

29-05-2017

# Genetisk screening for autisme

Vejleder: Henrik Berg Rasmussen

Forskningsleder på institut for biologisk psykiatri Sct. Hans



Roskilde Universitet  
Den Naturvidenskabelige Bachelor  
Projekt i Medicinalbiologi

Sanne Lindberg  
56962

**RUUC**

## Abstract

This study presents a literature study of meticulously chosen articles based on the subject of autism, more specifically "Genetic screening of autism". Autism is an illness affecting many people and relatives. It is a broad-spectrum disease with the main categories: infantile autism, Asperger, GUA (gennemgribende, udviklingsforstyrrelse andet), atypical autism and GUU (gennemgribende udviklingsforstyrrelse uspecifiseret). Autism are being screened in different ways. In the hospital, especially FISH and CGH-arrays are being used. My paper attempts to analyze whether screenings like CGH-array and FISH should be offered to all autistic children, or if it would be an idea to choose a specific group. Studies shows different results in genetics links between cognitive disorders and autism, which leads to a discussion of advantages and disadvantages of screening all.

## Indholdsfortegnelse

|                                             |    |
|---------------------------------------------|----|
| Abstract .....                              | 1  |
| Kapitel 1 .....                             | 3  |
| 1.1. Introduktion .....                     | 3  |
| 1.2. Problemformulering .....               | 4  |
| 1.3. Afgrænsning .....                      | 4  |
| Kapitel 2 .....                             | 5  |
| 2.1. Baggrund .....                         | 5  |
| 2.1.1. Autisme spektrum forstyrrelser ..... | 5  |
| 2.1.2. Generel genetisk variation .....     | 9  |
| 2.1.2.1. Kromosomer .....                   | 9  |
| 2.2. Generne for autisme .....              | 12 |
| 2.2.1. SNP .....                            | 12 |
| 2.2.2. CNV .....                            | 14 |
| 2.2.3. Tvillingestudier .....               | 15 |
| 2.3. Andre årsager til autisme .....        | 16 |
| Kapitel 3 .....                             | 18 |
| 3.1. Teknikker .....                        | 18 |
| 3.1.1. FISH .....                           | 18 |
| 3.1.2. CGH-array .....                      | 19 |
| 3.2. Clinical action .....                  | 22 |
| 3.3. Diagnostisk udbytte .....              | 23 |
| Kapitel 4 .....                             | 24 |
| 4.1. Diskussion .....                       | 24 |
| 4.2. Konklusion .....                       | 26 |
| 4.3. Perspektivering .....                  | 26 |
| 4.4. Referencer .....                       | 27 |

## Kapitel 1

### 1.1. Introduktion

Denne rapport har til formål at undersøge, hvorvidt screening bør tilbydes til alle børn med mistanke om autisme spektrum forstyrrelser (ASF), eller om man bør udvælge nogle kategorier.

Autisme er en spektrum forstyrrelse, hvilket betyder, at det er et spektrum af lidelser, og dermed er ikke alle autister ens, men har behov for forskellige behandlingsforløb. 1 % af Danmarks befolkning har ASF, hvoraf infantil autisme er den hyppigste form ud af de 5 væsentligste; infantil autisme, gennemgribende udviklingsforstyrrelse uspecificeret (GUU), gennemgribende udviklingsforstyrrelse andet (GUA), Aspergers syndrom og Atypisk autisme(1). Autisme kan dog også være en del af en syndromal lidelse – eksempelvis Retts syndrom, og man kan have følgesygdomme som: Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), depression, Obsessive Compulsive Disorder (OCD) eller epilepsi.

Det har før i tiden været et stort problem, at børn er blevet screenet for sent i forløbet. Mange mødre i 1960'erne fik skyld i deres børns opførsel og blev kaldt "refrigerator mothers". De fik skyld i, at deres børn ikke havde nogle sociale relationer. Mange børn blev placeret i institutioner de ikke burde være i, hvor man måtte bruge unødvendige metoder til at behandle børnene på, og familierne opbyggede en slags mistro til medicin, da de ikke fik den rigtige. (2)

Det er en problematik i nutidens Danmark, om hvorvidt man bør screene alle autister genetisk, eller om man bør udvælge en gruppe, men da det blandt andre faktorer også er dyrt for samfundet at screene, leder dette til følgende problemformulering;

## 1.2. Problemformulering

Bør man rutinemæssigt screene alle børn med mistanke om autisme for CNV'er, eller bør man udvælge en bestemt klasse indenfor ASF med en bestemt tilhørende kognitiv forstyrrelse?

## 1.3. Afgrænsning

Følgende rapport tager udgangspunkt i hvilke former indenfor autismspektret der findes, hvor jeg heraf vil komme ind på de væsentligste. Jeg vil holde fokus på disse screeningsmetoder man forsker og arbejder med i dag –CGH-array, FISH og SNP array, behandlingsmetoder og kategoriudvælgelse og ikke have fokus på de indledende screeningsmetoder, som de forskellige spørgeskemaer og observationer man som regel starter ud med. Jeg vælger ikke at gå i dybden med neurobiologien, men holder mig til det man ved omkring ændringer i hjernen som barn med ASF.

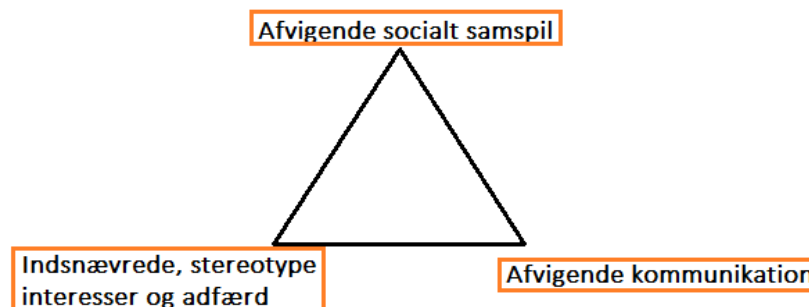
## Kapitel 2

### 2.1. Baggrund

#### 2.1.1. Autisme spektrum forstyrrelser

Autisme spektrum forstyrrelser (ASF) er et vidt begreb der dækker over forskellige former for autisme, som kan kategoriseres i blandt andre disse væsentligste kategorier: infantil autisme, atypisk autisme, Aspergers syndrom, GUU og GUA.

Den mest hyppige og fremtrædende form af disse, er infantil autisme. Dette er en diagnose, man oftest får stillet inden for de første 3 år af ens levetid. Børnene viser tegn ved at de har svært ved at danne øjenkontakt og ikke rækker armene ud for at blive løftet op. Mellem 50 og 75 procent er mentalt retarderet, hvor resten er normalt begavede. Der er 3 hovedkriterier indenfor autisme som ses på nedenstående figur og af disse er alle 3 opfyldt når man har infantil autisme. (3)



**FIGUR 1 - DE 3 HOVEDKRITERIER FOR AUTISME, SOM AUTISME SPEKTRUM FORSTYRRELSE VURDERES UD FRA**

De 3 hovedkriterier er; afvigende socialt samspil, indsnævrede - stereotype interesser og adfærd, og afvigende kommunikation.

