



中国科学院大学

University of Chinese Academy of Sciences

研究生文献综述报告

综述题目 识别和阐明自闭症谱系障碍

病理学机制的研究进展

学生姓名 刘可钦 学号 20202801923006

指导教师 孔祥银 职称 研究员

学位类别 理学硕士

学科专业 遗传学

研究方向 疾病易感基因识别和功能研究

培养单位 中科院上海营养与健康研究所

填表日期 2021 年 10 月 27 日

中国科学院大学制

识别和阐明自闭症谱系障碍病理学机制的研究进展

摘要 (Abstract): 自闭症谱系障碍 (ASD) 是一种神经发育障碍 (NDD), 被定义为社会交流和社会互动的障碍, 并伴有患者的重复行为和兴趣受限。ASD 在临床和病因上表现出了明显的异质性, 这为诊断带来了障碍, 同时, 也使得阐明导致其发病的生物学机制变得极其困难。现在, 以大规模人类基因组研究为形式的大数据方法已经使 ASD 的遗传学和病理学取得了惊人的进展。这篇综述回顾并讨论了潜在的自闭症谱系障碍预测与诊断方法, 并概述了这些方法的基本原理、应用潜力与未来挑战。这篇综述同时提出了基于大量的基因组数据识别和阐明 ASD 的方法, 并对其研究前景做出了简要展望。

关键词 (Keywords): Autism Spectrum Disturbances, Early diagnosis, Large Genomic Datasets

1 自闭症谱系障碍预测与诊断方法研究背景

自人类历史有记载以来, 人类社群就倾向于排斥或忽视那些在身体或精神层面偏离正常标准的人。这一倾向多数来自社群内部并无科学依据的神话和信仰, 以及未知本身。自闭症谱系障碍患者因其独特的神经发育与古怪的言行举止, 曾经被视为这类边缘人群中的一部分。而自闭症本身也被视为是一种具有极端多变表型的神经发育综合征, 从而被认为是人类发展的障碍。事实上, 自闭症谱系障碍 (Autism Spectrum Disturbances, ASD) 是一种早发性的神经发育障碍, 其特点是大脑功能紊乱和行为缺陷, 核心症状是互惠社会化受损, 沟通技能受损, 以及重复或限制性兴趣和行为。其症状一般开始于儿童早期, 并持续到成年, 严重影响患者的正常生活 (Mattila et al. 2011)。这种终生疾病是全世界发展最快的发育障碍之一, 其中男性患者比女性多出 4 倍, 其发病率仍在以惊人的速度增长 (Zablotsky et al. 2015)。2005 年前的大规模调查估计发病率约为 1-2%。美国疾病控制和预防中心 (CDC) 在 2013 年指出, 每 68 个美国儿童中就有一个患有 ASD (Blumberg et al. 2013)。而美国国家卫生统计中心 (NCHS) 在 2014 年进行的全国健康访谈调查发现, 每 45 名 3 至 17 岁的儿童中就有 1 名被诊断为自闭症 (Christensen et al. 2018)。现在, 随着 ASD 发病率在人群中日渐上升, 而确诊患者仍然缺少有效的治疗药物, 同时对患者进行教育和护理的高昂成本正在成为患者家庭的严重经济负担, 这种神经发育谱系障碍正在成为公共卫生领域的一个焦点问题 (Jobski et al. 2017)。

显然, ASD 是一种复杂的异质性疾病, 其发病由遗传、神经、免疫和环境因素相互作用而共同导致 (Matelski and Van de Water 2016), 同时也具有高度复杂的遗传性, 因为罕见和常见的遗传变异都会导致 ASD 风险 (Lai, Lombardo, and Baron-Cohen 2013), 这为 ASD 的基因预测和基因诊断提供了理论基础。但是, 由于 ASD 的遗传异质性和复杂性、以及行为特征和认知特征的巨大差异使得定义特定的遗传风险成分具有挑战性 (Yoo 2015)。因此, 尽管最近的科学进展揭示了 ASD 的分子因子和生物机制, 有助于发现和验证其致病基因 (Geschwind and State 2015), 但确切的致病因素和基因互作网络仍然难以捉摸, 也没有出现关于 ASD 分子病理学的统一假说, 这也导致对尚未表现出明显症状的 ASD 患者进行基因预测和诊断较为困难 (Diaz-Beltran et al. 2017)。但是, 一些大规模的临床研究已经证实了与 ASD 相关的高并发症率。这些合并症代表了额外的疾病负担 (Leyfer et al. 2006)。事实上, 约有 70% 以上被诊断为自闭症的人同时患有其他医学疾病, 其频率明显高于神经发育正常谱系人群 (Lai, Lombardo, and Baron-Cohen 2013)。其中一些疾病, 如癫痫或抑郁症, 可以在 ASD 患者的青春期甚至生命后期首次出现, 加重了对患者终身的损害。据报道, 近 45% 的自闭症患者同时受到智力障碍的影响, 28-44% 被诊断为注意力缺陷多动症, 12-70% 有临床抑郁症, 8-30% 的 ASD 患者有癫痫, 42-56% 有焦虑症, 9-70% 表现为胃肠道问题 (Lai, Lombardo, and Baron-Cohen 2013)。考虑到 ASD 症状与许多其他人类疾病的高共病率——无论是神经性的还是非神经性的——这就提出了一个可检验的假设: 与自闭症共同发病率较高的疾病可能与 ASD 有许多共同的基因, 这导致它们涉及的生物学过程也有重

