodes aboutissant à une réduction importante de l'effectif de la population comme, par exemple, la famine, les guerres, les épidémies) et ce, dans une situation d'isolement géographique et/ou culturel limitant les flux migratoires.

Ainsi, chez ces populations, seule une partie de la variabilité génétique de la population dont ils sont originaires est représentée. Par ailleurs, leur fond génétique peut évoluer sous les effets de différents mécanismes évolutifs.

Les « goulots d'étranglement » sont des phénomènes aboutissant à une diminution de la diversité génétique d'une population qui se produisent lorsque l'effectif de la population est fortement réduit, suite à des événements comme les guerres, les épidémies de maladies infectieuses ou les épisodes de famine. L'effectif réduit de reproducteurs ayant survécu au goulot d'étranglement transmet alors seulement une fraction de la diversité génétique initiale de la population aux générations suivantes.

Ces populations peuvent être également soumises à des effets forts de la dérive génétique, un mécanisme qui résulte en une modification aléatoire des fréquences alléliques au sein d'une population.

L'origine d'un isolat génétique peut être une isolation géographique ou encore culturelle qui entraîne une succession de générations sans échange de matériel génétique avec d'autres populations.

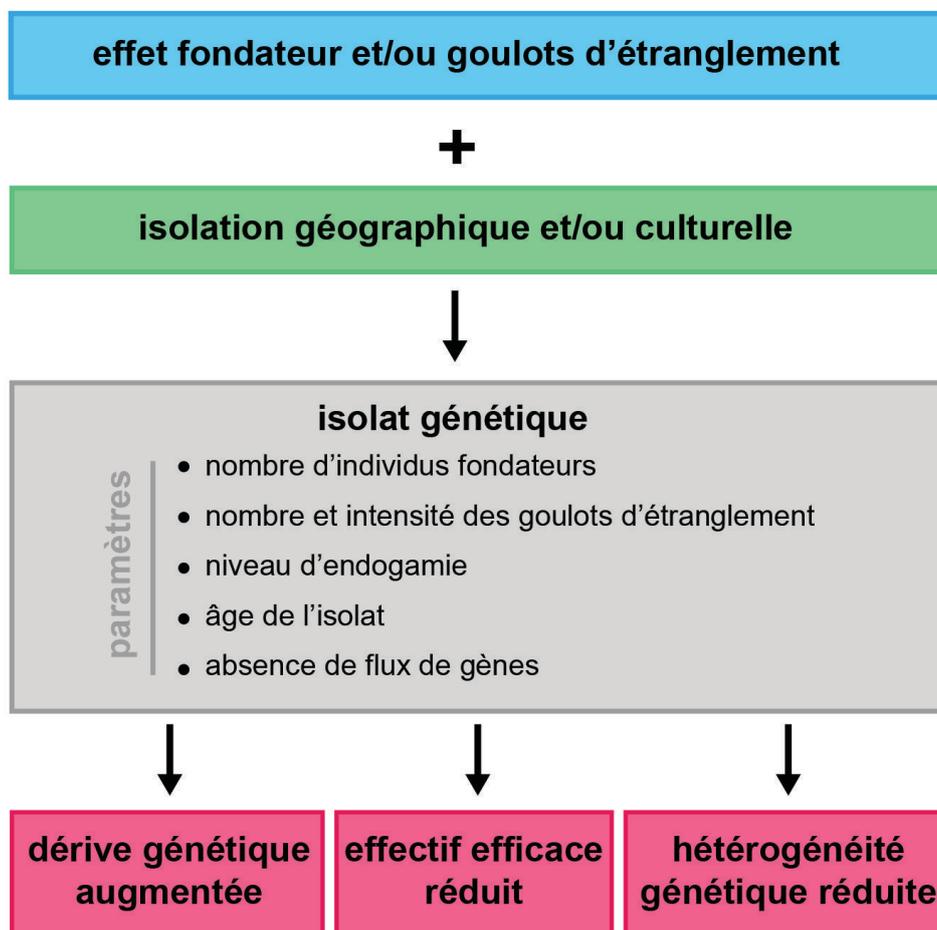


Figure 7. Mécanismes et conséquences de l'isolation génétique.

Les isolats génétiques présentent de nombreux avantages pour les études génétiques. D'une part, en raison de leur pool génétique réduit du à l'effet fondateur,

d'autre part, l'important degré de consanguinité de ces populations produit généralement une augmentation de l'incidence de maladies récessives.

Le pouvoir statistique des analyses génétiques de traits complexes est généralement réduit par la présence d'un bruit de fond dû à toutes les combinaisons possibles entre les facteurs génétiques et environnementaux présentes dans la population. Par conséquent, lors de l'étude de populations hétérogènes, il est nécessaire d'avoir un très grand nombre d'individus afin d'obtenir un pouvoir statistique suffisant à la détection de facteurs de vulnérabilité génétique.

L'étude de populations isolées représente donc une alternative afin d'augmenter le pouvoir de détection, en diminuant ce bruit de fond, puisque l'hétérogénéité génétique de telles populations ainsi que la variabilité environnementale auxquelles elles sont exposées sont réduites.

Cela fait maintenant de nombreuses années que les populations isolées sont utilisées en génétique. Au départ, elles étaient étudiées afin d'identifier des mutations impliquées dans des maladies rares à hérédité mendélienne monogénique et récessive. Depuis, elles sont également utilisées pour l'étude de traits et de maladies complexes.

En effet, en plus de la réduction de l'hétérogénéité génétique, ces populations ont un mode de vie très similaire entre les individus, les mêmes habitudes alimentaires, la même exposition à certains pathogènes et le même environnement naturel. Cela permettrait effectivement d'augmenter le pouvoir de détection de variants associés à certains traits complexes en diminuant le bruit de fond dû à l'environnement.

Par ailleurs, il est possible que certains variants, qui seraient rares dans la population générale, aient des fréquences plus élevées dans les isolats, ce qui rendrait leur association plus facilement détectable.

Enfin, la présence d'un taux consanguinité plus élevé permet aussi de mieux détecter les effets récessifs de certains variants communs à risque.

2.3.1 Exemples d'études concluantes portant sur des isolats génétiques

Plusieurs études portant sur la population islandaise qui a, elle aussi, connu un fort effet fondateur ont été concluantes (Árnason, 2003). Elles ont notamment permis l'identification de variants rares impliqués dans la maladie du sinus, la goutte, le cancer de la prostate et la maladie d'Alzheimer (Gudmundsson et al., 2012; Holm et al., 2011; Jonsson et al., 2012; Sulem et al., 2011).

Une étude portant sur la Finlande, macro-isolat génétique avec plus de 5 millions d'habitants, a mis en évidence quatre nouveaux loci associés aux anévrismes sacculaires intracrâniens (Kurki et al., 2014). En raison d'une forte dérive génétique, l'un de ces variants avait, dans la population finlandaise, une fréquence 15 fois supérieure à celle retrouvée dans la population générale néerlandaise et alors qu'il est, par ailleurs, presque absent dans les autres populations du projet 1000 Génomes.

Une étude d'association sur une cohorte de juifs Ashkenazi a permis de détecter l'association d'un locus, avec un seuil de significativité pangénomique, à la schizophrénie et les troubles bipolaires (Lencz et al., 2013). Cette association ensuite a été répliquée dans 11 cohortes indépendantes.

Une étude, cette fois-ci portant sur la population du Groenland, isolat d'environ 57000 habitants, a permis d'associer un variant non-sens, présent à 17% dans la population groenlandaise mais très rare dans la population générale, du gène *TBC1D4* au diabète de type 2 dont la prévalence avait énormément augmenté au Groenland au cours des 25 années précédentes. Cette association a permis de mieux comprendre le phénomène d'insulinorésistance des muscles squelettiques chez certains individus homozygotes atteints d'une forme particulièrement sévère de diabète de type 2 (Moltke et al., 2014).

1.3.2. Etudes épidémiologiques et génétiques dans les îles Féroé

Etant donné leur caractère d'isolat génétique, les îles Féroé constituent un environnement intéressant pour y mener des études épidémiologiques.

De nombreuses variables sont inhabituellement stables comme le statut socio-économique, l'éducation, le système de santé/soins ou le régime alimentaire (bien qu'il existe quelques variations sur la consommation de fruits de mer).

De façon attendue, certaines maladies récessives ont une prévalence augmentée dans les îles Féroé.

Le déficit systémique primaire en carnitine est une maladie autosomale récessive extrêmement rare dans le monde puisqu'il affecte environ 1 personne sur 50 000 à 100 000. Dans les îles Féroé, la prévalence est la plus forte au monde avec 1 personne atteinte sur 300. Cette maladie est causée par des mutations du gène *SLC22A5* et peut être responsable de cardiomyopathies menant à des arrêts cardiaques (Rasmussen et al., 2013, 2014; Rose et al., 2012).

La population Féroïenne possède également la prévalence la plus élevée au monde de glycosidase de type 3, maladie autosomale récessive due à des mutations du gène de l' amyloglucosidase (*AGL*). La prévalence est d'une personne atteinte pour 3600 soit près de trente fois supérieure à celle de la population générale (Santer et al., 2001). Il s'agit d'une maladie du stockage de glycogène caractérisée par une faiblesse musculaire sévère et une hépatopathie (Özen, 2007).

Par ailleurs, la prévalence de la mucoviscidose aux îles Féroé est d'environ 1/1800 soit plus de deux fois supérieure à celle du Danemark (1/4700), et plus de trois fois supérieure à la Suède (1/6500) et la Norvège (1/6000). Un féroïen sur 24 est porteur de la mutation $\Delta F508$, ce qui représente l'une des fréquences mondiales les plus élevées (Schwartz et al., 1995).

Certaines maladies complexes sont également plus fréquentes dans les îles Féroé.

Par exemple, la prévalence de la maladie de Parkinson est environ deux fois supérieure dans la population féroïenne par rapport aux populations voisines sans qu'aucune raison n'ait pu être solidement attribuée. De façon intéressante, l'âge de début de la maladie est supérieur aux îles Féroé et le risque relatif également (Wermuth et al., 2008).

D'autres maladies neurodégénératives comme la sclérose en plaque ou la sclérose latérale amyotrophique ainsi que certains troubles neuropsychiatriques comme l'autisme ou les troubles panique ont été étudiés dans les îles Féroé.

Récemment, l'analyse de segments identiques par descendance chez des patients atteints de SEP et des individus témoins a révélé un excès de partage chez les patients d'un segment de 63 SNPs comprenant le gène *SORCS3* qui semblerait jouer un rôle dans la plasticité neuronale (Binzer et al., 2016).

Une étude d'association, également récente, utilisant des données de séquençage d'exome a permis d'identifier un nouveau gène candidat dans les troubles panique (Gregersen et al., 2016).

2.4. Les TSA dans les îles Féroé

2.4.1 Epidémiologie

L'équipe du professeur Gillberg a mené plusieurs études sur les TSA dans les îles Féroé.

Une étude épidémiologique a été conduite sur tous les individus nés aux îles Féroé entre 1985 et 1994. Ces individus ont fait l'objet d'un premier dépistage pour les TSA en 2002 (Ellefsen et al., 2007) et, une seconde fois, en 2009 (Kočovská et al., 2012). Lors de la première étude, en 2002, la population des îles Féroé était de 47 704 habitants et 7689 individus étaient nés entre 1985 et 1994 et alors âgés de 7 à 16 ans. Le dépistage a été organisé à travers une large campagne d'informations sur les TSA auprès de la population (télévision, conférences publiques) et des entretiens avec les directeurs et enseignants de tous les établissements scolaires (n=65).

Ces interventions ont permis de décrire, à la population Féroïenne et notamment aux enseignants, les premiers signes et symptômes des TSA et ce, de façon détaillée. Les psychologues ont également présenté les différentes formes cliniques des TSA (autisme infantile, atypique et syndrome d'Asperger).

Lors des conférences, deux psychologues cliniciens étaient présents et ont vivement encouragé les parents à les contacter s'ils remarquaient des signes de TSA chez leur enfant. Les psychologues ont également contacté chacun des 65 établissements scolaires et donné des conférences dans les 52 établissements comportant plus de 10 élèves. Les enseignants des écoles plus petites ont, quant à eux, été contactés par téléphone par l'un des psychologues et le cas de chaque enfant a été évalué individuellement.

Pour tous les cas présentant le moindre signe ou symptôme de TSA, les psychologues ont invité les parents de l'enfant à participer à l'étude.

Le dépistage a été fait en trois étapes :

- 12 enfants ont été adressés, avant le processus de dépistage dans les écoles, par des psychologues indépendants ou par les parents en raison de leurs symptômes.

- l'équipe de psychologues a rencontré chacun des enfants inscrits dans les deux écoles des îles Féroé spécialisées dans les troubles développementaux. Parmi eux, 19 ont été convoqués pour une évaluation plus approfondie et pour 2 d'entre eux, les parents ont refusé en raison du diagnostic récent de l'enfant mais ont tout de même accepté de fournir les rapports cliniques concernant leur enfant de façon anonyme.

- une évaluation de tous les enfants scolarisés et pour lesquels les parents avaient donné leur permission a été effectuée en utilisant le Asperger Syndrome and high-functioning autism Screening Questionnaire (ASSQ) (Ehlers and Gillberg, 1993). Parmi eux, 25 présentaient possiblement des critères de TSA et ont été adressés à l'équipe de recherche. Pour 4 de ces enfants, les familles ont refusé de participer à l'étude mais la description des enseignants suggérait fortement la présence d'un syndrome d'Asperger. Sept enfants parmi les 21 restants n'atteignaient pas le seuil de diagnostic de l'ASSQ pour les TSA. Les 14 enfants restants ont été, par

la suite, évalués de façon détaillée par interview DISCO (Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders), et 12 d'entre eux ont reçu un diagnostic de TSA.

Au total, 56 enfants ont été rapportés comme étant susceptibles d'être atteints de TSA et, après toutes les étapes diagnostiques, 43 enfants (36 garçons et 7 filles) ont reçu un diagnostic de TSA et pour 41 d'entre eux, les parents ont accepté de participer à l'étude.

La prévalence des TSA dans les îles Féroé, estimée à partir de cette étude, était de 0,56%.

La campagne d'information sur les TSA a continué dans les îles Féroé entre 2003 et 2009, notamment à travers différents média comme la télévision, la radio ou les journaux et également à travers des conférences données par l'équipe de recherche.

Une étude complémentaire, dite « follow-up », a été menée durant l'année 2009 (Kočovská et al., 2012). Tous les participants de l'étude de 2002 ont été invités à faire partie de cette seconde étude et une nouvelle phase de dépistage des individus nés entre 1985 et 1994 a eu lieu afin de s'assurer que tous les cas avaient été dépistés et également afin de déterminer si la prévalence des TSA avait augmenté au cours des 7 années écoulées.

L'équipe de recherche a donc invité tous les praticiens hospitaliers, médecins généralistes, enseignants et psychologues à leur rapporter tous les patients diagnostiqués TSA ou tous les individus pouvant être atteints de TSA.

Cette fois-ci, 7128 individus nés entre 1985 et 1994, habitaient aux îles Féroé au 31 décembre 2009 (âgés alors de 15 à 24 ans) alors qu'ils étaient 7689 au 31

décembre 2002, probablement en raison du nombre d'individus partant étudier à l'étranger, notamment au Danemark.

Les 41 participants de l'étude de 2002 ont été recontactés afin de confirmer leur diagnostic et 31 d'entre eux ont accepté de participer à cette étude « follow-up ».

Parallèlement, 30 nouveaux individus non diagnostiqués en 2002 ont été rapportés comme présentant des signes de TSA. Parmi eux, 22 (13 garçons et 9 filles) ont reçu un diagnostic de TSA (2 cas d'autisme infantile, 6 cas d'autisme atypique et 14 cas de syndrome d'Asperger). Par ailleurs, 2 patientes Asperger, déjà diagnostiquées ailleurs, ont été adressées à l'équipe de recherche. Ainsi, 24 nouveaux cas de TSA ont été ajoutés à l'étude, dont 16 syndromes d'Asperger (8 individus masculins et 8 individus féminins).

Au total, 43 patients ont été inclus en 2002 (36 garçons et 7 filles) et 24 (13 garçons et 11 filles) ont été inclus en 2009 aboutissant à un nombre total de 67 cas de TSA (15 cas d'autisme infantile, 15 cas d'autisme atypique et 37 cas de syndrome d'Asperger) dans les îles Féroé chez les enfants nés entre 1985 et 1994.

La prévalence des TSA estimée en 2009 au sein de cette cohorte était de 0,94% (24% d'autisme infantile, 54% de syndromes d'Asperger et 22% d'autisme atypique). Cette prévalence est comparable à celle du reste de l'Europe et du monde occidental.

Même si la taille de la cohorte reste limitée, les auteurs estiment qu'elle reste représentative de la population des patients TSA aux îles Féroé.

Diagnostic	Etude initiale de 2002		Etude follow-up de 2009	
	n=43 (ratio 5:1)		n=24 (ratio 1.2:1)	
	Garçons	Filles	Garçons	Filles
Autisme infantile	9	4	1	1
Syndrome d'Asperger	18	3	8	8
Autisme atypique	9	0	4	2
Total (n=67)	36 (83,7%)	7 (16,3%)	13 (54,2%)	11 (45,8%)

Tableau 2. Effectifs de la cohorte épidémiologique des TSA dans les îles Féroé adaptés de Kočovská et al. 2012.

Cette même cohorte a fait l'objet d'une étude portant sur la stabilité du diagnostic de TSA en se basant sur les différents tests diagnostics indépendants réalisés chez les mêmes patients avec 7 ans d'écart, en 2002 et en 2009 (Kočovská et al., 2013). Sur les 43 cas étudiés et diagnostiqués en 2002, 31 ont accepté de participer à l'étude portant sur la stabilité du diagnostic de TSA. Parmi eux, 30 avaient toujours un diagnostic de TSA en 2009. Concernant les différentes formes de TSA, cette stabilité était meilleure pour les patients diagnostiqués avec autisme infantile (10/10) que pour les patients initialement diagnostiqués Asperger pour lesquels 5/15 avaient un diagnostic différent en 2009 dont 4 avec autisme atypique ou Trouble Envahissant du Développement non spécifié et 1 sans diagnostic de TSA. Pour l'autisme atypique, 5/6 ont reçu le même diagnostic en 2009 et 1/6 a reçu un diagnostic Asperger.

Toujours sur cette même cohorte de patients, une étude sur le syndrome Pathologique d'Évitement des Contraintes a été menée (Gillberg et al., 2015). Ce syndrome est caractérisé par une certaine passivité durant la petite enfance, une résistance extrême et un évitement des contraintes quotidiennes, un défaut d'identité

sociale, de fierté ou de honte, une instabilité de l'humeur et une impulsivité liées au besoin de contrôle, un retard de langage, une aisance dans les jeux de rôle, un comportement obsessionnel et des troubles neurologiques (maladresse, épilepsie). Ce syndrome est extrêmement rare mais il a été suggéré qu'il serait un sous-groupe des TSA. Sur les 50 patients féroïens pour lesquels l'évaluation était possible, 9 (1 sur 5 environ) présentaient certains critères diagnostiques du syndrome Pathologique d'Évitement des Contraintes mais un seul seulement présentait tous les critères diagnostiques nécessaires.

2.4.2 Facteurs environnementaux

De façon intéressante, il existe plusieurs facteurs environnementaux spécifiques aux îles Féroé qui pourraient se révéler importants dans l'interaction avec les facteurs génétiques prédisposant aux TSA.

Par exemple, le méthylmercure, l'intoxication aux polychlorobiphényles et la carence en vitamine D.

2.4.2.1. Méthylmercure dans les îles Féroé

Les îles Féroé constituent toujours une communauté de pêcheurs du Nord où la consommation de baleine-pilote est une tradition qui a pour conséquence une exposition excessive au méthylmercure chez un grand nombre d'habitants (Grandjean et al., 2003).

Il existe plusieurs formes de mercure présentes dans l'environnement provenant d'éruptions volcaniques ou de la pollution industrielle.

La forme de mercure la plus étudiée est le méthylmercure qui est formé dans les systèmes aquatiques par des microorganismes ou des algues à partir de l'élément

mercure (Hg). Le méthylmercure est difficilement éliminé (sa demi-vie est d'environ 72 jours) et est donc bioamplifié au cours de la chaîne alimentaire aquatique, de la bactérie au plancton, en passant par des macro-invertébrés et jusqu'aux poissons herbivores puis piscivores. A chaque niveau trophique de la chaîne alimentaire, la concentration en méthylmercure dans l'organisme augmente. Ainsi, cette concentration est maximale chez les prédateurs aquatiques, comme la baleine pilote et peut être des millions de fois plus élevée que la concentration en méthylmercure de l'eau.

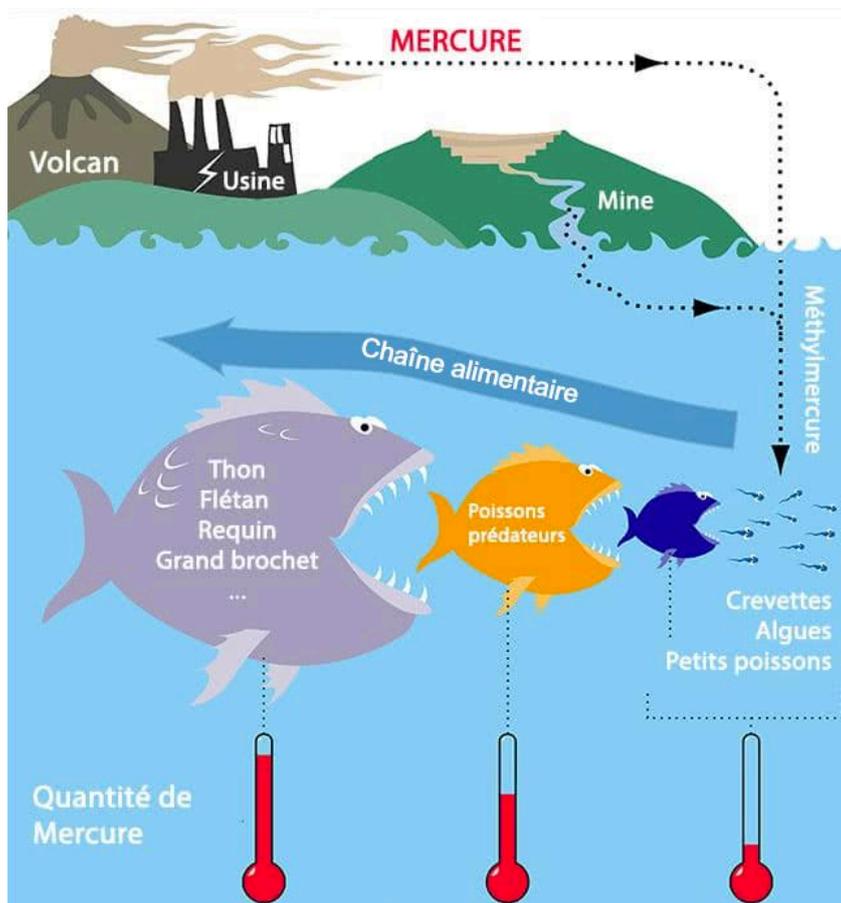


Figure 8. Représentation schématique du cycle biogéochimique du méthylmercure

Chez l'Homme, la consommation de poisson et d'autres espèces aquatiques est la seule source significative d'exposition au méthylmercure (Wiener, 2003).

Le méthylmercure possède la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique et peut ainsi avoir des effets délétères sévères sur le développement et le fonctionnement du système nerveux central (Debes et al., 2006; Grandjean et al., 1997). Sa neurotoxicité serait encore plus grande lors de la période prénatale (Sakamoto et al., 2004).

Il est donc possible qu'il soit lié au développement de troubles neurodéveloppementaux dont les TSA en provoquant une excitotoxicité, c'est-à-dire un endommagement des neurones suite à la suractivation des récepteurs au glutamate. (Garrecht & Austin, 2011).

Cependant, la sensibilité au mercure est très probablement variable d'un individu à l'autre et dépendante de facteurs génétiques (Julvez et al., 2013).

Des études menées dans les îles Féroé et en Nouvelle-Zélande ont montré que l'exposition chronique au méthylmercure, même à des concentrations modérées, suite à la consommation de poisson lors de la période prénatale, pouvait avoir des conséquences néfastes sur les fonctions cognitives et neuropsychologiques à long-terme de l'enfant, en affectant notamment l'attention, le langage, la mémoire, les fonctions motrices fines, les capacités visuo-spatiales et la perte de points de QI performance et de QI total (Kjellstrom et al, 1989, Grandjean 1997, Debes 2006).

Suite à ces études, les autorités de Santé Publique Féroïenne ont établi, en 1998, certaines recommandations afin de sensibiliser la population et de conseiller aux femmes en période pré-conceptionnelle de cesser la consommation de baleine pilote.

Ces recommandations ont eu pour effet une diminution de la concentration de méthylmercure retrouvée dans les cordons ombilicaux à la naissance entre 1986/1987 (24,2 μ g/L) et 2000/2001 (1,4 μ g/L) (Weihe et Grandjean, 2013). La cohorte

étudiée lors de ce projet représente donc l'une des dernières générations d'enfants Féroïens exposés à la consommation de baleine pilote lors de la période pré-natale.

2.4.2.2. Carence en vitamine D dans les îles Féroé

La vitamine D est une vitamine liposoluble qui existe, chez l'Homme, sous deux formes : l'ergocalciférol, ou vitamine D₂, présente dans l'alimentation d'origine végétale (céréales, champignons) et le cholécalciférol, ou vitamine D₃, qui est majoritairement produite par la peau sous l'action des rayonnements Ultra-Violetes de type B (UVB) mais qui est également disponible à travers certains produits d'alimentation animale (poissons gras, produits laitiers enrichis). Cependant, la quantité de vitamine D apportée par l'alimentation reste très faible et sa source principale provient donc très largement de l'exposition au soleil.

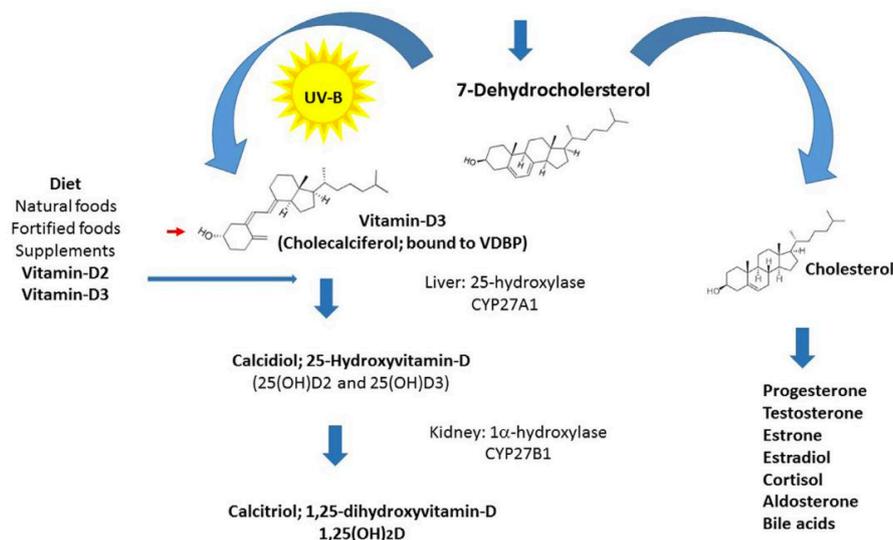


Figure 9. Absorption et métabolisme de la vitamine D.

De nos jours, les carences en vitamine D sont de plus en plus fréquentes en raison notamment de notre mode de vie urbain et des recommandations contre les

effets néfastes de l'exposition au soleil (Holick, 2005, Holick 2007; Schwalfenberg, 2007; Bosomworth, 2011; Cannell et al., 2008b).

Dans les pays nordiques, les rayonnements solaires permettant la synthèse de vitamine D ne sont disponibles que lors d'une courte période de l'été. Ainsi, leurs populations sont encore plus susceptibles d'être carencées en vitamine D. C'est particulièrement le cas aux îles Féroé en raison de leur localisation au sein de l'Océan Atlantique Nord à une latitude de 62°N et de leur climat océanique (fortes pluies, vents forts, température moyenne de 9°C l'été).

Les carences sont également plus fréquentes au sein de populations à la peau foncée car un temps d'exposition 5 à 10 fois plus long est nécessaire pour synthétiser la même dose de vitamine D que les populations à la peau claire (Clemens, Adams, Henderson, & Holick, 1982).

En dehors de son rôle bien connu dans l'homéostasie calcique et le métabolisme osseux, la vitamine D possède un rôle clé dans de nombreux processus importants comme l'homéostasie cérébrale, la régulation de la réponse immunitaire, le vieillissement mais également dans la régulation de l'expression des gènes (Sigmundsdóttir, 2011; Harms, Burne, Eyles, & McGrath, 2011; Ramagopalan et al., 2010).

En effet, il a été montré que la vitamine D, en tant que facteur de transcription, pouvait se fixer à plus de 2700 gènes et réguler l'expression de plus de 200 d'entre eux (Ramagopalan et al., 2010).

Plusieurs études suggèrent qu'une carence en vitamine D lors des périodes prénatales ou néonatales pourrait constituer un facteur de vulnérabilité aux TSA (McGrath et al., 2001; Cannell & Grant, 2013; Grant & Soles, 2009; Kočovská et al., 2012, Minnis, & Gillberg, 2012; Koc̣ovska et al., 2014; Fernell et al., 2015) en raison notamment de son rôle dans le neurodéveloppement (Eyles et al., 2013 et 2014, Garcion et al. 2002) , dans la modulation du système immunitaire et dans la régulation de gènes (Ramagopalan et al., 2010). En effet, il a été montré que la vitamine D aurait des effets neuroprotecteurs et serait impliquée dans l'homéostasie cérébrale (Eyles et al., 2013, 2014, Garcion et al. 2002, Holick, 2007).

Certaines études ont trouvé une anti-corrélation entre les dosages de vitamine D et la sévérité des symptômes autistiques chez les patients (Mostafa & AL-Ayadhi, 2012; Gong et al., 2014).

Par ailleurs, il a été montré que la prévalence de l'autisme serait plus élevée dans les pays nordiques (Grant & Soles, 2009) et chez les enfants de mères migrantes à la peau foncée, particulièrement celles provenant d'Afrique du Nord et s'installant en Europe du Nord (Grant & Soles, 2009; Fernell et al., 2010; Dealberto, 2011).

Enfin, au sein de notre cohorte des îles Féroé, Kocovska et collaborateurs ont montré une différence significative des concentrations de vitamine D dans le sang des patients TSA par rapport aux individus témoins. Les patients avaient des niveaux sanguins significativement plus bas et présentaient plus fréquemment une carence en vitamine D en comparaison avec leurs frères et sœurs non atteints, leurs parents, et les individus témoins (Kočovská et al., 2014).

Les acteurs régulant le métabolisme ainsi que les effets de la vitamine D (récepteurs, les protéines et enzymes associées à la vitamine D) sont évidemment

sous contrôle génétique. Les effets d'une carence environnementale en vitamine D pourraient donc être amplifiés par des facteurs de risque génétiques qui contribueraient à la vulnérabilité aux TSA (Fu et al. 2009; Ahn et al. 2010; Hiraki et al. 2013).

OBJECTIFS

Les facteurs génétiques jouent un rôle clé dans l'étiologie des TSA. Cependant, l'architecture génétique des TSA est extrêmement complexe puisqu'elle est caractérisée par une très grande hétérogénéité des modes de transmission, du nombre et de la nature des gènes et des variants impliqués. L'identification des différentes combinaisons d'allèles à risque pour chaque patient est alors difficile. Il est difficile d'identifier, pour chacun des patients, la combinaison d'allèles à risque.

Afin de réduire la complexité génétique, ce projet de thèse s'intéresse à l'architecture génétique des familles de patients TSA au sein de la population d'un isolat génétique, les îles Féroé.

Le premier objectif de cette thèse est la caractérisation, d'un point de vue génétique, de la population des îles Féroé et de notre cohorte afin de mieux comprendre l'ensemble des facteurs génétiques impliqués dans la vulnérabilité aux TSA.

Le deuxième objectif est l'identification de variants à risque (CNVs, SNVs, indels) au sein de cette cohorte à travers l'étude des données de génotypage et de séquençage d'exomes afin d'identifier les gènes de vulnérabilité aux TSA dans les îles Féroé.

Enfin, le troisième objectif de cette étude est la stratification des individus de la cohorte en fonction de leur profil génétique grâce à la combinaison de l'ensemble des variants génétiques identifiés à travers les différentes méthodologies afin de mieux caractériser la relation génotype-phénotype pour chaque individu.

SUJETS ET METHODES

Les méthodes utilisées lors de l'étude sont décrites dans l'article et figurent ainsi dans la partie "Résultats" de ce manuscrit. Cette partie a pour objectif de fournir d'avantage de détails sur les patients et leur recrutement.

Patients

Tous les patients de l'étude font partie de la cohorte épidémiologique recrutée en deux temps par l'équipe du professeur Gillberg (voir introduction) correspondant aux enfants nés entre 1985 et 1994 ayant reçu un diagnostic de TSA.

Au total, 67 patients ont été recrutés lors de cette étude.

Parmi ces 67 patients patients, 23% ont reçu un diagnostic d'autisme classique, 56% de syndrome d'Asperger et 21% d'autisme atypique. Il y avait 49 individus masculins (73%) et 18 individus féminins (26%).

Malheureusement, nous disposons de l'ADN de seulement 36 de ces patients. Parmi ces 36 patients, 31% avaient reçu un diagnostic d'autisme classique, 47% de syndrome d'Asperger et 22% d'autisme atypique. 28 patients sont de sexe masculin (78%) et 8 de sexe féminin (22%).



Figure 10. Timeline et effectifs de l'étude.

Les différents diagnostics ont une répartition très similaire au sein de la cohorte épidémiologique et au sein de la cohorte génétique, plus réduite.

Pour 28 patients, l'ADN des deux parents était disponible, permettant l'analyse de mutations *de novo*.

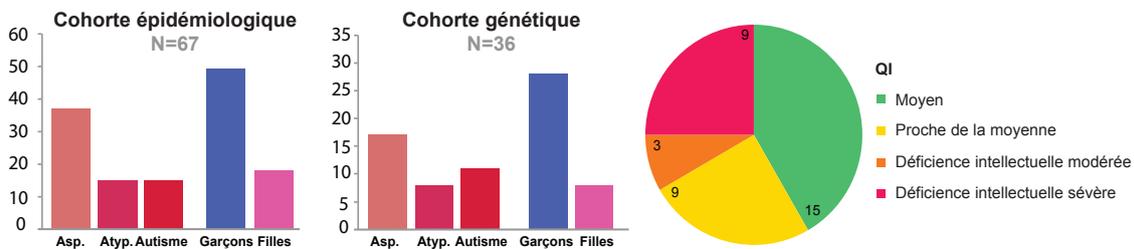


Figure 11. Répartition des différents diagnostics dans les cohortes épidémiologique et génétiques ainsi que répartition des différents niveaux de QI au sein de la cohorte génétique étudiée au laboratoire.

Dépistage et diagnostic

Le dépistage a été fait à travers l'utilisation de ASSQ (Autism Spectrum Screening Questionnaire). Les enfants retenus suite à ce dépistage ont été examinés et évalués à l'aide du test DISCO (Diagnostic Interview for Social and Communication Disorder (DISCO-10 in 2002 and DISCO-11 in 2009)).

Quand les capacités générales et verbales de l'enfant le permettaient, les enfants ont été également interrogés à propos de leurs capacités et intérêts, leurs relations sociales et leur culture générale.

Les critères diagnostiques retenus étaient ceux des critères de l'ICD-10 (dixième édition de l'International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems) pour l'autisme infantile et l'autisme, des critères de Gillberg pour le syndrome d'Asperger (Leekam et al., 2000) et des critères de l'ICD-10 pour l'autisme atypique avec la spécificité que le patient ainsi diagnostiqué ne remplissait pas tous les critères pour l'autisme infantile ou le syndrome d'Asperger.

Les QI des patients ont été mesurés, lorsque c'était possible, en utilisant la 3^e édition du WISC-R (Wechsler Intelligence Scale for Children - Revised) ou le WAIS-R (Wechsler Adult Intelligence Scale - Revised).

Pour les patients dont les capacités ne permettaient pas d'effectuer ces tests, le QI a été estimé à partir de l'échelle de Vineland intégrée au test DISCO.

Les différentes catégories de QI étaient : (i) déficience intellectuelle sévère pour les QI mesurés ou estimés en dessous de 50; (ii) déficience intellectuelle modérée pour les QI mesurés ou estimés entre 50 et 69; (iii) intelligence proche de la normale pour les QI mesurés entre 70 et 84; (iv) intelligence normale pour les QI mesurés entre 85 et 114; (v) intelligence supérieure à la normale pour les QI à partir de 115.

RESULTATS

Both rare and common genetic variants contribute to autism in the Faroe Islands

In preparation for submission in PLOS GENETICS

Claire Leblond^{1,2,3,4*}, Freddy Cliquet^{1,2,3,4*}, Coralie Carton^{1,2,3,4*}, Guillaume Huguet^{1,2,3,4}, Alexandre Mathieu^{1,2,3,4}, Thomas Kergrohen^{1,2,3,4}, Julien Buratti^{1,2,3,4}, Nathalie Lemièrè^{1,2,3,4}, Laurence Cuisset⁵, Thierry Bienvenu⁵, Anne Boland⁶, Jean-François Deleuze⁶, GenMed consortium, Tormodur Stora⁷, Rannva Biskupstoe⁸, Jónrit Halling⁸, Guðrið Andorsdóttir⁸, Eva Billstedt⁹, Christopher Gillberg^{9,10#}, and Thomas Bourgeron^{1,2,3,4#}

1 Institut Pasteur, Human Genetics and Cognitive Functions Unit, Paris, France

2 CNRS UMR 3571 Genes, Synapses and Cognition, Institut Pasteur, Paris, France

3 University Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

4 Centre de Bioinformatique, Biostatistique et Biologie Intégrative, Paris, France

5 Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, HUPC, Paris, France

6 Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), CEA, Evry France

7 Department of Psychiatry, National Hospital Faroe Islands, Tórshavn, Faroe Islands

8 Ministry of Health Genetic Biobank of the Faroes Tórshavn Faeroe Islands

9 Institute of Neuroscience and Physiology, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg
10 Gillberg Neuropsychiatry Centre Göteborg Sweden ;

* Equally contributed to the work.