Atypisk autisme adskiller sig fra infantil autisme ved, at den kan komme til udtryk senere i livet, da denne typisk opdages ved, at man udvikles langsommere. Dette ser man typisk ved udviklingen af sproget. Derfor gives diagnosen først når dette kommer til udtryk efter 3-års alderen, eller ved, at man ser at man opfylder en eller 2 af de ovenstående hovedkriterier for autisme. Børn med atypisk autisme kan godt være interesseret i at være sociale, men på en mere egocentrisk måde, hvor det gerne skal gå efter deres egne præmisser. (36)

Asperger syndrom (AS) er en mildere diagnose inden for spektret. De tidligste symptomer på AS er manglende øjenkontakt i en alder af 1-2 år. Børn med Asperger syndrom får normalt stillet diagnosen senere i en alder af 4-6 år, hvor de begynder i børnehave og skal til at interagere med andre børn. Børn med asperger syndrom er normalt begavede, dog ses en anderledes sprogudvikling end hos almindelige børn. Disse børn kan enten begynde at tale meget tidligt eller meget sent. 25% af patienter med Asperger syndrom vil senere hen i livet udvikle sindslidelser såsom depression, personlighedsforstyrrelser og skizofreni. (3)

Udover disse findes der en sjælden kategori, kaldet gennemgribende udviklingsforstyrrelse uspecificeret (GUU). GUU indebærer, at barnet har manglende empati og finder det svært at indgå i sociale sammenhænge. Denne form for autisme konstateres i tilfælde af, at barnet ikke tilhører andre kategorier af autisme. Diagnosen stilles ofte som en midlertidig diagnose, indtil en mere konkret kan stilles. Disse er meget sårbare eller har nogle meget store reaktioner, hvor de bliver meget kede af det. De er typisk meget opmærksomme på andre menneskers stemninger uden at kunne forstå og tolke dem. (4)

Autisme kan være en del af en syndromal lidelse. Cirka 10% af alle med en Autisme spektrum forstyrrelse har ASF som en del af et syndrom, som for eksempel Downs syndrom (5), tuberous sclerosis, Retts syndrom og Fragile X syndrom (6).

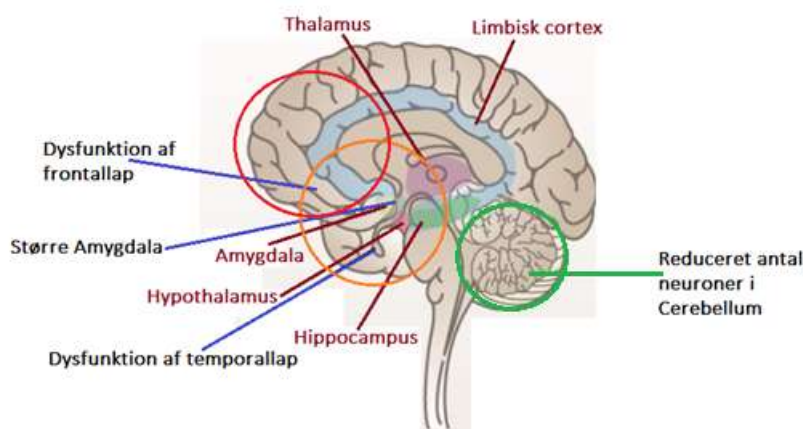
Derudover kan man have tilhørende kognitive forstyrrelser og komorbide tilstande, såsom mental retardering, hvilket er tilfældet i på 83%. De kormobide tilstande (udviklingsforstyrrelser, psykiske og somatiske tilstande) forekommer hyppigere ved ASF end i baggrundspopulationen, og kan komme til udtryk tidligt. Nogle gange vil disse komorbide tilstande overskygge den bagvedliggende ASF. (7)

Mellem 70-83 % af tilfældene med ASF har komorbiditeter og mellem 26-41 % har minimum 2 komorbide tilstande. Det kunne for eksempel også være Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), depression, Obsessive Compulsive Disorder (OCD) eller epilepsi. (8)

Forskerne i dag prøver at finde ud af, om autisme kan skyldes mutationer i generne. Mutationer kan opstå i alle typer celler, og man skelner mellem somatiske mutationer og kønscelle mutationer. Somatiske mutationer er dem vi kategoriserer som mutationer, der sker i alle andre celler i kroppen

end kønsceller. Et eksempel her kunne være kræftceller, da der pludselig sker mutationer og kræftceller dannes og spredes. Disse sygdomme går ikke videre i arv. Kønscellemutationer derimod kan videregives til afkom. Kønscellemutationer er når mutationen sker i kønscellerne af moderen eller faderen, og kan dermed ved sammensmeltningen af æg og sædcellen gives videre til et kommende barn. Dette kaldes en de novo mutation. (9) (10)

Man forsker i dag meget i gener, da man ikke er nået så langt i processen om at følge hjernens udvikling hos børn, når de udvikler autisme. Der er dog fundet visse abnormaliteter i forhold til en normalt udviklet hjerne i 4 dele af hjernen, som forklaret nedenunder:



**FIGUR 2 - HJERNEN OG DETS ABNORMALITETER I FORHOLD TIL EN NORMALT FUNGERENDE HJERNE**

- 1) Cerebellum – også kaldet lillehjernen, markeret med grønt på tegningen. Dette område i hjernen styrer motorikken i form af motorisk koordination, indlæring af bevægelser, rækkefølge af bevægelser og motorisk sammenbinding af bevægelser. Som autist kan man have et reduceret antal neuroner i denne del af hjernen. (11) (12)
- 2) Temporallappen, som er markeret med en orange cirkel på ovenstående tegning står for sammenbinding af dele til helheder, social opfattelse, opfattelse af egne og andres følelser. Dysfunktioner i denne del kan derfor gøre, at den autistiske person har svært ved at være medfølelsende og føle for andre mennesker.

- 3) Forstørret amygdala hvilket også kan mærkes, da amygdala bearbejder angst information, ansigtsudtryk og diskrete sociale signaler, og gør, at man har en stedsans. Dette har autister også svært ved.
- 4) Frontallappen, som står for motorisk kontrol, sprog, opmærksomhed, planlægning, hukommelse og bevidst tankegang. (13)

Autister har en øget connectivity, hvilket betyder, at de har mange flere forbindelser i hjernen end mennesker med normalt fungerende hjerner. De har dog en nedsat central koherens, som giver en nedsat evne til at skabe, forstå og tolke sammenhænge, forbindelser og danne helheder. Dette giver et detaljesyn. (14) Man kan undersøge hjernen hos autister ved hjælp af nogle tests - for eksempel test af central coherence, naturlig tilbøjelighed hos ikke-autistiske mennesker til at danne sammenhænge. Autister fokuserer derfor lettere på uvæsentlige detaljer fremfor meningsfulde helheder. (14) Udover dette laver man IQ tests for at se, om de er højt eller lavt begavet, og finder her ud af, om der er tale om en mental retardering.

## 2.1.2 Generel genetisk variation

### 2.1.2.1. Kromosomer

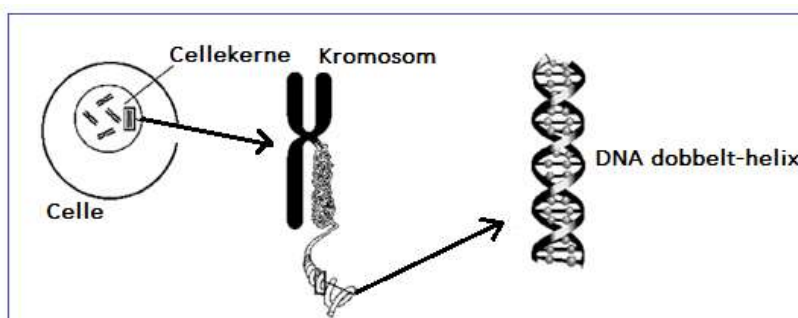
I cellens nucleus findes kromosomer, som er dem der indeholder det genetiske materiale i DNA'et. Hver celle indeholder 23 kromosompar, hvilket giver et antal på 46 kromosomer i alt. Æg- og sædceller har dog det halve antal kromosomer. Kromosomparrene 1-22 kaldes autosomer. Udover disse 22 har kvinder to X kromosomer, hvor mænd har et X og et Y kromosom. Generne koder for kroppens funktioner, hvilket betyder, at det er generne der styrer, om man har en sygdom eller ej. Man kan teste for sygdomme ved hjælp af en kromosomanalyse, for at se om man har kromosomafvigelser, og hvilke det er. En kromosomafvigelse er når antallet eller strukturen af kromosomer ikke er normalt. Her udtages en blodprøve, og kromosomerne analyseres i et mikroskop ved farvning. I mikroskopet vil man kunne se om der er det korrekte antal kromosomer, om der mangler noget af kromosomet eller der er noget ekstra. (15)