叠。因此,检测存在于 ASD 和几种并发疾病之间的关键基因可能有助于破译共同的分子机制以及潜在的共同的病理生理学,并最终在理解自闭症病因方面提供巨大帮助。

此外,在过去的二十年里,医疗数据的产生、获取和存储都有了显著的增长。尽管针对 ASD 的研究还没有像其他领域那样充分利用“大数据”;然而,在简单、经济的数据收集和分析方面的进步可能很快就会使这成为现实。近年来,人工智能(artificial intelligence, AI)作为一种有前途的替代技术得到了发展。人工智能是建立在人脑的生物网络基础上的,它涵盖了通过模仿人类智能来执行认知功能的广泛技术。人工智能已经在其他领域(例如,工程、商业和日常应用)已经显示出了可喜的结果,如今正在被越来越多地被纳入医疗保健领域(Jiang et al. 2017; Yu, Beam, and Kohane 2018)。人工智能研究中最常用的子领域之一是机器学习(machine learning, ML)。现在,ASD 的高患病率和异质性使得一些研究人员转向机器学习而不是传统的统计学方法进行数据分析(Hyde et al. 2019)。考虑到当前针对 ASD 的主流诊断方法仍然是基于观察和访谈的患者行为评估量表,这使得 ASD 的可靠诊断几乎不可能在患者三岁之前做出,事实上,ASD 患者接受诊断的平均年龄在 38 至 120 个月之间(A. M. Daniels and Mandell 2014);更为重要的是,ASD 是一个广泛的神经发育谱系障碍,这使得患者症状具有极强的个体差异性,据报道,许多没有明显智能障碍的女性患者往往要等到成年后才能够被确诊,这使得她们错过了儿童行为干预疗法的最佳时期(Camm-Crosbie et al. 2019),而基于人工智能的预测诊断方法具有提前预测 ASD 诊断的潜力,同时也可作为主流诊断方法的参考,使其做出更为准确的诊断。因此,基于患者遗传变异识别的 ASD 预测算法是值得深入研究的一个课题,也显得十分必要和紧迫。

2 自闭症谱系障碍预测与诊断方法研究现状

根据当前已发表的文献资料,用于诊断自闭症谱系障碍患者的机器学习算法主要根据算法的训练数据集分为以下四类:基于患者行为观察数据的诊断方法、基于生物标志物的识别方法、基于神经影像学的诊断方法和基于大量的基因组数据识别和阐明 ASD 的方法。

2.1 基于患者行为观察数据的诊断方法

由于 ASD 通常可以导致患者终生社会交流和互动受损,同时伴随着一系列其他并发疾病,因此患者的家庭常常背负着巨大的医疗经济压力。事实上,如果将 ASD 的发病率考虑在内,ASD 的年度社会成本在美国估计为 2360 亿美元,在英国为 475 亿美元。不过,如今已有研究者发现,ASD 的早期诊断将会对儿童的发展结果有积极影响(Barbaro and Dissanayake 2009)。在一项为期两到三年的临床试验跟踪中,接受早期行为强化治疗的幼儿不仅在社会功能上有所提高,而且未来比接受“常规治疗”的幼儿需要更少的服务,从而节省了患儿的总体医疗费用(Zwaigenbaum and Penner 2018)。但是,实际情况是,许多 ASD 患儿获得诊断的时间往往晚于治疗的最佳介入时间(Mandell, Novak, and Zubritsky 2005),而相当一部分患者直到青年甚至成年之后也难以获得诊断。不过,许多患儿父母实际上在孩子两岁之前就对其一系列非典型的社交行为产生了担忧(A. M. Daniels and Mandell 2014)。这表明,ASD 患儿的行为数据可能具有预测发病风险与辅助诊断的潜力。

为了缩短父母的首次关注和临床诊断之间的时间差距,研究者们已经做出了巨大的努力。绝大多数针对 ASD 患者的研究都发现了其在社会交往和沟通障碍的一些先兆。对社会刺激的反应频率降低、复杂的咿呀学语、造词、手势使用和模仿频率低于同龄儿童是 ASD 患儿最常见的早期症状,这些症状往往在一岁左右出现(Osterling, Dawson, and Munson 2002)。然而,到了 18-24 个月大时,患儿与神经发育典型性儿童在社交领域的差异会变得更加明显(Johnson 2008)。目前,已有许多研究者把目光集中在 ASD 患儿表现出的早期行为症状上,希望借此发展出一套更为准确的诊断评估工具。例如,沟通和象

征行为量表发展概况婴儿/幼儿检查表 (Communication and Symbolic Behavior Scales Developmental Profile Infant/Toddler Checklist, CSBS DP) 最初是为筛查儿童沟通延迟而设计的, 但如今在筛查 ASD 患儿方面表现出了很高的敏感性 (Wetherby et al. 2008)。

但是, 当前大多数对高危患儿的行为数据研究都集中在群体比较, 而不是个人层面的分类。而鉴于 ASD 固有的异质性, 一个孩子所需的最佳的患病评估结构可能与另一个孩子的不同, 因此, 这类基于行为数据的筛查工具可能还需要更加加入更多个性化的诊断标准; 除此之外, 这类行为观察量表诊断方法仍然仅限于具备专业执照的精神病学医师使用, 而 ASD 患者一直以来都面临着医疗资源缺乏和难以获得专业诊断等问题。这也是基于患者行为数据开发诊断方法所面临的一部分挑战。不过, 总体来说, 由于当前针对 ASD 的主流诊断方法仍然是基于观察和访谈的患者行为评估量表, 这类行为数据仍然可能在预测诊断时提供较为可靠的参考。

2.2 基于生物标志物的识别方法

截止目前为止, ASD 仍然缺乏有效的治疗药物。对于 ASD 患者来说, 在生命早期开始介入的强化行为干预往往是最有效的治疗手段。但是, 患者接受 ASD 诊断的时间通常迟于治疗干预的最佳时期, 部分原因是当前主流的 ASD 诊断通常是基于识别异常行为, 而这些行为可能在患者障碍建立后才出现。因此, ASD 患者迫切需要一种能够提早确诊时间、提高诊断精度的辅助诊断手段。而生物标志物能够在 ASD 症状出现前即识别出有发病风险的儿童, 协助早期诊断, 确认行为观察, 从而根据生物标志物将患者按照谱系障碍的严重程度分为多个亚组, 并预测治疗反应。对 ASD 治疗领域而言, 基于生物标志物的 ASD 诊断识别方法将会是一个巨大的进步。

生物标志物是对生物或病理生理过程、以及对治疗干预的药理反应的客观测量 (Group et al. 2001)。目前, 根据当前已发表的 ASD 诊断相关文献, 被认为有提早诊断前景的生物标志物主要分为以下两类: 用于产前诊断的生物标志物和用于产后诊断的生物标志物。