Joint senior authors.

Corresponding author: Thomas Bourgeron (thomasb@pasteur.fr)

Abstract

The number of genes associated with autism spectrum disorder (ASD) is increasing, but few studies have been performed on epidemiological cohorts and in isolated populations. Here, we investigated 357 individuals from the Faroe Islands including 36 patients with ASD, 136 of their relatives and 185 non-ASD controls. Data from SNP array and whole exome sequencing revealed that patients compared to controls had a higher burden of copy-number variants ($P < 0.05$), higher inbreeding status ($P < 0.005$), higher load of homozygous deleterious variants ($P < 0.0005$), and a higher ASD polygenic risk score ($P < 0.01$). Our analysis supports the role of several genes/loci associated with ASD (e.g. *NRXN1*, *ADNP*, 22q11 deletion) and identified new truncating (e.g. *GRIK2*, *ROBO1*, *NINL* and *IMMP2L*) or recessive deleterious variants (e.g. *KIRREL3* and *CNTNAP2*) affecting ASD-risk genes. It also revealed three genes involved in synaptic plasticity, *RIMS4*, *KALRN* and *PLA2G4A*, carrying *de novo* deleterious variants in individuals with ASD without intellectual disability. In summary, our analysis provides a better understanding of the genetic architecture of ASD in isolated populations by highlighting the role of both common and rare gene variants and pointing at new ASD-risk genes. It also indicates that more knowledge about how multiple genetic hits affect neuronal function will be necessary to fully understand the genetic architecture of ASD.

Introduction

Autism spectrum disorders (ASD) are diagnosed in 1-2% of the population worldwide and are characterized by atypical social communication and the presence of restricted interests, stereotyped and repetitive behaviors. Individuals with ASD can also suffer from psychiatric and medical conditions including intellectual disability (ID), epilepsy, motor control difficulties, attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD), tics, anxiety, sleep disorders, depression or gastrointestinal problems ¹. Boys are more often affected than girls with a sex ratio between 4:1 for typical autism and 8:1 for Asperger syndrome. The genetic susceptibility to ASD can vary from one individual to another. In some cases, a single *de novo* variant can be detected. On the contrary, in some cases, the genetic architecture is more complex and involved thousands of common genetic variants, each one with low impact but collectively increasing the susceptibility to autism ². Most of our knowledge on the genetics of ASD comes from studies on unrelated patients who do not share a recent common ancestor. Several studies investigated families with ASD from countries where consanguinity is high ^{3,4}, but the genetic architecture of ASD in isolated populations remains largely unknown.

The Faroe Islands is an archipelago located in the North Atlantic Ocean, halfway between Norway, Iceland and Scotland (Figure 1A). The population (approximately 49,000 inhabitants) was founded in the 9th century by a small number of emigrants from Norway. The population remained at a small size for centuries until they experienced a rapid expansion in the 1800s. Previous genetic studies indicated that individuals from Scotland, Norway, Sweden, Ireland, Iceland and British Isles have significantly contributed to the current gene pool of the Faroese population ^{5,6}.

We previously showed that the prevalence of ASD in the Faroe Islands (0.94% of the population ⁷⁻⁹) was similar to many other western countries. In this study, we

ascertained the genetic profile of 357 individuals including an epidemiological cohort of 36 patients with ASD born between 1985 and 1994 (Figure 1, Supplementary Figure 1), their relatives (n=136) and a group of 185 controls. We first investigated the known causes of ASD and then identified new candidate genes. We also ascertained the impact of inbreeding and the load of deleterious homozygous variants on the risk of ASD. Finally, both rare and common genetic variants were used to stratify patients and to compare their genetic and clinical profiles.

RESULTS

The genetic diversity in the Faroe Islands

A total of 67 children and adolescents with autism were detected in a total population study of individuals aged 8-17 years living in the Faroe Islands and born between 1985 and 1994^{8,10}. Thirty-six of the 67 individuals (54% of the total group) signed (or had parents who signed) informed consent forms and were included in the genetic study. Participants and non-participants in the genetic study were similar in terms of gender and cognitive abilities (Figure 1B). In addition, we collected DNA from 136 of their relatives and from 185 "non-ASD controls. The genetic profile included a high-density Illumina SNP array interrogating > 4.3 millions of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and a whole exome sequencing (WES) to discover new variants. Using identical-by-state (IBS) genomic distance (see material and methods), we first compared the population structure of individuals from the Faroe Islands with worldwide populations (Figure 1C). All individuals were clustered in the Faroese population (at the exception of seven controls, but still with European genetic background). Using admixture, we showed that individuals from the Faroe Islands had > 90% of their genome constituted from "European component" (Supplementary Figure 2). As expected from the

demographic history, individuals from the Faroese population displayed a higher degree of inbreeding compared with other world populations (Figure 1D).

Contribution of de novo variants

We ascertained the burden of *de novo* variants since they are key players in the genetics of autism^{11,12}. The *de novo* variants were identified for 31 independent families including 28 patients and 45 unaffected siblings for whom DNA of both parents was available (see supplementary notes for the pedigrees). The combined analysis of genotyping and WES data revealed the presence of *de novo* chromosomal abnormalities and exonic copy-number variants (CNVs) in 3 out of 26 patients (11.5%) and 1 out of 43 unaffected siblings (2.3%). One patient PN400129 had a trisomy of chromosome 21 and was diagnosed with ASD, ID and Down syndrome (Supplementary Figure 3, Supplementary Table 1). One female PN400533 with atypical autism without ID carried a *de novo* 2.9 Mb deletion on chromosome 22q11 causing DiGeorge/velocardial syndrome. A male PN400115 with atypical autism without ID carried a *de novo* 425.5 kb deletion removing the six first exons of the *NRXN1α*. We also found a 91.4 kb deletion removing all exons of *ADNP* in a male patient with ID (PN400125). The deletion was not found in the mother and was most likely *de novo*, but father's DNA was not available and none of the SNPs within the deletion were informative to confirm the *de novo* status of the deletion. The *de novo* CNV observed in the unaffected sibling (PN400170) was a duplication of 782 kb affecting 5 genes (*CNPY1*, *DPP6*, *EN2*, *HTR5A*, *INSIG1* and *PAXIP1*).

Using the WES data, we detected the presence of *de novo* single nucleotide variants (SNVs) and small insertions/deletions (indels) (Supplementary Table 2). Overall, the rate of *de novo* exonic SNV/indels was similar to other studies¹³ and was not different in the patients (0.93) and their unaffected siblings (0.96). The variants

were considered as probably deleterious when they were likely gene disruptive (LGD, for example stop gain or frame shift variant) or missense events with a combined annotation dependent depletion (CADD) score > 30 (MIS30) ¹⁴. There was also no significant increase in the rate of *de novo* deleterious variants in patients compared to unaffected siblings and no significant enrichment in genes associated with ASD (SFARI genes ¹⁵) or expressed in the brain (Brain genes, see subjects and methods for gene selection). Nevertheless, several deleterious variants were identified in known genes for ASD (*MECP2*) or compelling candidate genes (*RIMS4*, *KALRN*, *PLA2G4A*) (Supplementary Figure 4). Clinical details on the patients carrying those variants are available in the supplementary clinical notes.

Contribution of rare CNVs and SNVs/indels variants

The overall burden of exonic CNVs was higher in patients compared to controls for both deletions (P=0.02) or duplication (P=0.006) (Figure 2A, Supplementary Table 3). The burden of deletions was also higher for ASD-risk genes listed in the SFARI database (P=0.01), for genes intolerant to loss-of-function variant (pLI > 0.9) ¹⁶ (P=0.01) or genes expressed in the brain (P=0.02). For duplications, only genes expressed in the brain were more frequently duplicated in patients compared to controls (P=0.005). These differences however do not survive corrections for multiple tests and we had no significant difference between patients and their unaffected siblings. Among the SFARI genes affected by the CNVs, we identified a 58 kb maternal inherited deletion including the *IMMP2L*, a 2 Mb paternal inherited duplication on the pseudo-autosomal region 1 including *SHOX* and *ASMT*, and a 39 kb maternal inherited duplication of *TBL1XR1* (Supplementary Table X).

Our analysis was restricted to CNVs affecting exons, but a large 357 kb duplication within intron 5 of the *NLGN1* gene and covering a long *NLGN1* antisense noncoding RNA was paternally inherited in a proband (PN400102) with ASD and no ID. There was no such rare intronic CNVs in the SFARI genes in unaffected siblings and controls.

We then run gene-wise association tests from rare SNV/indels (MAF < 5%). None of associations were gene wide significant, but *KIF1B*, *FOXD3*, *RNF181* and *SDPR* were among the top genes (P<0.001) detected by both the CMC-EMMAX and SKAT-O analyses (Figure 2B; Supplementary Figure 5; Supplementary Table 4 and Table 5). For *FOXD3*, *RNF181*, and *SDPR* the association was mainly driven by one missense variant, whereas for *KIF1B*, several variants contributed to the association. Single variant tests were performed (Supplementary Table 6) and among the hits with P < 0.009, two variants affect genes previously associated with neurodevelopmental disorders (NDD). A variant p.R276W in *NINL*, a gene previously associated with ASD was more frequent in patients (P400121 was homozygous) compared to controls (P = 0.0005). This Ninein-like protein is known to associate with motor complex and interact with the ciliopathy-associated proteins lebercilin, *USH2A* and *CC2D2A*. A *CHAMP1* variant (p.A586S) was more frequent in patients compared with controls (P<0.003) and it was previously shown that *de novo* variants in *CHAMP1* cause ID with severe speech impairment¹⁷.

Finally, we found truncating variants affecting several SFARI genes (*e.g.* *PRODH*, *ERBB4*, *GRIK2*, *ROBO1*, *RBMS3*, and *IMMP2L*; Figure 2B and Supplementary Table 7), but the number of patients carrying these variants was too low to detect a significant association.

Contribution of recessive variants

Since inbreeding increases the risk for individuals to carry homozygous deleterious variants, we first compared the inbreeding status of the patients, their relatives and controls. Patients ($p < 0.005$) as well as their unaffected siblings ($p < 0.01$) had a higher inbreeding coefficient compared with controls (Figure 3A). More interestingly, we found that individuals with ASD were carrying more deleterious homozygous variants (LGD, MIS30, gnomAD MAF $< 1\%$) than controls ($P < 0.0005$; Figure 3B, Supplementary Table 8). Genes carrying deleterious homozygous variants in affected individuals were significantly enriched in the combined gene-set lists (SFARI + $pLI > 0.9$ + Brain genes) compared to controls ($P < 0.05$; Figure 3C).

In one consanguineous family, we found a *KIRREL3* homozygous damaging missense variant (p.R562L) affecting a conserved residue in the cytoplasmic domain of this synaptic adhesion molecule¹⁸ listed in SFARI and associated with NDD^{19,20 21} (Figure 3D). Interestingly, the female patient (PN400528) with a normal IQ was also homozygous for another deleterious variant (p.N687K) affecting *TECTA*, a SFARI gene associated with autism²⁰ and deafness²².

In another family, the male proband (PN400579) was homozygous for two variants affecting *CNTNAP2* and *PEX6* (Figure 3E). Recessive *CNTNAP2* variants are associated with Pitt-Hopkins like syndrome 1 and cortical dysplasia-focal epilepsy syndrome (MIM #610042). The *CNTNAP2* p.E680K variant affects a highly conserved amino acid within the fibrinogen domain of the protein. Recessive *PEX6* variants are associated with Heimler syndrome 2 a recessive peroxisome disorder characterized by sensorineural hearing loss, amelogenesis imperfecta and nail abnormalities, with or without visual defects (MIM #616617). The homozygous variant p.R601Q carried by the proband is considered pathogenic since it was previously detected in several

independent patients diagnosed with Heimler syndrome 2²³. Details on the clinical profiles of the families are available in the supplementary notes.

Contribution of common variants

In order to complete the genetic profile of all the individuals, we investigated the contribution of the common variants (MAF > 5%) using three complementary approaches: (i) genome wide association studies (GWAS) in cases and controls using three models (allelic, recessive and dominant), (ii) a burden/collapsing test that aggregates the variants located in a gene, (iii) a calculation of the ASD polygenic risk score.

The results of the GWAS are presented in Supplementary figure 6 and Supplementary figure 7 and a list of the top 45 loci that display p-values under 10^{-5} are shown in Figure 2B and Supplementary Table 9. Two of these loci were located within or nearby genes previously associated with NDD. *TNIK* on chromosome 3q26 (rs1492859; $P = 5.59 \times 10^{-7}$) encodes a key synaptic partner of *DISC1*, a gene associated with psychiatric disorders²⁴. *TMEFF2* on chromosome 2q32.3 (rs6737056; $P = 3.47 \times 10^{-7}$) is highly expressed in the brain and is known to modulate the AKT/ERK signaling pathways that are supposedly perturbed in ASD²⁵. *TMEFF2* is also a target of *CHD8*, a chromatin remodeling gene associated with autism^{26,27}. Using the gene-based analysis implemented in MAGMA²⁸, only one gene *WHAMM* on chromosome 15q25.1 had a $P < 10^{-5}$ (Supplementary Table 10 and 11). *WHAMM* is expressed in the brain and acts as a regulator of membrane dynamics that functions at the interface of the microtubule and actin cytoskeletons²⁹.

Finally, we ascertained the ASD polygenic risk score (PRS-ASD) for each individual (Figure 4). The PRS-ASD was calculated using PRSice-2 from a previous GWAS

using over 16,000 individuals with ASD ³⁰ who do not overlap with this sample. We found a significantly higher PRS-ASD in individuals with ASD compared to controls ($P < 0.01$; Figure 4A). Remarkably, in the ASD group, the PRS-ASD was significantly higher in individuals without ID compared to those with ID ($P < 0.05$, Figure 4B).

Genetic stratification of ASD in the Faroe Islands

In order to stratify patients, we used the number of rare deleterious variants in SFARI genes (including CNVs) and the PRS-ASD estimated from the common variants (Figure 5). Hierarchical clustering found four clusters. The first one comprised seven individuals with high PRS-ASD and high burden of deleterious variants in SFARI genes. In this cluster, none of the individuals had ID. The second "cluster" included only one individual who was diagnosed with ASD and Down syndrome with a low PRS-ASD and high burden of SFARI deleterious variants. In the third cluster, fourteen individuals had low PRS-ASD and low burden of SFARI genes deleterious variants. In this cluster 50% of the individuals had ID. In the fourth cluster, fourteen individuals had higher PRS-ASD, but low burden of SFARI deleterious variants. In this cluster, 29% of the individuals had ID and it includes the three patients with epilepsy from the cohort.

DISCUSSION

In this study, we investigated a group of individuals with ASD that has two distinctive features. First, the group is representative of a general population cohort of all young people living in the Faroe Islands at one point in time, meaning that it was not biased for inclusion/exclusion criteria used for research studies. Secondly, the Faroese population has a more homogeneous genetic background compared to most other populations.

ASD-risk genes in the Faroe Islands

We found a subset of individuals carrying strongly deleterious variants (some of which appeared *de novo*) affecting single gene or chromosomal regions. The chromosomal abnormalities included on case each of trisomy 21 and 22q11 deletion (causing Down and DiGeorge/velocardial syndromes, respectively). This was not surprising to find such known genetic disorders in an epidemiologic cohort since the prevalence of ASD in patients diagnosed with these syndromes is higher than in the general population (16-37% for Down syndrome ³¹, and 23-50% for DiGeorge/velocardial syndrome deletion ^{32,33}). We also revealed new variants in known ASD-risk genes (*ADPNP*, *NRXN1*, *NINL*, *MECP2*) and points at new compelling candidate genes such as *KALRN*, *PLA2G4A* and *RIMS4*.

The *KALRN* gene encodes for a guanine nucleotide exchange factor (GEF) with strong homology to *TRIO*, a gene previously associated with ASD ³⁴. *KALRN* is expressed in neuronal tissue during embryonic development ³⁵ and has been associated with schizophrenia risk through association analysis and postmortem analyses of patients' cortical *KALRN* mRNA and protein levels ^{36,37}. It is also a binding partner of the Huntingtin and a regulator of structural and functional plasticity at dendritic spines. The *de novo* variant (p.N2024D; CADD=26.7) was never observed in the general population affects a key amino acid of the GEF domain conserved through evolution and present in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. The male individual (PN400117) carrying this *de novo KALRN* variant has no ID.

PLA2G4A gene encodes the cytosolic phospholipase A2 α that catalyzes the hydrolysis of membrane phospholipids to produce arachidonic acid. Mice lacking *Pla2g4a* display abnormalities in neuronal maturation (narrow synaptic cleft) ³⁸ and long-term potentiation (LTP) ³⁹. The *de novo* variant (p.R485C; CADD=35) has never

been observed in the general population and is predicted as a deleterious variant falling in the catalytic domain of the protein. The patient (PN400102) carrying this *de novo* variant has no ID.

RIMS4 codes for a presynaptic proteins that plays a key role for dendritic and axonal morphogenesis ⁴⁰. *RIMS1* and *RIMS3* have already been associated with ASD ⁴¹⁻⁴³ . The individual (PN400137) carrying the *de novo RIMS4* stop variant (p.Y204*; CADD=38) has a normal IQ (Performance IQ=108, Verbal IQ=116). The variant is predicted to truncate the last quarter of the protein and was never observed in the general population. Interestingly, RIM proteins interact with voltage-dependent Ca(2+) channels (VDCCs) and suppress their activity at the presynaptic active zone to regulate neurotransmitter release. Knockdown of gamma-RIMs (*RIMS3* and *RIMS4*) attenuated glutamate release to a lesser extent than that of alpha-RIMs (*RIMS1* and *RIMS2*). As a consequence, competition between alpha- and gamma-RIMs seems to be essential for modulating the release of glutamate at the synapse ⁴⁴. We can therefore hypothesize that the *de novo RIMS4* truncating stop variant perturbs the fine-tuning of glutamatergic release at the synapse and contributes to ASD.

High inbreeding slightly increases the risk of ASD, but no evidence for a founder effect for ASD in the Faroe Islands.

In genetic isolates, it is frequent to observe an increase frequency of diseases due to the presence of deleterious variants that were present in the genomes of the small group of migrants who settled the population. In the Faroe Islands, this “founder effect” was documented for several genetic diseases such as Bardet-Biedl syndrome ⁴⁵, cystic fibrosis ⁴⁶, 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency ⁴⁷, glycogen storage disease type IIIA ⁴⁸ and retinitis pigmentosa ⁴⁹. We confirmed that inbreeding in the Faroe Island

is higher than expected compared with other populations. The median of inbreeding is $F = 0.015 \pm 0.001$ in the control sample and is similar to the one reported by Binzer et al. (2014) in their study on multiple sclerosis in the Faroe Islands ($F = 0.018$)⁵⁰. This level of inbreeding corresponds approximately to a second-cousin relationship ($F = 0.016$). We also observed that individuals with ASD from the Faroe Islands have significantly higher level of inbreeding and burden of recessive deleterious variants compared to their geographically matched controls. The homozygous deleterious variants carried by the patients were enriched in genes included in our list of genes of interest (*e. g.* high intolerance for loss of function variants, expressed in the brain and previously associated with ASD). However, one should note that the increased risk for ASD caused by high inbreeding is relatively small ($F_{\text{probands}} = 0.0189$; $F_{\text{controls}} = 0.0148$; OR=1.28; P-value = 0.0047).

In contrast to other genetic conditions, we could not detect a founder effect for ASD in the Faroe Islands. Moreover, the loci identified in our study do not overlap with those detected in a previous genetic microsatellite association study in the Faroese population pointing at regions on 2q, 3p, 6q, 15q, 16p, and 18q⁵¹. We also found no overlap between the variants identified in our study and those found in Faroese patients diagnosed with panic⁵² or bipolar⁵³ disorders. This absence of a founder effect is also in agreement with the epidemiological observation that the prevalence of ASD in the Faroese population is not higher compared to more outbred populations.

Perspectives

Our study confirms that both rare and common genetic variants contribute to the susceptibility to ASD. Indeed, although, we identified previously known genetic causes for ASD and pointed at new compelling candidate genes, we also showed a contribution

of the common variants illustrated by the higher level of PRS-ASD in individuals with ASD (especially those with no ID) compared to controls. To date, in the literature, very few genes were identified in individuals diagnosed with ASD, but with intact general intelligence. Based on the genes previously reported (*NLGN3*, *NLGN4X*, duplication of *SHANK3*)^{54,55} and the genes found in this study (*RIMS4*, *KALRN*, *PLA2G4A*) it seems that the proteins involved in ASD without ID converge to different part of the post- and pre-synapse rather than to pathways such as gene regulation and chromatin remodeling, but this has to be confirmed on larger cohorts. Indeed, the main limitation of our study is the small number of patients. Several LGD variants affecting ASD-risk genes such as *GRIK2*⁵⁶ or *ASMT*⁵⁷ were found exclusively or more frequently in individual with ASD compared to controls, but we lack a replication samples to confirm the contribution of these variants in the susceptibility to ASD in the Faroe Islands.

In summary, this study improves our knowledge on the genetic architecture of ASD in epidemiological cohorts and in genetic isolates by showing that the contribution of both rare and common gene variants to ASD can be detected in small, but genetically homogeneous populations. It also provides new compelling candidate genes and reveals that high inbreeding and high load of homozygous deleterious variants can be a risk factor for ASD. Such combined analysis investigating both rare and common gene variants might represent a useful framework to investigate, from groups to individuals, the complex genetic architecture of ASD.

SUBJECTS AND METHODS

Patients

All patients in this study were recruited from an epidemiological cohort through a two-phase screening and diagnostic process targeting all children born in the 10-year period

from 1985 through 1994 and living in the Faroe Islands in 2002 (7-16 years, n=7,689 children) and 2009 (15-24 years, n= 7,128 children) ^{8,10}. The total number of children diagnosed with ASD was 67 which corresponds to an ASD prevalence of 0.94%. Among the patients, 23% were diagnosed with classical autism, 56% with Asperger syndrome and 21% with atypical autism. There were 49 males (73.1%) and 18 females (26.9%). DNA was available for 36 patients including 11 diagnosed with classical autism (31%), 17 with Asperger syndrome (47%), and 8 with atypical autism (22%). There were 28 males (78%) and 8 females (22%).

Screening and diagnosis

In 2002, screening included the use of the Autism Spectrum Screening Questionnaire (ASSQ) ⁵⁸. Screen-positive children were thoroughly examined via Diagnostic Interview for Social and Communication Disorder (DISCO-10 in 2002 and DISCO-11 in 2009) ⁵⁹ of one or both parents and the Wechsler Intelligence Scale for Children – 3^r edition (WISC) or Wechsler Adult Intelligence Scale – Revised (WAIS). Whenever overall and verbal abilities allowed it possible, children were also interviewed in an unstructured/semistructured manner about interests and skills patterns, peer relations, family relationships and about formal general information knowledge. The following diagnostic criteria used when making clinical diagnoses were (a) ICD-10 criteria for childhood autism/autistic disorder; (b) Gillberg criteria for Asperger syndrome; (c) ICD-10 criteria for atypical autism with the added requirement that a case thus diagnosed could not meet full criteria for childhood autism or Asperger syndrome; and (d) ICD-10 criteria for disintegrative disorder.

The majority of children in the atypical autism and Asperger syndrome groups had been tested with the WISC-R. Those with childhood autism had usually been tested

on other tests. In those intellectually low-functioning individuals for whom no test was available, IQ was estimated on the basis of the Vineland developmental portion that is part of the DISCO-interview.

Genotyping

The cohort available for the genotyping is shown in Figure 1 and Supplementary Figure 1. It includes 36 patients with ASD, 208 controls, 132 close relatives of the patients (61 unaffected siblings and 68 parents) and 10 close relatives from the controls. DNA was extracted from blood leukocytes. The genotyping was performed at the “Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH)” using the Infinium IlluminaOmni5-4 BeadChip (> 4.3 millions of markers) from Illumina. Sample quality controls such as Sex check (based on the X chromosome homozygosity rate), Mendel errors (transmission errors within full trios) and Identity By State (IBS, see section below) were performed using PLINK 1.90 ⁶⁰.

Population genetic structure

Genome-wide pairwise IBS calculations and Multidimensional scaling (mds) analysis on genome-wide IBS pairwise distances matrix was calculated using PLINK 1.90. IBS values have been calculated for 376 individuals from Faroe Islands and 1,184 individuals from HapMap phase 3 project with the following calculation: $1 - (0.5 * IBS1 + IBS2)/N$; N is the number of tested markers; IBS1 and IBS2 are the number of markers for which one pair of individuals share either 1 or 2 identical allele(s), respectively. Out of the 376 individuals, 32 individuals were removed from further analyses, including 7 ancestry outliers (all controls), 9 siblings of controls, one swap and 15 control individuals involved in pairs with IBS score superior to 0.9.

For the estimation of the inbreeding status, SNPs with genotyping call rate < 95%, minor allele frequency < 0.05, strong linkage disequilibrium $r > 0.5$ or failing Hardy Weinberg equilibrium test ($p < 10^{-6}$) were filtered out of the Faroe SNP genotyping dataset. All homozygosity analyses were performed with Plink 1.09 on autosomes including identification of Runs Of Homozygosity (ROH) and Inbreeding coefficients calculation. For ROH detection, a threshold of 50 consecutive homozygous SNPs with a minimum density of 1 SNP / 5,000 kb and no minimum length 50 SNPs was used following Howrigan et al.'s guidelines⁶¹. No heterozygous markers were allowed in the 50 SNPs-window. In this analysis, the maximum gap between two consecutive SNPs within a run was set to 5,000 kb. Inbreeding coefficients were calculated by estimating the proportion of the autosomal genome that is in ROH. This method was proposed by McQuillan and al (2008)⁶² and has been showed to be the most reliable, especially with small sample size⁶³. Faroe inbreeding coefficients were compared to inbreeding coefficient of HapMap phase 3 project populations.

Genome-wide association study (GWAS)

Prior association analyses, SNPs with genotyping call rate < 90%, minor allele frequency < 0.05 or failing Hardy Weinberg equilibrium test ($p < 10^{-6}$) were filtered out of the Faroe SNP genotyping dataset. The global genome wide genotyping call rate of all the individuals was superior to 90%. A total of 1,690,491 variants and 212 independent individuals (including 36 cases and 176 controls) passed filters and QC. Allelic, recessive and dominant GWAS were performed with Plink 1.09 using Chi-squared statistics. Manhattan and Quantile-Quantile (Q-Q) plots were generated using R. Gene and gene-set (including SFARI, $pLI > 0.9$ and Brain gene lists) analyses were performed with

MAGMA v1.06 ²⁸ using principal components regression and linear regression model, respectively.

Polygenic risk score (PRS) for ASD

The computation of the PRS was performed with the tool PRSice2 (PMID: 25550326) on the Faroes SNP array data using as a reference the PGC GWAS summary statistics (PMID: 28540026). SNPs were not imputed since we used high density arrays (over 4 millions SNPs). For our dataset, PRSice2 with default parameters defined a p-value threshold of 0.197 which gives us a R^2 (squared correlation coefficient) of 0.04.

Whole-Exome Sequencing (WES)

Blood leukocytes DNA from 286 individuals was enriched for exonic sequences through hybridization SureSelect Human All Exon V5 (Agilent) by the CNRGH. For 67 individuals for whom the available quantity of DNA was low, they used a low-input protocol using only 200 ng of DNA compared to 3 μ g for the normal protocol. The captured DNA was sequenced using a HiSeq 2000 instrument (Illumina). Coverage/depth statistics have been accessed as quality control criteria. We required that more than 90% of each exome have 10X coverage and more than 80% have 20X coverage. Short read sequences were then aligned to hg19 with BWA v0.7.8, duplicate reads were removed with PicardTools MarkDuplicates. Reads with a global quality under 30 and a mapping quality under 20 were excluded from the analysis. Variants were predicted using FreeBayes ⁶⁴ and GATK ⁶⁵ with a minimum of 10 reads covering the position. VEP (using RefSeq and Ensembl 91) was used to annotate the variants. We used the GEMINI ⁶⁶ framework that automatically integrates the VCF file into a database for exploring genetic variant for disease and population genetics. Genetic variants were analyzed

using GRAVITY, a Cytoscape ⁶⁷ plugin designed in the lab specifically for interpreting WES results using Protein-Protein Interaction networks (<http://gravity.pasteur.fr/>). Gravity uses a user-friendly interface and makes easier prioritizing variants according to damage prediction, mode of inheritance, gene categories and variant frequency in databases. It allows filtering variants with many parameters, such as quality parameters (DQ, MQ, GQ), allelic fraction, frequency of the variant in the cohort or in databases, damage prediction scores (CADD, SIFT, Polyphen2) and many more. Since WES does not detect the *FMR1* amplification, 33 patients with ASD were tested for Fragile-X syndrome using the AmplideX™ *FMR1* PCR kit from Theradiag. There was no patient with “pre-variant” or “full-variant” of CGG repeats in the 5' UTR region of the fragile X mental retardation-1 (*FMR1*) gene.

Copy-number variants (CNVs)

CNVs were identified from both SNP genotyping and WES data. Quality controls were the following: call rate > 0.99, standard deviation of the Log R ratio < 0.35, standard deviation of the B allele frequency < 0.08 and absolute value of the wave factor < 0.05. CNVs were detected by both PennCNV⁶⁸ and QuantiSNP⁶⁹ algorithm using the following filters: ≥ 3 consecutive probes, CNV size > 1kb and CNV detection confidence score ≥ 15 . CNV detections from PennCNV and QuantiSNP were merged using CNVision⁷⁰. CNVs with CNVision confidence score < 30, CNV size < 50 kb, overlap > 50% with segmental duplication or known large assembly gaps (greater than 150 kb) or copy number = 2 in pseudo autosomal regions (PARS) in males were filtered out. CNV annotations were performed using ANNOVAR ⁷¹ and CNV frequencies in Faroese and in database of genomic variant cohorts (DGV, <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>) were assessed using in house python scripts based on reciprocal overlap $\geq 80\%$. We also

detected CNVs from the WES sequencing data using theXHMM software⁷². CNVs with QSOME score < 90, number of targets < 5, or overlap > 50% with segmental duplication or known large assembly gaps (greater than 150 kb) were filtered out. CNV annotations were performed using ANNOVAR⁷¹ and CNV frequencies in Faroese were assessed using in house python scripts based on reciprocal overlap $\geq 80\%$. *De novo* and inherited CNVs were validated by visual inspection using SnipPeep (<http://snippeep.sourceforge.net/>).

Gene-set lists and prioritization of variants

Three gene-set lists were used : (i) “SFARI genes” (n=990) that includes genes implicated in ASD¹⁵ (Simons Foundation Autism Research Initiative gene database - <https://gene.sfari.org/>); (ii) “pLI > 0.9 genes” that includes genes with strong probability of being loss-of function intolerant (n=3,230)⁷³; (iii) “Brain genes” that includes genes specifically or strongly expressed (above 1 Standard Deviation) in fetal or adult human brain using data from Su et al (n=3,591)⁷⁴.

A combination of approaches was used to prioritize the genes and to estimate the deleterious effect of a variant. We prioritized genes using gene sets (SFARI genes, pLI ≥ 0.9 and Brain genes, previously defined). We prioritized Likely Gene Disruptive (LGD) variants (stopgains, splice site variants, frameshift indels) over missense variants or synonymous variants. Additionally, we used the CADD score¹⁴ (a CADD ≥ 30 means that the variants belong to the 0.1% most deleterious variants) to assess the deleterious effect missense variants. Minor allele frequency (MAF) was estimated in the general population from the gnomAD database⁷³. In order to filter out common variants that were not listed in gnomAD, we also excluded variants that were present in more than

15% of our Faroese control cohort. For the detection of deleterious homozygous variants, we kept only LGD and MIS30 with MAF <1%.

Burden analysis

Rare variant association studies (MAF<5%) were performed using EPACTS v3.2.6 (<https://genome.sph.umich.edu/wiki/EPACTS>). Prior association analysis, variants identified by WES were filtered using VCFtools (http://vcftools.sourceforge.net/man_latest.html) with the following metrics: minimum genotyping quality ≥ 30 , min depth of coverage ≥ 10 , maximum of missing data ≤ 10 , no InDel (small insertion or deletion), only bi-allelic sites and no site failing Hardy Weinberg equilibrium test ($P < 10^{-6}$). The annotation of the variants was done using EPACTS and the variants included in the Gene-wise association analyses were non-synonymous, essential splice site, normal splice site, start loss, stop loss and stop gain variants. Logistic Score Test (“b.score” in supplementary Table 1) was used to test single variant association ($n_{\text{Cases}}=36$; $n_{\text{Controls}}=107$; $n_{\text{Variants}}=155,284$). For Gene-wise tests, we used two approaches (including $n_{\text{Cases}}=36$; $n_{\text{Controls}}=107$ and $n_{\text{groups}}= 15,005$): (i) collapsing burden test using EMMAX (Efficient Mixed Model Association eXpedited ⁷⁵, “CMC-EMMAX” in supplementary Table 1) and (ii) Optimal SNP-set sequence Kernel Association Test (“SKAT-O” in supplementary Table 1). The advantage of the CMC-EMMAX is that this test is accounting for population structure and high relatedness between individual (based on kinship matrix). The advantage of SKAT is that this test is particularly powerful in the presence of protective and deleterious variants and null variants. For both Gene-wise tests, a $10^{-6} \leq \text{MAF} \leq 0.05$ was used.

Funding

This work was supported by the Institut Pasteur; Centre National de la Recherche Scientifique; the Assistance Publique – Hôpitaux de Paris; the University Paris Diderot; the Simons Foundation; the Fondation pour la Recherche Médicale [DBI20141231310]; the European Commission Horizon 2020 [COSYN]; The human brain project; the European Commission Innovative Medicines Initiative [EU-AIMS no. 115300]; the Cognacq-Jay foundation; the Bettencourt-Schueller foundation; the Orange foundation; the FondaMental foundation; the Conny-Maeva foundation; and the Agence Nationale de la Recherche (ANR) [SynPathy]. This research was supported by the Laboratory of Excellence GENMED (Medical Genomics) grant no. ANR-10-LABX-0013, Bio-Psy and by the INCEPTION program ANR-16-CONV-0005, all managed by the ANR part of the Investment for the Future program.