På et kromosom kaldes den korte arm p, og den lange kaldes q. Når man analyserer kromosomerne skriver man det op i en karyotype. En karyotype for en rask dreng ville se således ud: 46,XY. En kromosomafvigelse kan dog også se sådan her ud: 46,XX, del(18)(q21). Dette eksempel er en pige, da der står XX. Hun har en deletion (del) på kromosom nr. 18 på den lange arm, da der står q, og det er på bånd nr. 21. (16)

Der findes forskellige slags kromosomafvigelser, som skrives op i forkortelser, hvoraf nogle af dem er:

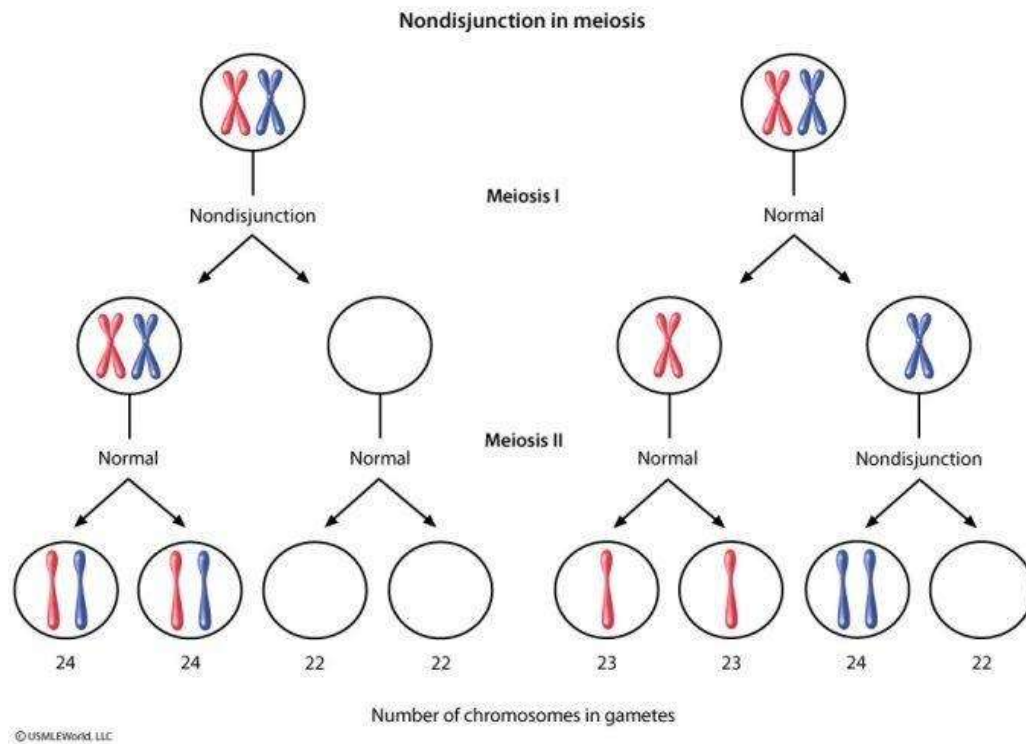
- Add - som betyder, at der er et ekstra kromosommateriale
- De novo - som betyder, at det er spontant opstået og dermed ikke er nedarvet
- Del - står for deletion, som er et tab af et kromosomstykke.
- Der - står for derivativ, og bruges om ubalancerede translokationer
- Dup - står for duplikation af kromosommateriale.
- Ins - betyder insertion, hvor der er sat et stykke ind.
- Inv - inversion, som betyder ombytning af materiale
- T - for translokation, som betyder, at kromosomstykker bliver byttet rundt.

En afvigelse klassificeres som ubalanceret, hvis der enten er for lidt eller for meget kromosommateriale. Det kan være duplikation og deletion. Denne slags afvigelser kan give problemer med blandt andet den psykiske udvikling, såsom autisme. Balancerede afvigelser er derimod hvis der hverken mangler eller der er ekstra materiale. Det kunne være inversion og translokation. De balancerede afvigelser kan også give problemer med den psykiske udvikling, som den ubalancerede, dog kommer det an på om afvigelsen er nedarvet eller er en de novo afvigelse. De novo kan have helbredsmæssige betydninger, hvorimod de nedarvede balancerede afvigelser ikke er skadelige. (16)



**FIGUR 3 - PLACERING AF DNA I CELLEN**

De novo kromosomafvigelser opstår, når der sker en fejl i meiosen i æg- og sædceller. Det kan se ud som på nedenstående billede. (16)



**FIGURE 4 - HER SES DE TO MÅDER DER KAN SKE EN NON-DISJUNCTION I MEIOSEN – TIL VENSTRE SES EN NON-DISJUNCTION VED MEIOSE 1, HVOR DER TIL HØJRE SES EN NON-DISJUNCTION I MEIOSE 2**

Dette fører til fejl i antallet af kromosomer. Fejl kan også ændre kromosomernes udseende og struktur – for eksempel ved, at der går brud på kromosomerne ved celledeling, hvor der kan blive et tab af kromosomstykke, eller forkert udveksling af materiale, eller forkert opheling.

## 2.2. Generne for autisme

### 2.2.1. SNP

En single nucleotide polymorphism (SNP) er en variation i et individs DNA (Deoxyribonucleic acid), lokaliseret i kromosomerne i nucleus i cellen. DNA er en dobbeltstrengt helix, som består af baseparrene A, T, C og G, som sidder sammen henholdsvis A-T og C-G. Strengene går antiparallel i retningen 5' → 3' - og komplement strengen 3' → 5'.

En SNP er den mest simple form for DNA variation og er den mest forekommende polymorphism der sker i individer, og er en substitution af et enkelt nukleotid til et andet. For eksempel kan en streng af et stykke af en normal DNA se således ud: CATAA, men hvor det i stedet for hos nogle individer er CTTAA. Hvis disse finder sted i gener der ikke koder for et protein, har de ingen effekt, men hvis de derimod sker i kodende gener, kan der være en effekt, og i nogle tilfælde, som autisme, negativ. (17)

Der findes dog flere koder for samme protein, så sker der en SNP i et kodende gen for et protein, betyder det ikke nødvendigvis at der sker en ændring af aminosyrer.

Nogle SNP'er er med til at bestemme hvordan vi skal se ud, blandt gør nogle SNP'er at man får krøllet hår. Nogle kan også have negativ betydning, som for eksempel anderledes reaktion på medicin og psykiske lidelser som for eksempel autisme. (18)

Der er omkring 10 millioner SNP'er i det humane genom. Disse SNP'er går videre gennem generationer. En base kan enten blive fjernet, duplikeret eller fordoblet. Begge dele fører til en frame-shift-mutation som er en ændring af læserammen. Der er tre måder at læse en DNA streng på, som er denne, og det er disse, der kaldes læserammer.

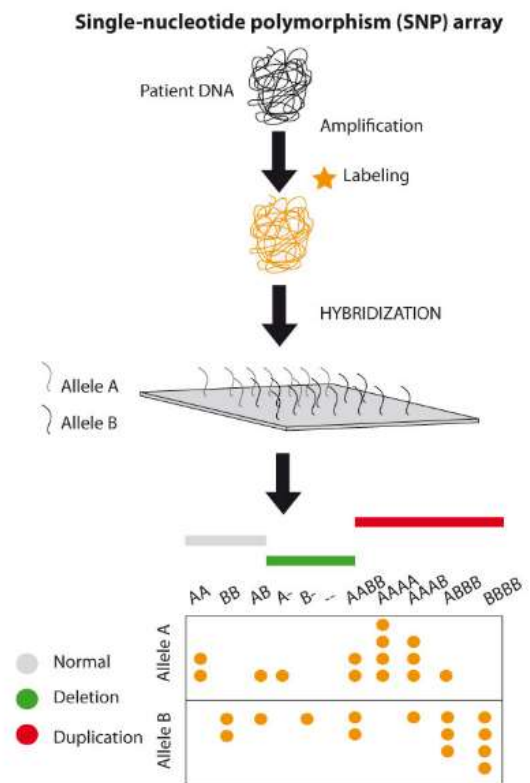


FIGURE 5 - FREMGANGSMÅDEN I SNP-ARRAY



FIGURE 6 – LÆSERAMMEN PÅ EN DNA STRENG, SOM KAN LÆSES PÅ FORSKELLIGE MÅDER

Starter man ved det første kodon som på ovenstående billede er T, giver det en bestemt læseramme, der vil resultere i én peptidkæde, og den læses som vist med røde streger på figur 5. Starter man derimod med at læse fra anden eller tredje base, vil det give to helt anderledes peptidkæder. Starter man med fjerde base vil det give samme peptidkæde, som den første, hvor den første aminosyre bare mangler. En frame-shift-mutation fører altså til en ny læseramme, som næsten altid fører til, at proteinet mister sin funktion. (19)