2.2.1 用于产前诊断的生物标志物

怀孕期间的免疫激活会增加子代患 ASD 的风险。怀孕期间的病毒性和细菌性母体感染 (Patterson 2011) 会增加后代患 ASD 的风险。这一证据与 ASD 的母体免疫激活 (MIA) 小鼠模型相似, 在该模型中, 怀孕期间诱发的炎症事件导致子代出现 ASD 样行为 (Patterson 2011)。虽然小鼠模型已经确定了特定的免疫介质, 包括细胞因子, 如 IL-6 和 IL-17 (Brimberg et al. 2016), 但还没有开发出人类的生物标志物, 所以目前只有这种事件的病史可以作为识别 ASD 风险增加的生物标志物。在怀孕期间, 母体免疫球蛋白 G (IgG) 穿过胎盘, 通常是为了在胎儿期和儿童早期保护后代。然而, 特定的母体 IgG 可以针对胎儿的脑组织, 造成大脑发育的破坏。早期研究表明, 来自 ASD 患儿母亲的血清注射到猴子 (L. A. Martin et al. 2008) 和小鼠 (Singer et al. 2009) 体内时可诱发行为异常。第一项人类对照研究发现, 61 名 ASD 患儿母亲中 12% 的血浆有两条 73 和 37kDa 的蛋白带, 与人类胎儿脑组织发生反应 (Braunschweig, Ashwood, et al. 2008)。这些蛋白在 62 位有典型发育 (typically developing, TD) 后代的母亲和 40 位有发育迟缓但没有 ASD 的母亲中都没有发现。这些母体 IgG 被发现针对七个参与神经发育的胎儿蛋白, 包括乳酸脱氢酶 A 和 B、应激诱导的磷酸蛋白-1、胶原蛋白反应介质蛋白-1 和 2、鸟嘌呤脱氨酶和 Y-box 结合蛋白 (Braunschweig, Krakowiak, et al. 2013)。在一项更大的后续研究中, 246 名 ASD 患儿的母亲中有 23% 至少有这七种抗体中的两种, 而 149 名 TD 患儿的母亲中只有 1% 至少有这七种抗体中的两种。有这些抗体的母亲所生的孩子具有语言能力 (Braunschweig, Duncanson, et al. 2012) 和认知能力 (Piras et al. 2014) 较低、易怒水平 (Braunschweig, Duncanson, et al. 2012) 较高、睡眠-觉醒周期中断 (Piras et al. 2014) 和头围较大 (Nordahl et al. 2013) 等特点。

此外,一些研究者们发现 ASD 与叶酸-碳代谢 (FOCM) 和包括甲基化在内的相关途径的变化有关 (S. J. James, Melnyk, Jernigan, Cleves, et al. 2006)。有趣的是,两项研究 (S. J. James, Melnyk, Jernigan, Pavliv, et al. 2010; Hollowood et al. 2018) 发现包括 DNA 低甲基化和甲基化循环的代谢物异常在内的母亲甲基化异常与后代发展为 ASD 密切相关,其中可供定量测量的生物标志物包括血浆同型半胱氨酸、腺苷和 S-腺苷高半胱氨酸 (SAM)。然而,这些生物标志物只能确定母亲生育 ASD 儿童的风险是高还是低,而不能确定后代是否被诊断为 ASD。

尽管如此,当前大多数产检中心仅提供遗传性出生缺陷的常规筛查,主要筛查唐氏综合症 (Down syndrome, DS) 和其他三体综合症,而 DS 是唯一与 ASD 相关的常被筛查的遗传性疾病。尽管一些研究已经检查了 DS 与 ASD 之间的关系 (Oxelgren et al. 2017),但仍然没有有效的产前诊断方法被开发出来。

2.2.2 用于产后诊断的生物标志物

可被用于产后诊断 ASD 的生物标志物分为以下几类:新陈代谢生物标志物、蛋白质组学生物标志物、遗传生物标志物、神经生理学生物标志物和胃肠道生物标志物。新陈代谢生物标志物

ASD 与 FOCM 的交替有关,相关途径包括甲基化和氧化还原代谢 (S. J. James, Melnyk, Jernigan, Cleves, et al. 2006; R. Frye and S. James 2014)。这些异常会导致脂质、蛋白质和核酸的氧化损伤 (S. J. James, Melnyk, Jernigan, Cleves, et al. 2006; R. Frye and S. James 2014)。Fisher 判别分析法已被用于确定这些相关途径的生物标志物的诊断能力。在一个前瞻性的研究中,基于这一基础的诊断方案将 83 名 ASD 患者与 76 名健康对照组区分开来,准确率在 80% 以上 (Howsmon, Kruger, et al. 2017)。此后,在一项单独的验证研究中,研究者使用与上述研究类似的分类模型对三个临床试验中 154 名 ASD 患者的前瞻性非随机数据进行判别,获得了较高的准确率 (Howsmon, Vargason, et al. 2018)。蛋白质组学生物标志物

测量特定蛋白(靶向)和新型蛋白(非靶向)的技术已被应用于 ASD 患者的血液、尿液和唾液样本,但是,不同的研究展现出了并不一致的结果。对血清的非目标分析已经证明了补体 (Corbett et al. 2007)、胆固醇代谢 (Momeni et al. 2012) 和细胞凋亡蛋白 (Corbett et al. 2007) 在 ASD 发展过程中的参与。一项 (n=60) 年龄和性别匹配的病例对照非随机研究使用相对和绝对定量的同位素标签 (iTRAQ) 发现,五个蛋白质 (C3、C5、GC、ITGA2B 和 TLN1) 的组合可以区分那些有和没有 ASD 的人,其准确率高于 85%(Shen et al. 2018),但并无后续验证。遗传生物标志物