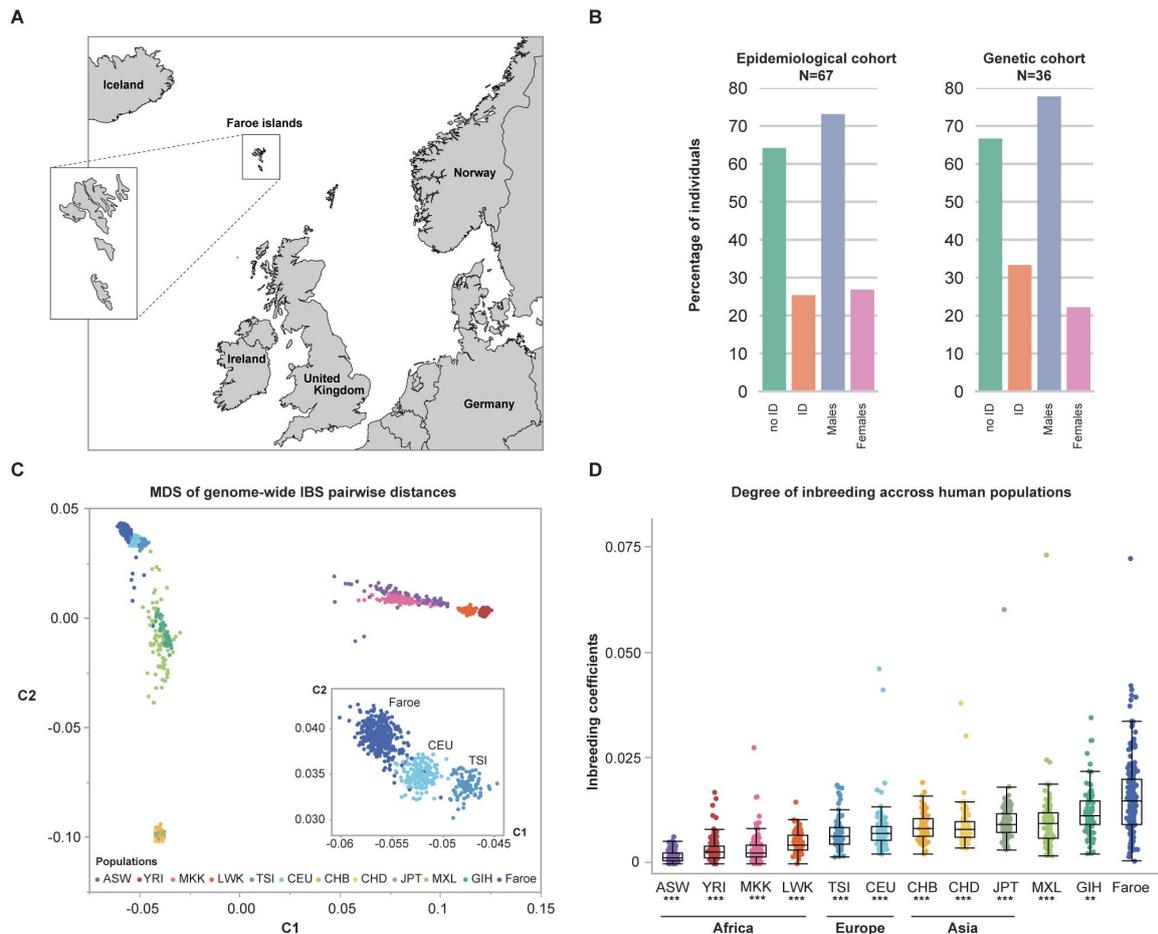
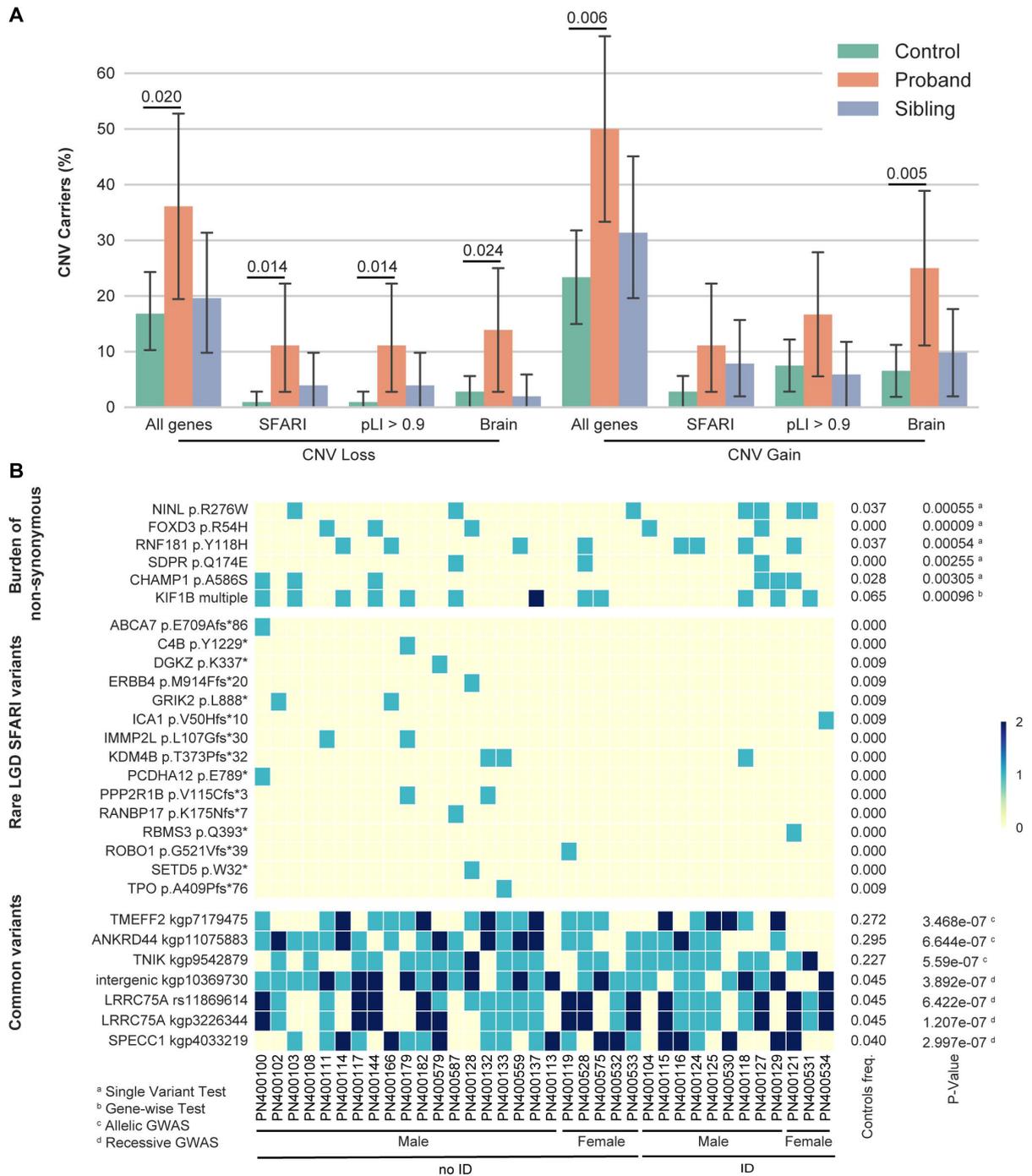


Figure 1. Genetic background of the Faroese population. A. Geographic localization of the Faroe Islands (R software and “maps” and “mapdata” packages were used to draw the map). B. Demographic comparison of the epidemiological and genetic cohorts of the Faroese Islands. The epidemiological and the genetic cohort are composed of 67 and 36 individuals with ASD, respectively. C. Multidimensional scaling plots (MDS) of genome-wide identity by state (IBS) pairwise distances between human populations. Each dot represents an individual and the distance between two dots corresponds to genetic distance based on genome-wide pairwise IBS calculations. D. Degree of inbreeding across HapMap 3 and Faroese populations. The inbreeding coefficients of the Faroese non-ASD control individuals (n=176) were compared to the HapMap3 populations. Faroese individuals displayed a higher degree of inbreeding compared with others human populations (Median F: $F_{\text{FAROE}}=0.015$; $F_{\text{ASW}}=0.0014$; $F_{\text{YRI}}=-0.0071$; $F_{\text{CEU}}=-0.0081$; $F_{\text{CHB}}=-0.0083$; $F_{\text{CHD}}=-0.011$; $F_{\text{JPT}}=0.0093$; $F_{\text{LWK}}=0.0045$; $F_{\text{MXL}}=0.0095$; $F_{\text{MXX}}=0.0026$; $F_{\text{GIH}}=0.0066$; $F_{\text{YRI}}=0.0028$; Paired samples Wilcoxon test: $W_{\text{ASW}}=12.56$, $P_{\text{ASW}} < 0.0001$; $W_{\text{CEU}}=12.27$, $P_{\text{CEU}} < 0.0001$; $W_{\text{CHB}}=7.14$, $P_{\text{CHB}} < 0.0001$; $W_{\text{CHD}}=7.11$, $P_{\text{CHD}} < 0.0001$; $W_{\text{GIH}}=-3.06$, $P_{\text{GIH}} < 0.002$; $W_{\text{JPT}}=-5.83$, $P_{\text{JPT}} < 0.0001$; $W_{\text{LWK}}=-10.86$, $P_{\text{LWK}} < 0.0001$; $W_{\text{MXL}}=-5.66$, $P_{\text{MXL}} < 0.0001$; $W_{\text{MXX}}=-14.52$, $P_{\text{MXX}} < 0.0001$; $W_{\text{YRI}}=-8.64$, $P_{\text{YRI}} < 0.0001$; $W_{\text{YRI}}=-14.41$, $P_{\text{YRI}} < 0.0001$; P are nominal p-values, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). N, number; ID, intellectual disability; ASW, African ancestry in Southwest USA (n=83); CEU, Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection (n=165); CHB, Han Chinese in Beijing, China (n=84); CHD, Chinese in Metropolitan Denver, Colorado (n=85); GIH, Gujarati Indians in Houston, Texas (n=88); JPT, Japanese in Tokyo, Japan (n=86); LWK, Luhya in Webuye, Kenya (n=90); MXL, Mexican ancestry in Los Angeles (n=77), California; MKK, Maasai in Kinyawa, Kenya (n=171); TSI, Toscani in Italia (n=88); YRI, Yoruba in Ibadan, Nigeria (n=167)



hits of the genome wide association study (GWAS) for both allelic and recessive model obtained from genome-wide genotyping data ($P < 10^{-4}$). “Rare LGD SFARI variants” are rare likely gene disrupting (LGD) variants altering SFARI genes identified by (MAF $< 1\%$ in gnomAD). “The controls freq.” column indicates the proportion of non-ASD Faroese controls carrying the corresponding variant. P-Values are nominal. ID, intellectual disability.

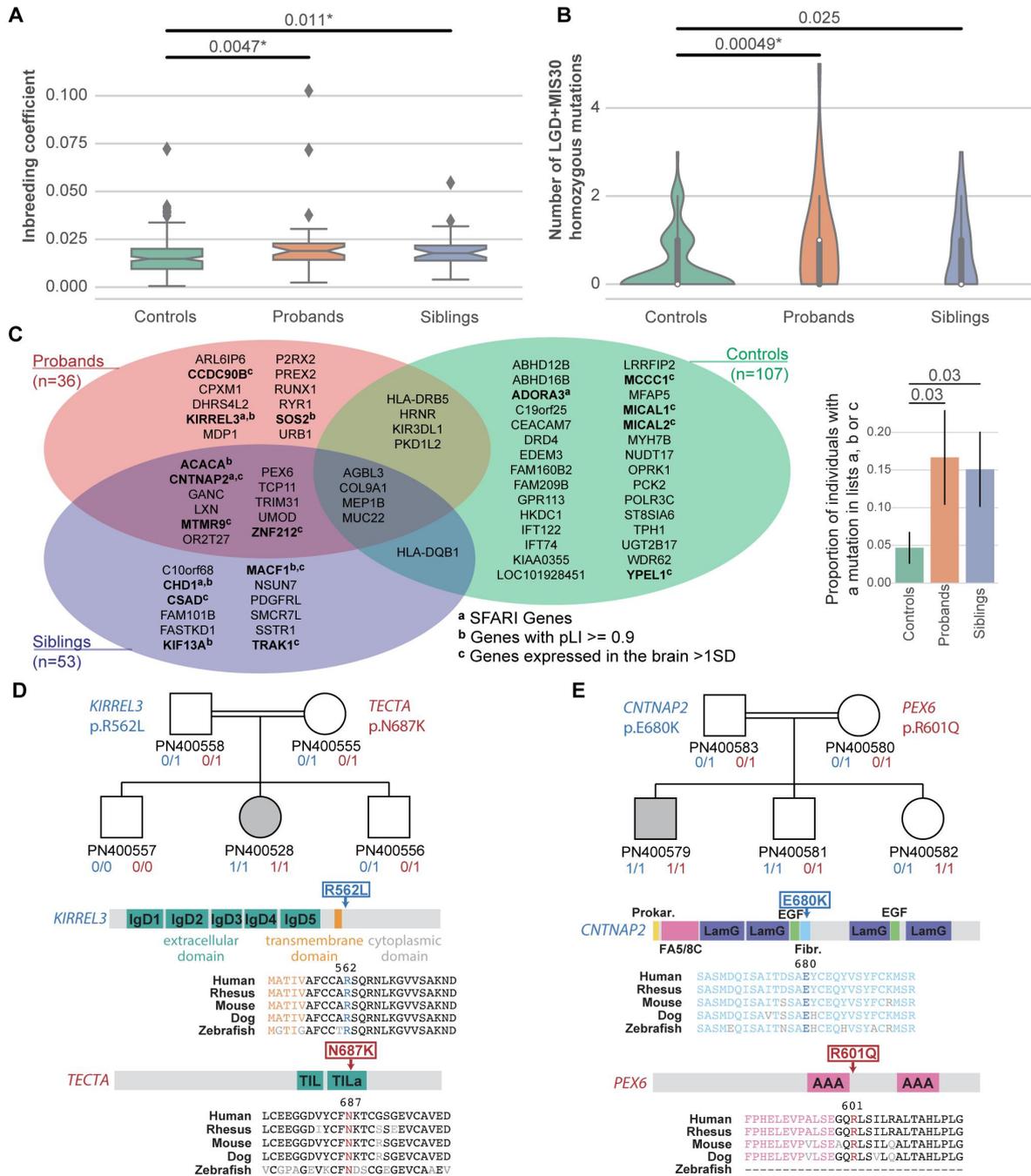


Figure 3. Genetic recessive mutations in Faroese individuals with ASD. A. Distribution of the inbreeding coefficient in Faroese individuals (Mann Whitney U-test: $n_{\text{probands}}=36$, $n_{\text{controls}}=176$, $n_{\text{siblings}}=30$; $U_{\text{controls vs probands}}=2,297$, $P_{\text{controls vs probands}}=0.0047$; $U_{\text{controls vs siblings}}=1,953$, $P_{\text{controls vs siblings}}=0.011$; * indicates the one withstanding multiple testing). B. Number of rare LGD+MIS30 homozygous mutations carried per individual (Mann Whitney U-test: $n_{\text{probands}}=36$, $n_{\text{controls}}=107$, $n_{\text{siblings}}=30$; $U_{\text{controls vs probands}}=1,321$, $P_{\text{controls vs probands}}=0.00049$; $U_{\text{controls vs siblings}}=1,293$, $P_{\text{controls vs siblings}}=0.025$; * indicates the one withstanding multiple testing). C. Venn diagram of the genes carrying the mutations from B. Genes names are in bold and annotated when they are part of our gene-set lists (SFARI genes, pLI > 0.9 genes and Brain genes, see subject and methods section). The plot on the right shows the proportion of individuals in each category carrying at least one mutated gene in our gene-sets lists (Fisher's exact test: $P_{\text{controls vs probands}}=0.03$; $P_{\text{controls vs siblings}}=0.03$). D. and E. are describing two specific families carrying multiple variations. "0" and "1" refer to wildtype or mutated allele, respectively. The localizations of the variations are indicated along the proteins and alignments throughout species showed the strong conservation of the

altered amino acids. LGD, likely gene disruptive; MIS30, missense variations with CADD score ≥ 30 ; IgD, immunoglobulin domain; TIL, Trypsin Inhibitor-like; FA5/8C, Coagulation factor 5/8 type C domain; LamG, Laminin G domain; EGF, epidermal growth factor like domain; Fibr., Fibrinogen, alpha/beta/gamma chain, C-terminal globular domain; AAA: ATPases associated domains.

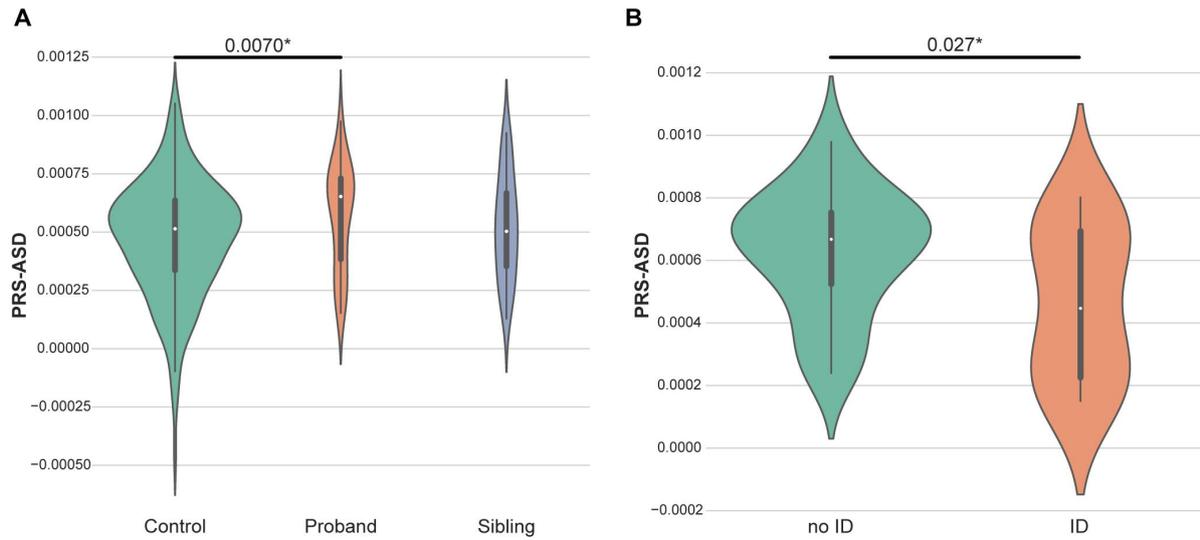


Figure 4. Distribution of the polygenic risk score for ASD in Faroese individuals. A. Distribution of the polygenic risk score for ASD (PRS-ASD) of controls, probands and unaffected siblings (Mann Whitney U-test: $n_{\text{control}}=36$, $n_{\text{proband}}=107$, $n_{\text{sibling}}=53$; $U_{\text{control vs proband}}=2,344$, $P_{\text{control vs proband}}=0.0070$; * indicates the one withstanding multiple testing). B. Distribution of the PRS-ASD for the cases without intellectual disability (ID) and the cases with ID (Mann Whitney U-test: $n_{\text{proband without ID}}=12$, $n_{\text{proband with ID}}=24$; $U_{\text{ID vs no ID}}=86$, $P_{\text{ID vs no ID}}=0.027$; * indicates the one withstanding multiple testing). The PRS was calculated using PRSice-2 (see Subjects and Methods section).

References

1. Gillberg, C. The ESSENCE in child psychiatry: Early Symptomatic Syndromes Eliciting Neurodevelopmental Clinical Examinations. *Res Dev Disabil* **31**, 1543–51 (2010).
2. Bourgeron, T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nat. Rev. Neurosci.* **16**, 551–563 (2015).
3. Mamidala, M. P. *et al.* Consanguinity in India and its association with autism spectrum disorder. *Autism Res. Off. J. Int. Soc. Autism Res.* **8**, 224–228 (2015).
4. Morrow, E. M. *et al.* Identifying autism loci and genes by tracing recent shared ancestry. *Science* **321**, 218–23 (2008).
5. Jorgensen, T. H. *et al.* Linkage disequilibrium and demographic history of the isolated population of the Faroe Islands. *Eur J Hum Genet* **10**, 381–7 (2002).
6. Jorgensen, T. H. *et al.* The origin of the isolated population of the Faroe Islands investigated using Y chromosomal markers. *Hum Genet* **115**, 19–28 (2004).
7. Kocovska, E. *et al.* The rising prevalence of autism: a prospective longitudinal study in the Faroe Islands. *J Autism Dev Disord* **42**, 1959–66 (2012).
8. Ellefsen, A., Kampmann, H., Billstedt, E., Gillberg, I. C. & Gillberg, C. Autism in the Faroe Islands: an epidemiological study. *J Autism Dev Disord* **37**, 437–44 (2007).
9. Kocovska, E. *et al.* Autism in the Faroe Islands: diagnostic stability from childhood to early adult life. *ScientificWorldJournal* **2013**, 592371 (2013).
10. Kočovská, E. *et al.* The rising prevalence of autism: a prospective longitudinal study in the Faroe Islands. *J. Autism Dev. Disord.* **42**, 1959–1966 (2012).
11. Iossifov, I. *et al.* The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature* **515**, 216–21 (2014).
12. Turner, T. N. *et al.* denovo-db: a compendium of human de novo variants. *Nucleic Acids Res.* **45**, D804–D811 (2017).
13. Neale, B. M. *et al.* Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature* **485**, 242–5 (2012).
14. Kircher, M. *et al.* A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants. *Nat Genet* **46**, 310–5 (2014).
15. Abrahams, B. S. *et al.* SFARI Gene 2.0: a community-driven knowledgebase for the autism spectrum disorders (ASDs). *Mol Autism* **4**, 36 (2013).
16. Lek, M. *et al.* Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* **536**, 285–291 (2016).
17. Hempel, M. *et al.* De Novo Mutations in CHAMP1 Cause Intellectual Disability with Severe Speech Impairment. *Am. J. Hum. Genet.* **97**, 493–500 (2015).
18. Martin, E. A. *et al.* The intellectual disability gene Kirrel3 regulates target-specific mossy fiber synapse development in the hippocampus. *eLife* **4**, e09395 (2015).
19. Talkowski, M. E. *et al.* Sequencing chromosomal abnormalities reveals neurodevelopmental loci that confer risk across diagnostic boundaries. *Cell* **149**, 525–537 (2012).
20. Sanders, S. J. *et al.* De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature* **485**, 237–41 (2012).
21. Kalsner, L. *et al.* Genetic testing including targeted gene panel in a diverse clinical population of children with autism spectrum disorder: Findings and implications. *Mol. Genet. Genomic Med.* (2017). doi:10.1002/mgg3.354
22. Verhoeven, K. *et al.* Mutations in the human alpha-tectorin gene cause autosomal dominant non-syndromic hearing impairment. *Nat. Genet.* **19**, 60–62 (1998).

23. Smith, C. E. L. *et al.* Spectrum of PEX1 and PEX6 variants in Heimler syndrome. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* **24**, 1565–1571 (2016).
24. Wang, Q. *et al.* The psychiatric disease risk factors DISC1 and TNK1 interact to regulate synapse composition and function. *Mol. Psychiatry* **16**, 1006–1023 (2011).
25. Bourgeron, T. A synaptic trek to autism. *Curr. Opin. Neurobiol.* **19**, 231–234 (2009).
26. Bernier, R. *et al.* Disruptive CHD8 Mutations Define a Subtype of Autism Early in Development. *Cell* (2014). doi:10.1016/j.cell.2014.06.017
27. Gallagher, L. *et al.* Brief report: A case of autism associated with del(2)(q32.1q32.2) or (q32.2q32.3). *J. Autism Dev. Disord.* **33**, 105–108 (2003).
28. de Leeuw, C. A., Mooij, J. M., Heskes, T. & Posthuma, D. MAGMA: generalized gene-set analysis of GWAS data. *PLoS Comput. Biol.* **11**, e1004219 (2015).
29. Campellone, K. G., Webb, N. J., Znameroski, E. A. & Welch, M. D. WHAMM Is an Arp2/3 Complex Activator That Binds Microtubules and Functions in ER to Golgi Transport. *Cell* **134**, 148–161 (2008).
30. Autism Spectrum Disorders Working Group of The Psychiatric Genomics Consortium. 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. *Mol. Autism* **8**, 21 (2017).
31. Warner, G., Moss, J., Smith, P. & Howlin, P. Autism characteristics and behavioural disturbances in ~ 500 children with Down's syndrome in England and Wales. *Autism Res. Off. J. Int. Soc. Autism Res.* **7**, 433–441 (2014).
32. Vorstman, J. A. *et al.* The 22q11.2 deletion in children: high rate of autistic disorders and early onset of psychotic symptoms. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* **45**, 1104–13 (2006).
33. Niklasson, L., Rasmussen, P., Oskarsdottir, S. & Gillberg, C. Autism, ADHD, mental retardation and behavior problems in 100 individuals with 22q11 deletion syndrome. *Res Dev Disabil* **30**, 763–73 (2009).
34. De Rubeis, S. *et al.* Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature* **515**, 209–15 (2014).
35. Yan, Y., Eipper, B. A. & Mains, R. E. Kalirin-9 and Kalirin-12 Play Essential Roles in Dendritic Outgrowth and Branching. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* **25**, 3487–3501 (2015).
36. Russell, T. A. *et al.* A Schizophrenia-Linked KALRN Coding Variant Alters Neuron Morphology, Protein Function, and Transcript Stability. *Biol. Psychiatry* **83**, 499–508 (2018).
37. Hill, J. J., Hashimoto, T. & Lewis, D. A. Molecular mechanisms contributing to dendritic spine alterations in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Mol. Psychiatry* **11**, 557–566 (2006).
38. Qu, B.-X. *et al.* cPLA2 α knockout mice exhibit abnormalities in the architecture and synapses of cortical neurons. *Brain Res.* **1497**, 101–105 (2013).
39. Su, L.-D., Wang, D.-J., Yang, D., Shen, Y. & Hu, Y.-H. Retrograde cPLA2 α /arachidonic acid/2-AG signaling is essential for cerebellar depolarization-induced suppression of excitation and long-term potentiation. *Cerebellum Lond. Engl.* **12**, 297–299 (2013).
40. Alvarez-Baron, E. *et al.* RIM3 γ and RIM4 γ are key regulators of neuronal arborization. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **33**, 824–839 (2013).
41. Dong, S. *et al.* De novo insertions and deletions of predominantly paternal origin are associated with autism spectrum disorder. *Cell Rep.* **9**, 16–23 (2014).
42. Iossifov, I. *et al.* De novo gene disruptions in children on the autistic spectrum.

Neuron **74**, 285–299 (2012).

43. Kumar, R. A. *et al.* A de novo 1p34.2 microdeletion identifies the synaptic vesicle gene RIMS3 as a novel candidate for autism. *J. Med. Genet.* **47**, 81–90 (2010).
44. Uriu, Y. *et al.* Rab3-interacting Molecule γ Isoforms Lacking the Rab3-binding Domain Induce Long Lasting Currents but Block Neurotransmitter Vesicle Anchoring in Voltage-dependent P/Q-type Ca²⁺ Channels. *J. Biol. Chem.* **285**, 21750–21767 (2010).
45. Hjortshøj, T. D., Grønskov, K., Brøndum-Nielsen, K. & Rosenberg, T. A novel founder BBS1 mutation explains a unique high prevalence of Bardet-Biedl syndrome in the Faroe Islands. *Br. J. Ophthalmol.* **93**, 409–413 (2009).
46. Schwartz, M., Sørensen, N., Brandt, N. J., Høgdaal, E. & Holm, T. High incidence of cystic fibrosis on the Faroe Islands: a molecular and genealogical study. *Hum. Genet.* **95**, 703–706 (1995).
47. Thomsen, J. A., Lund, A. M., Olesen, J. H., Mohr, M. & Rasmussen, J. Is L-Carnitine Supplementation Beneficial in 3-Methylcrotonyl-CoA Carboxylase Deficiency? *JIMD Rep.* **21**, 79–88 (2015).
48. Santer, R. *et al.* Molecular genetic basis and prevalence of glycogen storage disease type IIIA in the Faroe Islands. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* **9**, 388–391 (2001).
49. Ostergaard, E., Duno, M., Batbayli, M., Vilhelmsen, K. & Rosenberg, T. A novel MERTK deletion is a common founder mutation in the Faroe Islands and is responsible for a high proportion of retinitis pigmentosa cases. *Mol. Vis.* **17**, 1485–1492 (2011).
50. Binzer, S. *et al.* High inbreeding in the Faroe Islands does not appear to constitute a risk factor for multiple sclerosis. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* **21**, 996–1002 (2015).
51. Lauritsen, M. B. *et al.* A genome-wide search for alleles and haplotypes associated with autism and related pervasive developmental disorders on the Faroe Islands. *Mol Psychiatry* **11**, 37–46 (2006).
52. Gregersen, N. O. *et al.* Whole-exome sequencing implicates DGKH as a risk gene for panic disorder in the Faroese population. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **171**, 1013–1022 (2016).
53. Ewald, H. *et al.* Search for a shared segment on chromosome 10q26 in patients with bipolar affective disorder or schizophrenia from the Faroe Islands. *Am J Med Genet* **114**, 196–204 (2002).
54. Jamain, S. *et al.* Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nat Genet* **34**, 27–9 (2003).
55. Durand, C. M. *et al.* Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet* **39**, 25–7 (2007).
56. Jamain, S. *et al.* Linkage and association of the glutamate receptor 6 gene with autism. *Mol Psychiatry* **7**, 302–10 (2002).
57. Melke, J. *et al.* Abnormal melatonin synthesis in autism spectrum disorders. *Mol Psychiatry* **13**, 90–8 (2008).
58. Ehlers, S., Gillberg, C. & Wing, L. A screening questionnaire for Asperger syndrome and other high-functioning autism spectrum disorders in school age children. *J. Autism Dev. Disord.* **29**, 129–141 (1999).
59. Wing, L., Leekam, S. R., Libby, S. J., Gould, J. & Larcombe, M. The Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders: background, inter-rater reliability and clinical use. *J. Child Psychol. Psychiatry* **43**, 307–325 (2002).
60. Purcell, S. *et al.* PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **81**, 559–575 (2007).

61. Howrigan, D. P., Simonson, M. A. & Keller, M. C. Detecting autozygosity through runs of homozygosity: a comparison of three autozygosity detection algorithms. *BMC Genomics* **12**, 460 (2011).
62. McQuillan, R. *et al.* Runs of homozygosity in European populations. *Am. J. Hum. Genet.* **83**, 359–372 (2008).
63. Gazal, S. *et al.* Inbreeding coefficient estimation with dense SNP data: comparison of strategies and application to HapMap III. *Hum. Hered.* **77**, 49–62 (2014).
64. Garrison, E. & Marth, G. Haplotype-based variant detection from short-read sequencing. *ArXiv12073907 Q-Bio* (2012).
65. McKenna, A. *et al.* The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res.* **20**, 1297–1303 (2010).
66. DeFreitas, T., Saddiki, H. & Flaherty, P. GEMINI: a computationally-efficient search engine for large gene expression datasets. *BMC Bioinformatics* **17**, 102 (2016).
67. Shannon, P. *et al.* Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Res.* **13**, 2498–2504 (2003).
68. Wang, K. *et al.* PennCNV: an integrated hidden Markov model designed for high-resolution copy number variation detection in whole-genome SNP genotyping data. *Genome Res* **17**, 1665–74 (2007).
69. Colella, S. *et al.* QuantiSNP: an Objective Bayes Hidden-Markov Model to detect and accurately map copy number variation using SNP genotyping data. *Nucleic Acids Res* **35**, 2013–25 (2007).
70. Sanders, S. J. *et al.* Insights into Autism Spectrum Disorder Genomic Architecture and Biology from 71 Risk Loci. *Neuron* **87**, 1215–1233 (2015).
71. Wang, K., Li, M. & Hakonarson, H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res* **38**, e164 (2010).
72. Fromer, M. & Purcell, S. M. Using XHMM Software to Detect Copy Number Variation in Whole-Exome Sequencing Data. *Curr. Protoc. Hum. Genet.* **81**, 7.23.1-21 (2014).
73. Lek, M. *et al.* Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* **536**, 285–291 (2016).
74. Su, A. I. *et al.* A gene atlas of the mouse and human protein-encoding transcriptomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 6062–6067 (2004).
75. Kang, H. M. *et al.* Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies. *Nat. Genet.* **42**, 348–354 (2010).

Both rare and common genetic variants contribute to autism in the Faroe Islands

Claire Leblond^{1,2,3,4*}, Freddy Cliquet^{1,2,3,4*}, Coralie Carton^{1,2,3,4*}, Guillaume Huguet^{1,2,3,4},
Alexandre Mathieu^{1,2,3,4}, Thomas Kergrohen^{1,2,3,4}, Julien Buratti^{1,2,3,4}, Nathalie Lemièrè^{1,2,3,4},
Laurence Cuisset⁵, Thierry Bienvenu⁵, Anne Boland⁶, Jean-François Deleuze⁶, GenMed
consortium, Tormodur Stora⁷, Rannva Biskupstoe⁸, Jónrit Halling⁸, Guðrið Andorsdóttir⁸, Eva
Billstedt⁹, Christopher Gillberg^{9,10#}, and Thomas Bourgeron^{1,2,3,4#}

Supplementary figures and clinical notes

Supplementary Figure 1: Pipeline of analyses

Supplementary Figure 2: Population stratification of the Faroe Islands

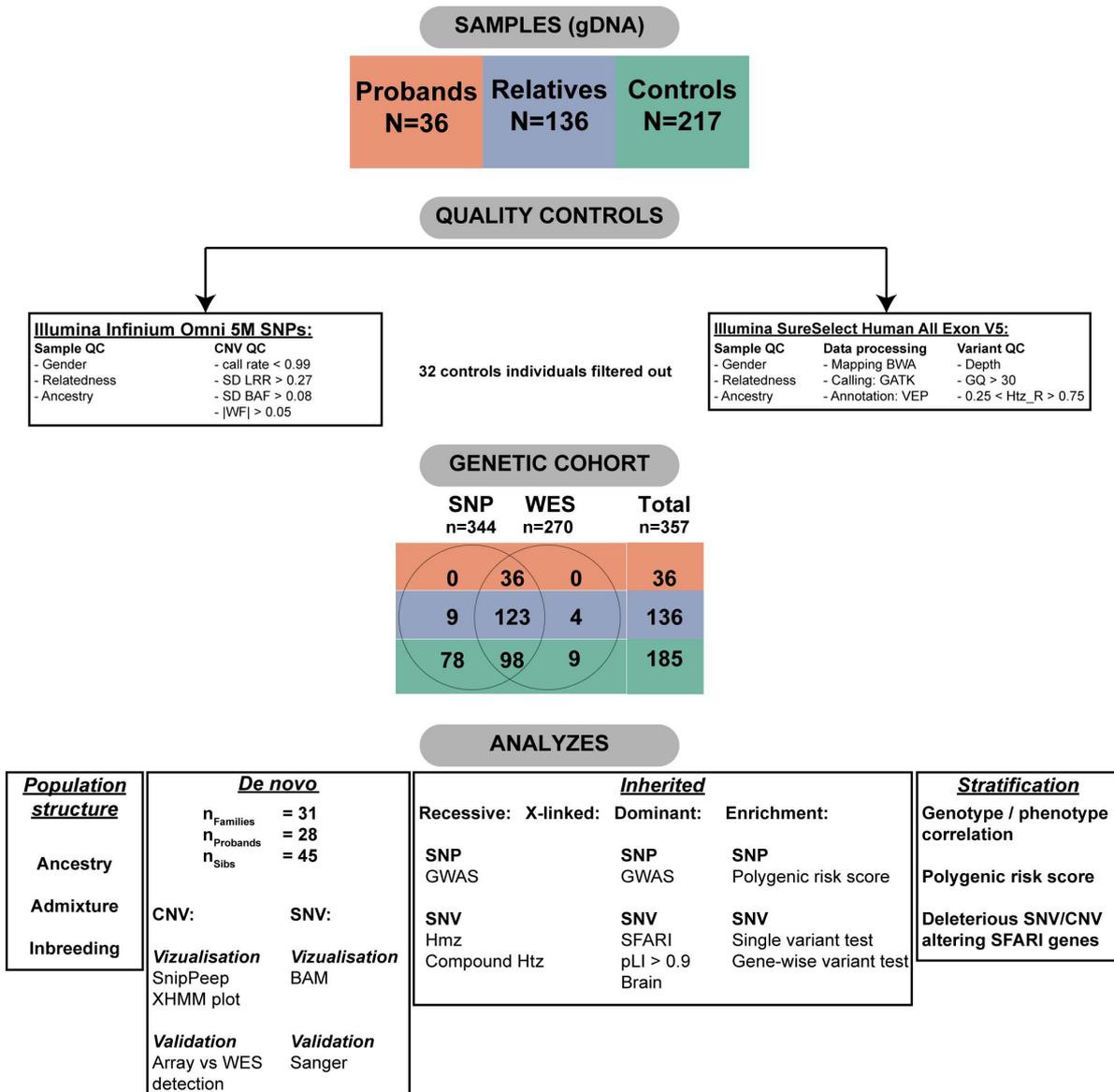
Supplementary Figure 3: CNVs altering genes involved in NDD

Supplementary Figure 4 de novo SNVs in patients with ASD

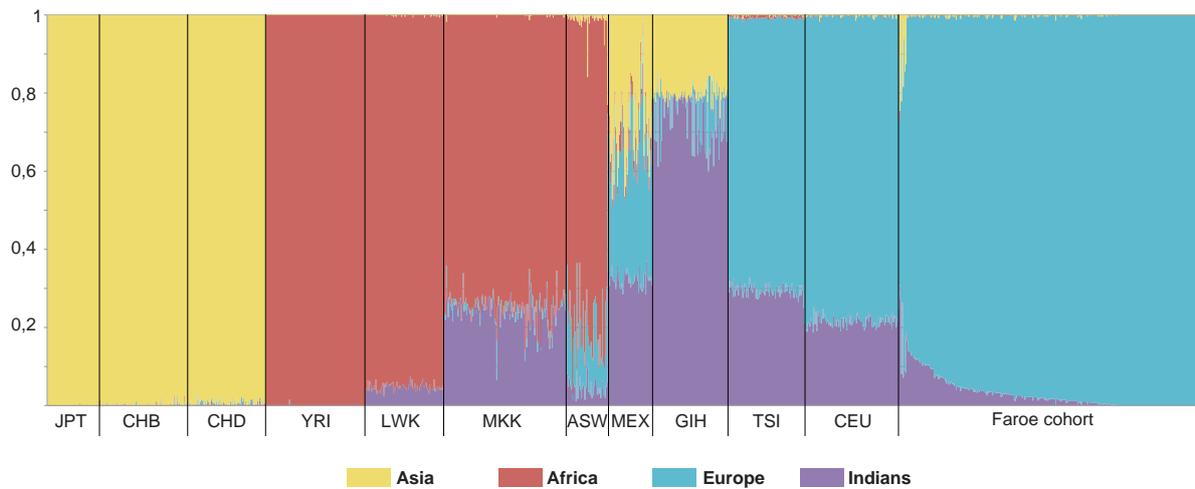
Supplementary Figure 5: Rare variation association study