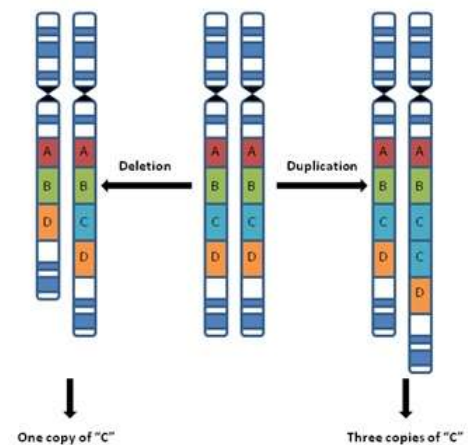
Ifølge en udgivet rapport sker 50 % af SNP'er i ikke kodende regioner, 25 % fører til missence mutationer som er når punktmutationen fører til en ændring af en aminosyre, da kodonet får en ny betydning, og en anden aminosyre indsættes. Disse mutationer kan ødelægge funktionen af et protein og dermed give alvorlige konsekvenser, men ofte reducerer mutationerne blot proteinets effektivitet. De resterende 25 % er silent mutations. Disse silent SNP'er er når punktmutationen ikke fører til en ændring af den pågældende aminosyre. (20)

Et eksempel på en SNP er en punktmutation, der sker når DNA'et skal replikeres og DNA-polymerasen laver fejl. Mutationerne kan også være forårsaget af ydre faktorer, som mutagener, der kan være kemikalier. Eksempelvis i cigaretrøg er der et stof som gør at G ikke kan gå under baseparring. Når DNA-polymerasen skal køre igennem og kommer til det G, vil den indsætte en tilfældig base, som vil føre til en punktmutation. Der er 3 DNA-reparationsmekanismer. Den første er korrekturlæsning af DNA-polymerasen, så er der mismatch repair, som tjekker om baserne passer sammen. Så er der excision repair, som fjerner abnorme baser.

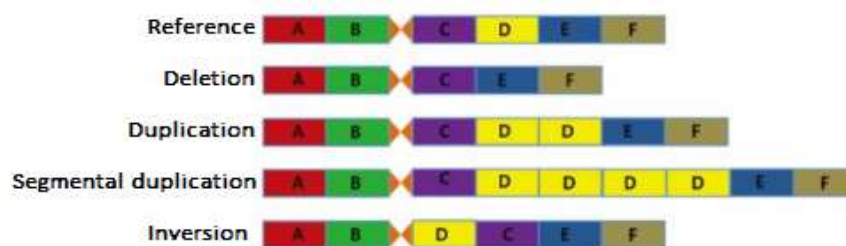
### 2.2.2. CNV

CNV'er er en variation i strukturen af DNA nukleotider, som har en effekt på antallet af basepar. 4,8-9,5 % af det menneskelige genom kan kaldes copy number variations. Dog sker der ikke kun mutationer i de kodende gener, men også i de ikke kodende gener, som promoter regionen, eller splejsningssignaler. Et rask menneske har mange CNV-afvigelser, som ikke har en dårlig påvirkning, så de er ikke automatisk skadelige. Det er dog ikke alle autister der har copy number variations, men man siger, at op til 10 % har dem, og ved mental retardering har op til 15 % CNV'er. (21)(22)

Der findes forskellige typer af mutationer i DNA'et. Hvoraf nogle er: deletion, inversion, Segmental duplikation, duplikation. En deletion er når der fjernes et stykke helt, og i på figur 6 ses det, D er fjernet helt. En duplikation derimod, er hvor et stykke af DNA'et fordobles. En inversion er når rækkefølges på sekvenser ombyttes, og segmental duplication er når noget duplikeres flere gange. Man har indenfor autisme gentagne gange stødt på Dup15q syndromet.



FIGUR 7 – ET EKSEMPEL PÅ CNV – DEN ALMINDELIGE SES I MIDTEN, DELETIONEN SES TIL VENSTRE, OG EN DUPLIKATION SES TIL HØJRE



FIGUR 8 – FORMER FOR MUTATIONER – REFERENCE GENET, EN DELETION, EN DUPLIKATION, EN SEGMENTAL DUPLIKATION OG EN INVERSION

### 2.2.3. Tvillingestudier

For at se om autisme kan være genetisk, kan man se på søskende- og tvillinge-studier. Nogle søskende studier har vist, at hvis man i forvejen har et barn med autisme, er chancen for at få endnu et barn med autisme 18,7% (23). Da de vokser op i samme miljø, kunne man fristes til at have en idé om, at miljøet kan spille ind. Dette har man prøvet at finde ud af ved at lave tvillingestudier af monozygotiske og dizygotiske tvillinger (24)(25). Resultaterne heraf viser, at monozygotiske tvillinger, som er tvillinger, der er har helt identisk genetisk materiale, hyppigere deler en ASF diagnose end dizygotiske tvillinger. Da der er større hyppighed ved monozygotiske tvillinger, må genetikken spille ind. Monozygotiske tvillinger siges at have 77 % chance for at begge får en autisme sygdom. Da tallet ikke er 100%, kunne der være nogle ukendte miljømæssige ting der spiller ind over, som vi ikke ved om endnu. Dizygotiske siges at have 31 % chance for at begge får autisme.

Man har undersøgt og kigget på autisme relaterede syndromer, og i nedenstående skema ses de hyppigst forekomne:

| Syndrome                                          | Gene(s) associated with the syndrome | Proportion of patients with the syndrome that have an ASD | Proportion of patients with an ASD that have the syndrome | Refs      |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------|
| <b>15q duplication</b><br>Præcisionsmedicin       | Unknown                              | High                                                      | 1-2 %                                                     | 101       |
| <b>Angelman syndrome</b>                          | UBE3A (and others)                   | >40 %                                                     | Rare                                                      | 102,103   |
| <b>16p11 deletion</b>                             | Unknown                              | High                                                      | Cirka 1 %                                                 | 20,35,44  |
| <b>22q deletion</b>                               | SHANK3                               | High                                                      | Cirka 1 %                                                 | 21,22,104 |
| <b>Cortical dysplasia-focal epilepsy syndrome</b> | CNTNAP2                              | Circa 70 %                                                | Rare                                                      | 37        |
| <b>Fragile X syndrome</b>                         | FMR1                                 | 25 % af mænd; 6 % af kvinder                              | 1-2 %                                                     | 105       |
| <b>Joubert syndrome</b>                           | Several loci                         | 25 %                                                      | Rare                                                      | 106       |
| <b>Potocki-Lupski syndrome</b>                    | Chromosome position 17p11            | Cirka 90 %                                                | Unknown                                                   | 107       |
| <b>Smith-Lemli-optiz syndrome</b>                 | DHCR7                                | 50 %                                                      | Rare                                                      | 108       |

|                           |              |                                  |             |     |
|---------------------------|--------------|----------------------------------|-------------|-----|
| <b>Rett syndrome</b>      | MECP2        | Alle individer har retts syndrom | Cirka 0,5 % | 109 |
| <b>Timothy syndrome</b>   | CACNA1C      | 60-80 %                          | Unknown     | 24  |
| <b>Tuberous sclerosis</b> | TSC1 og TSC2 | 20 %                             | Cirka 1 %   | 110 |

Tabel 1: (26) – Tabel over de mest forekomne syndromer, og hvilke gener der er associeret med syndromet.