随着测序技术的发展,GWAS 数据开始被应用于 ASD 诊断。在一个回顾性的非随机设计中,一个基于 237 个单核苷酸多态性 (SNPs) 的诊断分类方法被应用于三个大型 ASD 遗传数据库。研究者根据训练和验证数据集之间的种族相似性,将 ASD 患者与对照组区分开来,分类准确率从 56% 到 86% 不等 (Skafidas et al. 2014)。这一结果暗示了使用遗传生物标志物的潜在复杂性。此外,RNA 也被视为辅助诊断 ASD 的遗传生物标志物之一。一项前瞻性研究对从 ASD 患者和神经发育典型人群口腔获得的人类和微生物组 RNA 进行了研究。RNA 被细分为五种类型: MicroRNA、piwi-interacting RNA、非编码 RNA、核糖体 RNA 和微生物 RNA。在使用机器学习和保留验证后,32 个诊断特征在训练数据 (n=372) 中获得了 79% 的准确性 (Hicks et al. 2018)。神经生理学生物标志物

一项由自闭症生物标志物临床试验联盟 (ABC-CT) (McPartland 2017) 发起的项目调查了 ASD 患者对面部刺激的 N170 反应。在患有 ASD 的儿童 (Tye et al. 2014)、青少年和成人以及患有阿斯伯格综合症的儿童和成人 (O' Connor, Hamm, and Kirk 2005) 中,研究者记录到了 N170 反应的延迟和低振幅。对 N170 的系统回顾和荟萃分析 (E. Kang et al. 2018) 表明,在患有 ASD 的个体中,对面部刺激的潜伏期确实是延迟的。但是,M170 的振幅实际上受年龄和认知能力等几个因素共同影响。因此,M170

具有作为生物标志物的潜力，但其作为 ASD 诊断性生物标志物的性能尚不清楚。此外，也有研究者将异常伽马波段活动作为具有潜力的神经生理学生物标志物。在三个小型的对照研究中，在高功能的成人 ASD 患者在执行或观察运动任务时 (Bernier et al. 2007)，以及在 ASD 儿童观察运动任务时，mu 节奏的抑制被认为反映了镜像神经元的功能紊乱。患有 ASD 的人在观看复杂的视觉刺激时表现出不典型的伽马波段震荡。在 ASD 患者中，Gabor 斑块的空间频率与伽马波段功率之间的关系在纹状体或纹状体外皮层内或附近减少 (Milne et al. 2009)。这一系列的研究表明，伽马波段活动可能是一个用于诊断 ASD 的潜在生物标志物。胃肠道生物标志物

一些研究发现，ASD 患者的肠道屏障完整性发生了改变。其中一项研究表明，75% 的 ASD 患者中形成屏障的肠道“紧密连接”成分表达减少 (Fiorentino et al. 2016)。负责调节肠细胞间的紧密连接的是 Zonulin 蛋白，它是控制肠道通透性的生理调节剂。与健康对照组相比，ASD 患者的这种蛋白增加，并与 ASD 的严重程度相关 (Esnafoğlu et al. 2017)。因此，Zonulin 可能是一个有希望的生物标志物，适用于有消化道问题的 ASD 儿童亚群，但值得注意的是，并非所有的研究都支持肠道通透性增加的概念 (Dalton et al. 2014)。

尽管当前对 ASD 潜在生物标志物的研究已经较为深入，但事实上，目前还没有经证实的生物测量方法（如血液测试或放射性扫描）可以确定病理生理过程，以帮助诊断或治疗 ASD (R. E. Frye et al. 2019)。ASD 的潜在生物标志物当前主要在比较组存在局限。许多研究将 ASD 患者与 TD 无关的对照组进行比较。尽管这种比较在科学上是有效的，但是当考虑到生物标志物在现实临床中的应用时，这种比较有一些严重的局限性。具体来说，在诊所中，需要回答的问题不是一个正常发育的孩子是否患有自闭症，而是一个发育迟缓的孩子是否可能被诊断为自闭症。此外，许多生物标志物的另一个重要限制是其生物学有效性。如果一个生物标志物不代表疾病的核心生物过程，就有可能出现生物标志物代表疾病过程的表象。因此，即使生物标志物能可靠地、持续地区分病人群体，所提供的关于潜在疾病过程的信息也可能也极为有限的。

总体而言，ASD 的生物标志物可以在产前和产后发现，有些生物标志物可以预测对特定治疗的反应。许多有希望的生物标志物已经被开发出来用于 ASD。然而，相当一部分的生物标志物仅仅处于初步开发阶段的，仍然需要进行验证，它们在诊断和治疗 ASD 中的作用也需要被界定。考虑到 ASD 很可能与多个生物标志物之间的相互作用有关，不同类型的生物标志物可能需要结合起来才能被有效地用于早期识别 ASD 并指导治疗。

2.3 基于神经影像学的诊断方法

准确诊断自闭症谱系障碍 (ASD) 对患者正常生活的管理和康复至关重要。非侵入性的神经影像技术为发现疾病标志物提供了可靠的病理生理学基础，这使得神经影像技术可被用于辅助诊断 ASD。现在，结构和功能神经影像技术为医生提供了有关大脑结构（解剖学和结构连接）和功能（活动和功能连接）的大量信息。尽管大脑的结构和功能错综复杂，但人工智能 (AI) 技术与用神经影像技术相结合的诊断方法被认为在识别 ASD 患者的独特脑部结构特征方面具有相当大的潜力。

据报道，近年来已有研究者开始尝试利用神经影像学数据辅助诊断 ASD (Khodatars et al. 2020)。目前被用于与 AI 相结合神经影像学诊断技术主要包括结构性神经影像学方法和功能性神经影像学方法。其中，前者以磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 技术为主，后者则包括脑电图 (electroencephalography, EEG)、皮质电图 (electrocorticography, ECoG)、功能性近红外光谱 (functional near-infrared spectroscopy, fNIRS) 和脑磁图 (Magnetoencephalography, MEG) 等 (Khodatars et al. 2020)。结构性神经影像学方法一般通过结构性核磁共振成像 (sMRI) 图像研究大脑解剖结构，通过弥散张量成像核磁共振成像 (DTI-MR) 评估解剖连接 [10]；而功能性神经影像学方法比结构方法更早应