Supplementary Figure 6: Results from the GWAS

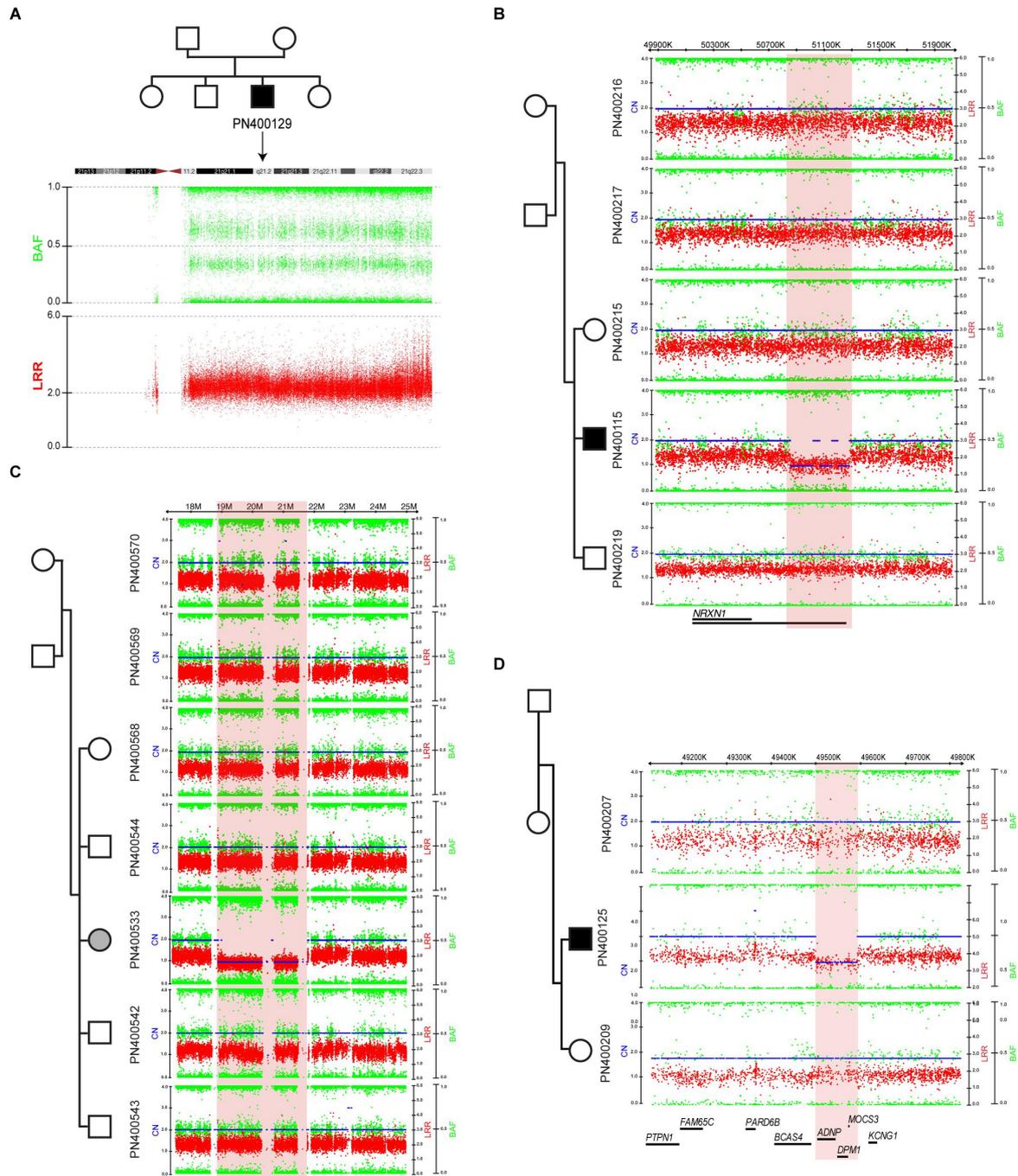
Supplementary Figure 7: Locus zoom



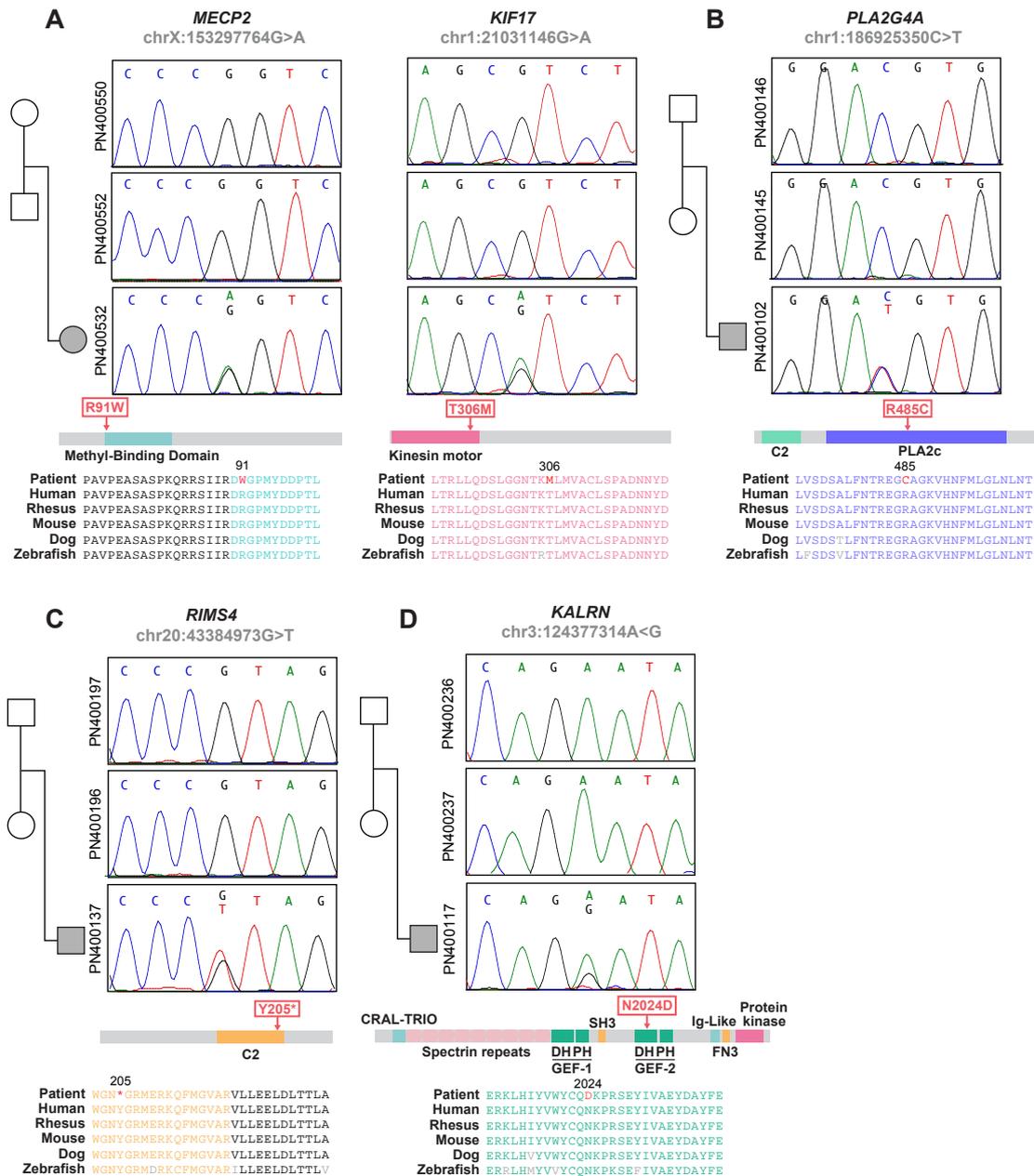
Supplementary Figure 1: Pipeline of the study. QC, quality control; SD LRR, standard deviation of the Log R ratio; SD BAF, standard deviation of the B allele frequency; |WF|, absolute value of the wave factor; BWA, Burrows-Wheeler Aligner; GATK, Genome Analysis Toolkit; VEP, Variant Effect Predictor; GQ, genotyping quality; Htz_R, heterozygosity ratio; CNV, copy number variant; SNP/V, single nucleotide polymorphism/variation; WES, whole exome sequencing; Hmz, homozygote; Htz, heterozygote; pLI, probability of being loss-of function intolerant.



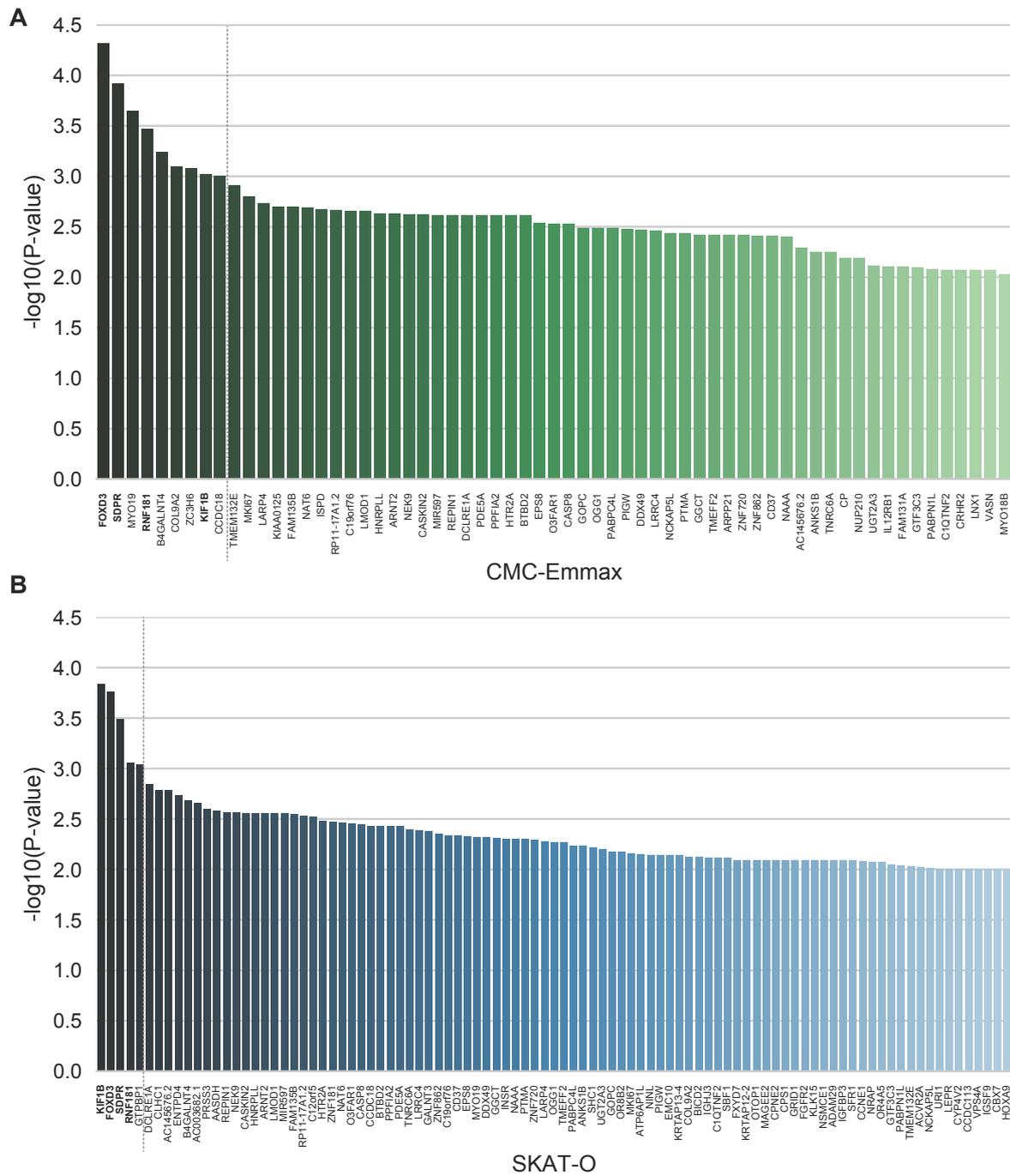
Supplementary Figure 2. Population stratification of the Faroe Islands. Combination of the ethnic genetic background for each individuals of the Faroe and the individuals from HapMap3 using admixture. Legend of HapMap 3 population : ASW, African ancestry in Southwest USA (n=83); CEU, Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection (n=165); CHB, Han Chinese in Beijing, China (n=84); CHD, Chinese in Metropolitan Denver, Colorado (n=85); GIH, Gujarati Indians in Houston, Texas (n=88); JPT, Japanese in Tokyo, Japan (n=86); LWK, Luhya in Webuye, Kenya (n=90); MXL, Mexican ancestry in Los Angeles (n=77), California; MKK, Maasai in Kinyawa, Kenya (n=171); TSI, Toscani in Italia (n=88); YRI, Yoruba in Ibadan, Nigeria (n=167)



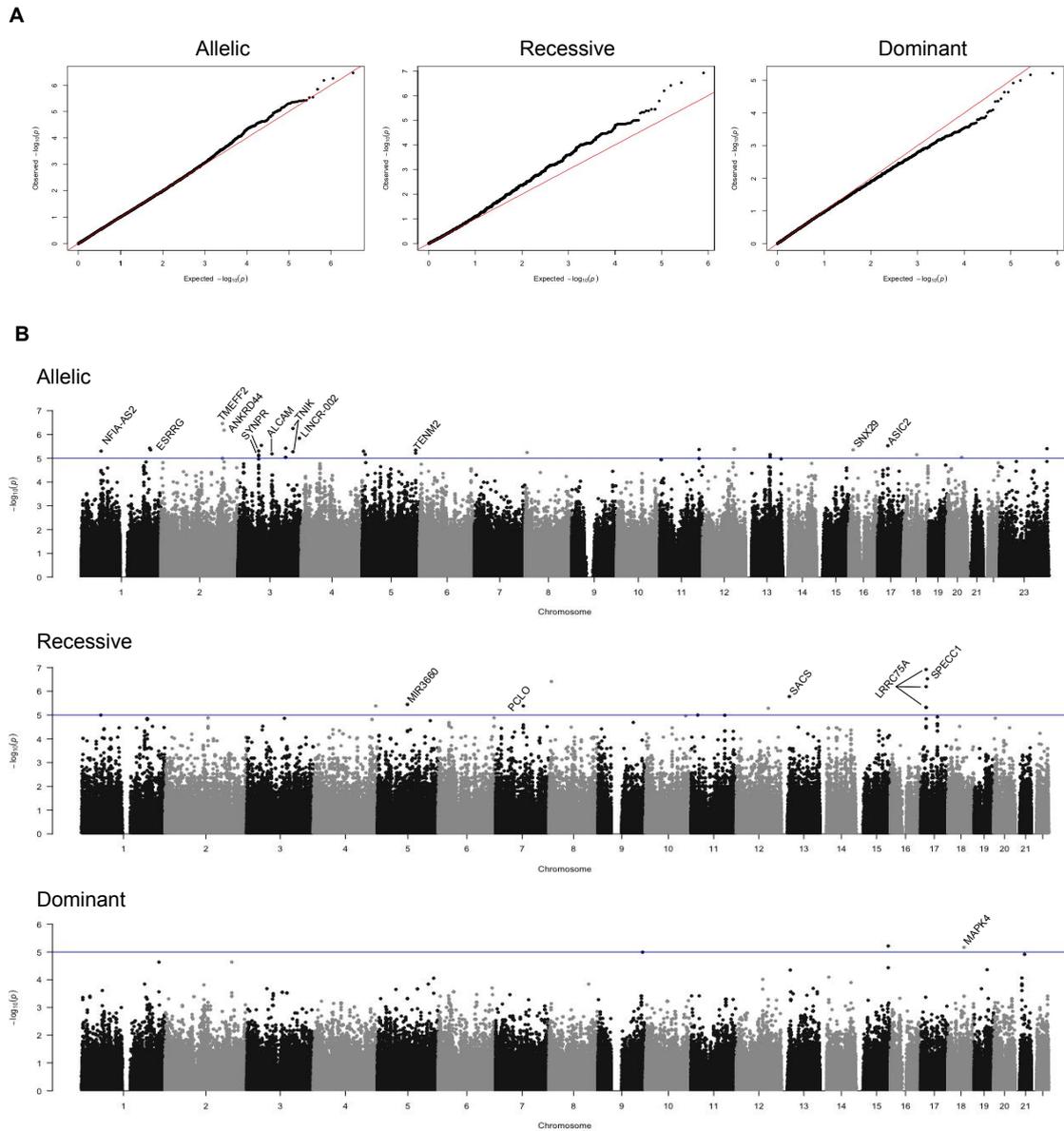
Supplementary Figure 3: CNVs altering genes involved in NDD. A. *De novo* Trisomy 21 in patient with ASD, ID and Down syndrome. B. *De novo* deletion of 425.5 kb removing the six first exons of the *NRXN1 α* in patient with ASD. C. *De novo* 2.9 Mb deletion on chromosome 22q11 in patient with ASD and DiGeorge/velocardial syndrome. D. A 91.4 kb deletion removing all exons of *ADNP* in a male patient with ASD and ID. Each dot shows Log R Ratio (LRR; in red) and B allele frequency (BAF; in green). The copy number (CN) is indicated with a blue line. Patients with ID and patients without ID are represented in black and grey, respectively. ASD, autism spectrum disorder; ID, Intellectual disability.



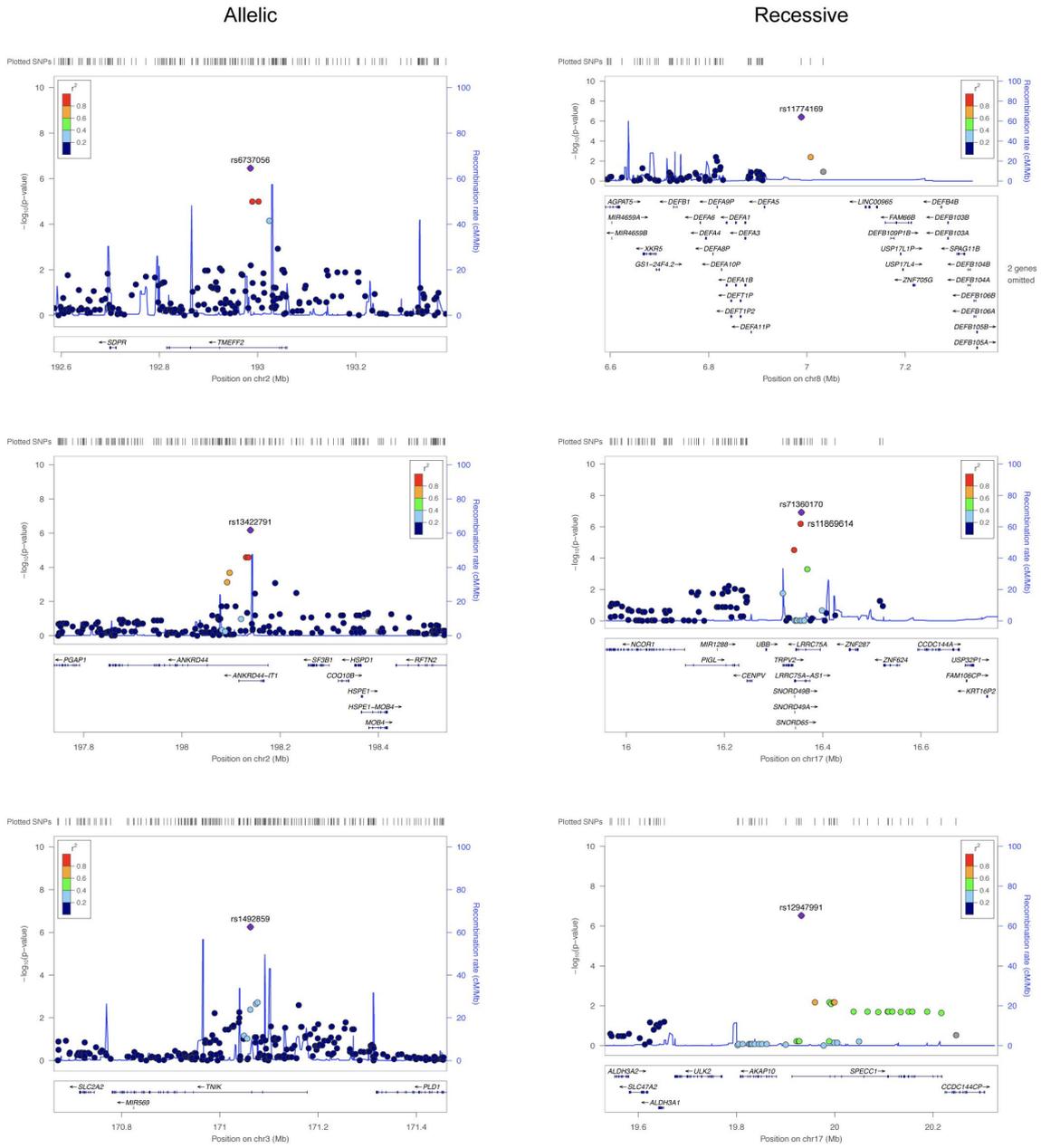
Supplementary Figure 4. The *de novo* SNVs in patients with ASD. Sanger sequencing was performed to validate *de novo* SNVs altering *MECP2*, *KIF17* (A), *PLA2G4A* (B), *RIMS4* (C) and *KALRN* (D). Sanger chromatograms are shown for each trios. Patients with ID and patients without ID are represented in black and grey, respectively. The position of the SNVs is indicated on the protein and the amino acid alignment of the region throughout several species (Human, Rhesus, Mouse, Dog, Zebrafish) shows the high conservation of the altered amino acids. ASD, autism spectrum disorder; ID, Intellectual disability.



Supplementary Figure 5: Gene-wise association study using the whole exome sequencing data. To test for Gene-wise association a collapsing burden test using EMMAX “CMC-EMMAX” (A) and optimal SNP-set sequence Kernel Association Test “SKAT-O” (B) were used. The dashed line indicates $P < 10^{-3}$. EMMAX, Efficient Mixed Model Association eXpedited.



Supplementary Figure 6: Results from the Genome Wide Association Study (GWAS) using different models (allelic, Recessive or Dominant). QQ plots and Manhattan plots for allelic, recessive and dominant GWAS are represented in panel A and B, respectively. QQ, quantile-quantile.

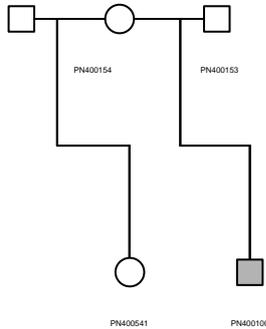


Supplementary Figure 7: Locus zoom of the top hits detected by the GWAS. LocusZoom for regional visualization of the top hits isolated from the allelic and recessive GWAS was used.

Supplementary Clinical Notes

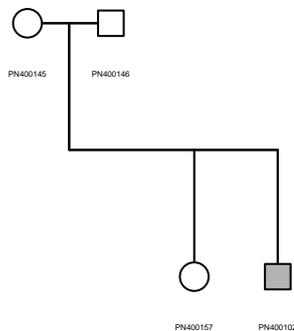
PN400100

PN400100 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=14; FSIQ=102).



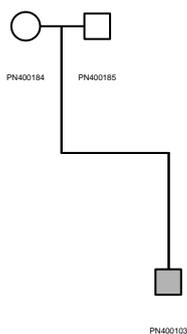
PN400102

PN400102 is a male diagnosed with atypical autism without intellectual deficiency (ADOS=13, FSIQ=97, PIQ=108, VIQ=88). He is carrying a *de novo* variant (p.R485C) in *PLA2G4A*. This gene codes for the cytosolic phospholipase A2 α that catalyzes the hydrolysis of membrane phospholipids to produce arachidonic acid. Mice lacking *Pla2g4a* display abnormalities in neuronal maturation (narrow synaptic cleft)¹⁰ and long-term potentiation (LTP)¹¹. The patient (PN400102) carrying the *de novo* deleterious variant p.R485C has no ID. He also carries a maternally inherited p.L888* frameshift variant of the glutamate receptor *GRIK2*, a gene previously found associated with ASD¹².



PN400103

PN400103 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=4, FSIQ=84, PIQ=100, VIQ=73). The patient is carrying a maternally inherited exonic deletion of 58.9 kb including the SFARI gene *IMMP2L*.

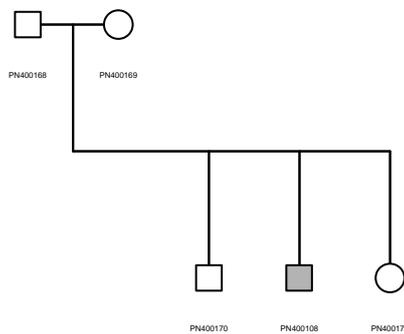


PN400104

PN400104 is a male diagnosed with atypical autism with intellectual deficiency (ADOS=5, FSIQ=60, PIQ=74, VIQ=61). He has nystagmus. We had no relatives for this individual. He is carrying a duplication of the 5'UTR exon of *ZNF626*, a SFARI gene. This duplication was observed in two independent controls.

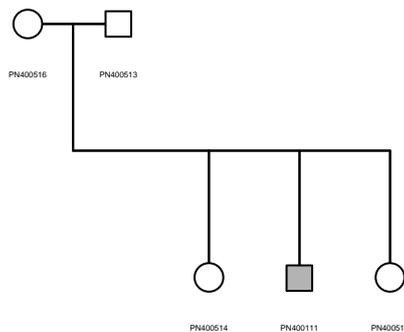
PN400108

PN400108 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=15; FSIQ=93). He had a Wilm's tumor (tumor of the kidney) and surgery, radiation therapy and chemotherapy. Iron and calcium deficiency during pregnancy. He is carrying a paternally inherited *BRCA2* stop variant (p.K3326*) and a paternally inherited donor splicing site variant of *ASMT*, the last enzyme of the melatonin synthesis pathway⁷.



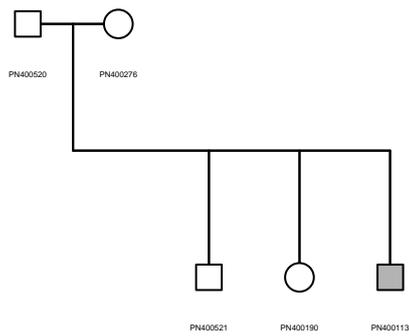
PN400111

PN400111 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=11; FSIQ=76). He is carrying a maternally transmitted stop variant in the SFARI gene *ROBO2* (p.G33*) coding for an axon guidance molecule receptor.



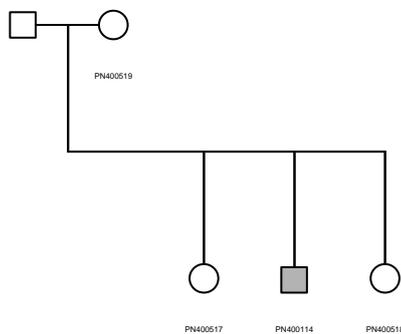
PN400113

PN400113 is a male diagnosed with atypical autism (ADOS=2; FSIQ=102). He was a big baby: 60 cm at birth. He is carrying a paternally transmitted stop mutation of the SFARI gene *BRCA2* (p.K3326*).



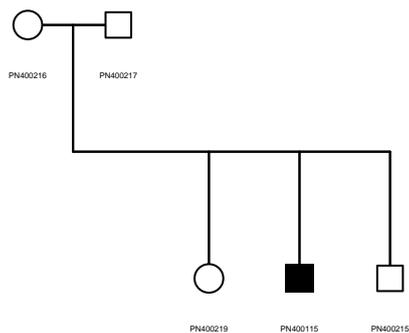
PN400114

PN400114 is a male diagnosed with atypical autism (ADOS=13; FSIQ=73). He is carrying a paternally transmitted splice acceptor variant in the SFARI gene *LAMC3* coding for the laminin subunit gamma 3.



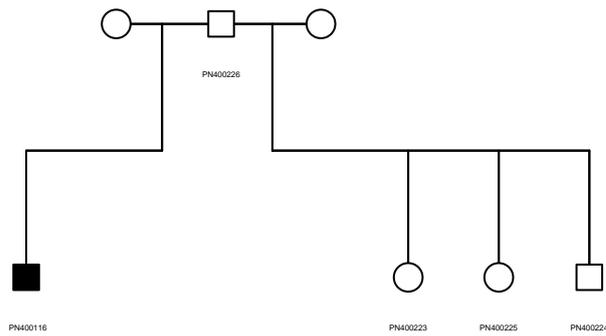
PN400115

PN400115 is a male diagnosed with atypical autism (ADOS=22) and severe intellectual deficiency. He has a *de novo* 425.5 kb deletion removing the six first exons of the *NRXN1α*. He has a congenital torticollis and dental carries.



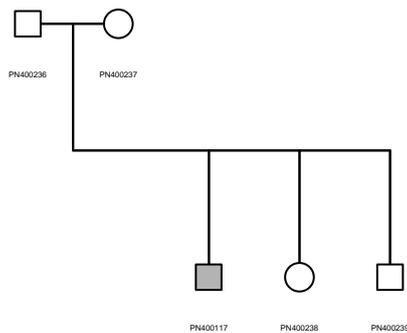
PN400116

PN400116 is a male diagnosed with autism and ID (ADOS=15; FSIQ=40). He has cholesteatoma, an abnormal growth of skin in the middle ear behind the eardrum. He is also diagnosed with Tourette syndrome. He is carrying a maternally transmitted splice donor variant of the SFARI gene *YY1* coding for a transcription factor.



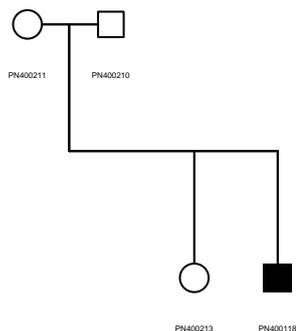
PN400117

PN400117 is a male diagnosed with Asperger syndrome. He has tics and gynecomastia. He is carrying a *de novo* variant of *KALRN*, a gene involved in synaptic plasticity and homologous to *TRIO*, a gene previously found mutated in ASD. The *KALRN de novo* variant (p.N2024D) is predicted deleterious, affects a key amino acid of the GEF domain conserved through evolution and present in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*.



PN400118

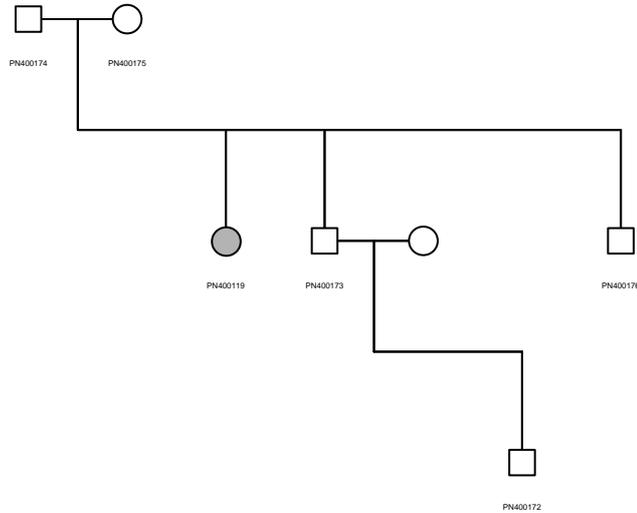
PN400118 is a male diagnosed with autism and severe intellectual deficiency (ADOS=22).



PN400119

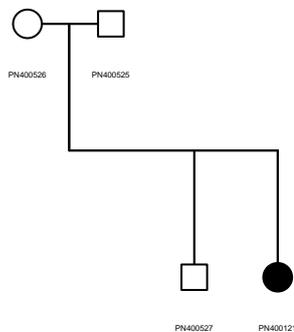
PN400119 is a female diagnosed with childhood autism (ADOS=15, FSIQ=76, PIQ=72, VIQ=80). She has cerebellum atrophy and her mother might have vitamin D. She is carrying a paternally inherited deletion of 248 kb including all exons of *MINL*, a SFARI gene highly express in the cerebellum and coding for protein involved in microtubule organization. The patient is also carrying a private paternally inherited frameshift variant (p.G521Vfs*39) of

ROBO1, a gene coding for a receptor from the neural cell adhesion molecule that plays a key role in an axon guidance in the brain.



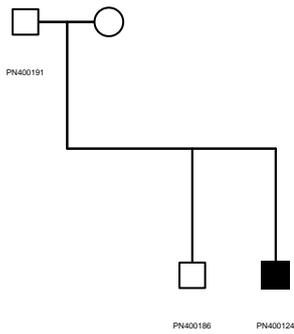
PN400121

PN400121 is a female diagnosed with childhood autism (ADOS=22) and severe intellectual deficiency. She was born premature (1.5 kg birth weight) and presented high blood pressure medicine. She is carrying a rare maternally inherited stop variant of the SFARI gene *RBMS3* (p.Q393*) coding for the RNA binding motif single stranded interacting protein 3.



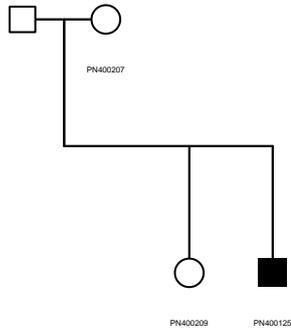
PN400124

PN400124 is a male diagnosed with autism and severe intellectual deficiency (ADOS=15). He was born highly premature (27 weeks, 700g at birth) with diplegia spastic degree I (paralysis affecting symmetrical parts of the body). He also has multiple medical conditions including retinopathy, lung infections, necrotizing enterocolitis, cardiac problems and potentially epilepsy. He is carrying a maternally transmitted frameshift variant of the SFARI gene *ETFB* (p.93PX) coding for an electron transfer flavoprotein beta subunit.



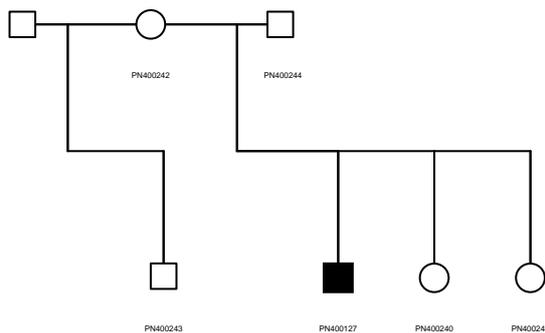
PN400125

PN400125 is a male with a severe intellectual deficiency and childhood autism (ADOS=19) carrying a 91.4 kb deletion removing all exons of *ADNP*. *ADNP* loss of function mutations are usually *de novo*, but, for this patient, we cannot confirm the *de novo* status since we had no DNA from the father. The patient has hypotonia, narrow occiput, small and low ears, epilepsy in the first years of life but then stopped, strabismus, dental caries and otitis.



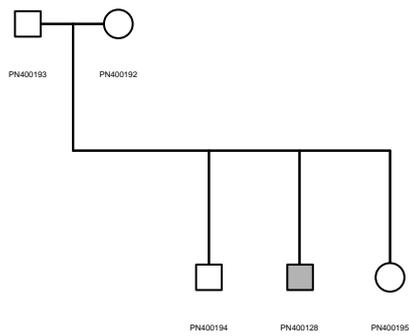
PN400127

PN400127 is a male diagnosed with autism and severe intellectual deficiency (ADOS=21). He developed ataxia after hitting his head at 11 years old. He also has hypotonia.



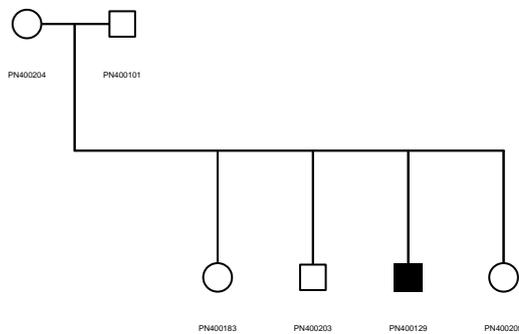
PN400128

PN400128 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=7). He is carrying a paternally inherited frameshift variant in the *SFARI* gene *ERBB4* (p.M914Ffs*20) coding the erb-b2 receptor tyrosine kinase 4.



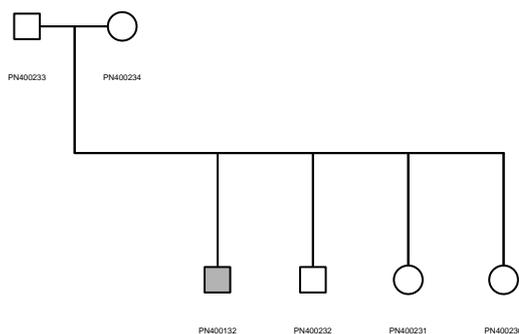
PN400129

PN400129 is a male who has a trisomy of chromosome 21 and is diagnosed with childhood autism (ADOS=22) and Down syndrome. He has severe intellectual deficiency, ventricular septum defect, scoliosis and dental caries.



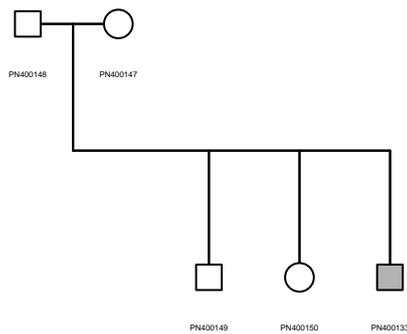
PN400132

PN400132 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=8; ; FSIQ=90). He is carrying a paternally transmitted frame shift variant of the SFARI gene *PPP2R1B* (p.V115Cfs*3). He has a posterior dislocation of the hip.



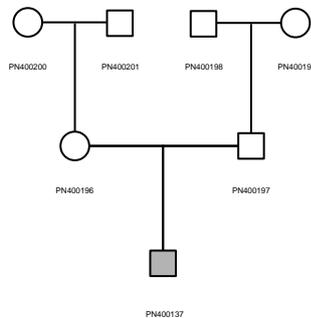
PN400133

PN400133 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=15; FSIQ=86). He suffers from congenital vesico-uretero-renal reflux and hydronephrosis (a kidney swells disorder due to the failure of normal drainage of urine from the kidney to the bladder).



PN400137

PN400137 is a male diagnosed with Asperger syndrome and displays a high IQ (ADOS=9; FSIQ=114; PIQ=108, VIQ=116). He is carrying two *de novo* variants affecting *RIMS4* (p.Tyr205*) and *GC* (p.Tyr186Ser). *RIMS4* codes for a presynaptic proteins that plays a key role for dendritic and axonal morphogenesis⁶. The *GC* variant alters a conserved region of the Vitamin D-Binding Protein, a key actor for vitamin D transport and homeostasis.

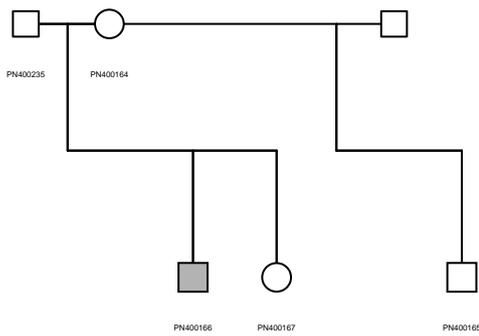


PN400144

PN400144 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=17; FSIQ=88; PIQ=104, VIQ=74). He has epilepsy with abnormal EEG in the temporal region. He is carrying a frameshift variant (p.T1169TX) of *CAD* that could be *de novo* since we had no relatives for this individual. *CAD* codes an enzyme of the pyrimidine biosynthesis previously associated with early onset epileptic encephalopathy (MIM # 616457). He also carries a splice site variant affecting *ASMT*, the last protein of the melatonin pathway previously found mutated in patients with ASD⁷.