Hvis man for eksempel ser på Tuberous sclerosis, ved vi, at dette er en mutation i generne TSC1 og TSC2, og her har 20 % der har tuberous sclerosis også ASD, men tuberous sclerosis findes kun i 1 % der er diagnosticeret med autisme, hvilket viser, at de er en sjælden grund til autisme. Denne tabel giver derfor idéer til hvad der kan være årsagen til autisme.

### 2.3. Andre årsager til autisme

Når man taler om autisme og prøver at finde årsager, ser man meget på herebiliteten; hvor genetisk noget er, og om der kan være andet, der spiller ind. Har man fundet en kromosomafvigelse hos et barn, kan det nogen gange være nødvendigt efterfølgende at foretage en kromosomanalyse af forældrene for at afklare betydningen af barnets kromosomafvigelse. Man undersøger herved, om barnets kromosomafvigelse er nedarvet og i givet fald om barnets kromosomafvigelse er helt den samme som forældrenes. For eksempel kan det undersøges om en af forældrene har en balanceret translokation, som har ført til en ubalanceret translokation hos barnet. (27)

Der findes monogene og polygene sygdomme. Monogene er forårsaget af en defekt af et enkelt gen. Teoretisk set er der i alle ca. 20.000 gener i mennesket mulighed for forekomsten af monogene sygdomme i hvert enkelt gen. Miljøfaktorer ved polygene sygdomme spiller en større rolle, end ved monogene sygdomme. Polygene sygdomme er hyppigt forekommende, og er sygdomme som f.eks. blodtryksforhøjelse, hjertekarsygdomme, skizofreni og maniodepressiv psykose. (27)

Set på autisme er det i nogle tilfælde et enkelt gen der skyldes autisme, og i nogle er det en kombination af gener og udviklingsprocessen, der afgør risikoen for autisme. Der er 200-400 gener man har fundet der kan forårsage autisme, hvilket også gør, at det er sådan et stort spektrum af forstyrrelser.

Autisme kan have forskellige miljømæssige årsager:

- Hvis kvinden har et forhøjet testosteron niveau under graviditeten
- Hvis man kommer i kontakt med en bestemt form for plastik som nogle lejetøjsfabrikanter bruger som indeholder tallater
- Hvis den gravide ikke får nok D-vitamin
- Hvis man får mæslinger som kan angribe hjernen
- Hvis man er ude for iltmangel under fødslen
- Hvis man har nedarvet det monogent
- Faderen alder – en høj alder af faderen ved undfangelsen af barnet.
- Når barnets hjerne i moderen udvikles, at udsættelse af bestemte agenter kan øge chancen
- Hvis for eksempel moderen har epilepsi, og tager valproic acid som medicin under graviditet, øger det risikoen.

Dog er det ikke disse ovenstående ting alene der forårsager autisme, men en kombination mellem disse, og med en genetisk sårbarhed. Man kan være genetisk disponeret for at få det, og løber man så ind i en af disse ovenstående miljøfaktorer, kan det fremprovokere autisme. (27)

## Kapitel 3

### 3.1. Teknikker

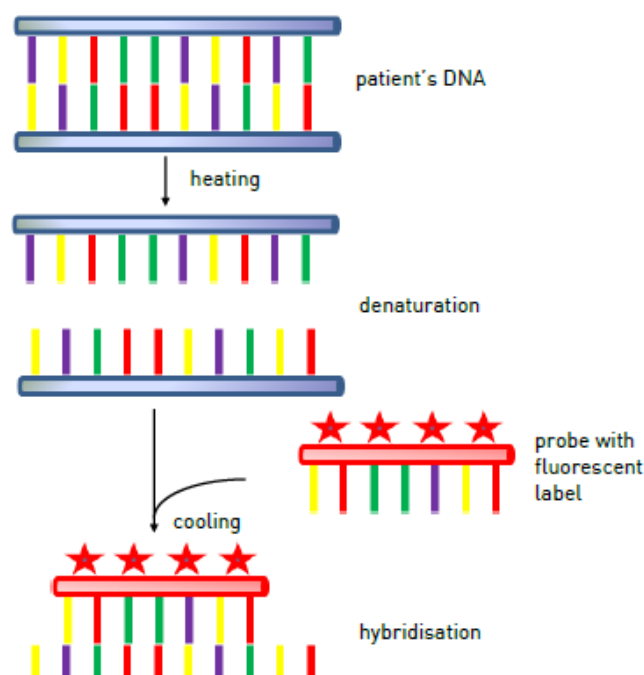
Det er i dag muligt ved hjælp af forskellige teknikker at undersøge for autisme og endda hvilken form for autisme der er tale om. FISH og aCGH bruges på hospitaler, hvorimod SNP arrays bliver brugt til forskning og til diagnostik. Man starter i dag oftest ud med et spørgeskema, såsom Social Responsiveness Scale (SRS), ADOS og Autism Spectrum Screening Questionnaire (ASSQ).

#### 3.1.1. FISH

Ved hjælp af FISH, *fluorescens in situ-hybridisering* kan man undersøge en patient for kromosomafvigelser på et niveau almindelige kromosomanalyser ikke kan vise (28).

Man bruger prober, som er tilsat en fluorescerende farve. Disse er komplementære til specifikke steder på kromosomer. Det sker ved at DNA'et bliver varmet op, hvilket gør, at patientens to DNA deles fra hinanden da bindingerne mellem dem ødelægges. Dette gør at det nu er muligt for proben at hybridisere til deres komplementære sekvens i patientens DNA. Dette fluorescerende stof lyser når det opdager den specifikke region på et kromosom, hvilket man kan se i fluorescensmikroskopet. (16)

Hvis der er en lille deletion i den region der er komplementær til proben, vil den ikke hybridisere. Hvis der er en duplikation, vil mere af proben hybridisere.



**FIGUR 9 - DNA FRA PATIENTEN DENATURERES. DEN FLUORESCENSMÆRKEDE PROBE BINDER SIG TIL DET KOMPLEMENTÆRE STYKKE DNA.**

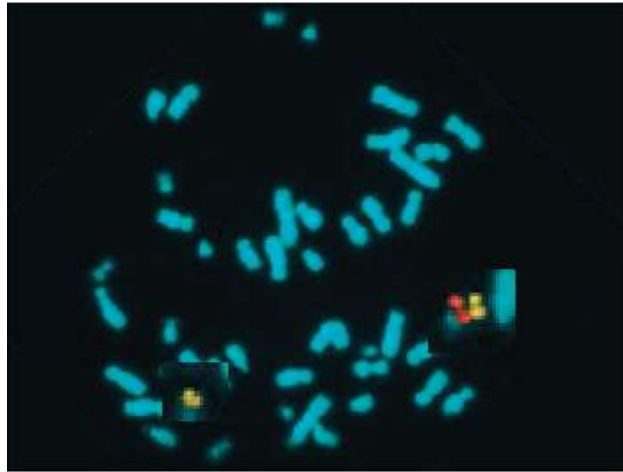


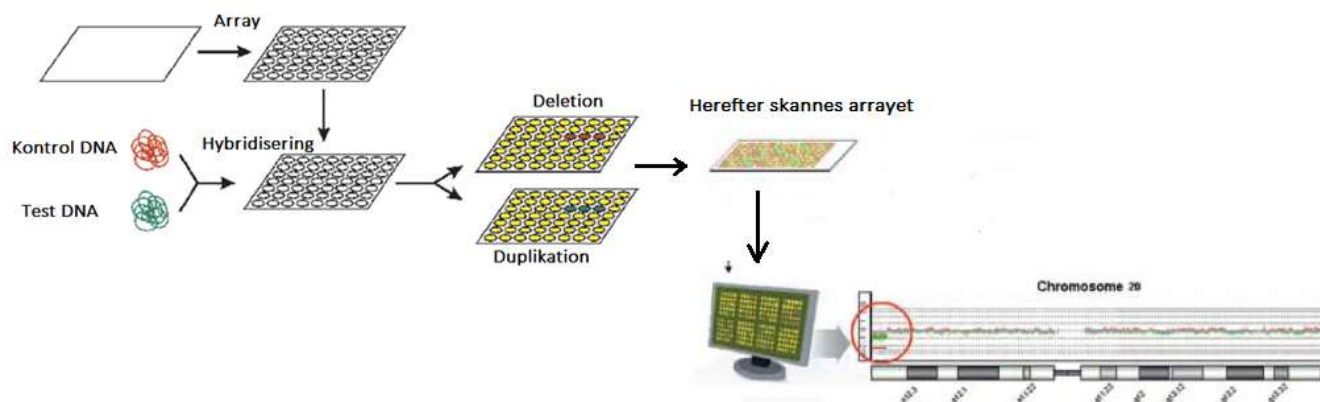
FIGURE 10 - FISH I ET MIKROSKOP

Her ses FISH med en probe på kromosom 22(q11.2) og en kontrolprobe. Kontrolgruppen ses til venstre. De gule signaler er kontrolsignaler, så de to kromosomer 22 ligger hver for sig. Det ene kromosom 22 mangler signaler svarende til området q11.2 (røde signaler). FISH viser altså, at der er en deletion af dette område.