用于研究 ASD, 其最基本的方式是 EEG, 它以高时间分辨率 (以毫秒为单位) 从头皮记录大脑的电活动 (Vignes et al. 2020)。一些研究表明, 采用 EEG 信号来诊断 ASD 具有一定的准确率 (Haputhanthri et al. 2020; J. Kang et al. 2018; Sinha, Munot, and Sreemathy 2019)。另外, 皮质电图 (ECoG) (Siero et al. 2014)、功能性近红外光谱 (fNIRS) (L. Xu et al. 2020) 和脑磁图 (MEG) (Port et al. 2016) 这三种不太普遍的神经影像学技术也在 ASD 诊断中表现良好。

近年来, 随着深度学习技术在医疗健康领域的广泛应用, 许多研究者开始尝试在神经影像学数据的基础上结合深度学习网络诊断 ASD, 被采纳较多的深度神经网络包括 CNN、RNN、AE、DBN、CNN-RNN 和 CNN-AE 模型。卷积神经网络 (Convolutional Neural Networks, CNN) 是其中较受欢迎的一种模型, 其中, 根据输入数据的类型, CNN 又被分为 1D 卷积神经网络 (1D-CNN)、2D 卷积神经网络 (2D-CNN) 和 3D 卷积神经网络 (3D-CNN)。数据中存在许多空间依赖性, 要从数据中提取这些隐藏的特征是很困难的。卷积神经网络使用类似于卷积滤波器的结构来正确地提取这些特征, 并在考虑到空间依赖性的情况下, 对特征的处理做出贡献; 因此, 网络参数的数量大大减少。这些网络的主要应用是在图像处理中, 由于二维 (2D) 图像输入, 卷积层形成 2D 结构, 这就是为什么这些网络被称为 2D 卷积神经网络 (2D-CNN)。类似的, 使用一维信号也可导致卷积网络产生类似数据的结构, 从而被称为 1D-CNN。在卷积网络中, 假设各种数据部分不需要学习不同的过滤器, 那么参数的数量就会明显减少, 用较小的数据库来训练这些网络是可行的 (Goodfellow, Bengio, and Courville 2016)。但是, 当输入数据是三维信号时, 卷积网络也将被改变为三维格式。应该注意的是, 由于各种原因, 操纵 3D-CNN 不如 1D-CNN 和 2D-CNN 有利。原因是训练这些网络所需的数据必须大得多, 而传统上这种数据集是无法利用的, 而且在 2D-CNN 中被广泛利用的预训练等方法也不能在这里使用; 另一个原因是, 随着网络结构的复杂化, 固定层数和网络结构将会变得更加困难。

总结来说, 基于神经影像学数据诊断 ASD 的方法同样面临一系列挑战, 其中最主要的挑战来自于数据库和算法问题。目前只有两类数据集——脑结构和功能数据集。因此, 研究人员无法将其调查范围扩大到 ASD 的所有亚型; 同时, 用于诊断 ASD 的两种最便宜和最实用的功能神经筛查方式是 EEG 和 fNIRS, 但不幸的是, 由于这类开源性数据集的缺乏, 这一领域的研究内容很少。另一个障碍是多模态数据库, 如 EEG-fMRI, 研究人员无法评估结合不同成像模式的信息来检测 ASD 的有效性。虽然 fMRI 和 sMRI 数据在 ABIDE 数据集中无处不在, 但使用 DL 合并这些结构和功能数据进行 ASD 诊断的结果还没有被研究过。此外, 虽然神经影像技术已经与一些人工智能方法结合使用, 研究不同的大脑区域和整个网络的连接, 但由于 ASD 个体症状的高度特异性 (Mahajan and Mostofsky 2015), 遗憾的是, 基于这类方法所使用的研究人群和模型, 预测性的神经解剖学结果通常和实际诊断并不一致 (Xiao et al. 2017)。

2.4 基于大量的基因组数据识别和阐明 ASD 的方法

几十年来, 人们一直知道遗传风险在 ASD 病因中起着关键作用。然而, 只有在过去的十几年里, 以大规模人类基因组研究为形式的“大数据”方法才使 ASD 的遗传学取得了惊人的进展。人类基因组测序、高密度芯片的出现、高通量测序技术的发展、严格的统计方法对大量比较的应用、越来越全面的神经生物学数据库的可用性, 以及快速数据共享和跨研究小组的大规模合作的优先次序, 这些技术使得研究者们可以系统和可靠地识别出赋予 ASD 风险的特定基因。更重要的是, 越来越多的研究已经证明: ASD 的遗传及发病风险与多基因关联。现在, 已经有 100 多个大效应的 ASD 风险基因和基因组区域被鉴定出来, 这能够帮助研究者们加深对 ASD 发病和遗传过程中分子机制的重要认识。从最早的可靠基因发现工作的结果来看, 突触结构和功能以及染色质修饰已被确定为最常见的功能趋同点 (Satterstrom et al. 2020; Sanders, He, et al. 2015; Iossifov et al. 2015)。2006-2007 年间高密度微阵列

技术的发展,帮助研究者们识别出孤独症单纯家系中新生种质拷贝数变异率显著增加 (Zoghbi and Bear 2012; Jacquemont et al. 2006; Szatmari et al. 2007)。这些研究集中在胚系突变而不是体细胞突变,他们发现大量新生拷贝数变异集中在基因组区域 (Sanders, Ercan-Sencicek, et al. 2011), 这表明这并没有反映在受影响个体的诱变责任的非特异性增加。这进一步为确定具体危险区域 (Sanders, He, et al. 2015; Pinto, Delaby, et al. 2014; Pinto, Pagnamenta, et al. 2010) 奠定了基础。在随后的十年里,更高分辨率细胞遗传学检测、更大的患者队列和校正全基因组比较的统计方法帮助研究者在 ASD 领域获得了更多的进展。总体而言,这些研究发现:(1) 全局性的新基因拷贝数突变 (Copy number variation, CNVs) 负担与 ASD 有关 (Itsara et al. 2010; Pinto, Delaby, et al. 2014), 这在 5-10% 的受影响个体中存在,而在患者未受影响的兄弟姐妹中则 <1-2%; (2) 特定区域的多个复发性新基因 CNVs 与 ASD 风险有关 (Sanders, He, et al. 2015); (3) 女性 ASD 患者的新基因 CNV 变异负担增加 (Sanders, He, et al. 2015; Sanders, Ercan-Sencicek, et al. 2011; Pinto, Delaby, et al. 2014), 这支持女性保护效应理论; (4) 与基因间 CNV 相比,基因内 CNV (那些破坏了基因组中的含基因区域的 CNV) 提供绝大多数发病风险 (Pinto, Delaby, et al. 2014); (5) ASD 研究中发现的 CNV 风险位点除与 ASD 密切相关外,还与多种神经发育和神经精神疾病独立相关,包括癫痫、智力障碍、注意缺陷多动障碍、精神分裂症、双相情感障碍和抽动症 (Sanders, He, et al. 2015; Pinto, Pagnamenta, et al. 2010; Fernandez et al. 2012), 这为 ASD 患者身上常见的其他疾病并发症提供了潜在的遗传学解释。