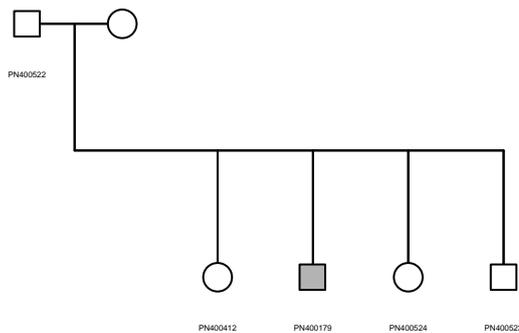
PN400166

PN400166 is a male diagnosed with atypical autism (ADOS=9, FSIQ=78, PIQ=102, VIQ=63). He is a collector and has interest in computers. He is carrying a homozygous *PREX2* variant (p.D312N). *PREX2* codes for a RAC1 guanine nucleotide exchange factor (GEF), is a binding partner of PTEN, a component of the PI3K pathway and has strong homology with *PREX1*, a SFARI gene. He also carries a paternally inherited p.L888* frameshift variant of the glutamate receptor *GRIK2*, previously found associated with ASD¹².



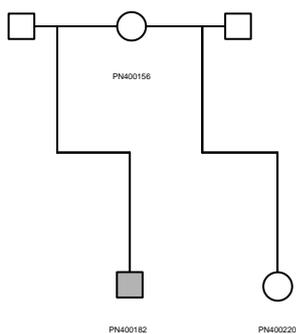
PN400179

PN400179 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=13; FSIQ=102). He had orthopedic surgery. He is carrying LGD variant in three SFARI genes: a variant in the protein phosphatase 2 scaffold subunit Abeta gene *PPP2R1B* (p.V115Cfs*3), a variant in the complement component 4B gene *C4B* (p.Y1229*), and a variant in the calpain 12 gene *CAPN12* (p.S481CAPTAX). These three variants were not inherited from the father and no DNA from the mother was available.



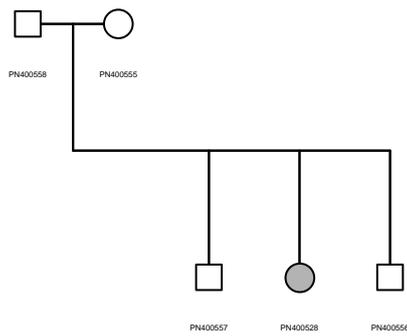
PN400182

PN400182 a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=9; FSIQ=94).



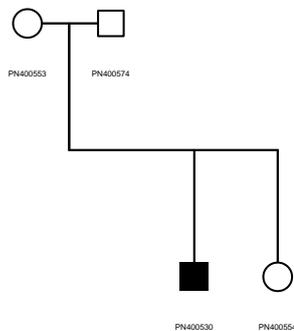
PN400528

PN400528 is a female who is diagnosed with Asperger syndrome (FSIQ=85; PIQ=97; FSIQ=78; ADOS=18). She has primary diurnal enuresis and she is hypersensitive to sound. She was born from consanguineous parent and carries two deleterious homozygous mutations. An homozygous damaging missense mutation (p.R562L) affects a conserved residue in the cytoplasmic domain of the synaptic adhesion molecule *KIRREL3*¹ listed in SFARI and previously associated with NDD^{2,3}. She is also homozygous for another deleterious mutation (p.N687K) affecting *TECTA*, a SFARI gene associated with autism⁴ and deafness⁵.



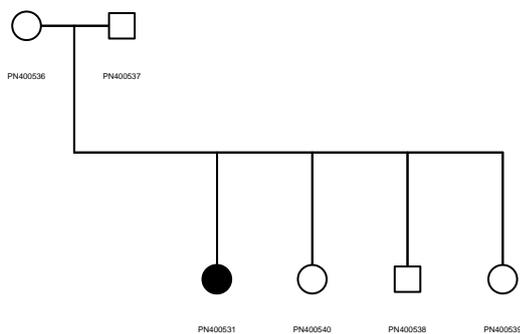
PN400530

PN400530 is a male diagnosed with atypical autism, ADHD and intellectual deficiency, but no hearing problems (ADOS=4; FSIQ=50; PIQ=67, VIQ=54). He is carrying a homozygous splice acceptor variant affecting *P2RX2* that codes for a cation channel receptor that mediates excitatory postsynaptic responses in sensory neurons. This gene was previously associated with autosomal dominant deafness (MIM #608224).



PN400531

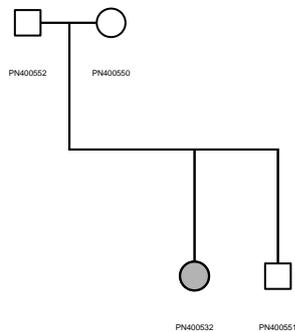
PN400531 is a female diagnosed with atypical autism and intellectual deficiency (ADOS=20; FSIQ=37). She suffers from epilepsy (generalized paroxysmer of 3-4 Hz with spikes and increased amplitude).



PN400532

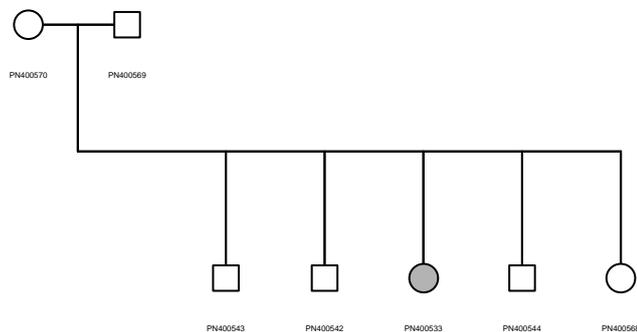
PN400532 is a female diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=13, FSIQ=78, PIQ=82, VIQ=79). She is carrying a *de novo* *MECP2* missense (p.R103W) variant predicted as deleterious and within the methyl binding domain of the protein. However, the same variant was observed in three individuals (two females and one male) among the >90,000 individuals from gnomAD. Therefore, the causative effect of this mutations is not clear. The same patient

also carried a *de novo* *KIF17* variant (p.T306M). *KIF17* codes a dendrite-specific synaptic molecular motor that transports N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor subunit-2B-containing vesicles to neuronal dendrites⁸. The patient displays an absence of corpus callosum, abnormal spikes of both hemispheres on EEG and possibly epilepsy.



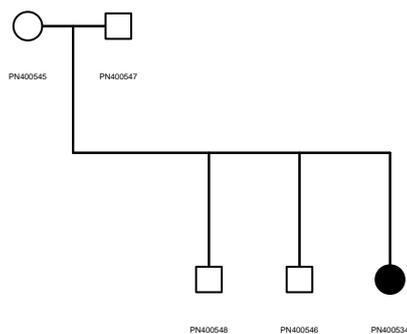
PN400533

PN400533 is a female diagnosed with atypical autism (ADOS=8, FSIQ=79, PIQ=75, VIQ=86). She carried a *de novo* 2.9 Mb deletion on chromosome 22q11 causing DiGeorge/velocardial syndrome. She shows signs of attention deficit and hyperactivity disorder (ADHD). She has flat broad face, high forehead, thick veins visible on forehead, mild asymmetry of the face, right half is prominent, synophrys, low set ears, high nasal bridge, motoric and right half of faceless than left, recurrent infections mainly in the lungs and urinary tract, scoliosis and convulsions at 4-7 days after birth.



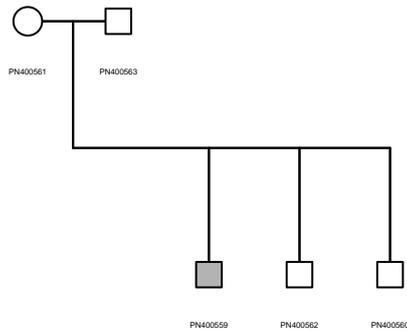
PN400534

PN400534 is a female diagnosed with atypical autism and intellectual deficiency (ADOS=10; FSIQ=58). She has dental carries. She is carrying a paternally transmitted frameshift variant of the SFARI gene *ICAI* (pV49X) coding for the islet cell autoantigen 1.



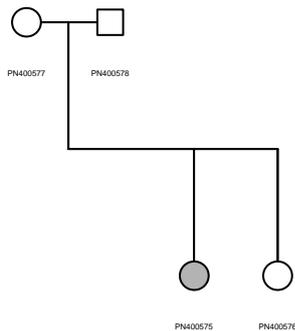
PN400559

PN400559 is a male diagnosed with Asperger syndrome (FSIQ=92; PIQ=92; VIQ=92). He has sleeping problems, but no vision and hearing problems. He is carrying a 2 Mb paternal inherited duplication on the pseudo-autosomal region 1 including *SHOX* and *ASMT*. He is also compound heterozygous for *USH2A* (p.R4115C inherited from the mother and p.R5031W inherited from the father), a gene involved in hearing and vision loss (MIM # 276901).



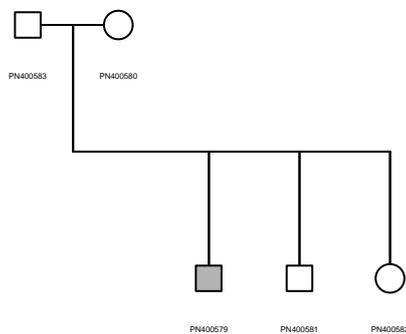
PN400575

PN400575 is a female diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=11; FSIQ=94). She was born premature (1kg at birth).



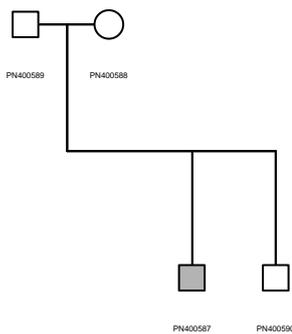
PN400579

PN400579 is a male proband born in the most consanguineous family of our cohort (parents are first cousins). He is diagnosed with childhood autism without intellectual deficiency, no hearing deficiency and no epilepsy (ADOS=15, FSIQ=101, PIQ=110, VIQ=95). He is homozygous for two variants affecting *CNTNAP2* and *PEX6*. Recessive *CNTNAP2* mutations are associated with Pitt-Hopkins like syndrome 1 (MIM # 610042) and cortical dysplasia-focal epilepsy syndrome (MIM #610042). The *CNTNAP2* p.E680K affects a highly conserved amino acid within the fibrinogen domain of the protein, but is found in the general population although very rare (26 carriers among 138,384 individuals in gnomAD and never at the homozygous state). Recessive *PEX6* mutations are associated with Heimler syndrome 2, a recessive peroxisome disorder characterized by sensorineural hearing loss, amelogenesis imperfecta and nail abnormalities, with or without visual defects (MIM # 616617). The homozygous variant p.R601Q carried by the proband was previously considered pathogenic since it was detected in several independent patients diagnosed with Heimler syndrome 2⁹.



PN400587

PN400587 is a male diagnosed with Asperger syndrome (ADOS=12, FSIQ=97, PIQ=97, VIQ=97). He has been in patient care more than 1 year due to psychosis and depression. He is carrying a paternally inherited frameshift variant (p.RK174-175RX) of *RANBP17*, a SFARI gene. *RANBP17* codes for a member of the importin-beta superfamily of nuclear transport receptors and is expressed in the brain (mostly cerebellum).



DISCUSSION

1. Homogénéité génétique des îles Féroé

Les populations isolées ont un degré supérieur d'homogénéité génétique et présentent potentiellement un enrichissement en allèles rares. C'est pourquoi ces populations semblent idéales pour détecter des variants rares et étudier les interactions gène-gène et gène-environnement ainsi que les effets de la consanguinité impliqués dans le développement de phénotypes complexes.

La première étape de notre étude a été de caractériser, d'un point de vue génétique, la structure de la population des îles Féroé et nous avons pu confirmer que la population Féroïenne était génétiquement proche d'autres populations européennes mais qu'il existait effectivement une réduction de l'hétérogénéité génétique au sein des individus témoins de notre cohorte par rapport à d'autres populations.

Le coefficient de consanguinité moyen de la population des îles Féroé apparaît, en effet, significativement supérieur à celui des 11 populations de la phase III du projet HapMap.

Le niveau de consanguinité médian des individus témoins de notre cohorte Féroïenne est de $F=0,015$. Cela correspond à un lien de parenté entre les individus de la population Féroïenne de type cousins au deuxième degré, pour laquelle $F_{\text{théorique}} = 0,01563$. Ce résultat est proche de celui observé lors de l'étude de Binzer et collaborateurs sur la sclérose en plaques aux îles Féroé ($F=0.01807$) (Binzer et al., 2015). Nous confirmons ainsi le fait que le niveau de consanguinité est élevé dans les îles Féroé.

2. Consanguinité et TSA

En raison de leur histoire démographique, les populations isolées peuvent connaître un enrichissement en allèles délétères présents dans les génomes du petit groupe de fondateurs dont elles résultent. C'est pourquoi il est possible que les prévalences de certaines pathologies soient augmentées.

Ainsi, dans la population féroïenne, le syndrome de Bardet-Biedl (Hjortshoj et al., 2009) (Hjortshøj et al., 2009), la mucoviscidose (Schwartz et al., 1995), le déficit en 3-Methylcrotonyl-coenzyme A carboxylase (Thomsen et al., 2015), la glycogénose de type IIIA (Santer et al., 2001) et la rétinite pigmentaire (Ostergaard et al., 2011) ont une fréquence supérieure par rapport aux autres populations européennes. Ce n'est pas le cas des TSA, dont la prévalence est estimée à 0.94% (Kočovská et al., 2012).

Lors de notre étude, nous nous sommes intéressés au rôle de la consanguinité comme facteur de vulnérabilité aux TSA. Nous avons mis en évidence des taux de consanguinité significativement plus élevés chez les patients par rapport aux individus témoins.

De plus, nous avons trouvé un nombre plus important de mutations récessives délétères chez les patients par rapport aux témoins appariés et ces dernières affecteraient plus souvent des gènes très intolérants aux variations entraînant une perte de fonction, exprimés dans le cerveau ou associés aux TSA.

Bien que les études portant sur le rôle des variants récessifs dans les TSA soient moins nombreuses, une grande étude de 2013, portant sur plus de 900 patients et plus de 800 individus témoins, avait également trouvé un plus grand

nombre de mutations LGD (Likely Gene Disruptive : mutations non-sens, d'un site d'épissage ou indels entraînant un décalage du cadre de lecture) rares homozygotes ou hétérozygotes composites chez les patients par rapport aux individus témoins et estimait que ces mutations contribueraient jusqu'à 3% de la vulnérabilité aux TSA.

Malgré le fait que la consanguinité apparaît être un facteur de risque pour les TSA dans les îles Féroé et puisque la prévalence y est similaire à celle des autres populations européennes, il est possible que le pool génétique de vulnérabilité aux TSA soit plus limité dans la population Féroïenne que dans les autres populations, moins homogènes, où un grand nombre d'allèles à risque ségrègent, et que cela puisse contrebalancer les facteurs de risque liés à la consanguinité (Ellefsen et al., 2007).

Plusieurs études portant sur d'autres isolats génétiques ont mis en évidence une prévalence des TSA, dans ces populations, similaire à celles de populations non isolées.

En Finlande, le coefficient de consanguinité moyen de la population, bien que plus faible que dans les îles Féroé, est relativement élevé ($F=0.0118$) (Verweij et al., 2014) et la prévalence des TSA a été estimée en 2000 par Kielinen et collaborateurs à 1.2% (Kielinen et al., 2000).

En Arabie Saoudite, le coefficient de consanguinité moyen ($F=0.20-0.30$) est supérieur à celui des îles Féroé (El-Hazmi et al., 1995), la prévalence des TSA est cependant assez mal documentée, probablement en raison d'outils diagnostics moins standardisés. Al-Salehi et collaborateurs l'ont estimée être, malgré tout, similaire à celle des pays européens et occidentaux (18/10 000 en 2002 en Arabie Saoudite (Al-Salehi et al., 2009) alors qu'elle était estimée à 13/10 000 en Europe en 2005 (Fombonne, 2005). Une étude récente sur 19 patients issus d'Arabie Saoudite a par

ailleurs confirmé que l'architecture génétique des TSA était extrêmement hétérogène même dans une population très consanguine (Al-Mubarak et al., 2017).

Une étude menée en Inde par Mamidala et collaborateurs en 2014 a également mis en évidence que la consanguinité était un facteur de vulnérabilité aux TSA (Mamidala et al., 2015). Le coefficient de consanguinité moyen en Inde varie en fonction des régions et des religions allant de $F= 0,016$ (Karnataka) à $F=0,0449$ (Pondicherry)(Bittles et al., 2002). Une estimation préliminaire de la prévalence des TSA en Inde a été menée par Rudra et collaborateurs en criblant plus de 11 000 enfants scolarisés à Kolkata, une métropole en Inde de l'Est, a révélé que seulement 0.23% des enfants seraient atteints de TSA. Cette prévalence est cependant très probablement sous-estimée puisque 20% des enfants de la région n'étaient pas scolarisés (Rudra et al., 2017).

En Islande, la prévalence des TSA a été estimée à 1.2% (Saemundsen et al., 2013). L'Islande est un isolat génétique ancien où le niveau de consanguinité de la population a beaucoup diminué au fil des générations. Aujourd'hui, le niveau de parenté moyen entre les individus serait de l'ordre de cousin au 5e degré soit environ $F=0.001$ (Árnason, 2003; Helgason et al., 2003, 2008).

En résumé, la consanguinité semble être un facteur de risque pour les TSA mais ce risque est modéré puisque, dans les Iles Féroé, les frères et sœurs non atteints des patients présentent des coefficients de consanguinité du même ordre.

3. Facteurs génétiques impliqués dans la vulnérabilité aux TSA dans les îles Féroé

Malgré le nombre réduit de patients de notre étude, celle-ci nous a permis de confirmer le rôle de certains variants dans la vulnérabilité aux TSA et d'identifier 3

nouveaux gènes candidats qui pourraient éventuellement nous orienter afin de mieux comprendre les mécanismes biologiques en jeu et trouver de nouvelles stratégies diagnostiques et thérapeutiques.

3.1. Identification de variants affectant des gènes déjà associés aux TSA

3.1.1. Variants *de novo*

La composante génétique des TSA est extrêmement hétérogène, avec plus de 1000 gènes associés aux TSA à ce jour (liste disponible sur le site de Simons Foundation Autism Research Initiative). L'identification de mutations affectant un même locus/gène lors d'études indépendantes permet de conforter le rôle de celui-ci, même si, dans les TSA, aucun de ces gènes ne peut expliquer plus d'1% des cas (Huguet et al., 2013).

Notre analyse de variants *de novo* a permis de conforter le rôle des variants de la région 22q11 et du gène *NRXN1*, deux loci déjà associés aux TSA lors de plusieurs études (voir introduction). En effet, *NRXN1* (Neurexin alpha 1) est une protéine d'adhésion cellulaire pré-synaptique qui joue un rôle clé pour la formation et le maintien des contacts entre les neurones. Les neurexines se lient aux neuroligines qui sont des protéines d'adhésions cellulaires post-synaptiques également associées aux TSA. Par ailleurs, la délétion de la région 22q11 est flanquée de séquences répétées inversées (IR) et est responsable du syndrome Vélocardiofacial (VCFS) ou syndrome de DiGeorge dont certaines manifestations sont une déficience intellectuelle, des troubles de l'apprentissage, de la mémoire, de l'expression et des troubles du comportement.

D'autre part, l'un des patients est porteur d'une trisomie 21 (syndrome de Down). Le syndrome de Down est la cause chromosomique la plus retrouvée chez les individus avec déficience intellectuelle et concernerait 12,6/10 000 naissances (de Graaf et al., 2015). Dans ce syndrome, les patients présentent généralement une déficience intellectuelle intermédiaire à sévère (Capone et al., 2005).

Les études épidémiologiques montrent que les patients atteints du syndrome de Down présentent plus fréquemment un TSA par rapport à la population neurotypique. En effet, 16 à 37% des patients atteints du syndrome de Down auraient également un diagnostic de TSA (Warner et al., 2014).

D'une façon générale, les capacités sociales et de langage sont souvent impactées, à des degrés variables, chez les individus ayant une déficience intellectuelle mais il a été montré que les enfants atteints du syndrome de Down et de TSA avaient des compétences cognitives et adaptatives plus réduites que les patients présentant uniquement un syndrome de Down mais également des troubles du langage et du comportement plus importants (Molloy et al., 2009; Pandolfi et al., 2018).

De façon intéressante, il a été montré que les apparentés de personnes atteintes du syndrome Down présentaient plus fréquemment un déficit social (Lowenthal et al., 2007; Reilly, 2009). Lors d'une étude de 2000, Ghaziuddin et collaborateurs ont retrouvé un TSA chez 7 des 22 parents de patients Down + TSA (32%) et chez seulement 1 des 14 parents (7%) de patients Down sans TSA (Ghaziuddin, 2000). Rasmussen et collaborateurs en 2001 ont rapporté la présence de TSA, TDAH ou déficit d'apprentissage chez 5 (20%) apparentés au premier ou second degré des 25 patients avec Down+TSA (Rasmussen et al., 2001).

Ces observations semblent indiquer qu'une combinaison d'allèles à risque "multiple hits" entrerait en jeu dans la vulnérabilité aux TSA des patients Down.

Enfin, nous avons identifié, chez une patiente, un variant faux-sens *de novo*, affectant le domaine methyl binding domain (MBD) de MeCP2. MeCP2 est fortement exprimée dans le système nerveux central et joue un rôle important dans l'entretien des synapses en régulant l'expression de nombreux gènes (Skene et al., 2010; Thambirajah et al., 2012). Des mutations de MeCP2 ont été retrouvées chez des patients atteints du syndrome de Rett qui affecte majoritairement les individus de sexe féminin (Lyst and Bird, 2015). Les caractéristiques du syndrome de Rett sont une régression développementale dans la petite enfance suivie d'une stabilisation ainsi que des déficits cognitifs, comportementaux et physique sévères. Il est difficile de conclure sur l'impact de la mutation identifiée chez la patiente puisque cette même mutation a été reportée 3 fois dans la base de donnée gnomAD qui compte plus de 90 000 individus et que, par conséquent, sa pénétrance ne doit donc pas être complète. La patiente a, par ailleurs, un QI proche de la normale, ce qui est peu commun dans le syndrome de Rett.

Cette même patiente présente, par ailleurs, une deuxième mutation *de novo* faux-sens (T306M) délétère affectant le gène *KIF17* (Kinesin-Like protein 17). *KIF17* est une kinésine spécialisée dans le transport des vésicules contenant la sous-unité 2B du récepteur NMDA aux dendrites (Yin et al., 2011). *KIF17* est impliquée dans la plasticité synaptique (Yin et al., 2012). Une étude de 2010 a permis d'identifier un variant *de novo* tronquant *KIF17* chez un patient atteint de schizophrénie (Tarabeux et al., 2010) et une étude de 2015 a mis en évidence un niveau d'expression plus faible de *KIF17* dans les cortex pré-frontaux post-mortem chez les patients atteints de schizophrénie en comparaison avec les individus témoins (Ratta-Apha et al., 2015).

De façon intéressante, il a été montré que l'expression de *KIF17* était régulée par MeCP2 (Lanz et al., 2013).

3.1.2. Variants récessifs

L'étude des variants hérités impliqués dans les TSA reste épineuse à ce jour. Cependant, nous avons pu identifier, chez certains patients consanguins, des mutations homozygotes rares et délétères dans des gènes associés aux TSA permettant ainsi de confirmer leurs rôles potentiels dans la vulnérabilité aux TSA.

L'un de ces gènes est *KIRREL3*, qui code pour une molécule d'adhésion synaptique (Martin et al., 2015b) et qui a été associé à de nombreux troubles neurodéveloppementaux comme la déficience intellectuelle et le retard neurocognitif associé avec le syndrome de Jacobsen mais également les TSA (Bhalla et al., 2008; Guerin et al., 2012; Talkowski et al., 2012). La mutation identifiée chez une patiente issue d'une famille consanguine (p.R562L chez PN400528) affecte un résidu conservé du domaine cytoplasmique de *KIRREL3*.

De façon intéressante, cette patiente est également porteuse d'une mutation faux-sens homozygote (p.N687K) modifiant un résidu glycosylé de la protéine *TECTA*, précédemment associée aux TSA (Sanders et al., 2012a) et à la surdité (Verhoeven et al., 1998b).

Nous avons également pu identifier une mutation homozygote p.E680K prédite comme délétère et affectant un résidu conservé du domaine fibrinogène de *CNTNAP2*. Des variants de *CNTNAP2* ont été impliqués dans les TSA (Alarcón et al., 2008; Arking et al., 2008; Li et al., 2010; Nascimento et al., 2016; Whitehouse et al.,

2011). Une délétion frameshift d'une paire de base à l'état homozygote a été identifiée chez des enfants atteints de TSA, de dysplasie corticale, d'épilepsie focale et de macrocéphalie au sein d'une famille consanguine d'Amishs de l'ancien Ordre (Strauss et al., 2006).

De façon intéressante, chez le patient porteur du variant homozygote p.E680K de *CNTNAP2*, une mutation de *PEX6* a également été retrouvée. Les mutations de *PEX6* sont la deuxième cause la plus fréquente (10% des cas) dans les troubles du spectre Zellweger qui sont des troubles autosomiques récessifs rares de la biogenèse du peroxyosome (Ebberink et al., 2010; Geisbrecht et al., 1998; Krause et al., 2006; Yik et al., 2009). Le variant présent chez notre patient (R601Q) a été identifié chez des patients atteints d'adrénoleucodystrophie néonatale (NALD) et de la maladie de Refsum infantile (Smith et al., 2016b). Ces deux pathologies font partie du spectre Zellweger avec, respectivement, une sévérité intermédiaire et modérée. Les troubles du spectre Zellweger sont associés à une altération de la migration neuronale et du neurodéveloppement (Gressens et al., 2000; Volpe and Adams, 1972). Les patients souffrent souvent d'un dysfonctionnement de plusieurs organes, de difficultés psychomotrices et d'une dégénération sensorineuronale post-développementale provoquant une perte d'audition et une cécité progressive. Ainsi, il existe un rôle important des peroxyosomes dans la migration, prolifération, différenciation et survie des neurones (Berger et al., 2016).

3.2. Identification de nouveaux gènes candidats

L'analyse de variants *de novo* a permis l'identification de 3 nouveaux gènes candidats pour les TSA dont les rôles dans le neurodéveloppement pourraient permettre d'approfondir nos connaissances sur l'étiologie des TSA.

3.3.1. *RIMS4*

L'un des patients est porteur d'une mutation non-sens *de novo* affectant le gène *RIMS4*. Le gène *RIMS4* (Regulating Membrane Exocytosis 4) code pour une protéine pré-synaptique qui joue un rôle clé dans la morphogenèse de l'arborisation dendritique et axonale (Alvarez-Baron et al., 2013). *RIMS1* et *RIMS3* ont déjà été associés aux TSA (Dong et al., 2014; Iossifov et al., 2012; Kumar et al., 2010). Le patient présente un QI normal (QI performance = 108 et QI verbal = 116). De façon intéressante, les protéines RIM interagissent avec les canaux calciques voltage-dépendants et suppriment leur activité au niveau de la densité pré-synaptique afin de réguler le relargage de neurotransmetteurs. Il a été montré que l'inhibition de l'expression des RIMs-alpha (*RIMS1* et *RIMS2*) résultait en un relargage de glutamate plus atténué que l'inhibition de l'expression des RIMs-gamma (*RIMS3* et *RIMS4*). La compétition entre les différentes familles de RIMs, alpha et gamma, semble donc essentielle pour la régulation de la sécrétion de glutamate au niveau des synapses (Uriu et al., 2010). Il est ainsi probable que la mutation stop *de novo* de *RIMS4* perturbe la régulation fine du relargage de glutamate aux synapses et contribue alors au TSA du patient.

3.3.2 *KALRN*

Le gène *KALRN* code pour un facteur d'échange nucléotidique de guanine (Kinase Kalirin rho-GEF) présentant une forte homologie avec le gène *TRIO*, déjà

associé aux TSA (De Rubeis et al., 2014). Le gène *KALRN* est soumis à un épissage alternatif aboutissant à au moins 4 isoformes. La mutation *de novo* de *KALRN* (p.N2024D) identifiée chez le patient touche un acide aminé clé du domaine Guanine Exchange Factor de la protéine, très conservé au cours de l'évolution et déjà présent chez *Drosophila melanogaster* et *Caenorhabditis elegans*. Cette mutation semble affecter uniquement les isoformes Kal-9 et Kal-12.

Bien que l'isoforme la mieux caractérisée soit Kal-7, certaines études ont mis en évidence le rôle important des isoformes Kal-9 et -12 de la protéine dans le neurodéveloppement et la croissance neuronale car il permettrait notamment de réguler la plasticité structurelle et fonctionnelle des épines dendritiques. Ces isoformes sont fortement exprimées dans le tissu neuronal durant le développement embryonnaire et leur expression est très diminuée dans le cerveau adulte (Yan et al., 2015). Chez la souris, des défauts d'arborisation dendritique ont été observés en l'absence de ces isoformes durant le développement précoce (Yan et al., 2015). Plus récemment, il a été montré que l'altération de Kal-9 pouvait conduire à une réduction du branchage dendritique réduit et de la taille des épines dendritiques (Russell et al., 2017).

Plusieurs études ont mis en évidence une association entre les variants de *KALRN*, son niveau d'expression et la schizophrénie (Deo et al., 2012; Kushima et al., 2012) ainsi que d'autres troubles comme les TDAH (Lesch et al., 2008), la maladie de Huntington ou d'Alzheimer (Murray et al., 2012; Youn et al., 2007).

La voie de signalisation Kalirin pourrait donc être également impliquée dans la vulnérabilité aux TSA et pourrait donc constituer une nouvelle piste thérapeutique pour les patients.

3.3.3 PLA2G4A

PLA2G4A est un gène synaptique codant pour la phospholipase calcium-dépendante cytosolique A2 α et qui a été associé à la schizophrénie à travers l'identification de variants lors d'analyses GWAS (Nadalín et al., 2008, 2013; Pae et al., 2004; Peet et al., 1998; Rybakowski et al., 2003; Tao et al., 2005, 2006) ou de déséquilibre de transmission familiale (Hemmings et al., 1998).

PLA2G4A joue un rôle important dans le métabolisme membranaire en permettant la libération d'acide arachidonique via l'hydrolyse des phospholipides membranaires. Elle serait impliquée dans la neurotransmission, la maturation cérébrale, le développement cortical et le remodelage synaptique (Law et al., 2006). Les souris KO pour *Pla2g4a* présentent des anomalies de maturation neuronale (fente synaptique réduite) (Qu et al., 2013b) et de potentiation à long terme (LTP) (Su et al., 2013b).

De plus, PLA2G4A pourrait être lié à la sévérité des symptômes des patients schizophrènes (Tao et al., 2006).

Le patient (PN400102) porteur de la mutation *de novo* altérant PLA2G4A (p.R485C) ne présente pas de déficience intellectuelle.

De façon intéressante, il a été mis en évidence un rôle de la phospholipase A2 (PLA2) dans les effets neurotoxiques du méthylmercure puisque l'addition de méthylmercure dans le milieu de culture entraînerait le relargage, par les cellules, d'acide arachidonique, de façon dose-dépendante, témoignant ainsi de l'activité de la PLA2. Ce relargage serait atténué par l'ajout d'inhibiteur de PLA2 (Mazerik et al., 2007; Shanker, 2004; Shanker et al., 2003).

Il a aussi été montré que la PLA2 était impliquée dans la réponse à la vitamine D puisque les cellules relarguaient davantage d'acide arachidonique en présence de calcitriol (forme hormonale active de la vitamine D) dans le milieu de culture (Gentili et al., 2004; Pirianov et al., 1999).

La PLA2 est donc impliquée dans des processus liés à deux facteurs environnementaux particulièrement présents aux îles Féroé (l'exposition au méthylmercure durant la vie foetale suite à la consommation, par la mère, de baleine pilote et déficit en vitamine D, dû à un ensoleillement trop faible (voir introduction).

L'identification de ces variants *de novo*, susceptibles de jouer un rôle dans le développement de TSA et affectant différentes protéines, souligne encore une fois le fait que la composante génétique des TSA implique de nombreux processus de régulation et de signalisation mais qui toutefois semblent toujours interconnectés puisque chacune de ces protéines semblent jouer un rôle clé dans le neurodéveloppement au niveau synaptique.

D'autre part, il est intéressant de noter que, parmi ces variants, deux ont été associés, par plusieurs études, à la schizophrénie, ce qui confirmerait le recoupement entre les facteurs génétiques de vulnérabilité aux TSA et à la schizophrénie (Burbach and van der Zwaag, 2009; Carroll and Owen, 2009; Warriar et al., 2016).

4. Rôle combiné des différents types de variants dans la vulnérabilité aux TSA

L'architecture génétique des TSA étant complexe et variée, nous avons voulu estimer le rôle potentiel de chaque type de variants dans la vulnérabilité aux TSA dans les îles Féroé.

4.1. Implication des variants fréquents

Les études d'héritabilité ont pu montrer le rôle important des variants fréquents ($MAF > 5\%$), ayant chacun des effets limités, dans la vulnérabilité aux TSA et il a été estimé qu'ils représenteraient 49% du risque contre 3% pour les mutations rares et 3% pour les mutations *de novo* (Gaugler et al., 2014). Malgré ces observations, l'identification de tels variants reste à ce jour difficile en raison de leur grand nombre et de leurs tailles d'effets faibles mais également de l'extrême diversité phénotypique des TSA.

Les collaborations mises en place afin d'augmenter la taille d'échantillon et ainsi le pouvoir statistique des études GWAS, n'avaient, jusqu'ici, pas été suffisantes et n'avaient permis l'association d'aucun SNP ni d'aucun gène aux TSA de façon significative à l'échelle du génome entier (Geschwind and State, 2015). Ce n'est que très récemment, lors d'une méta-analyse regroupant plus de 18 000 patients TSA et 27 000 individus témoins, que Grove et collaborateurs ont pu identifier 5 loci associés significativement aux TSA à l'échelle du génome entier (Grove et al., 2017).

C'est pourquoi il n'est pas étonnant que, lors de notre analyse GWAS sur notre cohorte des îles Féroé, aucun marqueur n'ait pu être significativement associé aux TSA à l'échelle pangénomique puisque l'effectif de la cohorte est très réduit.

Afin de déterminer l'effet cumulé des différents marqueurs individuels mais aussi de mieux comprendre les mécanismes fonctionnels en jeu, nous avons également réalisé une analyse de gènes issus de ces résultats GWAS à l'aide de MAGMA. Malgré l'absence de résultats robustes statistiquement, l'ensemble de ces analyses nous a permis de mettre en avant certains gènes (*TNIK*, *TMEFF2*, *WHAMM*) susceptibles de jouer un rôle dans le développement des troubles chez les patients.

Par ailleurs, toujours dans le but de prendre en compte la contribution, de façon additive, de plusieurs variants fréquents ayant des effets limités, nous avons estimé le Polygenic Risk Score pour les TSA (PRS-ASD) de chaque individu de la cohorte. Ce score permet de regrouper les effets génétiques d'un ensemble de marqueurs qui n'atteignent pas, de façon individuelle, le seuil de significativité lors des études d'associations (Chatterjee et al., 2013; Dudbridge, 2013; 2009).

Nous avons obtenu des scores ASD-PRS plus élevés chez les patients par rapport aux témoins soulignant l'importance des variants communs dans l'étiologie des troubles. Ainsi, la contribution des variants communs pourrait être plus grande dans l'étiologie des TSA sans déficience intellectuelle. C'est également ce qu'avaient conclu Grove et collaborateurs lors de leur étude sur plus de 18 000 patients et 27 000 individus témoins visant à estimer l'héritabilité des TSA puisqu'ils avaient mis en évidence une héritabilité supérieure des TSA pour les patients Asperger par rapport aux patients avec déficience intellectuelle (Grove et al., 2017) .

L'architecture génétique des TSA, très hétérogène, pourrait également varier en fonction des différentes formes de TSA (par exemple, avec ou sans déficience intellectuelle). C'est déjà ce que suggéraient les résultats de nombreuses analyses de variants *de novo* montrant un excès de variants *de novo* causaux chez les patients

TSA avec déficience intellectuelle par rapport aux patients avec un QI normal (De Rubeis et al., 2014; Iossifov et al., 2014; Samocha et al., 2014; Sanders et al., 2015).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que le risque polygénique pour les TSA était associé à de meilleures performances cognitives et une meilleure réussite scolaire (Bulik-Sullivan et al., 2015; Clarke et al., 2016; Okbay et al., 2016).

Cependant, lors de leur approche de test de déséquilibre de transmission polygénique sur plus de 6000 familles de patients TSA, Weiner et collaborateurs ont estimé que l'importance des variants communs était similaire chez les patients avec ou sans déficience intellectuelle. Les variants communs et les variants rares contribueraient à la vulnérabilité génétique aux TSA de manières différentes (Weiner et al., 2017).

Il est, dans tous les cas, tout à fait probable que l'hétérogénéité génétique des TSA s'étende aux différents types de TSA.

4.2. Implications des variants rares

Par définition, un variant rare est présent chez moins d'1 % de la population, il peut être hérité ou bien *de novo*.

Un grand nombre d'études montrent que la quantité de CNVs *de novo* chez les patients serait supérieure à celles des individus témoins (Levy et al., 2011; Marshall et al., 2008; Sanders et al., 2011; Sebat et al., 2007; Szatmari et al., 2007).

Nous avons également mis en évidence un plus grand nombre de CNVs exoniques chez les patients de cette cohorte féroïenne par rapport aux individus témoins, qu'il s'agisse de délétions ou de duplications, ainsi qu'un plus grand nombre de délétions affectant des gènes listés dans SFARI, intolérants aux variants

entraînant une perte de fonction ($pLI > 0,9$) ou exprimés dans le cerveau et un plus grand nombre de duplications affectant des gènes exprimés dans le cerveau.

Nous avons détecté la présence de CNV *de novo* pour 2-3 patients, soit 5,6-8,3% de notre cohorte. Cela correspond avec les fréquences de CNVs *de novo* rapportées par la littérature chez les patients TSA dans d'autres populations européennes (5-15%) (Glessner et al., 2009; Pinto et al., 2014). Il est très probable que ces CNVs *de novo* soient suffisamment pénétrants pour expliquer les TSA des patients.