Laver man FISH på kromosomerne fra forældre og fra barn, kan man demonstrere at de er de novo.  
(29)

### 3.1.2. CGH-array

Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH) er en udvidet kromosomanalyse, der er lidt mere avanceret end en almindelig kromosomanalyse, da man i denne kan se copy number variations (CNV) i hele kromosomet på et submikroskopisk niveau, for at kunne analysere ubalancer i genomet, hvor både mikroduplikationer og mikrodeletioner kan ses.



**FIGURE 11 - FREMGANGSMÅDE AF CGH-ARRAY**

For at lave analysen, bruges DNA fra to personer; kontrol DNA (fra en person med normale kromosomer), som mærkes med rød fluorescens farve, og test DNA (fra den person man undersøger), som mærkes med grøn. Kontrol og test DNA hybridiseres sammen til et præparat med flere tusinde små stykker DNA, som er 60 baser lange, og kaldes prober. Farveintensiteten aflæses maskinelt og afspejler forholdet mellem mængden af kontrol DNA og test DNA. Deletion (mangel på kromosommateriale) viser sig ved forholdsvis mest rød farve, og duplikation (fordobling af kromosommateriale) viser sig ved forholdsmæssigt mest grøn farve. Eftersom den præcise kromosom-lokalisation af arrayets flere tusinde DNA fragmenter på forhånd er kendt, kan deletionens eller duplikationens størrelse og beliggenhed hermed også aflæses. (30)

Når prøverne er blevet farvet, blandes de og pipetteres ned på det såkaldte array for nu at kunne analyseres. (31) Her skal man være kritisk over for kromosomale ubalancer, da de kan være normale variationer. Kromosomafvigelse påvist med array CGH kan beskrives med stor nøjagtighed ved rørende lokalisation og involverede gener. Man kan nemlig se på computeren også, en tabel som ses på figuren nederst til højre, hvor de er over den normale linje for duplikationer, og under ved deletioner. Her kan man også se hvilke kromosomer der er tale om.

Siden 2007 har Klinisk genetisk afdeling på Odense Universitetshospital lavet CGH-array analyser til påvisning af små kromosomale rearrangementer specielt hos børn med medfødte misdannelser. Afdelingen lavede 142 array analyser i 2008. Analysen er forholdsvis ny og der er begrænsede erfaringer på området, så afdelingen samarbejder tæt med centre i England om den fortsatte udvikling, uddannelse

og kvalitetssikring. (32) I 2010 havde afdelingen efter 1 år undersøgt 236 patienter, hvor der er fundet 114 patienter med kromosomafvigelser, som er fundet egnet til yderligere udredning. (30)

Der er også noget der hedder WES (whole exome sequencing) – her ser man på point mutations i stedet for CNV'er. Point mutationer er når man for eksempel har en frekvens der ser således ud: ACGT → ACTT så kan vi se at den tredje er muteret, nogle gener er muteret oftere ved autister end ved normale børn, og det er disse man kigger på. Disse CNV'er kan være de novo, eller de kan komme fra forældrene, derfor testes forældrene også med denne metode.

FISH og CGH-array er de metoder man bruger på hospitalerne. Udover disse er der en metode man bruger forskningsmæssig kaldet SNP array. Det er en forskningsbaseret screeningsmetode til påvisning af polymorphism i en population. En SNP-array anvendes til at danne en karyotype ved hjælp af computerteknologi til at bestemme kopi -allet af hver SNP på arrayet og derved justere SNP i en kromosom rækkefølge. Endvidere kan denne type af analyse anvendes til at undersøge tab af heterozygositet. Tab af heterozygositet opstår, når en allel af et gen muteres, så de to alleler på et kromosompar bliver ens, og bliver homozygot. (33)

Når man arbejder med CGH-array er det vigtigt at være kritisk. Der kan være CNV'er den viser, som ikke betyder at have nogen betydning for helbredet, og laver man analyser på for eksempel 100 børn, der har autisme, og analysen kan give en genetisk diagnose på 15 af dem ud fra de genetiske mutationer man ser, kan man se at miljøkomponenten er vigtig.

### 3.2. Clinical action

Når et barn er får diagnosen autisme spektrum forstyrrelse, får forældrene tilrettelagt et program og en behandling, der er skræddersyet til deres barn, da ASF er en sygdom i et stort spektrum, og der er derfor forskellige behandlingsmetoder. Behandlingsforløbet er fokuseret på de psykopatologiske forstyrrelser, som de tilhørende associerede symptomer og komorbiditet.

I løbet af den behandling der er lagt for barnet, holdes der samtaler, psykoedukation og forældretræning (34). Psykoedukationen er vigtig for forældrene, da de får et netværk til andre i samme situation, og her kan man høre andres erfaringer og blive klogere på emnet. Samtidigt får de i psykoedukationen mulighed for at lære at analysere adfærd og håndtere stress og følelser.

Barnet kan gå igennem en pædagogisk-psykologisk indsats, hvilken har til formål at få barnet med ASF mulighed for at udvikle sig og lære at blive så selvstændige i hverdagen som muligt, og tilegne sig nye færdigheder. Andre metoder som indlærings- og adfærdsterapeutiske metoder og kognitiv adfærdsterapi som er en form for psykoterapi har ifølge nogle studier vist en positiv effekt på intelligenskvotienten, sproget og adfærden. (35)

Hvad angår medikamentel behandling af ASF, er der endnu ingen specifik behandling. Dette skyldes blandt andet for små og få studier af ASF. (36) Man har prøvet at behandle komorbiditet - for eksempel de sociale vanskeligheder med nogle forskellige lægemidler kaldet centralstimulantia og antipsykotika, og i nogle tilfælde har man ses positive effekter, hvorimod disse positive effekter ikke kan genfindes i andre studier. (37) Man har også prøvet at behandle den ritualiseret, tvangspræget adfærd med SSRI (fluoxetin) hvor der også i nogle studier er vist positiv effekt, hvor der også i andre studier ikke har vist nogen effekt. (38).

Der findes dog medikamentel behandling mod de psykiatriske komorbiditeter, som psykoser, depression og epilepsi. Man behandler ADHD-symptomer med centralstimulantia, men her er behandlingseffekten dårligere for ASF-gruppen end grupper der kun har ADHD (39). Aggressivitet på ASF børn fra 6 års alderen bliver primært behandlet med risperidon – dette er nemlig det eneste antipsykotikum i Danmark der er godkendt til behandling af aggressivitet. Dette har dog bivirkninger. (40)(41) Hvis risperidon ikke har

nogen effekt, behandler man med antiepileptika-valproat, SSRI og klonodin. Ved søvnforstyrrelser bruges melatonin, der er god evidens i forhold til effekt på "sleep onset latency" (42)

### 3.3. Diagnostisk udbytte

Man er i dag begyndt at blive mere opmærksom på autisme diagnosen og dets symptomer, hvilket er en fordel. Jo tidligere man bliver diagnosticeret med autisme spektrum forstyrrelsen, jo tidligere kan man komme i gang med behandlingsforløbet, og man undgår blandt andet at blive placeret i fejlinstitutioner.