除此之外,近年来 GWAS 的研究结果揭示了罕见突变或许在 ASD 发病中贡献了大部分效应 (Quick, B. Wang, and State 2021)。人类基因组中的大部分遗传突变是常见的,这些突变通过孟德尔经典遗传模式从父母传递给后代。下图显示了在普通人群中呈正态分布的常见多基因风险的理想化分布图。图 b 中的红色虚线代表 ASD 的当前诊断阈值。图 a 与图 b 模拟了 ASD 在人群中的分布: 绝大多数的共同等位基因人群风险存在于没有获得临床诊断的个体中,他们主要分布在 ASD 诊断阈值以下 (红色虚线左侧); 而被诊断为 ASD 的个体则位于 ASD 诊断阈值以上 (红色虚线右侧), 他们可能同时具备以下并发症: 癫痫 (epi epilepsy)、注意缺陷多动障碍 (attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)、精神分裂症 (schizophrenia, SCZ) 和特殊语言障碍 (specific language impairment, SLI) 等。图 b 底部的紫色肩头表示具有大效应的罕见新发突变 (de novo mutations), 一个具有较大效应的新发突变可能使得一个具有中等风险和无症状可能性的个体超过诊断阈值。这些新发突变可能并不符合孟德尔遗传学,这些罕见的大效应突变也许并不直接显示表型,而是在单个效应非常低的多基因风险背景下发挥作用。虽然这种新发突变在人群中风险比例非常小,但它们在超过临床阈值的个体中却占了相当大一部分 (Quick, B. Wang, and State 2021)。此外,绝大多数研究者认为,ASD 研究领域的一个关键问题是将疾病机制与 ASD 风险基因所编码的高度多态性生物学相区别。证明某一风险突变的一系列生物学后果 (如不同的基因表达、电生理特性的变化、细胞增殖、分化或迁移的改变) 比确认某一特定风险突变是人类疾病表型的促成因素更为直接。现在,用于研究 ASD 病理学的系统生物学方法涉及使用大型数据集来确定从基因到表型的某处多个风险基因之间的交叉点或汇合点,而这一关键交叉点可能与分子途径、细胞类型、解剖区域和/或发育阶段有关。越来越多的研究者们正在采用组学方法,因为此后将会有越来越多的大规模基础数据库记录不同物种间特定区域和细胞的转录活动、基因表达和调节的发育模式以及蛋白质组学途径 (A. J. Willsey et al. 2018)。

当前,评估伴有或不伴有智力障碍的 ASD 儿童的最佳做法包括染色体微阵列检测、脆性 X 检测、核型分析 (如果母亲有 2 次以上流产)、MECP2 检测 (如果是女性,或有特定临床特征的男性) (Griesi-Oliveira and Sertié 2017; Barton et al. 2018; Rossi et al. 2017), 此外也有许多人主张将 WES 作为筛选标准的一部分 (Srivastava et al. 2019; Schaefer and Mendelsohn 2013)。诊断一个人的具体检查方法受表现和特定学科建议的影响 (Munnich et al. 2019)。总的来说,根据目前所使用的测试组合、个体性

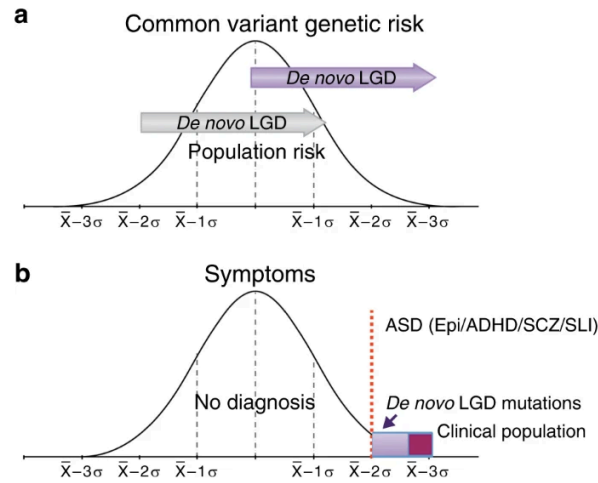


图 1: 罕见的大效应从头突变与常见风险等位基因共同作用的模型 (A. J. Willsey et al. 2018)

别、临床表型和家族史，综合测试能够在大部分病例中发现可能的致病变体 (Griesi-Oliveira and Sertié 2017; Tammimies et al. 2015)。此外，目前正在使用基因优先策略进行研究 (Stessman, Bernier, and Eichler 2014; Duyzend and Eichler 2015)，旨在确定共享罕见突变的患者的临床特征，这为扩大 ASD 的基因诊断的临床价值提供了希望。

不过，目前来看，基因检测仍然在早期识别 ASD 的诊断中存在阻碍。许多研究者认为，这种阻碍来源于非综合症队列中与大效应突变有关的表型范围很广 (Quick, B. Wang, and State 2021)。虽然有可能在标准诊断年龄之前检测到 ASD 相关的罕见的新结构或序列变异，但在没有症状的情况下，不可能有把握地预测特定的结果。我们有理由相信，基因检测和早期症状检测的结合诊断方法——包括基于潜在的生物标志物或神经影像学检测——可以明显降低患者接受诊断的年龄。但是直到目前为止，包括基因状态的潜在生物标志物的组合还没有经过严格的临床实践测试与验证。不过，不管对临床护理的影响如何，许多患儿家庭仍然认为基因检测是有价值的，他们通常会要求进行检测，因为这提供了一个了解其孩子 ASD 病因的机会。随着越来越多的家庭和个人进行特定的基因诊断，越来越多的 ASD 遗传学信息被整合进开源数据库，这使得研究者们得以将基因分析的结果与 ASD 患者的症状、自然史、预后和临床干预指导结合在一起，这将为 ASD 基因发现与临床诊断的相关性，以及理解 ASD 罕见大效应突变的致病机制做出重大贡献。