Le taux de SNVs *de novo* lors de notre étude est de 0.93 événement par exome pour les patients et 0.96 pour les frères et soeurs non atteints. Ce taux est similaire à ceux retrouvés dans d'autres études (Neale et al., 2012; Sanders et al., 2015). Aucun indel *de novo* n'a été identifié.

En revanche, nous n'avons pas trouvé d'augmentation du nombre total de variants *de novo* chez les patients par rapport à leurs frères et soeurs non atteints. Aucune différence significative n'a été observée en analysant spécifiquement les mutations délétères et celles affectant des gènes exprimés dans le cerveau, contrairement à ce qui a été retrouvé lors de plus grandes études (Sanders et al., 2012a). Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre le nombre de mutations *de novo* et le QI des patients ou leur sexe, ce qui est en accord avec la littérature (Sanders et al., 2012a).

Les variants rares hérités sont, quant à eux, plus complexes à interpréter en raison de leur pénétrance bien souvent incomplète. Cependant, lors de notre analyse CNVs, nous avons pu identifier chez un patient une délétion maternelle de *IMMP2L* et une duplication maternelle de *TBL1XR1* chez un autre patient.

Nous avons également détecté plusieurs variants LGD altérant des gènes connus pour les TSA (*GRIK2*, *ASMT*) portés soit exclusivement soit plus fréquemment par des patients que par les individus témoins mais il nous faudrait répliquer ces résultats sur un deuxième groupe de patients indépendants afin de confirmer leur contribution dans la vulnérabilité aux TSA dans les îles Féroé.

Notre étude montre que les facteurs génétiques de vulnérabilité aux TSA semblent être identiques dans les îles Féroé par rapport aux autres populations européennes. Nous avons pu identifier des causes génétiques des TSA déjà connues mais aussi de nouveaux gènes candidats.

Toutefois, les loci identifiés par notre étude ne se situent pas dans les régions de vulnérabilité aux TSA mises en évidence lors d'une étude d'association sur plus de 600 marqueurs microsatellites dans les îles Féroé par Lauritsen et collaborateurs en 2005 (association de marqueurs dans les régions 2q, 3p, 6q, 15q, 16p et 18q) (Lauritsen et al., 2006).

5. Autres facteurs de vulnérabilité aux TSA

Parmi les 18 patients pour lesquels aucun facteur de vulnérabilité génétique n'a été retrouvé, 3 sont nés prématurément. Plusieurs études montrent une association entre la prématurité et les TSA (Hack et al., 2009; Johnson et al., 2010; Kuban et al., 2009; Lampi et al., 2012; Limperopoulos et al., 2008; Mahoney et al., 2013; Schendel and Bhasin, 2008).

La prématurité semble être un facteur de risque pour les TSA comme le montre l'augmentation de leur prévalence chez les enfants nés prématurément. Cette

augmentation est inversement proportionnelle à l'âge gestationnel de l'enfant à la naissance. Ainsi, chez les très grands prématurés, la prévalence des TSA atteint jusqu'à 15-26% (Johnson et al., 2010; Joseph et al., 2016; Limperopoulos, 2009). La prématurité peut, en effet, perturber le neurodéveloppement dans ses phases les plus actives et ainsi causer des retards développementaux (Ajayi-Obe et al., 2000; Inder et al., 2005; Kapellou et al., 2006). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer le risque de TSA lié à la prématurité comme la présence de déficits sensoriels et moteurs chez ces enfants, des lésions précoces de la substance blanche ou du cervelet (voir pour revue (Limperopoulos, 2009).

L'étiologie des TSA est complexe et il existe, aux îles Féroé, des facteurs environnementaux pouvant jouer un rôle dans leur développement. Ainsi, l'étude menée par Kočovská et al en 2014 a mis en évidence des niveaux plus bas de vitamine D dans le sang des patients de cette cohorte épidémiologique par rapport à leurs frères et soeurs non atteints et à leurs parents.

Par ailleurs, les patients de cette cohorte font partie de la dernière génération d'enfants féroïens dont les mères ont consommé de la baleine pilote lors de leur grossesse puisque les recommandations des Autorités de Santé Publique des îles Féroé visant à réduire la consommation de méthylmercure par les femmes enceintes datent de 1998.

Il est possible que chez certains patients, ces facteurs environnementaux entrent en jeu, notamment à travers une certaine prédisposition génétique. Il est intéressant de noter que, parmi les mutations *de novo* identifiées chez les patients, deux affectent le métabolisme de la vitamine D et/ou du méthylmercure.

Ces données soulignent encore une fois la complexité de l'étiologie des TSA avec de nombreux facteurs impliqués à différents degrés.

6. Points forts et points faibles de notre étude

Le fait que les patients soient issus d'un isolat génétique pourrait être la cause de résultats atypiques et non généralisables à la population générale. Même si cela ne peut pas être complètement exclu, nos résultats semblent indiquer que les causes génétiques des TSA dans les îles Féroé sont similaires à celles observées dans les autres populations européennes et occidentales.

Malgré le fait qu'il s'agisse d'une cohorte épidémiologique comportant tous les cas détectés de TSA dans les îles Féroé chez les enfants nés entre 1985 et 1994, l'effectif de notre cohorte est relativement limité. Une estimation réalisée avec le Genetic Power Calculator de Shaun Purcell 2008 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/gpc/cc2.html>) nous indique que, pour un odd-ratio des génotypes hétérozygote/homozygote de 1.5/1.6, notre étude n'a que 8.4% de pouvoir statistique en étude d'association et qu'il nous faudrait 974 patients afin d'obtenir 80%.

Il est donc difficile d'obtenir des résultats statistiques dans une telle cohorte. Cependant, malgré le nombre réduit d'individus, il est important de souligner que la cohorte semble représentative de la population totale des îles Féroé (Kočovská et al., 2013).

Par ailleurs, l'un des atouts majeurs de notre étude est qu'elle porte sur une cohorte épidémiologique à l'échelle d'une population entière et évaluée à l'aide d'outils standardisés et reconnus où une deuxième évaluation des patients, sept ans plus tard, a permis de confirmer leur diagnostic. La cohorte épidémiologique étudiée a permis de recenser tous les cas, à l'échelle du pays entier, de TSA chez les enfants

nés entre 1985 et 1994, sans qu'ils n'aient été adressés chez un clinicien par un proche ou un professeur.

Ainsi, malgré le manque de pouvoir statistique dû à l'effectif réduit de patients, notre cohorte s'avère idéale pour identifier les causes génétiques impliquées dans la vulnérabilité aux TSA dans les îles Féroé durant cette période.

CONCLUSION

Les TSA forment un groupe de troubles neurodéveloppementaux extrêmement hétérogène aussi bien sur le plan clinique que dans leur architecture génétique. En effet, la vulnérabilité aux TSA fait intervenir tous les types de variants, qu'ils soient communs, rares ou *de novo*, démontrant ainsi la complexité de ces troubles avec un grand nombre de facteurs de risque génétiques différents dans la population.

A ce jour, un grand nombre de gènes ont été associés aux TSA mais peu d'études ont été réalisées sur des cohortes épidémiologiques et dans des populations isolées.

Lors de cette étude, nous avons combiné l'analyse des données de génotypage et de séquençage d'exome de 357 individus (36 patients, 136 apparentés des patients, 185 témoins) afin de mieux caractériser l'architecture génétique des TSA au sein d'une cohorte épidémiologique comportant tous les cas détectés de TSA dans les îles Féroé chez les enfants nés entre 1985 et 1994.

Dans un premier temps, nous avons étudié la structure génétique de la population des îles Féroé et nous avons pu montrer qu'il s'agissait effectivement d'une population à forte composante européenne dont la diversité génétique était réduite par rapport aux autres populations du projet HapMap. Le coefficient de consanguinité médian des individus témoins de notre cohorte ($F=0,015$) indiquerait une relation entre les individus Féroïens de type cousin au second degré.

De façon intéressante, ce coefficient de consanguinité était significativement plus élevé chez les patients par rapport aux individus témoins. La consanguinité pourrait donc être un facteur de risque modéré pour le développement de TSA.

L'analyse des différents types de variants a révélé que l'architecture génétique des TSA dans les îles Féroé ne semblait pas différente de celle des autres populations européennes.

Notre analyse GWAS n'a pas permis l'association significative de marqueur à l'échelle du génome entier mais ce résultat était attendu étant donné les grandes difficultés à obtenir de tels signaux même lors de cohortes regroupant plusieurs milliers de patients. Cependant, nous avons tout de même pu mettre en avant le rôle des variants communs dans l'étiologie des TSA puisque le Polygenic Risk Score des patients était significativement supérieur à celui des individus témoins.

Enfin, nous avons pu détecter une mutation en cause des TSA chez 11% des patients à travers l'identification de mutations délétères dans des gènes déjà associés aux TSA. Pour 25%, nous avons pu identifier des variants de signification inconnue dont l'implication est probable. Pour 14% des patients, des variants de signification inconnue dont l'implication est incertaine et pour lesquels il serait indispensable de pouvoir répliquer les résultats. L'analyse des variants *de novo* a permis notamment de mettre en évidence 3 nouveaux gènes candidats pour les TSA impliqués dans la plasticité synaptique : *RIMS4*, *KALRN* et *PLA2G4A*.

Pour 50% des patients, aucun facteur de vulnérabilité génétique n'a pu être identifié à ce jour. Trois d'entre eux étant nés très prématurément, cela pourrait expliquer pourquoi, chez ces patients, nous n'avons pu détecter de variants causaux.

A travers notre étude, nous montrons donc qu'il est possible de détecter les différents types de variants, communs et rares, contribuant à la vulnérabilité aux TSA dans une cohorte épidémiologique issue population isolée malgré l'effectif réduit de la population.

Nos résultats indiquent que, dans la population Féroïenne, la composante génétique des TSA semble être similaire à celle d'autres populations européennes et que la consanguinité serait un facteur de risque supplémentaire mais modéré.

PERSPECTIVES

Depuis maintenant plusieurs années, les progrès de la génétique et les nombreuses études menées ont permis de mieux appréhender l'architecture génétique des TSA. Notre étude confirme l'implication, à la fois des variants rares et des variants communs, dans la vulnérabilité aux TSA. Il est cependant nécessaire de mener d'autres travaux afin de comprendre plus finement comment ces différents variants agissent ensemble chez les patients TSA. Il est possible, que, même chez les patients pour lesquels nous avons pu identifier des variants rares et délétères affectant des gènes déjà associés aux TSA, ces variants ne puissent pas, à eux seuls, être suffisants pour expliquer entièrement les troubles. Il serait donc intéressant d'étudier plus avant comment les différents variants interagissent ensemble et avec d'éventuels facteurs environnementaux.

Il serait ainsi intéressant, par exemple, de rechercher des variants impliqués dans le métabolisme de la vitamine D chez les patients pour lesquels sa concentration plasmatique de 25(OH)D a été évaluée par l'équipe de recherche suédoise.

Par ailleurs, peu d'études ont jusqu'ici été menées dans des isolats génétiques et des cohortes épidémiologiques. Notre approche pourrait être utilisée dans d'autres populations et cela permettrait, par exemple, de mieux évaluer l'impact de la consanguinité sur la vulnérabilité aux TSA.

A ce jour, le nombre de gènes identifiés chez des patients sans déficience intellectuelle reste limité. Lors d'études précédentes, le laboratoire avait mis en évidence le rôle de variants de NLGN3, de NLGN4X mais aussi des duplications de SHANK3, trois gènes codant pour des protéines clés de la plasticité synaptique, dans ce type de TSA. Lors de cette étude, l'identification de variants *de novo* de RIMS4,

KALRN et *PLA2G4A*, identifiés chez des patients avec syndrome d'Asperger montre encore une fois le rôle de protéines synaptiques.

Il semblerait donc que les protéines impliquées dans les TSA sans déficience intellectuelle convergent plutôt vers la voie synaptique plutôt que celles de la régulation de l'expression de gène et du remodelage de la chromatine mais, bien entendu, cela doit être confirmé lors d'études sur des cohortes plus grandes car notre effectif est limité.

De la même façon, nous avons identifié plusieurs variants LGD affectant des gènes comme *GRIK2* ou *ASMT*, présents exclusivement ou bien plus fréquemment chez des patients TSA par rapport aux témoins mais il faudrait pouvoir répliquer ces résultats afin de confirmer la contribution de ces variants dans la vulnérabilité aux TSA dans les îles Féroé.

Le laboratoire a accès à plusieurs grandes cohortes comme Simons, MSSNG, PARIS ou EUAIMS et il serait donc possible de rechercher des variants affectant les différents gènes identifiés lors de cette étude afin de pouvoir répliquer nos résultats.

L'architecture génétique des TSA est très complexe et hétérogène. Nous avons montré, avec cette étude, le rôle des variants rares et fréquents, notamment exoniques. Afin de mieux caractériser l'ensemble des facteurs génétiques en jeu dans les TSA, de plus en plus d'études portent sur l'analyse de données de séquençage de génome entier, aujourd'hui moins coûteux qu'autrefois. Ces études permettront de mieux comprendre le rôle des régions non codantes du génome dans la vulnérabilité aux TSA.

Par ailleurs, l'analyse de marques épigénétiques pourrait également permettre une meilleure évaluation du rôle des facteurs épigénétiques dans l'étiologie des TSA.

Aucun traitement pour les TSA n'est disponible à ce jour et il nous manque encore beaucoup de connaissances pour comprendre les mécanismes biologiques impliqués dans les TSA. Il faudrait poursuivre les études visant à traduire les résultats des recherches génétiques d'un point de vue fonctionnel afin de pouvoir développer de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant ces mécanismes afin d'améliorer la qualité de vie des patients et des familles.

REFERENCES

Acuna-Hidalgo, R., Veltman, J.A., and Hoischen, A. (2016). New insights into the generation and role of de novo mutations in health and disease. *Genome Biol.* *17*.

Addington, A.M., Gauthier, J., Piton, A., Hamdan, F.F., Raymond, A., Gogtay, N., Miller, R., Tossell, J., Bakalar, J., Germain, G., et al. (2011). A novel frameshift mutation in UPF3B identified in brothers affected with childhood onset schizophrenia and autism spectrum disorders. *Mol. Psychiatry* *16*, 238.

Ajayi-Obe, M., Saeed, N., Cowan, F.M., Rutherford, M.A., and Edwards, A.D. (2000). Reduced development of cerebral cortex in extremely preterm infants. *Lancet Lond. Engl.* *356*, 1162–1163.

Alarcón, M., Abrahams, B.S., Stone, J.L., Duvall, J.A., Perederiy, J.V., Bomar, J.M., Sebat, J., Wigler, M., Martin, C.L., Ledbetter, D.H., et al. (2008). Linkage, association, and gene-expression analyses identify CNTNAP2 as an autism-susceptibility gene. *Am. J. Hum. Genet.* *82*, 150–159.

Al-Mubarak, B., Abouelhoda, M., Omar, A., Aldhalaan, H., Aldosari, M., Nester, M., Alshamrani, H.A., El-Kalioby, M., Goljan, E., Albar, R., et al. (2017). Whole exome sequencing reveals inherited and de novo variants in autism spectrum disorder: a trio study from Saudi families. *Sci. Rep.* *7*.

Als, T.D., Jorgensen, T.H., Børghlum, A.D., Petersen, P.A., Mors, O., and Wang, A.G. (2006). Highly discrepant proportions of female and male Scandinavian and British Isles ancestry within the isolated population of the Faroe Islands. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* *14*, 497.

Al-Salehi, S.M., Al-Hifthy, E.H., and Ghaziuddin, M. (2009). Autism in Saudi Arabia: Presentation, Clinical Correlates and Comorbidity. *Transcult. Psychiatry* *46*, 340–347.

Alvarez-Baron, E., Michel, K., Mittelstaedt, T., Opitz, T., Schmitz, F., Beck, H., Dietrich, D., Becker, A.J., and Schoch, S. (2013). RIM3 γ and RIM4 γ are key regulators of neuronal arborization. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *33*, 824–839.

Amos-Landgraf, J.M., Cottle, A., Plenge, R.M., Friez, M., Schwartz, C.E., Longshore, J., and Willard, H.F. (2006). X chromosome-inactivation patterns of 1,005 phenotypically unaffected females. *Am. J. Hum. Genet.* *79*, 493–499.

Andersen, I.M., Kaczmarek, J., McGrew, S.G., and Malow, B.A. (2008). Melatonin for Insomnia in Children With Autism Spectrum Disorders. *J. Child Neurol.* *23*, 482–485.

Anello, A., Reichenberg, A., Luo, X., Schmeidler, J., Hollander, E., Smith, C.J., Puleo, C.M., Kryzak, L.A., and Silverman, J.M. (2009). Brief Report: Parental Age and the Sex Ratio in Autism. *J. Autism Dev. Disord.* *39*, 1487–1492.

Angulo, M.A., Butler, M.G., and Cataletto, M.E. (2015). Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings. *J. Endocrinol. Invest.* *38*, 1249–1263.

Anney, R., Klei, L., Pinto, D., Regan, R., Conroy, J., Magalhaes, T.R., Correia, C., Abrahams, B.S., Sykes, N., Pagnamenta, A.T., et al. (2010). A genome-wide scan for common alleles affecting risk for autism. *Hum. Mol. Genet.* *19*, 4072–4082.

Anney, R., Klei, L., Pinto, D., Almeida, J., Bacchelli, E., Baird, G., Bolshakova, N., Bölte, S., Bolton, P.F., Bourgeron, T., et al. (2012). Individual common variants exert weak effects on the risk for autism spectrum disorders. *Hum. Mol. Genet.* *21*, 4781–4792.

Arking, D.E., Cutler, D.J., Brune, C.W., Teslovich, T.M., West, K., Ikeda, M., Rea, A., Guy, M., Lin, S., Cook, E.H., et al. (2008). A Common Genetic Variant in the Neurexin Superfamily Member CNTNAP2 Increases Familial Risk of Autism. *Am. J. Hum. Genet.* *82*, 160–164.

Árnason, E. (2003). Genetic heterogeneity of Icelanders. *Ann. Hum. Genet.* *67*, 5–16.

Asperger, H. (1944). Die „Autistischen Psychopathen“ im Kindesalter. *Arch. Für Psychiatr. Nervenkrankh.* *117*, 76–136.

Auyeung, B., Baron-Cohen, S., Ashwin, E., Knickmeyer, R., Taylor, K., and Hackett, G.

(2009). Fetal testosterone and autistic traits. *Br. J. Psychol.* *100*, 1–22.

Auyeung, B., Taylor, K., Hackett, G., and Baron-Cohen, S. (2010). Foetal testosterone and autistic traits in 18 to 24-month-old children. *Mol. Autism* *1*, 11.

Auyeung, B., Ahluwalia, J., Thomson, L., Taylor, K., Hackett, G., O'Donnell, K.J., and Baron-Cohen, S. (2012). Prenatal versus postnatal sex steroid hormone effects on autistic traits in children at 18 to 24 months of age. *Mol. Autism* *3*, 17.

Auyeung, B., Lombardo, M.V., and Baron-Cohen, S. (2013). Prenatal and postnatal hormone effects on the human brain and cognition. *Pflüg. Arch. - Eur. J. Physiol.* *465*, 557–571.

Bakkaloglu, B., O'Roak, B.J., Louvi, A., Gupta, A.R., Abelson, J.F., Morgan, T.M., Chawarska, K., Klin, A., Ercan-Sencicek, A.G., Stillman, A.A., et al. (2008). Molecular Cytogenetic Analysis and Resequencing of Contactin Associated Protein-Like 2 in Autism Spectrum Disorders. *Am. J. Hum. Genet.* *82*, 165–173.

Barnby, G., Abbott, A., Sykes, N., Morris, A., Weeks, D.E., Mott, R., Lamb, J., Bailey, A.J., and Monaco, A.P. (2005). Candidate-Gene Screening and Association Analysis at the Autism-Susceptibility Locus on Chromosome 16p: Evidence of Association at GRIN2A and ABAT. *Am. J. Hum. Genet.* *76*, 950–966.

Baron-Cohen, S., Allen, J., and Gillberg, C. (1992). Can autism be detected at 18 months? The needle, the haystack, and the CHAT. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* *161*, 839–843.

Baron-Cohen, S., Knickmeyer, R.C., and Belmonte, M.K. (2005). Sex differences in the brain: implications for explaining autism. *Science* *310*, 819–823.

Baron-Cohen, S., Lombardo, M.V., Auyeung, B., Ashwin, E., Chakrabarti, B., and Knickmeyer, R. (2011). Why Are Autism Spectrum Conditions More Prevalent in Males? *PLoS Biol.* *9*, e1001081.

Beggiato, A., Peyre, H., Maruani, A., Scheid, I., Rastam, M., Amsellem, F., Gillberg, C.I., Leboyer, M., Bourgeron, T., Gillberg, C., et al. (2017). Gender differences in autism spectrum disorders: Divergence among specific core symptoms. *Autism Res.* *10*, 680–689.

Benvenuto, A., Moavero, R., Alessandrelli, R., Manzi, B., and Curatolo, P. (2009). Syndromic autism: causes and pathogenetic pathways. *World J. Pediatr.* *5*, 169–176.

Berger, J., Dorninger, F., Forss-Petter, S., and Kunze, M. (2016). Peroxisomes in brain development and function. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* *1863*, 934–955.

Berkel, S., Marshall, C.R., Weiss, B., Howe, J., Roeth, R., Moog, U., Endris, V., Roberts, W., Szatmari, P., Pinto, D., et al. (2010). Mutations in the SHANK2 synaptic scaffolding gene in autism spectrum disorder and mental retardation. *Nat. Genet.* *42*, 489–491.

Berletch, J.B., Yang, F., Xu, J., Carrel, L., and Disteche, C.M. (2011). Genes that escape from X inactivation. *Hum. Genet.* *130*, 237–245.

Bhalla, K., Luo, Y., Buchan, T., Beachem, M.A., Guzauskas, G.F., Ladd, S., Bratcher, S.J., Schroer, R.J., Balsamo, J., DuPont, B.R., et al. (2008). Alterations in CDH15 and KIRREL3 in patients with mild to severe intellectual disability. *Am. J. Hum. Genet.* *83*, 703–713.

Bilder, D., Botts, E.L., Smith, K.R., Pimentel, R., Farley, M., Viskochil, J., McMahon, W.M., Block, H., Ritvo, E., Ritvo, R.-A., et al. (2013). Excess Mortality and Causes of Death in Autism Spectrum Disorders: A Follow up of the 1980s Utah/UCLA Autism Epidemiologic Study. *J. Autism Dev. Disord.* *43*, 1196–1204.

Binzer, S., Imrell, K., Binzer, M., Kyvik, K.O., Hillert, J., and Stenager, E. (2015). High inbreeding in the Faroe Islands does not appear to constitute a risk factor for multiple sclerosis. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* *21*, 996–1002.

Binzer, S., Stenager, E., Binzer, M., Kyvik, K.O., Hillert, J., and Imrell, K. (2016). Genetic analysis of the isolated Faroe Islands reveals SORCS3 as a potential multiple sclerosis

risk gene. *Mult. Scler. J.* 22, 733–740.

Bird, L. (2014). Angelman syndrome: review of clinical and molecular aspects. *Appl. Clin. Genet.* 93.

Bishop, D.V.M., Jacobs, P.A., Lachlan, K., Wellesley, D., Barnicoat, A., Boyd, P.A., Fryer, A., Middlemiss, P., Smithson, S., Metcalfe, K., et al. (2011). Autism, language and communication in children with sex chromosome trisomies. *Arch. Dis. Child.* 96, 954–959.

Bittles, A.H., Grant, J.C., Sullivan, S.G., and Hussain, R. (2002). Does inbreeding lead to decreased human fertility? *Ann. Hum. Biol.* 29, 111–130.

Bond, J., Roberts, E., Mochida, G.H., Hampshire, D.J., Scott, S., Askham, J.M., Springell, K., Mahadevan, M., Crow, Y.J., Markham, A.F., et al. (2002). ASPM is a major determinant of cerebral cortical size. *Nat. Genet.* 32, 316–320.

Bourgeron, T. (2015). From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nat. Rev. Neurosci.* 16, 551–563.

Bourgeron, T. (2016). Current knowledge on the genetics of autism and propositions for future research. *C. R. Biol.* 339, 300–307.

Brandler, W.M., Antaki, D., Gujral, M., Kleiber, M.L., Maile, M.S., Hong, O., Chapman, T.R., Tan, S., Tandon, P., Pang, T., et al. (2017). Paternally inherited noncoding structural variants contribute to autism. *BioRxiv* 102327.

Buchmayer, S., Johansson, S., Johansson, A., Hultman, C.M., Sparén, P., and Cnattingius, S. (2009). Can association between preterm birth and autism be explained by maternal or neonatal morbidity? *Pediatrics* 124, e817-825.

Bulik-Sullivan, B., Finucane, H.K., Anttila, V., Gusev, A., Day, F.R., Loh, P.-R., Duncan, L., Perry, J.R.B., Patterson, N., Robinson, E.B., et al. (2015). An Atlas of Genetic Correlations across Human Diseases and Traits. *Nat. Genet.* 47, 1236–1241.

Burbach, J.P.H., and van der Zwaag, B. (2009). Contact in the genetics of autism and schizophrenia. *Trends Neurosci.* 32, 69–72.

Burgess, N.K., Sweeten, T.L., McMahon, W.M., and Fujinami, R.S. (2006). Hyperserotoninemia and altered immunity in autism. *J. Autism Dev. Disord.* 36, 697–704.

Butler, M.G., Dasouki, M.J., Zhou, X.-P., Talebizadeh, Z., Brown, M., Takahashi, T.N., Miles, J.H., Wang, C.H., Stratton, R., Pilarski, R., et al. (2005). Subset of individuals with autism spectrum disorders and extreme macrocephaly associated with germline PTEN tumour suppressor gene mutations. *J. Med. Genet.* 42, 318–321.

C Yuen, R.K., Merico, D., Bookman, M., L Howe, J., Thiruvahindrapuram, B., Patel, R.V., Whitney, J., Deflaux, N., Bingham, J., Wang, Z., et al. (2017). Whole genome sequencing resource identifies 18 new candidate genes for autism spectrum disorder. *Nat. Neurosci.* 20, 602–611.

Campbell, C.D., and Eichler, E.E. (2013). Properties and rates of germline mutations in humans. *Trends Genet.* 29, 575–584.

Capone, G.T., Grados, M.A., Kaufmann, W.E., Bernad-Ripoll, S., and Jewell, A. (2005). Down syndrome and comorbid autism-spectrum disorder: Characterization using the aberrant behavior checklist. *Am. J. Med. Genet. A.* 134A, 373–380.

Carroll, L.S., and Owen, M.J. (2009). Genetic overlap between autism, schizophrenia and bipolar disorder. *Genome Med.* 1, 102.

Casey, J.P., Magalhaes, T., Conroy, J.M., Regan, R., Shah, N., Anney, R., Shields, D.C., Abrahams, B.S., Almeida, J., Bacchelli, E., et al. (2012). A novel approach of homozygous haplotype sharing identifies candidate genes in autism spectrum disorder. *Hum. Genet.* 131, 565–579.

Cazzola, M., May, A., Bergamaschi, G., Cerani, P., Rosti, V., and Bishop, D.F. (2000). Familial-skewed X-chromosome inactivation as a predisposing factor for late-onset X-linked sideroblastic anemia in carrier females. *Blood* 96, 4363–4365.

Chahrour, M.H., Yu, T.W., Lim, E.T., Ataman, B., Coulter, M.E., Hill, R.S., Stevens, C.R., Schubert, C.R., ARRA Autism Sequencing Collaboration, Greenberg, M.E., et al. (2012). Whole-Exome Sequencing and Homozygosity Analysis Implicate Depolarization-Regulated Neuronal Genes in Autism. *PLoS Genet.* 8, e1002635.

Chapman, E., Baron-Cohen, S., Auyeung, B., Knickmeyer, R., Taylor, K., and Hackett, G. (2006). Fetal testosterone and empathy: Evidence from the Empathy Quotient (EQ) and the “Reading the Mind in the Eyes” Test. *Soc. Neurosci.* 1, 135–148.

Chaste, P., Klei, L., Sanders, S.J., Hus, V., Murtha, M.T., Lowe, J.K., Willsey, A.J., Moreno-DeLuca, D., Yu, T.W., Fombonne, E., et al. (2015). A Genome-wide Association Study of Autism Using the Simons Simplex Collection: Does Reducing Phenotypic Heterogeneity in Autism Increase Genetic Homogeneity? *Biol. Psychiatry* 77, 775–784.

Chatterjee, N., Wheeler, B., Sampson, J., Hartge, P., Chanock, S.J., and Park, J.-H. (2013). Projecting the performance of risk prediction based on polygenic analyses of genome-wide association studies. *Nat. Genet.* 45, 400–405.

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

Cohen, I., Liu, X., Lewis, M., Chudley, A., Forster-Gibson, C., Gonzalez, M., Jenkins, E., Brown, W., and Holden, J. (2011). Autism severity is associated with child and maternal MAOA genotypes. *Clin. Genet.* 79, 355–362.

Cohen, I.L., Liu, X., Schutz, C., White, B.N., Jenkins, E.C., Brown, W.T., and Holden, J.J.A. (2003). Association of autism severity with a monoamine oxidase A functional polymorphism. *Clin. Genet.* 64, 190–197.

Coleman, M., Gillberg, C., and Gillberg, C. (2012). *The autisms* (New York: Oxford University Press).

Colvert, E., Tick, B., McEwen, F., Stewart, C., Curran, S.R., Woodhouse, E., Gillan, N., Hallett, V., Lietz, S., Garnett, T., et al. (2015). Heritability of Autism Spectrum Disorder in a UK Population-Based Twin Sample. *JAMA Psychiatry* 72, 415.

Connolly, J.J., Glessner, J.T., and Hakonarson, H. (2013). A Genome-Wide Association Study of Autism Incorporating Autism Diagnostic Interview-Revised, Autism Diagnostic Observation Schedule, and Social Responsiveness Scale: **Genome-Wide Association of ADI-R, ADOS, and SRS Items**. *Child Dev.* 84, 17–33.

Constantino, J.N. (2017). Taking stock of critical clues to understanding sex differences in the prevalence and recurrence of autism. *Autism* 21, 769–771.

Constantino, J.N., and Charman, T. (2012). Gender bias, female resilience, and the sex ratio in autism. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 51, 756–758.

Constantino, J.N., and Todd, R.D. (2000). Genetic structure of reciprocal social behavior. *Am. J. Psychiatry* 157, 2043–2045.

Cook, E.H., and Leventhal, B.L. (1996). The serotonin system in autism. *Curr. Opin. Pediatr.* 8, 348–354.

Cook, E.H., Courchesne, R., Lord, C., Cox, N.J., Yan, S., Lincoln, A., Haas, R., Courchesne, E., and Leventhal, B.L. (1997). Evidence of linkage between the serotonin transporter and autistic disorder. *Mol. Psychiatry* 2, 247–250.

Coon (2005). Possible association between autism and variants in the brain-expressed tryptophan hydroxylase gene (TPH2) - Coon - 2005 - American Journal of Medical

Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics - Wiley Online Library.

- Courchesne, E., Carper, R., and Akshoomoff, N. (2003). Evidence of brain overgrowth in the first year of life in autism. *JAMA* 290, 337–344.
- Courchesne, E., Pierce, K., Schumann, C.M., Redcay, E., Buckwalter, J.A., Kennedy, D.P., and Morgan, J. (2007). Mapping Early Brain Development in Autism. *Neuron* 56, 399–413.
- Courchesne, E., Campbell, K., and Solso, S. (2011). Brain growth across the life span in autism: age-specific changes in anatomical pathology. *Brain Res.* 1380, 138–145.
- Craig, A.M., and Kang, Y. (2007). Neurexin–neuroligin signaling in synapse development. *Curr. Opin. Neurobiol.* 17, 43–52.
- Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2013). Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet Lond. Engl.* 381, 1371–1379.
- Darnell, J.C., Van Driesche, S.J., Zhang, C., Hung, K.Y.S., Mele, A., Fraser, C.E., Stone, E.F., Chen, C., Fak, J.J., Chi, S.W., et al. (2011). FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism. *Cell* 146, 247–261.
- De Rubeis, S., He, X., Goldberg, A.P., Poultney, C.S., Samocha, K., Ercument Cicek, A., Kou, Y., Liu, L., Fromer, M., Walker, S., et al. (2014). Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature* 515, 209–215.
- Debes, F., Budtz-Jørgensen, E., Weihe, P., White, R.F., and Grandjean, P. (2006). Impact of prenatal methylmercury exposure on neurobehavioral function at age 14 years. *Neurotoxicol. Teratol.* 28, 363–375.
- Deo, A.J., Cahill, M.E., Li, S., Goldszer, I., Henteleff, R., VanLeeuwen, J.-E., Rafalovich, I., Gao, R., Stachowski, E.K., Sampson, A.R., et al. (2012). Increased Expression of Kalirin-9 in the Auditory Cortex of Schizophrenia Subjects: its Role in Dendritic Pathology. *Neurobiol. Dis.* 45, 796–803.
- Dong, S., Walker, M.F., Carriero, N.J., DiCola, M., Willsey, A.J., Ye, A.Y., Waqar, Z., Gonzalez, L.E., Overton, J.D., Frahm, S., et al. (2014). De novo insertions and deletions of predominantly paternal origin are associated with autism spectrum disorder. *Cell Rep.* 9, 16–23.
- Dudbridge, F. (2013). Power and Predictive Accuracy of Polygenic Risk Scores. *PLoS Genet.* 9, e1003348.
- Durand, C.M., Betancur, C., Boeckers, T.M., Bockmann, J., Chaste, P., Fauchereau, F., Nygren, G., Rastam, M., Gillberg, I.C., Anckarsäter, H., et al. (2007). Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat. Genet.* 39, 25–27.
- Ebberink, M.S., Kofster, J., Wanders, R.J.A., and Waterham, H.R. (2010). Spectrum of PEX6 mutations in Zellweger syndrome spectrum patients. *Hum. Mutat.* 31, E1058-1070.
- Ebrahimi-Fakhari, D., and Sahin, M. (2015). Autism and the synapse: emerging mechanisms and mechanism-based therapies. *Curr. Opin. Neurol.* 28, 91–102.
- Ehlers, S., and Gillberg, C. (1993). The epidemiology of Asperger syndrome. A total population study. *J. Child Psychol. Psychiatry* 34, 1327–1350.
- El-Hazmi, M.A., Al-Swailem, A.R., Warsy, A.S., Al-Swailem, A.M., Sulaimani, R., and Al-Meshari, A.A. (1995). Consanguinity among the Saudi Arabian population. *J. Med. Genet.* 32, 623–626.
- Ellefsen, A., Kampmann, H., Billstedt, E., Gillberg, I.C., and Gillberg, C. (2007). Autism in the Faroe Islands: an epidemiological study. *J. Autism Dev. Disord.* 37, 437–444.
- Fatemi, S.H., Halt, A.R., Stary, J.M., Kanodia, R., Schulz, S.C., and Realmuto, G.R. (2002). Glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa proteins are reduced in autistic parietal and

cerebellar cortices. *Biol. Psychiatry* 52, 805–810.

Fatemi, S.H., Reutiman, T.J., Folsom, T.D., Rooney, R.J., Patel, D.H., and Thuras, P.D. (2010). mRNA and Protein Levels for GABAA α 4, α 5, β 1 and GABABR1 Receptors are Altered in Brains from Subjects with Autism. *J. Autism Dev. Disord.* 40, 743–750.

Fernandez, B.A., Roberts, W., Chung, B., Weksberg, R., Meyn, S., Szatmari, P., Joseph-George, A.M., MacKay, S., Whitten, K., Noble, B., et al. (2010). Phenotypic spectrum associated with de novo and inherited deletions and duplications at 16p11.2 in individuals ascertained for diagnosis of autism spectrum disorder. *J. Med. Genet.* 47, 195–203.

Fernell, E., Eriksson, and Gillberg, C. (2013). Early diagnosis of autism and impact on prognosis: a narrative review. *Clin. Epidemiol.* 33.

Fombonne, E. (2005). The Changing Epidemiology of Autism. *J. Appl. Res. Intellect. Disabil.* 18, 281–294.

Frye, R.E., Casanova, M.F., Fatemi, S.H., Folsom, T.D., Reutiman, T.J., Brown, G.L., Edelson, S.M., Slattery, J.C., and Adams, J.B. (2016). Neuropathological Mechanisms of Seizures in Autism Spectrum Disorder. *Front. Neurosci.* 10.

Fu, W., O'Connor, T.D., Jun, G., Kang, H.M., Abecasis, G., Leal, S.M., Gabriel, S., Mark J. Rieder, Altshuler, D., Shendure, J., et al. (2013). Analysis of 6,515 exomes reveals the recent origin of most human protein-coding variants. *Nature* 493, 216–220.

Garstang, J., and Wallis, M. (2006). Randomized controlled trial of melatonin for children with autistic spectrum disorders and sleep problems. *Child Care Health Dev.* 32, 585–589.

Gaugler, T., Klei, L., Sanders, S.J., Bodea, C.A., Goldberg, A.P., Lee, A.B., Mahajan, M., Manaa, D., Pawitan, Y., Reichert, J., et al. (2014). Most genetic risk for autism resides with common variation. *Nat. Genet.* 46, 881–885.

Gauthier, J., Siddiqui, T.J., Huashan, P., Yokomaku, D., Hamdan, F.F., Champagne, N., Lapointe, M., Spiegelman, D., Noreau, A., Lafrenière, R.G., et al. (2011). Truncating mutations in NRXN2 and NRXN1 in autism spectrum disorders and schizophrenia. *Hum. Genet.* 130, 563–573.