Forskerne ser i dag at se på, om der er en sammenhæng mellem kognitive forstyrrelser og autisme, for at se om det ville være en god idé at vælge at lave CGH-array som man hidtil har gjort, eller om man skal udvælge en gruppe, eller om man skal lave det på alle autister. Grunde til at udvælge i kategorier kunne være hvis der er genetiske sammenhænge, og for at man kan spare penge.

Da man visuelt kan se en mental retardering, burde kategorier som disse få en test, men af restantallet af patienter som har abnormale kromosomafvigelser, kunne man vurdere hvem man bør udvælge, og om man i det hele taget bør udvælge nogle. Her kunne man se på genetiske sammenhænge mellem autisme og eksempelvis epilepsi.

Ser man for eksempel på autisme med epilepsi som kognitiv forstyrrelse, har man i et studie fra 2010 set på en patient, med epilepsi i en mild form, kombineret med autistiske træk. Det bedste kandidat gen for epilepsi i patienten er SLC4A10, som er et transporter gen. SLC4A10 er i et andet studie blevet fundet hos en patient med psykisk svækkelse som en balanceret translokation, og er også blevet fundet som delvist deleted ved autisme. (29)

I et andet studie fra 2011 har man set på, om der er en sammenhæng mellem CGH resultaterne og kognitivitet, anfald, misdannelser og opførsel, for at se om man burde udvælge en bestemt kategori, her var resultatet negativt (45). I et studie i Canada på CHUM research centre er der blevet fundet en genetisk sammenhæng mellem autisme og epilepsi – en mutation på synapsin genet, SYN1.

## Kapitel 4

### 4.1. Diskussion

Det er i dag nødvendigt at finde ud af præcis hvilken form for autisme og med hvilke kognitive forstyrrelser der hører til for tilrettelægge et program med de rette interventioner. Dette ser man på, på baggrund af barnets genetik og andre relaterede fænotyper og biomarkører.

I dag starter man screeningsprocessen ved hjælp af et interview i form af et spørgeskemaanalyse. Så snart man får en mistanke om autisme, hvad enten det er pædagogen, forældrene, skolesygeplejersken eller andre tæt på barnet, bør man starte screeningsprocessen, da jo tidligere man får stillet diagnosen, jo bedre et liv har man mulighed for at få, da man kan forberede sig på forskellige ting, som at prøve at få ændret tanke- og adfærdsmønstre hos barnet, og man kan begynde i behandling af de eventuelle tilhørende syndromale lidelser.

De brugte afvigelsesapparater man bruger er kromosomanalyser, CGH-arrays og FISH. Disse er dog ikke altid i stand til præcis at kunne identificere en misdannelse. Hvis man for eksempel ser på CGH-array kan der vise sig CNV-afvigelser, som ikke har nogen betydning. Det kommer meget an på hvilket kromosom man kan se der er en afvigelse på. Man har kunnet se en gentagelse af afvigelser ved duplikation på kromosom 15q, 16p11 deletion, 22q deletion med flere.

Fordelene ved at lave CGH-array analyser på alle autister er, at det er en stor hjælp for patienten for at man slipper for en diagnostisk odysseé hvor man skal igennem den ene hospitalsafdeling efter den anden for at finde ud af hvad man fejler. Analyserne er dog dyre for samfundet. De koster cirka 10.000 pr. analyse pr. person, hvilket gør det for dyrt at lade alle autister lov at få taget en sådan test. Derudover får man ofte taget samme test af forældrene for at se om det er nedarvet eller om det er en nyopstået mutation.

Der er både vist positive og negative studier af genetiske sammenhænge mellem epilepsi og autisme, og i et andet studie viser det, at man ikke kan se en sammenhæng mellem CGH-array og kognitivitet, og kan man ikke finde noget specifikt på dem, er det svært at udvælge nogle, og derfor ville det være en mulighed at lave det på alle autister, ulempen her er dog, at det vil være meget dyrt for samfundet,

men kan dog blive billigere i fremtiden. Formålene er, at børn får deres diagnose, derfor kan forældrene vejledes og får en behandlingsvej, og barnet behøver ikke komme igennem en masse undersøgelser på en masse forskellige hospitalsafdelinger for at finde ud af hvad de fejler.

## 4.2. Konklusion

Dette medicinalprojekt har taget udgangspunkt i litteratur omhandlende autisme spektrum forstyrrelser og screening med CGH-array og FISH. Efter research på området er der både fundet positive og negative studier af genetiske sammenhænge mellem epilepsi og autisme, og i et andet studie viste det, at man ikke kan se en sammenhæng mellem CGH-array og kognitivitet, og kan man ikke finde noget specifikt på dem, er det svært at udvælge nogle, og derfor ville det være en mulighed at lave det på alle autister.

## 4.3. Perspektivering

For at forbedre studierne af autisme kunne man forsøge at forøge populationen med omkring 10 gange, hvor man indtil videre har lavet studier på omkring 1000-1500 familier, men studier i andre sygdomsstudier måske har en population på 10.000. Man har udarbejdet en liste af genmutationer, der er stærkt associeret med autisme, men her skal laves en masse flere studier med en større population for at se om disse mutationer virkelig påvirker strukturen og funktionen af proteinet, og man kan kigge på hvad der er fælles ved de her gener. Udover dette kan man gå mere i dybden med de genetiske overlap mellem autisme og de neuropsykiatriske sygdomme, som for eksempel skizofreni, og se på hvordan de hænger sammen.

Epigenetik er også et emne man kan forske dybere i, men dette er meget vævsspecifik, og det er svært at få fat i hjernevæv fra patienterne. Måske i fremtiden vil det være muligt, hvorimod man indtil nu har taget blodprøver fra patienter for at se, om der er noget galt med gen ekspressionen i blodcellerne. Man har arbejdet med en reprogrammering af disse blodceller, på den måde, at man udtager blodcellerne, reprogrammerer dem til pluripotente stamceller og reprogrammere disse til neuralceller, således, at man ikke har neural celler fra selve hjernen, men omdannede blodceller, der er transformeret til neuroner og på den måde kan man studeret neuronerne for at se hvad der sker.

Whole genome sequencing er noget man kan bruge flere kræfter på, hvor man ser på de protein kodende regioner. Det er dog også vigtigt at kigge på de ikke kodende regioner som promoterregionen, splejsningssignaler og andre områder, der er involveret i gen ekspression.

#### 4.4. Referencer

1. Gillberg C. The ESSENCE in child psychiatry: Early Symptomatic Syndromes Eliciting Neurodevelopmental Clinical Examinations. *Res Dev Disabil.* 2010;31(6):1543–51.
2. Miles JH. Autism spectrum disorders--a genetics review. *Genet Med.* 2011;13(4):278–94.
3. Landsforeningen Autisme: Hvad er autisme [Internet]. 2017-04-02. 2017 [cited 2017 Apr 2]. Available from: <http://www.autismeforening.dk/autismeForening.aspx?linkId=1>
4. Odensevej S. en kompleks autismespektrumforstyrrelse -.
5. DiGuseppi C, Hepburn S, Davis JM, Fidler DJ, Hartway S, Lee NR, et al. Screening for autism spectrum disorders in children with Down syndrome: population prevalence and screening test characteristics. *J Dev Behav Pediatr.* 2010;31(3):181–91.
6. Boyle L, Kaufmann WE. The behavioral phenotype of FMR1 mutations. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet.* 2010;154(4):469–76.
7. Børne- og ungdomspsykiatri RF Psykotiske tilstande med komorbide udviklingsforstyrrelser og svært udadreagerende patienter Regionsfunktion Psykotiske tilstande med komorbide udviklingsforstyrrelser ( mental retardering , autismespektrumlidelser ) og svært. :84.
8. Jørgensen M, Sørensen EU, Lauritsen M. Landsdækkende klinisk retningslinje vedrørende udredning og behandling af autismespektrumforstyrrelser / gennemgribende udviklingsforstyrrelser. 2014;10(august).
9. Malan V, Chevallier S, Soler G, Coubes C, Lacombe D, Pasquier L, et al. Array-based comparative genomic hybridization identifies a high frequency of copy number variations in patients with syndromic overgrowth. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(2):227–32.
10. Acuna-Hidalgo R, Veltman JA, Hoischen A. New insights into the generation and role of de novo mutations in health and disease. *Genome Biol* [Internet]. 2016;17(1):241. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27894357>
11. Bailey A, Luthert P, Dean A, Harding B, Janota I, Montgomery M, et al. A clinicopathological study of autism. *Brain.* 1998;121(5):889–905.
12. Palmen SJMC, Palmen SJMC, van Engeland H, van Engeland H, Hof PR, Hof PR, et al. Neuropathological findings in autism. *Brain.* 2004;127(Pt 12):2572–83.
13. Konopka G, Becker EBE, Stoodley CJ. Autism Spectrum Disorder and the Cerebellum. In: *International Review of Neurobiology* [Internet]. 2013. p. 1–34. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124187009000010>
14. Jolliffe T, Baron-Cohen S. A test of central coherence theory: Linguistic processing in high-functioning adults with autism or Asperger syndrome: is local coherence impaired? *Cognition.* 1999;71(2):149–85.
15. Sygehus A, Hospital ST. Kromosomtranslokationer Information til patienter og familier. 2009;(512148).
16. Instituttet K. Sjældne kromosomafvigelser.
17. Vogel AU. Små genetiske variationer mennesker imellem – hvad betyder de ( t )? Sekventeringen af det humane genom har forårsaget en voldsom stigning i forskning i. 2001;34–5.