总体来说，通过全面阐明导致 ASD 的基因组结构和特殊变异从而理解 ASD 具体生物学机制并且提供基因诊断的方法是可以实现的。随着更大的患者群的发展和现有方法的应用，ASD 相关的遗传风险可以被进一步阐明。不过，近年来在 ASD 遗传学的研究进展也提出了一些重要的问题，例如：需要扩大易受罕见新突变影响的 ASD 候选基因集，关注罕见和普通等位基因在决定患者自然史或治疗反应方面的交叉点，通过 WGS 探索非编码基因组的罕见突变，以及更普遍地优先研究目前严重缺乏研究的不同人群。不过，在 ASD 的研究中，遗传学只是一种手段。未来最有前景的研究方向可能不再涉及新的基因发现，而是通过整合已有的开源大数据来实现。越来越深入和广泛的生物数据库的应用，以及将蛋白质组学数据集添加到调节和转录的人脑资源中，都有望对 ASD 的系统生物学研究产生深远的影响，并有可能揭示 ASD 病理生物学机制和潜在的治疗靶点。

3 总结

当前, ASD 领域的研究焦点仍然很大一部分集中在针对个体的诊断与治疗上。有潜力的诊断预测方法包括基于患者行为数据的诊断方法、基于生物标志物的识别方法、基于神经影像学的诊断方法和基于大量基因组数据识别和阐明 ASD 的方法。但是, ASD 固有的异质性、生物标志物的生物学有效性和神经影像学数据库的缺乏限制了前三种方法的应用与推广。而现在, 基因分型技术的进步已经使得廉价的全基因组检测成为可能, 而在大型家庭队列中对亚显微染色体结构的高密度微阵列研究以及高通量 DNA 测序的应用, 正在使得越来越多的风险区域和风险基因座被定位, 具有较大效应的罕见突变被发现。可以说, 以大规模人类基因组研究为形式的大数据方法使 ASD 的遗传学取得了惊人的进展。在已经证实多基因遗传对 ASD 贡献的背景下, 通过整合已有的开源大数据、阐明导致 ASD 的基因组结构和特殊变异从而理解 ASD 病理学机制、从而提供潜在的基因诊断就显得格外重要。

References

- Barbaro, J. and C. Dissanayake (2009). “Autism spectrum disorders in infancy and toddlerhood: a review of the evidence on early signs, early identification tools, and early diagnosis”. In: *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics* 30.5, pp. 447–459.
- Barton, K. S. et al. (2018). “Pathways from autism spectrum disorder diagnosis to genetic testing”. In: *Genetics in Medicine* 20.7, pp. 737–744.
- Bernier, R. et al. (2007). “EEG mu rhythm and imitation impairments in individuals with autism spectrum disorder”. In: *Brain and cognition* 64.3, pp. 228–237.
- Blumberg, S. J. et al. (2013). *Changes in prevalence of parent-reported autism spectrum disorder in school-aged US children: 2007 to 2011-2012*. 65. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and ...
- Braunschweig, D., P. Ashwood, et al. (2008). “Autism: maternally derived antibodies specific for fetal brain proteins”. In: *Neurotoxicology* 29.2, pp. 226–231.
- Braunschweig, D., P. Duncanson, et al. (2012). “Behavioral correlates of maternal antibody status among children with autism”. In: *Journal of autism and developmental disorders* 42.7, pp. 1435–1445.
- Braunschweig, D., P. Krakowiak, et al. (2013). “Autism-specific maternal autoantibodies recognize critical proteins in developing brain”. In: *Translational psychiatry* 3.7, e277–e277.
- Brimberg, L. et al. (2016). “Caspr2-reactive antibody cloned from a mother of an ASD child mediates an ASD-like phenotype in mice”. In: *Molecular psychiatry* 21.12, pp. 1663–1671.
- Camm-Crosbie, L. et al. (2019). “‘People like me don’t get support’: Autistic adults’ experiences of support and treatment for mental health difficulties, self-injury and suicidality”. In: *Autism* 23.6, pp. 1431–1441.
- Christensen, D. L. et al. (2018). “Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2012”. In: *MMWR Surveillance Summaries* 65.13, p. 1.
- Corbett, B. et al. (2007). “A proteomic study of serum from children with autism showing differential expression of apolipoproteins and complement proteins”. In: *Molecular psychiatry* 12.3, pp. 292–306.