Geisbrecht, B.V., Collins, C.S., Reuber, B.E., and Gould, S.J. (1998). Disruption of a PEX1–PEX6 interaction is the most common cause of the neurologic disorders Zellweger syndrome, neonatal adrenoleukodystrophy, and infantile Refsum disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 8630–8635.

Gentili, C., Morelli, S., and Boland, A.R. de (2004). 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ and parathyroid hormone (PTH) signaling in rat intestinal cells: activation of cytosolic PLA $_2$. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 89–90, 297–301.

Geschwind, D.H., and State, M.W. (2015). Gene hunting in autism spectrum disorder: on the path to precision medicine. *Lancet Neurol.* 14, 1109–1120.

Geschwind, D.H., Boone, K.B., Miller, B.L., and Swerdloff, R.S. (2000). Neurobehavioral phenotype of Klinefelter syndrome. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 6, 107–116.

Ghaziuddin, M. (2000). Autism in Down's syndrome: a family history study. *J. Intellect. Disabil. Res. JIDR* 44 (Pt 5), 562–566.

Giarelli, E., Wiggins, L.D., Rice, C.E., Levy, S.E., Kirby, R.S., Pinto-Martin, J., and Mandell, D. (2010). Sex differences in the evaluation and diagnosis of autism spectrum disorders among children. *Disabil. Health J.* 3, 107–116.

Gibson, J. (2006). Extended tracts of homozygosity in outbred human populations. *Hum. Mol. Genet.* 15, 789–795.

Gillberg, C. (2010). The ESSENCE in child psychiatry: Early Symptomatic Syndromes Eliciting Neurodevelopmental Clinical Examinations. *Res. Dev. Disabil.* 31, 1543–1551.

Gillberg, C., and Wing, L. (1999). Autism: not an extremely rare disorder. *Acta Psychiatr. Scand.* 99, 399–406.

Gillberg, C., Gillberg, I.C., Thompson, L., Biskupsto, R., and Billstedt, E. (2015). Extreme (“pathological”) demand avoidance in autism: a general population study in the Faroe Islands. *Eur. Child Adolesc. Psychiatry* 24, 979–984.

Gilman, S.R., Iossifov, I., Levy, D., Ronemus, M., Wigler, M., and Vitkup, D. (2011). Rare De Novo Variants Associated with Autism Implicate a Large Functional Network of Genes Involved in Formation and Function of Synapses. *Neuron* 70, 898–907.

Girirajan, S., Rosenfeld, J.A., Coe, B.P., Parikh, S., Friedman, N., Goldstein, A., Filipink, R.A., McConnell, J.S., Angle, B., Meschino, W.S., et al. (2012). Phenotypic Heterogeneity of Genomic Disorders and Rare Copy-Number Variants. *N. Engl. J. Med.* 367, 1321–1331.

Glessner, J.T., Wang, K., Cai, G., Korvatska, O., Kim, C.E., Wood, S., Zhang, H., Estes, A., Brune, C.W., Bradfield, J.P., et al. (2009). Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes. *Nature* 459, 569–573.

Goldmann, J.M., Wong, W.S.W., Pinelli, M., Farrah, T., Bodian, D., Stittrich, A.B., Glusman, G., Vissers, L.E.L.M., Hoischen, A., Roach, J.C., et al. (2016). Parent-of-origin-specific signatures of de novo mutations. *Nat. Genet.* 48, 935–939.

Gong, X., Bacchelli, E., Blasi, F., Toma, C., Betancur, C., Chaste, P., Delorme, R., Durand, C., Fauchereau, F., Botros, H.G., et al. (2008). Analysis of X chromosome inactivation in autism spectrum disorders. *Am. J. Med. Genet.* 147B, 830–835.

de Graaf, G., Buckley, F., and Skotko, B.G. (2015). Estimates of the live births, natural losses, and elective terminations with Down syndrome in the United States. *Am. J. Med. Genet. A.* 167, 756–767.

Graf, E.R., Zhang, X., Jin, S.-X., Linhoff, M.W., and Craig, A.M. (2004). Neurexins induce differentiation of GABA and glutamate postsynaptic specializations via neuroligins. *Cell* 119, 1013–1026.

Grandjean, P., Weihe, P., White, R.F., Debes, F., Araki, S., Yokoyama, K., Murata, K., SØRENSEN, N., Dahl, R., and JØRGENSEN, P.J. (1997). Cognitive Deficit in 7-Year-Old Children with Prenatal Exposure to Methylmercury. *Neurotoxicol. Teratol.* 19, 417–428.

Grandjean, P., White, R.F., Weihe, P., and Jørgensen, P.J. (2003). Neurotoxic Risk Caused by Stable and Variable Exposure to Methylmercury From Seafood. *Ambul. Pediatr.* 3, 18–23.

Gregersen, N.O., Lescai, F., Liang, J., Li, Q., Als, T., Buttenschøn, H.N., Hedemand, A., Biskopstø, M., Wang, J., Wang, A.G., et al. (2016). Whole-exome sequencing implicates *DGKH* as a risk gene for panic disorder in the Faroese population. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 171, 1013–1022.

Gregory, S.G., Connelly, J.J., Towers, A.J., Johnson, J., Biscocho, D., Markunas, C.A., Lintas, C., Abramson, R.K., Wright, H.H., Ellis, P., et al. (2009). Genomic and epigenetic evidence for oxytocin receptor deficiency in autism. *BMC Med.* 7.

Gressens, P., Baes, M., Leroux, P., Lombet, A., Van Veldhoven, P., Janssen, A., Vamecq, J., Marret, S., and Evrard, P. (2000). Neuronal migration disorder in Zellweger mice is secondary to glutamate receptor dysfunction. *Ann. Neurol.* 48, 336–343.

Grove, J., Ripke, S., Als, T.D., Mattheisen, M., Walters, R., Won, H., Pallesen, J., Agerbo, E., Andreassen, O.A., and Anney, R. (2017). Common risk variants identified in autism spectrum disorder. *BioRxiv* 224774.

Gudmundsson, J., Sulem, P., Gudbjartsson, D.F., Masson, G., Agnarsson, B.A., Benediktsdottir, K.R., Sigurdsson, A., Magnusson, O.T., Gudjonsson, S.A., Magnusdottir, D.N., et al. (2012). A study based on whole-genome sequencing yields a rare variant at 8q24 associated with prostate cancer. *Nat. Genet.* 44, 1326–1329.

Guerin, A., Stavropoulos, D.J., Diab, Y., Chénier, S., Christensen, H., Kahr, W.H.A., Babul-Hirji, R., and Chitayat, D. (2012). Interstitial deletion of 11q-implicating the KIRREL3 gene in the neurocognitive delay associated with Jacobsen syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* 158A, 2551–2556.

Hack, M., Taylor, H.G., Schluchter, M., Andreias, L., Drotar, D., and Klein, N. (2009). Behavioral Outcomes of Extremely Low Birth Weight Children at Age 8 Years. *J. Dev. Behav. Pediatr.* JDBP 30, 122–130.

Hamdan, F.F., Daoud, H., Piton, A., Gauthier, J., Dobrzeniecka, S., Krebs, M.-O., Joobar, R., Lacaille, J.-C., Nadeau, A., Milunsky, J.M., et al. (2011). De novo SYNGAP1 mutations in nonsyndromic intellectual disability and autism. *Biol. Psychiatry* 69, 898–901.

Harrison, P.J., and Tunbridge, E.M. (2008). Catechol-O-methyltransferase (COMT): a gene contributing to sex differences in brain function, and to sexual dimorphism in the predisposition to psychiatric disorders. *Neuropsychopharmacology* 33, 3037.

Hazlett, H.C., Poe, M., Gerig, G., Smith, R.G., Provenzale, J., Ross, A., Gilmore, J., and Piven, J. (2005). Magnetic resonance imaging and head circumference study of brain size in autism: birth through age 2 years. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 1366–1376.

He, X., Sanders, S.J., Liu, L., De Rubeis, S., Lim, E.T., Sutcliffe, J.S., Schellenberg, G.D., Gibbs, R.A., Daly, M.J., Buxbaum, J.D., et al. (2013). Integrated Model of De Novo and Inherited Genetic Variants Yields Greater Power to Identify Risk Genes. *PLoS Genet.* 9, e1003671.

Head, A.M., McGillivray, J.A., and Stokes, M.A. (2014). Gender differences in emotionality and sociability in children with autism spectrum disorders. *Mol. Autism* 5, 19.

Helgason, A., Nicholson, G., Stefansson, K., and Donnelly, P. (2003). A reassessment of genetic diversity in Icelanders: strong evidence from multiple loci for relative homogeneity caused by genetic drift. *Ann. Hum. Genet.* 67, 281–297.

Helgason, A., Pálsson, S., Gudbjartsson, D.F., Kristjánsson, T., and Stefánsson, K. (2008). An association between the kinship and fertility of human couples. *Science* 319, 813–816.

Hemmings, G.P., Wei, J., and Lee, K.-H. (1998). Is the cPLA2 gene associated with schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 3, 480.

Herman, G.E., Butter, E., Enrile, B., Pastore, M., Prior, T.W., and Sommer, A. (2007). Increasing knowledge of PTEN germline mutations: Two additional patients with autism and macrocephaly. *Am. J. Med. Genet. A.* 143A, 589–593.

Hjortshøj, T.D., Gronskov, K., Brøndum-Nielsen, K., and Rosenberg, T. (2009). A novel founder BBS1 mutation explains a unique high prevalence of Bardet-Biedl syndrome in the Faroe Islands. *Br. J. Ophthalmol.* 93, 409–413.

Holm, H., Gudbjartsson, D.F., Sulem, P., Masson, G., Helgadóttir, H.T., Zanon, C., Magnusson, O.T., Helgason, A., Saemundsdóttir, J., Gylfason, A., et al. (2011). A rare variant in MYH6 is associated with high risk of sick sinus syndrome. *Nat. Genet.* 43, 316–320.

Huguet, G., Ey, E., and Bourgeron, T. (2013). The Genetic Landscapes of Autism Spectrum Disorders. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 14, 191–213.

Inder, T.E., Warfield, S.K., Wang, H., Hüppi, P.S., and Volpe, J.J. (2005). Abnormal cerebral structure is present at term in premature infants. *Pediatrics* 115, 286–294.

Iossifov, I., Ronemus, M., Levy, D., Wang, Z., Hakker, I., Rosenbaum, J., Yamrom, B., Lee, Y.-H., Narzisi, G., Leotta, A., et al. (2012). De novo gene disruptions in children on the autistic spectrum. *Neuron* 74, 285–299.

Iossifov, I., O’Roak, B.J., Sanders, S.J., Ronemus, M., Krumm, N., Levy, D., Stessman, H.A., Witherspoon, K.T., Vives, L., Patterson, K.E., et al. (2014). The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature* 515, 216–221.

Jacquemont, S., Coe, B.P., Hersch, M., Duyzend, M.H., Krumm, N., Bergmann, S., Beckmann, J.S., Rosenfeld, J.A., and Eichler, E.E. (2014). A Higher Mutational Burden in Females Supports a “Female Protective Model” in Neurodevelopmental Disorders. *Am. J. Hum. Genet.* *94*, 415–425.

Jamain, S. (2002). Linkage and association of the glutamate receptor 6 gene with autism. *Publ. Online* 18 March 2002 Doi101038sjmp4000979 7.

Jamain, S., Betancur, C., Quach, H., Philippe, A., Fellous, M., Giros, B., Gillberg, C., Leboyer, M., and Bourgeron, T. (2002). Linkage and association of the glutamate receptor 6 gene with autism. *Mol Psychiatry* *7*, 302–310.

Jamain, S., Quach, H., Betancur, C., Råstam, M., Colineaux, C., Gillberg, I.C., Soderstrom, H., Giros, B., Leboyer, M., Gillberg, C., et al. (2003). Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nat. Genet.* *34*, 27–29.

James, S.J., Shpyleva, S., Melnyk, S., Pavliv, O., and Pogribny, I.P. (2013). Complex epigenetic regulation of Engrailed-2 (EN-2) homeobox gene in the autism cerebellum. *Transl. Psychiatry* *3*, e232.

Johnson, S., Hollis, C., Kochhar, P., Hennessy, E., Wolke, D., and Marlow, N. (2010). Autism spectrum disorders in extremely preterm children. *J. Pediatr.* *156*, 525-531.e2.

Jonsson, T., Atwal, J.K., Steinberg, S., Snaedal, J., Jonsson, P.V., Bjornsson, S., Stefansson, H., Sulem, P., Gudbjartsson, D., Maloney, J., et al. (2012). A mutation in APP protects against Alzheimer’s disease and age-related cognitive decline. *Nature* *488*, 96–99.

Jorgensen, T.H., Degn, B., Wang, A.G., Vang, M., Gurling, H., Kalsi, G., McQuillin, A., Kruse, T.A., Mors, O., and Ewald, H. (2002). Linkage disequilibrium and demographic history of the isolated population of the Faroe Islands. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* *10*, 381–387.

Joseph, R.M., O’Shea, T.M., Allred, E.N., Heeren, T., Hirtz, D., Jara, H., Leviton, A., Kuban, K.C.K., and Investigators, for the E.S. (2016). Neurocognitive and Academic Outcomes at Age 10 Years of Extremely Preterm Newborns. *Pediatrics* peds.2015-4343.

Kanner, L. (1968). Autistic disturbances of affective contact. *Acta Paedopsychiatr.* *35*, 100–136.

Kapellou, O., Counsell, S.J., Kennea, N., Dyet, L., Saeed, N., Stark, J., Maalouf, E., Duggan, P., Ajayi-Obe, M., Hajnal, J., et al. (2006). Abnormal Cortical Development after Premature Birth Shown by Altered Allometric Scaling of Brain Growth. *PLoS Med.* *3*.

Kelleher, R.J., and Bear, M.F. (2008). The Autistic Neuron: Troubled Translation? *Cell* *135*, 401–406.

Kielinen, M., Linna, S.-L., and Moilanen, I. (2000). Autism in northern Finland. *Eur. Child Adolesc. Psychiatry* *9*, 162–167.

Kim, H.-G., Kishikawa, S., Higgins, A.W., Seong, I.-S., Donovan, D.J., Shen, Y., Lally, E., Weiss, L.A., Najm, J., Kutsche, K., et al. (2008). Disruption of Neurexin 1 Associated with Autism Spectrum Disorder. *Am. J. Hum. Genet.* *82*, 199–207.

Klann, E., and Dever, T.E. (2004). Biochemical mechanisms for translational regulation in synaptic plasticity. *Nat. Rev. Neurosci.* *5*, 931–942.

Klei, L., Sanders, S.J., Murtha, M.T., Hus, V., Lowe, J.K., Willsey, A.J., Moreno-De-Luca, D., Timothy, W.Y., Fombonne, E., Geschwind, D., et al. (2012). Common genetic variants, acting additively, are a major source of risk for autism. *Mol. Autism* *3*, 9.

Kočovská, E., Biskupstø, R., Carina Gillberg, I., Ellefsen, A., Kampmann, H., Stórá, T., Billstedt, E., and Gillberg, C. (2012). The rising prevalence of autism: a prospective longitudinal study in the Faroe Islands. *J. Autism Dev. Disord.* *42*, 1959–1966.

Kočovská, E., Billstedt, E., Ellefsen, A., Kampmann, H., Gillberg, I.C., Biskupstø, R., Andorsdóttir, G., Stóra, T., Minnis, H., and Gillberg, C. (2013). Autism in the Faroe Islands: diagnostic stability from childhood to early adult life. *ScientificWorldJournal* *2013*,

592371.

- Kočovská, E., Andorsdóttir, G., Weihe, P., Halling, J., Fernell, E., Stóra, T., Biskupstø, R., Gillberg, I.C., Shea, R., Billstedt, E., et al. (2014). Vitamin D in the General Population of Young Adults with Autism in the Faroe Islands. *J. Autism Dev. Disord.* *44*, 2996–3005.
- Kohane, I.S., McMurry, A., Weber, G., MacFadden, D., Rappaport, L., Kunkel, L., Bickel, J., Wattanasin, N., Spence, S., Murphy, S., et al. (2012). The Co-Morbidity Burden of Children and Young Adults with Autism Spectrum Disorders. *PLoS ONE* *7*, e33224.
- Kong, A., Frigge, M.L., Masson, G., Besenbacher, S., Sulem, P., Magnusson, G., Gudjonsson, S.A., Sigurdsson, A., Jonasdóttir, A., Jonasdóttir, A., et al. (2012). Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature* *488*, 471–475.
- van Kooten, I.A.J., Palmén, S.J.M.C., von Cappeln, P., Steinbusch, H.W.M., Korr, H., Heinsen, H., Hof, P.R., van Engeland, H., and Schmitz, C. (2008). Neurons in the fusiform gyrus are fewer and smaller in autism. *Brain J. Neurol.* *131*, 987–999.
- Krause, C., Rosewich, H., Thanos, M., and Gärtner, J. (2006). Identification of novel mutations in PEX2, PEX6, PEX10, PEX12, and PEX13 in Zellweger spectrum patients. *Hum. Mutat.* *27*, 1157–1157.
- Kreiser, N.L., and White, S.W. (2014). ASD in Females: Are We Overstating the Gender Difference in Diagnosis? *Clin. Child Fam. Psychol. Rev.* *17*, 67–84.
- Krumm, N., O'Roak, B.J., Shendure, J., and Eichler, E.E. (2014). A de novo convergence of autism genetics and molecular neuroscience. *Trends Neurosci.* *37*, 95–105.
- Krumm, N., Turner, T.N., Baker, C., Vives, L., Mohajeri, K., Witherspoon, K., Raja, A., Coe, B.P., Stessman, H.A., He, Z.-X., et al. (2015). Excess of rare, inherited truncating mutations in autism. *Nat. Genet.* *47*, 582–588.
- Kuban, K.C.K., O'Shea, T.M., Allred, E.N., Tager-Flusberg, H., Goldstein, D.J., and Leviton, A. (2009). Positive Screening on the Modified-Checklist for Autism in Toddlers (M-CHAT) in Extremely Low Gestational Age Newborns. *J. Pediatr.* *154*, 535-540.e1.
- Kumar, R.A., Sudi, J., Babatz, T.D., Brune, C.W., Oswald, D., Yen, M., Nowak, N.J., Cook, E.H., Christian, S.L., and Dobyns, W.B. (2010). A de novo 1p34.2 microdeletion identifies the synaptic vesicle gene RIMS3 as a novel candidate for autism. *J. Med. Genet.* *47*, 81–90.
- Kundakovic, M., Gudsnuk, K., Herbstman, J.B., Tang, D., Perera, F.P., and Champagne, F.A. (2015). DNA methylation of BDNF as a biomarker of early-life adversity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *112*, 6807–6813.
- Kurki, M.I., Gaál, E.I., Kettunen, J., Lappalainen, T., Menelaou, A., Anttila, V., van 't Hof, F.N.G., von und zu Fraunberg, M., Helisalmi, S., Hiltunen, M., et al. (2014). High Risk Population Isolate Reveals Low Frequency Variants Predisposing to Intracranial Aneurysms. *PLoS Genet.* *10*, e1004134.
- Kushima, I., Nakamura, Y., Aleksic, B., Ikeda, M., Ito, Y., Shiino, T., Okochi, T., Fukuo, Y., Ujike, H., Suzuki, M., et al. (2012). Resequencing and association analysis of the KALRN and EPHB1 genes and their contribution to schizophrenia susceptibility. *Schizophr. Bull.* *38*, 552–560.
- Ladd-Acosta, C., Hansen, K.D., Briem, E., Fallin, M.D., Kaufmann, W.E., and Feinberg, A.P. (2014). Common DNA methylation alterations in multiple brain regions in autism. *Mol. Psychiatry* *19*, 862–871.
- Lampi, K.M., Lehtonen, L., Tran, P.L., Suominen, A., Lehti, V., Banerjee, P.N., Gissler, M., Brown, A.S., and Sourander, A. (2012). Risk of autism spectrum disorders in low birth weight and small for gestational age infants. *J. Pediatr.* *161*, 830–836.
- Lange, N., Travers, B.G., Bigler, E.D., Prigge, M.B.D., Froehlich, A.L., Nielsen, J.A., Cariello, A.N., Zielinski, B.A., Anderson, J.S., Fletcher, P.T., et al. (2015). Longitudinal Volumetric Brain Changes in Autism Spectrum Disorder Ages 6–35 Years. *Autism Res. Off. J. Int. Soc.*

Autism Res. 8, 82–93.

Lanz, T.A., Guilmette, E., Gosink, M.M., Fischer, J.E., Fitzgerald, L.W., Stephenson, D.T., and Pletcher, M.T. (2013). Transcriptomic analysis of genetically defined autism candidate genes reveals common mechanisms of action. *Mol. Autism* 4, 45.

Laumonnier, F., Bonnet-Brilhault, F., Gomot, M., Blanc, R., David, A., Moizard, M.-P., Raynaud, M., Ronce, N., Lemonnier, E., Calvas, P., et al. (2004). X-Linked Mental Retardation and Autism Are Associated with a Mutation in the NLGN4 Gene, a Member of the Neuroligin Family. *Am. J. Hum. Genet.* 74, 552–557.

Laumonnier, F., Shoubbridge, C., Antar, C., Nguyen, L.S., Van Esch, H., Kleefstra, T., Briault, S., Fryns, J.P., Hamel, B., Chelly, J., et al. (2010). Mutations of the UPF3B gene, which encodes a protein widely expressed in neurons, are associated with nonspecific mental retardation with or without autism. *Mol. Psychiatry* 15, 767.

Lauritsen, M.B., Als, T.D., Dahl, H.A., Flint, T.J., Wang, A.G., Vang, M., Kruse, T.A., Ewald, H., and Mors, O. (2006). A genome-wide search for alleles and haplotypes associated with autism and related pervasive developmental disorders on the Faroe Islands. *Mol. Psychiatry* 11, 37–46.

Law, M.H., Cotton, R.G.H., and Berger, G.E. (2006). The role of phospholipases A2 in schizophrenia (Nature Publishing Group).

Leblond, C.S., Heinrich, J., Delorme, R., Proepper, C., Betancur, C., Huguet, G., Konyukh, M., Chaste, P., Ey, E., Rastam, M., et al. (2012). Genetic and Functional Analyses of SHANK2 Mutations Suggest a Multiple Hit Model of Autism Spectrum Disorders. *PLoS Genet.* 8, e1002521.

Leblond, C.S., Nava, C., Polge, A., Gauthier, J., Huguet, G., Lumbroso, S., Giuliano, F., Stordeur, C., Depienne, C., Mouzat, K., et al. (2014). Meta-analysis of SHANK Mutations in Autism Spectrum Disorders: A Gradient of Severity in Cognitive Impairments. *PLoS Genet.* 10, e1004580.

Lee, S.H., Ripke, S., Neale, B.M., Faraone, S.V., Purcell, S.M., Perlis, R.H., Mowry, B.J., Thapar, A., Goddard, M.E., Witte, J.S., et al. (2013). Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. *Nat. Genet.* 45, 984–994.

Leekam, S., Libby, S., Wing, L., Gould, J., and Gillberg, C. (2000). Comparison of ICD-10 and Gillberg's Criteria for Asperger Syndrome. *Autism* 4, 11–28.

Lemonnier, E., Villeneuve, N., Sonie, S., Serret, S., Rosier, A., Roue, M., Brosset, P., Viellard, M., Bernoux, D., Rondeau, S., et al. (2017). Effects of bumetanide on neurobehavioral function in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Transl. Psychiatry* 7, e1056.

Lencz, T., Lambert, C., DeRosse, P., Burdick, K.E., Morgan, T.V., Kane, J.M., Kucherlapati, R., and Malhotra, A.K. (2007). Runs of homozygosity reveal highly penetrant recessive loci in schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 19942–19947.

Lencz, T., Guha, S., Liu, C., Rosenfeld, J., Mukherjee, S., DeRosse, P., John, M., Cheng, L., Zhang, C., Badner, J.A., et al. (2013). Genome-wide association study implicates NDST3 in schizophrenia and bipolar disorder. *Nat. Commun.* 4.

Lesch, K.-P., Timmesfeld, N., Renner, T.J., Halperin, R., Röser, C., Nguyen, T.T., Craig, D.W., Romanos, J., Heine, M., Meyer, J., et al. (2008). Molecular genetics of adult ADHD: converging evidence from genome-wide association and extended pedigree linkage studies. *J. Neural Transm. Vienna Austria 1996* 115, 1573–1585.

Leung, A.K.C., and Robson, W.L.M. (2007). Tuberous Sclerosis Complex: A Review. *J. Pediatr. Health Care* 21, 108–114.

Levy, D., Ronemus, M., Yamrom, B., Lee, Y., Leotta, A., Kendall, J., Marks, S., Lakshmi, B., Pai, D., Ye, K., et al. (2011). Rare De Novo and Transmitted Copy-Number Variation in

Autistic Spectrum Disorders. *Neuron* 70, 886–897.

Li, X., Hu, Z., He, Y., Xiong, Z., Long, Z., Peng, Y., Bu, F., Ling, J., Xun, G., Mo, X., et al. (2010). Association analysis of CNTNAP2 polymorphisms with autism in the Chinese Han population. *Psychiatr. Genet.* 20, 113–117.

Lim, E.T., Raychaudhuri, S., Sanders, S.J., Stevens, C., Sabo, A., MacArthur, D.G., Neale, B.M., Kirby, A., Ruderfer, D.M., Fromer, M., et al. (2013). Rare Complete Knockouts in Humans: Population Distribution and Significant Role in Autism Spectrum Disorders. *Neuron* 77, 235–242.

Limperopoulos, C. (2009). Autism Spectrum Disorders in Survivors of Extreme Prematurity. *Clin. Perinatol.* 36, 791–805.

Limperopoulos, C., Bassan, H., Sullivan, N.R., Soul, J.S., Robertson, R.L., Moore, M., Ringer, S.A., Volpe, J.J., and du Plessis, A.J. (2008). Positive screening for autism in ex-preterm infants: prevalence and risk factors. *Pediatrics* 121, 758–765.

Lord, C., Rutter, M., and Le Couteur, A. (1994). Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J. Autism Dev. Disord.* 24, 659–685.

Lord, C., Risi, S., Lambrecht, L., Cook, E.H., Leventhal, B.L., DiLavore, P.C., Pickles, A., and Rutter, M. (2000). The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J. Autism Dev. Disord.* 30, 205–223.

Lowenthal, R., Paula, C.S., Schwartzman, J.S., Brunoni, D., and Mercadante, M.T. (2007). Prevalence of Pervasive Developmental Disorder in Down’s Syndrome. *J. Autism Dev. Disord.* 37, 1394–1395.

Lyst, M.J., and Bird, A. (2015). Rett syndrome: a complex disorder with simple roots. *Nat. Rev. Genet.* 16, 261–275.

M Plenge, R., A Stevenson, R., A Lubs, H., Schwartz, C., and F Willard, H. (2002). Skewed X-Chromosome Inactivation Is a Common Feature of X-Linked Mental Retardation Disorders. *Am. J. Hum. Genet.* 71, 168–173.

M. Wadell, P., J. Hagerman, R., and R. Hessel, D. (2013). Fragile X Syndrome: Psychiatric Manifestations, Assessment and Emerging Therapies. *Curr. Psychiatry Rev.* 9, 53–58.

Mahoney, A.D., Minter, B., Burch, K., and Stapel-Wax, J. (2013). Autism spectrum disorders and prematurity: a review across gestational age subgroups. *Adv. Neonatal Care Off. J. Natl. Assoc. Neonatal Nurses* 13, 247–251.

Mamidala, M.P., Kalikiri, M.K., Praveen Kumar, P.T.V., Rajesh, N., Vallamkonda, O.R., and Rajesh, V. (2015). Consanguinity in India and Its Association With Autism Spectrum Disorder: Consanguinity and autism spectrum disorder. *Autism Res.* 8, 224–228.

Mannion, A., and Leader, G. (2013). Comorbidity in autism spectrum disorder: A literature review. *Res. Autism Spectr. Disord.* 7, 1595–1616.

Mannion, A., Brahm, M., and Leader, G. (2014). Comorbid Psychopathology in Autism Spectrum Disorder. *Rev. J. Autism Dev. Disord.* 1, 124–134.

Mansour, R., Dovi, A.T., Lane, D.M., Loveland, K.A., and Pearson, D.A. (2017). ADHD severity as it relates to comorbid psychiatric symptomatology in children with Autism Spectrum Disorders (ASD). *Res. Dev. Disabil.* 60, 52–64.

Marco, E.J., and Skuse, D.H. (2006). Autism-lessons from the X chromosome: Table 1. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* 1, 183–193.

Marshall, C.R., Noor, A., Vincent, J.B., Lionel, A.C., Feuk, L., Skaug, J., Shago, M., Moessner, R., Pinto, D., Ren, Y., et al. (2008). Structural Variation of Chromosomes in Autism Spectrum Disorder. *Am. J. Hum. Genet.* 82, 477–488.

Martin, E.A., Muralidhar, S., Wang, Z., Cervantes, D.C., Basu, R., Taylor, M.R., Hunter, J.,

Cutforth, T., Wilke, S.A., Ghosh, A., et al. (2015a). The intellectual disability gene *Kirrel3* regulates target-specific mossy fiber synapse development in the hippocampus. *ELife* 4, e09395.

Martin, E.A., Muralidhar, S., Wang, Z., Cervantes, D.C., Basu, R., Taylor, M.R., Hunter, J., Cutforth, T., Wilke, S.A., Ghosh, A., et al. (2015b). The intellectual disability gene *Kirrel3* regulates target-specific mossy fiber synapse development in the hippocampus. *ELife* 4.

Martin'eu, J., Héroult, J., Petit, E., Guérin, P., Hameury, L., Perrot, A., Mallet, J., Sauvage, D., Lelord, G., and Müh, J.-P. (1994). Catecholaminergic Metabolism and Autism. *Dev. Med. Child Neurol.* 36, 688–697.

Marui, T., Hashimoto, O., Nanba, E., Kato, C., Tochigi, M., Umekage, T., Ishijima, M., Kohda, K., Kato, N., and Sasaki, T. (2004). Association between the neurofibromatosis-1 (*NF1*) locus and autism in the Japanese population. *Am. J. Med. Genet. Part B Neuropsychiatr. Genet. Off. Publ. Int. Soc. Psychiatr. Genet.* 131B, 43–47.

Matson, J.L., and Kozlowski, A.M. (2011). The increasing prevalence of autism spectrum disorders. *Res. Autism Spectr. Disord.* 5, 418–425.

Matson, J.L., Wilkins, J., and Fodstad, J.C. (2011). The Validity of the Baby and Infant Screen for Children with aUtism Traits: Part 1 (BISCUIT: Part 1). *J. Autism Dev. Disord.* 41, 1139–1146.

Mayer, A., Lahr, G., Swaab, D.F., Pilgrim, C., and Reisert, I. (1998). The Y-chromosomal genes *SRY* and *ZFY* are transcribed in adult human brain. *Neurogenetics* 1, 281–288.

Mazerik, J.N., Mikkilineni, H., Kuppusamy, V.A., Steinhour, E., Peltz, A., Marsh, C.B., Kuppusamy, P., and Parinandi, N.L. (2007). Mercury Activates Phospholipase A₂ and Induces Formation of Arachidonic Acid Metabolites in Vascular Endothelial Cells. *Toxicol. Mech. Methods* 17, 541–557.

McCarthy, M. (2014). Autism diagnoses in the US rise by 30%, CDC reports. *BMJ* 348, g2520.

McCarthy, M.I., Abecasis, G.R., Cardon, L.R., Goldstein, D.B., Little, J., Ioannidis, J.P.A., and Hirschhorn, J.N. (2008). Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nat. Rev. Genet.* 9, 356–369.

McDonald-McGinn, D.M., and Sullivan, K.E. (2011). Chromosome 22q11.2 Deletion Syndrome (DiGeorge Syndrome/Velocardiofacial Syndrome): *Medicine (Baltimore)* 90, 1–18.

Melke, J., Goubran Botros, H., Chaste, P., Betancur, C., Nygren, G., Anckarsater, H., Rastam, M., Stahlberg, O., Gillberg, I.C., Delorme, R., et al. (2008). Abnormal melatonin synthesis in autism spectrum disorders. *Mol Psychiatry* 13, 90–98.

Michaelson, J.J., Shi, Y., Gujral, M., Zheng, H., Malhotra, D., Jin, X., Jian, M., Liu, G., Greer, D., Bhandari, A., et al. (2012). Whole-Genome Sequencing in Autism Identifies Hot Spots for De Novo Germline Mutation. *Cell* 151, 1431–1442.

Miles, J.H., Takahashi, T.N., Bagby, S., Sahota, P.K., Vaslow, D.F., Wang, C.H., Hillman, R.E., and Farmer, J.E. (2005). Essential versus complex autism: definition of fundamental prognostic subtypes. *Am. J. Med. Genet. A.* 135, 171–180.

Milsted, A., Serova, L., Sabban, E.L., Dunphy, G., Turner, M.E., and Ely, D.L. (2004). Regulation of tyrosine hydroxylase gene transcription by *Sry*. *Neurosci. Lett.* 369, 203–207.

Molloy, C.A., Murray, D.S., Kinsman, A., Castillo, H., Mitchell, T., Hickey, F.J., and Patterson, B. (2009). Differences in the clinical presentation of Trisomy 21 with and without autism. *J. Intellect. Disabil. Res. JIDR* 53, 143–151.

Moltke, I., Grarup, N., Jørgensen, M.E., Bjerregaard, P., Treebak, J.T., Fumagalli, M., Korneliusen, T.S., Andersen, M.A., Nielsen, T.S., Krarup, N.T., et al. (2014). A common

Greenlandic TBC1D4 variant confers muscle insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 512, 190–193.

Morrow, E.M., Yoo, S.-Y., Flavell, S.W., Kim, T.-K., Lin, Y., Hill, R.S., Mukaddes, N.M., Balkhy, S., Gascon, G., Hashmi, A., et al. (2008). Identifying Autism Loci and Genes by Tracing Recent Shared Ancestry. *Science* 321, 218–223.

Moss, J., and Howlin, P. (2009). Autism spectrum disorders in genetic syndromes: implications for diagnosis, intervention and understanding the wider autism spectrum disorder population. *J. Intellect. Disabil. Res.* 53, 852–873.

Mouridsen, S.E., Brønnum-Hansen, H., Rich, B., and Isager, T. (2008). Mortality and causes of death in autism spectrum disorders: An update. *Autism* 12, 403–414.

Muers, M.R., Sharpe, J.A., Garrick, D., Sloane-Stanley, J., Nolan, P.M., Hacker, T., Wood, W.G., Higgs, D.R., and Gibbons, R.J. (2007). Defining the Cause of Skewed X-Chromosome Inactivation in X-Linked Mental Retardation by Use of a Mouse Model. *Am. J. Hum. Genet.* 80, 1138–1149.

Munesue, T., Ono, Y., Mutoh, K., Shimoda, K., Nakatani, H., and Kikuchi, M. (2008). High prevalence of bipolar disorder comorbidity in adolescents and young adults with high-functioning autism spectrum disorder: A preliminary study of 44 outpatients. *J. Affect. Disord.* 111, 170–175.

Murray, P.S., Kirkwood, C.M., Gray, M.C., Ikonovic, M.D., Paljug, W.R., Abrahamson, E.E., Henteleff, R.A., Hamilton, R.L., Kofler, J.K., Klunk, W.E., et al. (2012). β -Amyloid 42/40 ratio and kalirin expression in Alzheimer disease with psychosis. *Neurobiol. Aging* 33, 2807–2816.

Nadalín, S., Rubeša, G., Giacometti, J., Vulin, M., Tomljanović, D., Vraneković, J., Kapović, M., and Buretić-Tomljanović, A. (2008). BanI polymorphism of cytosolic phospholipase A2 gene is associated with age at onset in male patients with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 78, 351–360.

Nadalín, S., Giacometti, J., Jonovska, S., Tomljanović, D., and Buretić-Tomljanović, A. (2013). The impact of PLA2G4A and PTGS2 gene polymorphisms, and red blood cell PUFAs deficit on niacin skin flush response in schizophrenia patients. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 88, 185–190.

Nalls, M.A., Guerreiro, R.J., Simon-Sanchez, J., Bras, J.T., Traynor, B.J., Gibbs, J.R., Launer, L., Hardy, J., and Singleton, A.B. (2009). Extended tracts of homozygosity identify novel candidate genes associated with late-onset Alzheimer's disease. *Neurogenetics* 10, 183–190.

Nan, X., Ng, H.H., Johnson, C.A., Laherty, C.D., Turner, B.M., Eisenman, R.N., and Bird, A. (1998). Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* 393, 386–389.

Nascimento, P.P., Bossolani-Martins, A.L., Rosan, D.B.A., Mattos, L.C., Brandão-Mattos, C., and Fett-Conte, A.C. (2016). Single nucleotide polymorphisms in the CNTNAP2 gene in Brazilian patients with autistic spectrum disorder. *Genet. Mol. Res. GMR* 15.

Neale, B.M., Kou, Y., Liu, L., Ma'ayan, A., Samocha, K.E., Sabo, A., Lin, C.-F., Stevens, C., Wang, L.-S., Makarov, V., et al. (2012). Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature* 485, 242–245.

Neumeyer, A.M., O'Rourke, J.A., Massa, A., Lee, H., Lawson, E.A., McDougale, C.J., and Misra, M. (2015). Brief Report: Bone Fractures in Children and Adults with Autism Spectrum Disorders. *J. Autism Dev. Disord.* 45, 881–887.

Nguyen, A., Rauch, T.A., Pfeifer, G.P., and Hu, V.W. (2010). Global methylation profiling of lymphoblastoid cell lines reveals epigenetic contributions to autism spectrum disorders and a novel autism candidate gene, RORA, whose protein product is reduced in autistic

brain. *FASEB J.* *24*, 3036–3051.

Nicholls, R.D., Saitoh, S., and Horsthemke, B. (1998). Imprinting in Prader–Willi and Angelman syndromes. *Trends Genet.* *14*, 194–200.