18. Tavassoli T, Auyeung B, Murphy LC, Baron-Cohen S, Chakrabarti B. Variation in the autism candidate gene GABRB3 modulates tactile sensitivity in typically developing children. *Mol Autism* [Internet]. 2012;3(1):6. Available from: <http://molecularautism.biomedcentral.com/articles/10.1186/2040-2392-3-6>
19. Isa A, Kirk K, Kristina I, Academy B. Immunologisk Bioinformatik Et undervisningsmateriale til de danske gymnasier.
20. Kwok P-Y. Single Nucleotide Polymorphisms [Internet]. Vol. 212, *Methods in Molecular Biology*. 2002. 1-269 p. Available from: <http://link.springer.com/10.1385/1592593275>
21. Tammimies K, Marshall CR, Walker S, Kaur G, Thiruvahindrapuram B, Lionel AC, et al. Molecular diagnostic yield of chromosomal microarray analysis and whole-exome sequencing in children with autism spectrum disorder. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2015;314(9).
22. AlSagob M, Colak D, Kaya N. Genetics of autism spectrum disorder: An update on copy number variations leading to autism in the next generation sequencing era. *Discov Med* [Internet]. 2015;19(106):367–79. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84940550704&partnerID=tZOtx3y1>
23. Ozonoff, S., Young, G. S., Carter, A., Messinger, D., Yirmiya, N., Zwaigenbaum, L., Bryson, S., Carver, L. J., Constantino, J. N., Dobkins, K., Hutman, T., Iverson, J. M., Landa, R., Rogers, S. J., Sigman, M., & Stone WL. Recurrence Risk for Autism Spectrum Disorders: A Baby Siblings Research Consortium Study. *Pediatrics*. 2011;128(3):488–95.
24. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, et al. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol Med* [Internet]. 1995;25(1):63. Available from: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0033291700028099](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0033291700028099)
25. Hallmayer J. Genetic Heritability and Shared Environmental Factors Among Twin Pairs With Autism. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2011;68(11):1095. Available from: <http://archpsyc.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archgenpsychiatry.2011.76>
26. Abrahams BS, Geschwind DH. Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2008;9(6):493–493. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrg2380>
27. Clinical U, My S, Your CN V, If CN V, Significance UC. SNP Microarray Testing Results.
28. Unique. Fluorescence in situ hybridisation ( FISH ). *Rarechromo*. 2013;
29. Krepischi ACV, Knijnenburg J, Bertola DR, Kim CA, Pearson PL, Bijlsma E, et al. Two distinct regions in 2q24.2-q24.3 associated with idiopathic epilepsy. *Epilepsia*. 2010;51(12):2457–60.
30. Ouh A. Array-CGH på OUH. 2010;(november):20–3.
31. Fridlyand J, Snijders AM, Pinkel D, Albertson DG, Jain AN. Hidden Markov models approach to the analysis of array CGH data. *J Multivar Anal*. 2004;90(1 SPEC. ISS.):132–53.
32. Vedr RS. Specialeansøgning Region udbyder : Region Syddanmark. 2009;
33. Nava C, Keren B, Mignot C, Rastetter A, Chantot-Bastaraud S, Faudet A, et al. Prospective diagnostic

analysis of copy number variants using SNP microarrays in individuals with autism spectrum disorders. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2014;22(1):71–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23632794>

34. Agency for Health Care Reserach and Quality “AHRQ.” Therapies for children with autism spectrum disorders. *Am Fam Physician* [Internet]. 2011;85(9):1–4. Available from: <http://effectivehealthcare.ahrq.gov/index.cfm/search-for-guides-reviews-and-reports/?productid=709&pageaction=displayproduct>
35. Howlin P, Magiati I, Charman T. Systematic Review of Early Intensive Behavioral Interventions for Children With Autism. *Am J Intellect Dev Disabil* [Internet]. 2009;114(1):23–41. Available from: <http://www.aaddjournals.org/doi/10.1352/2009.114%3A23-41>
36. McPheeters ML, Warren Z, Sathe N, Bruzek JL, Krishnaswami S, Jerome RN, et al. A Systematic Review of Medical Treatments for Children With Autism Spectrum Disorders. *Pediatrics* [Internet]. 2011;127(5):e1312–21. Available from: <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/doi/10.1542/peds.2011-0427>
37. Jahromi LB, Kasari CL, McCracken JT, Lee LS, Aman MG, McDougle CJ, et al. Positive effects of methylphenidate on social communication and self-regulation in children with pervasive developmental disorders and hyperactivity. *J Autism Dev Disord* [Internet]. 2009;39(3):395–404. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18752063>
38. Hollander E, Phillips A, Chaplin W, Zagursky K, Novotny S, Wasserman S, et al. A Placebo Controlled Crossover Trial of Liquid Fluoxetine on Repetitive Behaviors in Childhood and Adolescent Autism. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2005;30(3):582–9. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/sj.npp.1300627>
39. Murray MJ. Attention-deficit/hyperactivity disorder in the context of autism spectrum disorders. Vol. 12, *Current Psychiatry Reports*. 2010. p. 382–8.
40. R.P. M, G. M, M.S. C, C. G. Risperidone Treatment in Children and Adolescents with Autism: Short- and Long-Term Safety and Effectiveness [Internet]. Vol. 41, *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 2002. p. 140–7. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed5&NEWS=N&AN=2004122746>
41. Troost PW, Lahuis BE, Steenhuis M-P, Ketelaars CEJ, Buitelaar JK, van Engeland H, et al. Long-Term Effects of Risperidone in Children With Autism Spectrum Disorders: A Placebo Discontinuation Study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* [Internet]. 2005;44(11):1137–44. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890856709622164>
42. Malow B, Adkins K, McGrew S, Wang L, Goldman S, Fawkes D, et al. Melatonin for Sleep in Children with Autism: A Controlled Trial Examining Dose, Tolerability, and Outcomes... [corrected] [published erratum appears in *J AUTISM DEV DISORD* 2012; 42(8):1738]. *J Autism Dev Disord* [Internet]. 2012;42(8):1729–37. Available from: <http://www.nclive.org/cgi-bin/nclsm?url=%22http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=c8h&AN=2011617711&site=eehost-live%22>

43. Email korrespondence med Asuman Zeynep – forsker i kromosom mikroarray på Rigshospitalet
44. Interview med Niels Bilenberg på Odense universitetshospital fredag d. 28. april
45. Diagnostic yield of chromosomal microarray analysis in an autism primary care practice: Which guidelines to implement? 2011