Nicholson, P., and Mühlemann, O. (2010). Cutting the nonsense: the degradation of PTC-containing mRNAs. *Biochem. Soc. Trans.* *38*, 1615–1620.

Nordahl, C.W., Scholz, R., Yang, X., Buonocore, M.H., Simon, T., Rogers, S., and Amaral, D.G. (2012). Increased Rate of Amygdala Growth in Children Aged 2 to 4 Years With Autism Spectrum Disorders: A Longitudinal Study. *Arch. Gen. Psychiatry* *69*, 53–61.

Oberlé, I., Rousseau, F., Heitz, D., Kretz, C., Devys, D., Hanauer, A., Boué, J., Bertheas, M.F., and Mandel, J.L. (1991). Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science* *252*, 1097–1102.

Oblak, A.L., Gibbs, T.T., and Blatt, G.J. (2010). Decreased GABAB Receptors in the Cingulate Cortex and Fusiform Gyrus in Autism. *J. Neurochem.* *114*, 1414–1423.

Okbay, A., Beauchamp, J.P., Fontana, M.A., Lee, J.J., Pers, T.H., Rietveld, C.A., Turley, P., Chen, G.-B., Emilsson, V., Meddens, S.F.W., et al. (2016). Genome-wide association study identifies 74 loci associated with educational attainment. *Nature* *533*, 539–542.

Ornoy, A., Reece, E.A., Pavlinkova, G., Kappen, C., and Miller, R.K. (2015). Effect of maternal diabetes on the embryo, fetus, and children: Congenital anomalies, genetic and epigenetic changes and developmental outcomes: Maternal Diabetes and Pregnancy Outcome. *Birth Defects Res. Part C Embryo Today Rev.* *105*, 53–72.

Ornoy, A., Weinstein- Fudim, L., and Ergaz, Z. (2016). Genetic Syndromes, Maternal Diseases and Antenatal Factors Associated with Autism Spectrum Disorders (ASD). *Front. Neurosci.* *10*.

O’Roak, B.J., Vives, L., Girirajan, S., Karakoc, E., Krumm, N., Coe, B.P., Levy, R., Ko, A., Lee, C., Smith, J.D., et al. (2012a). Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations. *Nature* *485*, 246–250.

O’Roak, B.J., Vives, L., Fu, W., Egertson, J.D., Stanaway, I.B., Phelps, I.G., Carvill, G., Kumar, A., Lee, C., Ankenman, K., et al. (2012b). Multiplex Targeted Sequencing Identifies Recurrently Mutated Genes in Autism Spectrum Disorders. *Science* *338*, 1619–1622.

Ostergaard, E., Duno, M., Batbayli, M., Vilhelmsen, K., and Rosenberg, T. (2011). A novel MERTK deletion is a common founder mutation in the Faroe Islands and is responsible for a high proportion of retinitis pigmentosa cases. *Mol. Vis.* *17*, 1485.

Özen, H. (2007). Glycogen storage diseases: new perspectives. *World J. Gastroenterol.* *WJG* *13*, 2541.

Pae, C.-U., Yu, H.-S., Lee, K.-U., Kim, J.-J., Lee, C.-U., Lee, S.-J., Jun, T.-Y., Lee, C., and Paik, I.-H. (2004). BanI polymorphism of the cytosolic phospholipase A2 gene may confer susceptibility to the development of schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* *28*, 739–741.

Pandolfi, V., Magyar, C.I., and Dill, C.A. (2018). Screening for autism spectrum disorder in children with Down syndrome: An evaluation of the Pervasive Developmental Disorder in Mental Retardation Scale. *J. Intellect. Dev. Disabil.* *43*, 61–72.

Parikshak, N.N., Luo, R., Zhang, A., Won, H., Lowe, J.K., Chandran, V., Horvath, S., and Geschwind, D.H. (2013). Integrative functional genomic analyses implicate specific molecular pathways and circuits in autism. *Cell* *155*, 1008–1021.

Peet, M., Ramchand, C.N., Lee, J., Telang, S.D., Vankar, G.K., Shah, S., and Wei, J. (1998). Association of the Ban I dimorphic site at the human cytosolic phospholipase A2 gene with schizophrenia. *Psychiatr. Genet.* *8*, 191–192.

Persico, A.M., and Merelli, S. (2015). Environmental factors and autism spectrum disorder. In *Autism Spectrum Disorders*, (Karger Publishers), pp. 113–134.

Piao, X., Hill, R.S., Bodell, A., Chang, B.S., Basel-Vanagaite, L., Straussberg, R., Dobyns, W.B., Qasrawi, B., Winter, R.M., Innes, A.M., et al. (2004). G protein-coupled receptor-dependent development of human frontal cortex. *Science* 303, 2033–2036.

Pinto, D., Pagnamenta, A.T., Klei, L., Anney, R., Merico, D., Regan, R., Conroy, J., Magalhaes, T.R., Correia, C., Abrahams, B.S., et al. (2010). Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature* 466, 368–372.

Pinto, D., Delaby, E., Merico, D., Barbosa, M., Merikangas, A., Klei, L., Thiruvahindrapuram, B., Xu, X., Ziman, R., Wang, Z., et al. (2014). Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. *Am. J. Hum. Genet.* 94, 677–694.

Pirianov, G., Danielsson, C., Carlberg, C., James, S.Y., and Colston, K.W. (1999). Potentiation by vitamin D analogs of TNF and ceramide-induced apoptosis in MCF-7 cells is associated with activation of cytosolic phospholipase A₂. *Cell Death Differ.* 6, 890–901.

Piton, A., Jouan, L., Rochefort, D., Dobrzeniecka, S., Lachapelle, K., Dion, P.A., Gauthier, J., and Rouleau, G.A. (2013). Analysis of the effects of rare variants on splicing identifies alterations in GABAA receptor genes in autism spectrum disorder individuals. *Eur. J. Hum. Genet.* 21, 749–756.

Polimanti, R., and Gelernter, J. (2017). Widespread signatures of positive selection in common risk alleles associated to autism spectrum disorder. *PLOS Genet.* 13, e1006618.

Portela, A., and Esteller, M. (2010). Epigenetic modifications and human disease. *Nat. Biotechnol.* 28, 1057–1068.

Prange, O., Wong, T.P., Gerrow, K., Wang, Y.T., and El-Husseini, A. (2004). A balance between excitatory and inhibitory synapses is controlled by PSD-95 and neuroligin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 13915–13920.

Qu, B.-X., Gong, Y., Sinclair, D., Fu, M., Perl, D., and Diaz-Arrastia, R. (2013a). cPLA2 α knockout mice exhibit abnormalities in the architecture and synapses of cortical neurons. *Brain Res.* 1497, 101–105.

Qu, B.-X., Gong, Y., Sinclair, D., Fu, M., Perl, D., and Diaz-Arrastia, R. (2013b). cPLA2 α knockout mice exhibit abnormalities in the architecture and synapses of cortical neurons. *Brain Res.* 1497, 101–105.

Radoeva, P.D., Coman, I.L., Salazar, C.A., Gentile, K.L., Higgins, A.M., Middleton, F.A., Antshel, K.M., Fremont, W., Shprintzen, R.J., Morrow, B.E., et al. (2014). Association between autism spectrum disorder in individuals with velocardiofacial (22q11.2 deletion) syndrome and PRODH and COMT genotypes. *Psychiatr. Genet.* 24, 269–272.

Rasmussen, J., Nielsen, O.W., Lund, A.M., Køber, L., and Djurhuus, H. (2013). Primary carnitine deficiency and pivalic acid exposure causing encephalopathy and fatal cardiac events. *J. Inherit. Metab. Dis.* 36, 35–41.

Rasmussen, J., Nielsen, O.W., Janzen, N., Duno, M., Køber, L., Steuerwald, U., and Lund, A.M. (2014). Carnitine levels in 26,462 individuals from the nationwide screening program for primary carnitine deficiency in the Faroe Islands. *J. Inherit. Metab. Dis.* 37, 215–222.

Rasmussen, P., Börjesson, O., Wentz, E., and Gillberg, C. (2001). Autistic disorders in Down syndrome: background factors and clinical correlates. *Dev. Med. Child Neurol.* 43, 750–754.

Ratta-Apha, W., Mouri, K., Boku, S., Ishiguro, H., Okazaki, S., Otsuka, I., Sora, I., Arinami, T., Shirakawa, O., and Hishimoto, A. (2015). A decrease in protein level and a missense polymorphism of KIF17 are associated with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 230, 424–429.

- Reilly, C. (2009). Autism spectrum disorders in Down syndrome: A review. *Res. Autism Spectr. Disord.* 3, 829–839.
- Reynolds, A.M., and Malow, B.A. (2011). Sleep and Autism Spectrum Disorders. *Pediatr. Clin. North Am.* 58, 685–698.
- van Rijn, S., and Swaab, H. (2011). Vulnerability for psychopathology in Klinefelter syndrome: age-specific and cognitive-specific risk profiles. *Acta Paediatr. Oslo Nor.* 1992 100, 908–916.
- Ronald, A., Happé, F., Bolton, P., Butcher, L.M., Price, T.S., Wheelwright, S., Baron-Cohen, S., and Plomin, R. (2006). Genetic Heterogeneity Between the Three Components of the Autism Spectrum: A Twin Study. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 45, 691–699.
- Rose, E.C., di San Filippo, C.A., Ndukwe Erlingsson, U.C., Ardon, O., Pasquali, M., and Longo, N. (2012). Genotype-phenotype correlation in primary carnitine deficiency. *Hum. Mutat.* 33, 118–123.
- Rudra, A., Belmonte, M.K., Soni, P.K., Banerjee, S., Mukerji, S., and Chakrabarti, B. (2017). Prevalence of autism spectrum disorder and autistic symptoms in a school-based cohort of children in Kolkata, India: Prevalence of ASD in India. *Autism Res.* 10, 1597–1605.
- Russell, T.A., Grubisha, M.J., Remmers, C.L., Kang, S.K., Forrest, M.P., Smith, K.R., Kopeikina, K.J., Gao, R., Sweet, R.A., and Penzes, P. (2017). A schizophrenia-linked KALRN coding variant alters neuron morphology, protein function, and transcript stability. *Biol. Psychiatry.*
- Rybakowski, J.K., Borkowska, A., Czerski, P.M., Dmitrzak-Węglarz, M., and Hauser, J. (2003). The Study of Cytosolic Phospholipase A2 Gene Polymorphism in Schizophrenia Using Eye Movement Disturbances as an Endophenotypic Marker. *Neuropsychobiology* 47, 115–119.
- Sacco, R., Gabriele, S., and Persico, A.M. (2015). Head circumference and brain size in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res. Neuroimaging* 234, 239–251.
- Saemundsen, E., Magnússon, P., Georgsdóttir, I., Egilsson, E., and Rafnsson, V. (2013). Prevalence of autism spectrum disorders in an Icelandic birth cohort. *BMJ Open* 3, e002748.
- Sakai, Y., Shaw, C.A., Dawson, B.C., Dugas, D.V., Al-Mohtaseb, Z., Hill, D.E., and Zoghbi, H.Y. (2011). Protein interactome reveals converging molecular pathways among autism disorders. *Sci. Transl. Med.* 3, 86ra49–86ra49.
- Samocha, K.E., Robinson, E.B., Sanders, S.J., Stevens, C., Sabo, A., McGrath, L.M., Kosmicki, J.A., Rehnström, K., Mallick, S., Kirby, A., et al. (2014). A framework for the interpretation of de novo mutation in human disease. *Nat. Genet.* 46, 944–950.
- Sanders, S.J., Ercan-Sencicek, A.G., Hus, V., Luo, R., Murtha, M.T., Moreno-De-Luca, D., Chu, S.H., Moreau, M.P., Gupta, A.R., Thomson, S.A., et al. (2011). Multiple Recurrent De Novo CNVs, Including Duplications of the 7q11.23 Williams Syndrome Region, Are Strongly Associated with Autism. *Neuron* 70, 863–885.
- Sanders, S.J., Murtha, M.T., Gupta, A.R., Murdoch, J.D., Raubeson, M.J., Willsey, A.J., Ercan-Sencicek, A.G., DiLullo, N.M., Parikshak, N.N., Stein, J.L., et al. (2012a). De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature* 485, 237–241.
- Sanders, S.J., Murtha, M.T., Gupta, A.R., Murdoch, J.D., Raubeson, M.J., Willsey, A.J., Ercan-Sencicek, A.G., DiLullo, N.M., Parikshak, N.N., Stein, J.L., et al. (2012b). De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature* 485, 237–241.
- Sanders, S.J., He, X., Willsey, A.J., Ercan-Sencicek, A.G., Samocha, K.E., Cicek, A.E., Murtha,

M.T., Bal, V.H., Bishop, S.L., Dong, S., et al. (2015). Insights into Autism Spectrum Disorder Genomic Architecture and Biology from 71 Risk Loci. *Neuron* 87, 1215–1233.

Sandin, S., Lichtenstein, P., Kuja-Halkola, R., Larsson, H., Hultman, C.M., and Reichenberg, A. (2014). The Familial Risk of Autism. *JAMA* 311, 1770.

Santer, R., Kinner, M., Steuerwald, U., Kj\alergaard, S., Skovby, F., Simonsen, H., Shaiu, W.-L., Yuan-Tsong, C., Schneppenheim, R., and Schaub, J. (2001). Molecular genetic basis and prevalence of glycogen storage disease type IIIA in the Faroe Islands. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* 9, 388.

Santos, M., Uppal, N., Butti, C., Wicinski, B., Schmeidler, J., Giannakopoulos, P., Heinsen, H., Schmitz, C., and Hof, P.R. (2011). Von Economo neurons in autism: a stereologic study of the fronto-insular cortex in children. *Brain Res.* 1380, 206–217.

Sarbassov, D.D., Ali, S.M., and Sabatini, D.M. (2005). Growing roles for the mTOR pathway. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17, 596–603.

Sato, D., Lionel, A.C., Leblond, C.S., Prasad, A., Pinto, D., Walker, S., O'Connor, I., Russell, C., Drmic, I.E., Hamdan, F.F., et al. (2012). SHANK1 Deletions in Males with Autism Spectrum Disorder. *Am. J. Hum. Genet.* 90, 879–887.

Schendel, D., and Bhasin, T.K. (2008). Birth weight and gestational age characteristics of children with autism, including a comparison with other developmental disabilities. *Pediatrics* 121, 1155–1164.

Schuurs-Hoeijmakers, J.H.M., Oh, E.C., Vissers, L.E.L.M., Swinkels, M.E.M., Gilissen, C., Willemsen, M.A., Holvoet, M., Steehouwer, M., Veltman, J.A., de Vries, B.B.A., et al. (2012). Recurrent De Novo Mutations in PACS1 Cause Defective Cranial-Neural-Crest Migration and Define a Recognizable Intellectual-Disability Syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 91, 1122–1127.

Schwartz, M., Sørensen, N., Brandt, N.J., Høgdall, E., and Holm, T. (1995). High incidence of cystic fibrosis on the Faroe Islands: a molecular and genealogical study. *Hum. Genet.* 95, 703–706.

Sebat, J., Lakshmi, B., Malhotra, D., Troge, J., Lese-Martin, C., Walsh, T., Yamrom, B., Yoon, S., Krasnitz, A., Kendall, J., et al. (2007). Strong Association of De Novo Copy Number Mutations with Autism. *Science* 316, 445–449.

Serajee, F., Zhong, H., Nabi, R., and Huq, A. (2003). The metabotropic glutamate receptor 8 gene at 7q31: partial duplication and possible association with autism. *J. Med. Genet.* 40, e42.

Shanker, G. (2004). Methylmercury Stimulates Arachidonic Acid Release and Cytosolic Phospholipase A2 Expression in Primary Neuronal Cultures. *NeuroToxicology* 25, 399–406.

Shanker, G., Syversen, T., and Aschner, M. (2003). Astrocyte-mediated methylmercury neurotoxicity. *Biol. Trace Elem. Res.* 95, 1–10.

Sharma, A., Hoeffler, C.A., Takayasu, Y., Miyawaki, T., McBride, S.M., Klann, E., and Zukin, R.S. (2010). Dysregulation of mTOR Signaling in Fragile X Syndrome. *J. Neurosci.* 30, 694–702.

Shavelle, R.M., Strauss, D.J., and Pickett, J. (2001). Causes of death in autism. *J. Autism Dev. Disord.* 31, 569–576.

Siegel, M., Beresford, C.A., Bunker, M., Verdi, M., Vishnevetsky, D., Karlsson, C., Teer, O., Stedman, A., and Smith, K.A. (2014). Preliminary Investigation of Lithium for Mood Disorder Symptoms in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* 24, 399–402.

Simms, M.L., Kemper, T.L., Timbie, C.M., Bauman, M.L., and Blatt, G.J. (2009). The anterior cingulate cortex in autism: heterogeneity of qualitative and quantitative

cytoarchitectonic features suggests possible subgroups. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 118, 673–684.

Skene, P.J., Illingworth, R.S., Webb, S., Kerr, A.R.W., James, K.D., Turner, D.J., Andrews, R., and Bird, A.P. (2010). Neuronal MeCP2 Is Expressed at Near Histone-Octamer Levels and Globally Alters the Chromatin State. *Mol. Cell* 37, 457–468.

Skuse, D.H., James, R.S., Bishop, D.V., Coppin, B., Dalton, P., Aamodt-Leeper, G., Bacarese-Hamilton, M., Creswell, C., McGurk, R., and Jacobs, P.A. (1997). Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. *Nature* 387, 705–708.

Smalley, S.L. (1998). Autism and Tuberous Sclerosis. *J. Autism Dev. Disord.* 28, 407–414.

Smith, C.E.L., Poulter, J.A., Levin, A.V., Capasso, J.E., Price, S., Ben-Yosef, T., Sharony, R., Newman, W.G., Shore, R.C., Brookes, S.J., et al. (2016a). Spectrum of PEX1 and PEX6 variants in Heimler syndrome. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* 24, 1565–1571.

Smith, C.E.L., Poulter, J.A., Levin, A.V., Capasso, J.E., Price, S., Ben-Yosef, T., Sharony, R., Newman, W.G., Shore, R.C., Brookes, S.J., et al. (2016b). Spectrum of PEX1 and PEX6 variants in Heimler syndrome. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* 24, 1565–1571.

Stein, J.L., Parikshak, N.N., and Geschwind, D.H. (2013). Rare Inherited Variation in Autism: Beginning to See the Forest and a Few Trees. *Neuron* 77, 209–211.

Stoner, R., Chow, M.L., Boyle, M.P., Sunkin, S.M., Mouton, P.R., Roy, S., Wynshaw-Boris, A., Colamarino, S.A., Lein, E.S., and Courchesne, E. (2014). Patches of Disorganization in the Neocortex of Children with Autism. *N. Engl. J. Med.* 370, 1209–1219.

Strauss, K.A., Puffenberger, E.G., Huentelman, M.J., Gottlieb, S., Dobrin, S.E., Parod, J.M., Stephan, D.A., and Morton, D.H. (2006). Recessive symptomatic focal epilepsy and mutant contactin-associated protein-like 2. *N. Engl. J. Med.* 354, 1370–1377.

Su, L.-D., Wang, D.-J., Yang, D., Shen, Y., and Hu, Y.-H. (2013a). Retrograde cPLA2 α /arachidonic acid/2-AG signaling is essential for cerebellar depolarization-induced suppression of excitation and long-term potentiation. *Cerebellum Lond. Engl.* 12, 297–299.

Su, L.-D., Wang, D.-J., Yang, D., Shen, Y., and Hu, Y.-H. (2013b). Retrograde cPLA2 α /arachidonic acid/2-AG signaling is essential for cerebellar depolarization-induced suppression of excitation and long-term potentiation. *Cerebellum Lond. Engl.* 12, 297–299.

Südhof, T.C. (2008). Neuroligins and neurexins link synaptic function to cognitive disease. *Nature* 455, 903.

Sulem, P., Gudbjartsson, D.F., Walters, G.B., Helgadóttir, H.T., Helgason, A., Gudjonsson, S.A., Zanon, C., Besenbacher, S., Bjornsdóttir, G., Magnusson, O.T., et al. (2011). Identification of low-frequency variants associated with gout and serum uric acid levels. *Nat. Genet.* 43, 1127–1130.

Sun, W., Poschmann, J., Rosario, R.C.-H. del, Parikshak, N.N., Hajan, H.S., Kumar, V., Ramasamy, R., Belgard, T.G., Elangovan, B., Wong, C.C.Y., et al. (2016). Histone Acetylome-wide Association Study of Autism Spectrum Disorder. *Cell* 167, 1385–1397.e11.

Surén, P., Roth, C., Bresnahan, M., Haugen, M., Hornig, M., Hirtz, D., Lie, K.K., Lipkin, W.I., Magnus, P., Reichborn-Kjennerud, T., et al. (2013). Association Between Maternal Use of Folic Acid Supplements and Risk of Autism Spectrum Disorders in Children. *JAMA* 309, 570.

Szatmari, P., Paterson, A.D., Zwaigenbaum, L., Roberts, W., Brian, J., Liu, X.-Q., Vincent, J.B., Skaug, J.L., Thompson, A.P., Senman, L., et al. (2007). Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements. *Nat. Genet.* 39, 319–328.

Szyszkka, P., Sharp, S.I., Dedman, A., Gurling, H.M.D., and McQuillin, A. (2012). A nonconservative amino acid change in the UPF3B gene in a patient with schizophrenia: *Psychiatr. Genet.* *22*, 150–151.

Talisa, V.B., Boyle, L., Crafa, D., and Kaufmann, W.E. (2014). Autism and anxiety in males with fragile X syndrome: An exploratory analysis of neurobehavioral profiles from a parent survey. *Am. J. Med. Genet. A.* *164*, 1198–1203.

Talkowski, M.E., Rosenfeld, J.A., Blumenthal, I., Pillalamarri, V., Chiang, C., Heilbut, A., Ernst, C., Hanscom, C., Rossin, E., Lindgren, A.M., et al. (2012). Sequencing chromosomal abnormalities reveals neurodevelopmental loci that confer risk across diagnostic boundaries. *Cell* *149*, 525–537.

Tang, S.J., and Schuman, E.M. (2002). Protein synthesis in the dendrite. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* *357*, 521–529.

Tao, R., Yu, Y., Zhang, X., Guo, Y., Shi, J., Zhang, X., Xie, L., Liu, S., Ju, G., Xu, Q., et al. (2005). Cytosolic PLA2 genes possibly contribute to the etiology of schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* *137B*, 56–58.

Tao, R., Wei, J., Guo, Y., Yu, Y., Xu, Q., Shi, J., Liu, S., Ju, G., Li, Y., and Shen, Y. (2006). The PLA2G4A gene and negative symptoms in a Chinese population. *Schizophr. Res.* *86*, 326–328.

Tarabeux, J., Champagne, N., Brustein, E., Hamdan, F.F., Gauthier, J., Lapointe, M., Maios, C., Piton, A., Spiegelman, D., Henrion, E., et al. (2010). De novo truncating mutation in Kinesin 17 associated with schizophrenia. *Biol. Psychiatry* *68*, 649–656.

Tarpey, P.S., Lucy Raymond, F., Nguyen, L.S., Rodriguez, J., Hackett, A., Vandeleur, L., Smith, R., Shoubridge, C., Ekins, S., Stevens, C., et al. (2007). Mutations in UPF3B, a member of the nonsense-mediated mRNA decay complex, cause syndromic and nonsyndromic mental retardation. *Nat. Genet.* *39*, 1127–1133.

Tartaglia, M., Zampino, G., and Gelb, B.D. (2010). Noonan syndrome: clinical aspects and molecular pathogenesis. *Mol. Syndromol.* *1*, 2–26.

Thambirajah, A.A., Ng, M.K., Frehlick, L.J., Li, A., Serpa, J.J., Petrotchenko, E.V., Silva-Moreno, B., Missiaen, K.K., Borchers, C.H., Adam Hall, J., et al. (2012). MeCP2 binds to nucleosome free (linker DNA) regions and to H3K9/H3K27 methylated nucleosomes in the brain. *Nucleic Acids Res.* *40*, 2884–2897.

The 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. *Mol. Autism* *8*.

The Genome of the Netherlands Consortium (2014). Whole-genome sequence variation, population structure and demographic history of the Dutch population. *Nat. Genet.* *46*, 818–825.

Thomsen, H., Filho, M.I. da S., Woltmann, A., Johansson, R., Eyfjörd, J.E., Hamann, U., Manjer, J., Enquist-Olsson, K., Henriksson, R., Herms, S., et al. (2015). Inbreeding and homozygosity in breast cancer survival. *Sci. Rep.* *5*.

Tick, B., Bolton, P., Happé, F., Rutter, M., and Rijdsdijk, F. (2016). Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *J. Child Psychol. Psychiatry* *57*, 585–595.

Traut, N., Beggiato, A., Bourgeron, T., Delorme, R., Rondi-Reig, L., Paradis, A.-L., and Toro, R. (2017). Cerebellar volume in autism: Meta-analysis and analysis of the ABIDE cohort. *BioRxiv* 104984.

Tukiainen, T., Villani, A.-C., Yen, A., Rivas, M.A., Marshall, J.L., Satija, R., Aguirre, M., Gauthier, L., Fleharty, M., Kirby, A., et al. (2017). Landscape of X chromosome

inactivation across human tissues. *Nature* 550, 244–248.

Tunbridge, E.M., and Harrison, P.J. (2010). Importance of the COMT Gene for Sex Differences in Brain Function and Predisposition to Psychiatric Disorders. In *Biological Basis of Sex Differences in Psychopharmacology*, J.C. Neill, and J. Kulkarni, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 119–140.

Turner, T.N., Hormozdiari, F., Duyzend, M.H., McClymont, S.A., Hook, P.W., Iossifov, I., Raja, A., Baker, C., Hoekzema, K., Stessman, H.A., et al. (2016). Genome Sequencing of Autism-Affected Families Reveals Disruption of Putative Noncoding Regulatory DNA. *Am. J. Hum. Genet.* 98, 58–74.

Tyler, C.V., Schramm, S.C., Karafa, M., Tang, A.S., and Jain, A.K. (2011). Chronic Disease Risks in Young Adults With Autism Spectrum Disorder: Forewarned Is Forearmed. *Am. J. Intellect. Dev. Disabil.* 116, 371–380.

Uriu, Y., Kiyonaka, S., Miki, T., Yagi, M., Akiyama, S., Mori, E., Nakao, A., Beedle, A.M., Campbell, K.P., Wakamori, M., et al. (2010). Rab3-interacting molecule gamma isoforms lacking the Rab3-binding domain induce long lasting currents but block neurotransmitter vesicle anchoring in voltage-dependent P/Q-type Ca²⁺ channels. *J. Biol. Chem.* 285, 21750–21767.

Vaags, A.K., Lionel, A.C., Sato, D., Goodenberger, M., Stein, Q.P., Curran, S., Ogilvie, C., Ahn, J.W., Drmic, I., Senman, L., et al. (2012). Rare Deletions at the Neurexin 3 Locus in Autism Spectrum Disorder. *Am. J. Hum. Genet.* 90, 133–141.

Verhoeven, K., Van Laer, L., Kirschhofer, K., Legan, P.K., Hughes, D.C., Schatteman, I., Verstreken, M., Van Hauwe, P., Coucke, P., Chen, A., et al. (1998a). Mutations in the human alpha-tectorin gene cause autosomal dominant non-syndromic hearing impairment. *Nat. Genet.* 19, 60–62.

Verhoeven, K., Van Laer, L., Kirschhofer, K., Legan, P.K., Hughes, D.C., Schatteman, I., Verstreken, M., Van Hauwe, P., Coucke, P., Chen, A., et al. (1998b). Mutations in the human alpha-tectorin gene cause autosomal dominant non-syndromic hearing impairment. *Nat. Genet.* 19, 60–62.

Verma, D., Chakraborti, B., Karmakar, A., Bandyopadhyay, T., Singh, A.S., Sinha, S., Chatterjee, A., Ghosh, S., Mohanakumar, K.P., Mukhopadhyay, K., et al. (2014). Sexual dimorphic effect in the genetic association of monoamine oxidase A (MAOA) markers with autism spectrum disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 50, 11–20.

Vernes, S.C., Newbury, D.F., Abrahams, B.S., Winchester, L., Nicod, J., Groszer, M., Alarcón, M., Oliver, P.L., Davies, K.E., Geschwind, D.H., et al. (2008). A Functional Genetic Link between Distinct Developmental Language Disorders. *N. Engl. J. Med.* 359, 2337–2345.

Verweij, K.J.H., Abdellaoui, A., Veijola, J., Sebert, S., Koiranen, M., Keller, M.C., Järvelin, M.-R., and Zietsch, B.P. (2014). The Association of Genotype-Based Inbreeding Coefficient with a Range of Physical and Psychological Human Traits. *PLoS ONE* 9, e103102.

Voineagu, I., Wang, X., Johnston, P., Lowe, J.K., Tian, Y., Horvath, S., Mill, J., Cantor, R.M., Blencowe, B.J., and Geschwind, D.H. (2011). Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature* 474, 380–384.

Volpe, J.J., and Adams, R.D. (1972). Cerebro-hepato-renal syndrome of Zellweger: An inherited disorder of neuronal migration. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 20, 175–198.

Walsh, T., McClellan, J.M., McCarthy, S.E., Addington, A.M., Pierce, S.B., Cooper, G.M., Nord, A.S., Kusenda, M., Malhotra, D., Bhandari, A., et al. (2008). Rare Structural Variants Disrupt Multiple Genes in Neurodevelopmental Pathways in Schizophrenia. *Science* 320, 539–543.

Wang, K., Zhang, H., Ma, D., Bucan, M., Glessner, J.T., Abrahams, B.S., Salyakina, D.,

Imielinski, M., Bradfield, J.P., Sleiman, P.M.A., et al. (2009). Common genetic variants on 5p14.1 associate with autism spectrum disorders. *Nature* 459, 528–533.

Warner, G., Moss, J., Smith, P., and Howlin, P. (2014). Autism Characteristics and Behavioural Disturbances in ~ 500 Children with Down's Syndrome in England and Wales: Autism features in Down's syndrome. *Autism Res.* 7, 433–441.

Warrier, V., Baron-Cohen, S., and Chakrabarti, B. (2013). Genetic variation in GABRB3 is associated with Asperger syndrome and multiple endophenotypes relevant to autism. *Mol. Autism* 4, 48.

Warrier, V., Bethlehem, R.A.I., Geschwind, D., and Baron-Cohen, S. (2016). Genetic overlap between educational attainment, schizophrenia and autism. *BioRxiv* 093575.

Weiner, D.J., Wigdor, E.M., Ripke, S., Walters, R.K., Kosmicki, J.A., Grove, J., Samocha, K.E., Goldstein, J.I., Okbay, A., Bybjerg-Grauholm, J., et al. (2017). Polygenic transmission disequilibrium confirms that common and rare variation act additively to create risk for autism spectrum disorders. *Nat. Genet.* 49, 978–985.

Weiss, L.A., Arking, D.E., Gene Discovery Project of Johns Hopkins & the Autism Consortium, Daly, M.J., and Chakravarti, A. (2009). A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature* 461, 802–808.

Werling, D.M., Brand, H., An, J.-Y., Stone, M.R., Glessner, J.T., Zhu, L., Collins, R.L., Dong, S., Layer, R.M., Markenscoff-Papadimitriou, E.-C., et al. (2017). Limited contribution of rare, noncoding variation to autism spectrum disorder from sequencing of 2,076 genomes in quartet families. *BioRxiv* 127043.

Wermuth, L., Bech, S., Skaalum Petersen, M., Joensen, P., Weihe, P., and Grandjean, P. (2008). Prevalence and incidence of Parkinsons disease in The Faroe Islands. *Acta Neurol. Scand.* 118, 126–131.

Wheeler, A.C., Mussey, J., Villagomez, A., Bishop, E., Raspa, M., Edwards, A., Bodfish, J., Bann, C., and Bailey, D.B. (2015). DSM-5 Changes and the Prevalence of Parent-Reported Autism Spectrum Symptoms in Fragile X Syndrome. *J. Autism Dev. Disord.* 45, 816–829.

Whitehouse, A.J.O., Bishop, D.V.M., Ang, Q.W., Pennell, C.E., and Fisher, S.E. (2011). CNTNAP2 variants affect early language development in the general population. *Genes Brain Behav.* 10, 451–456.

Wiener, J. (2003). *Ecotoxicology of Mercury*.

Willsey, A.J., Sanders, S.J., Li, M., Dong, S., Tebbenkamp, A.T., Muhle, R.A., Reilly, S.K., Lin, L., Fertuzinhos, S., Miller, J.A., et al. (2013). Coexpression networks implicate human midfetal deep cortical projection neurons in the pathogenesis of autism. *Cell* 155, 997–1007.

Wilson, R.C., and Doudna, J.A. (2013). Molecular Mechanisms of RNA Interference. *Annu. Rev. Biophys.* 42, 217–239.

Wing, L. (1981). Asperger's syndrome: a clinical account. *Psychol. Med.* 11, 115.

Wing, L. (1997). The autistic spectrum. *Lancet Lond. Engl.* 350, 1761–1766.

Wing, L., Leekam, S.R., Libby, S.J., Gould, J., and Larcombe, M. (2002). The Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders: background, inter-rater reliability and clinical use. *J. Child Psychol. Psychiatry* 43, 307–325.

Wong, C.C.Y., Meaburn, E.L., Ronald, A., Price, T.S., Jeffries, A.R., Schalkwyk, L.C., Plomin, R., and Mill, J. (2014). Methyloomic analysis of monozygotic twins discordant for autism spectrum disorder and related behavioural traits. *Mol. Psychiatry* 19, 495.

Woolfenden, S., Sarkozy, V., Ridley, G., Coory, M., and Williams, K. (2012). A systematic review of two outcomes in autism spectrum disorder - epilepsy and mortality: Review. *Dev. Med. Child Neurol.* 54, 306–312.

Wright, B., Sims, D., Smart, S., Alwazeer, A., Alderson-Day, B., Allgar, V., Whitton, C.,

Tomlinson, H., Bennett, S., Jardine, J., et al. (2011). Melatonin Versus Placebo in Children with Autism Spectrum Conditions and Severe Sleep Problems Not Amenable to Behaviour Management Strategies: A Randomised Controlled Crossover Trial. *J. Autism Dev. Disord.* *41*, 175–184.

Wu, J.B., Chen, K., Li, Y., Lau, Y.-F.C., and Shih, J.C. (2009). Regulation of monoamine oxidase A by the SRY gene on the Y chromosome. *FASEB J.* *23*, 4029–4038.

Xue, Y., Chen, Y., Ayub, Q., Huang, N., Ball, E.V., Mort, M., Phillips, A.D., Shaw, K., Stenson, P.D., Cooper, D.N., et al. (2012). Deleterious- and Disease-Allele Prevalence in Healthy Individuals: Insights from Current Predictions, Mutation Databases, and Population-Scale Resequencing. *Am. J. Hum. Genet.* *91*, 1022–1032.

Yan, Y., Eipper, B.A., and Mains, R.E. (2015). Kalirin-9 and Kalirin-12 Play Essential Roles in Dendritic Outgrowth and Branching. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* *25*, 3487–3501.

Yik, W.Y., Steinberg, S.J., Moser, A.B., Moser, H.W., and Hacia, J.G. (2009). Identification of novel mutations and sequence variation in the Zellweger syndrome spectrum of peroxisome biogenesis disorders. *Hum. Mutat.* *30*, E467–E480.

Yin, X., Takei, Y., Kido, M.A., and Hirokawa, N. (2011). Molecular motor KIF17 is fundamental for memory and learning via differential support of synaptic NR2A/2B levels. *Neuron* *70*, 310–325.

Yin, X., Feng, X., Takei, Y., and Hirokawa, N. (2012). Regulation of NMDA Receptor Transport: A KIF17–Cargo Binding/Releasing Underlies Synaptic Plasticity and Memory In Vivo. *J. Neurosci.* *32*, 5486–5499.

Yoo, H.J., Lee, S.K., Park, M., Cho, I.H., Hyun, S.H., Lee, J.C., Yang, S.Y., and Kim, S.A. (2009). Family- and population-based association studies of monoamine oxidase A and autism spectrum disorders in Korean. *Neurosci. Res.* *63*, 172–176.

Youn, H., Jeoung, M., Koo, Y., Ji, H., Markesbery, W.R., Ji, I., and Ji, T.H. (2007). Kalirin is under-expressed in Alzheimer’s disease hippocampus. *J. Alzheimers Dis. JAD* *11*, 385–397.

Yu, T.W., Chahrour, M.H., Coulter, M.E., Jiralerspong, S., Okamura-Ikeda, K., Ataman, B., Schmitz-Abe, K., Harmin, D.A., Adli, M., Malik, A.N., et al. (2013). Using Whole-Exome Sequencing to Identify Inherited Causes of Autism. *Neuron* *77*, 259–273.

Yuen, R.K.C., Thiruvahindrapuram, B., Merico, D., Walker, S., Tammimies, K., Hoang, N., Chrysler, C., Nalpathamkalam, T., Pellecchia, G., Liu, Y., et al. (2015). Whole-genome sequencing of quartet families with autism spectrum disorder. *Nat. Med.* *21*, 185–191.

Zablotsky, B., Black, L.I., Maenner, M.J., Schieve, L.A., and Blumberg, S.J. (2015). Estimated prevalence of autism and other developmental disabilities following questionnaire changes in the 2014 National Health Interview Survey.

Zik, J.B., and Roberts, D.L. (2015). The many faces of oxytocin: Implications for psychiatry. *Psychiatry Res.* *226*, 31–37.

Zwaigenbaum, L., Bauman, M.L., Stone, W.L., Yirmiya, N., Estes, A., Hansen, R.L., McPartland, J.C., Natowicz, M.R., Choueiri, R., Fein, D., et al. (2015). Early Identification of Autism Spectrum Disorder: Recommendations for Practice and Research. *Pediatrics* *136 Suppl 1*, S10-40.

(2009). Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia that overlaps with bipolar disorder. *Nature* *460*, 748–752.