- Dalton, N. et al. (2014). “Gut permeability in autism spectrum disorders”. In: *Autism Research* 7.3, pp. 305–313.
- Daniels, A. M. and D. S. Mandell (2014). “Explaining differences in age at autism spectrum disorder diagnosis: A critical review”. In: *Autism* 18.5, pp. 583–597.
- Diaz-Beltran, L. et al. (2017). “Cross-disorder comparative analysis of comorbid conditions reveals novel autism candidate genes”. In: *BMC genomics* 18.1, pp. 1–14.
- Duyzend, M. H. and E. E. Eichler (2015). “Genotype-first analysis of the 16p11. 2 deletion defines a new type of “autism” ”. In: *Biological psychiatry* 77.9, pp. 769–771.
- Esnafoglu, E. et al. (2017). “Increased serum zonulin levels as an intestinal permeability marker in autistic subjects”. In: *The Journal of pediatrics* 188, pp. 240–244.
- Fernandez, T. V. et al. (2012). “Rare copy number variants in tourette syndrome disrupt genes in histaminergic pathways and overlap with autism”. In: *Biological psychiatry* 71.5, pp. 392–402.
- Fiorentino, M. et al. (2016). “Blood–brain barrier and intestinal epithelial barrier alterations in autism spectrum disorders”. In: *Molecular autism* 7.1, pp. 1–17.
- Frye, R. and S. James (2014). *Metabolic pathology of autism in relation to redox metabolism. Biomark Med* 8 (3): 321–330.
- Frye, R. E. et al. (2019). “Emerging biomarkers in autism spectrum disorder: a systematic review”. In: *Annals of translational medicine* 7.23.
- Geschwind, D. H. and M. W. State (2015). “Gene hunting in autism spectrum disorder: on the path to precision medicine”. In: *The Lancet Neurology* 14.11, pp. 1109–1120.
- Goodfellow, I., Y. Bengio, and A. Courville (2016). *Deep learning*. MIT press.
- Griesi-Oliveira, K. and A. L. Sertié (2017). “Autism spectrum disorders: an updated guide for genetic counseling”. In: *Einstein (Sao Paulo)* 15, pp. 233–238.
- Group, B. D. W. et al. (2001). “Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework”. In: *Clinical pharmacology & therapeutics* 69.3, pp. 89–95.
- Haputhanthri, D. et al. (2020). “Integration of facial thermography in EEG-based classification of ASD”. In: *International Journal of Automation and Computing* 17.6, pp. 837–854.
- Hicks, S. D. et al. (2018). “Validation of a salivary RNA test for childhood autism spectrum disorder”. In: *Frontiers in genetics* 9, p. 534.
- Hollowood, K. et al. (2018). “Maternal metabolic profile predicts high or low risk of an autism pregnancy outcome”. In: *Research in autism spectrum disorders* 56, pp. 72–82.
- Howsmon, D. P., U. Kruger, et al. (2017). “Classification and adaptive behavior prediction of children with autism spectrum disorder based upon multivariate data analysis of markers of oxidative stress and DNA methylation”. In: *PLoS computational biology* 13.3, e1005385.
- Howsmon, D. P., T. Vargason, et al. (2018). “Multivariate techniques enable a biochemical classification of children with autism spectrum disorder versus typically-developing peers: A comparison and validation study”. In: *Bioengineering & translational medicine* 3.2, pp. 156–165.
- Hyde, K. K. et al. (2019). “Applications of supervised machine learning in autism spectrum disorder research: a review”. In: *Review Journal of Autism and Developmental Disorders* 6.2, pp. 128–146.
- Iossifov, I. et al. (2015). “Low load for disruptive mutations in autism genes and their biased transmission”. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112.41, E5600–E5607.

- Itsara, A. et al. (2010). “De novo rates and selection of large copy number variation”. In: *Genome research* 20.11, pp. 1469–1481.
- Jacquemont, M.-L. et al. (2006). “Array-based comparative genomic hybridisation identifies high frequency of cryptic chromosomal rearrangements in patients with syndromic autism spectrum disorders”. In: *Journal of medical genetics* 43.11, pp. 843–849.
- James, S. J., S. Melnyk, S. Jernigan, M. A. Cleves, et al. (2006). “Metabolic endophenotype and related genotypes are associated with oxidative stress in children with autism”. In: *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 141.8, pp. 947–956.
- James, S. J., S. Melnyk, S. Jernigan, O. Pavliv, et al. (2010). “A functional polymorphism in the reduced folate carrier gene and DNA hypomethylation in mothers of children with autism”. In: *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 153.6, pp. 1209–1220.
- Jiang, F. et al. (2017). “Artificial intelligence in healthcare: past, present and future”. In: *Stroke and vascular neurology* 2.4.
- Jobski, K. et al. (2017). “Use of psychotropic drugs in patients with autism spectrum disorders: a systematic review”. In: *Acta Psychiatrica Scandinavica* 135.1, pp. 8–28.
- Johnson, C. P. (2008). “Recognition of autism before age 2 years”. In: *Pediatrics in Review* 29.3, p. 86.
- Kang, E. et al. (2018). “Atypicality of the N170 event-related potential in autism spectrum disorder: a meta-analysis”. In: *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging* 3.8, pp. 657–666.
- Kang, J. et al. (2018). “EEG-based multi-feature fusion assessment for autism”. In: *Journal of Clinical Neuroscience* 56, pp. 101–107.
- Khodatars, M. et al. (2020). “Deep learning for neuroimaging-based diagnosis and rehabilitation of autism spectrum disorder: A review”. In: *arXiv preprint arXiv:2007.01285*.
- Lai, M.-C., M. Lombardo, and S. Baron-Cohen (2013). *Autism (seminar)*.
- Leyfer, O. T. et al. (2006). “Comorbid psychiatric disorders in children with autism: interview development and rates of disorders”. In: *Journal of autism and developmental disorders* 36.7, pp. 849–861.
- Mahajan, R. and S. H. Mostofsky (2015). “Neuroimaging endophenotypes in autism spectrum disorder”. In: *CNS spectrums* 20.4, pp. 412–426.
- Mandell, D. S., M. M. Novak, and C. D. Zubritsky (2005). “Factors associated with age of diagnosis among children with autism spectrum disorders”. In: *Pediatrics* 116.6, pp. 1480–1486.
- Martin, L. A. et al. (2008). “Stereotypies and hyperactivity in rhesus monkeys exposed to IgG from mothers of children with autism”. In: *Brain, behavior, and immunity* 22.6, pp. 806–816.
- Matelski, L. and J. Van de Water (2016). “Risk factors in autism: Thinking outside the brain”. In: *Journal of autoimmunity* 67, pp. 1–7.
- Mattila, M.-L. et al. (2011). “Autism spectrum disorders according to DSM-IV-TR and comparison with DSM-5 draft criteria: an epidemiological study”. In: *Journal of the American academy of child & adolescent psychiatry* 50.6, pp. 583–592.
- McPartland, J. C. (2017). “Developing clinically practicable biomarkers for autism spectrum disorder”. In: *Journal of autism and developmental disorders* 47.9, pp. 2935–2937.

- Milne, E. et al. (2009). “Independent component analysis reveals atypical electroencephalographic activity during visual perception in individuals with autism”. In: *Biological psychiatry* 65.1, pp. 22–30.
- Momeni, N. et al. (2012). “Bio-marqueurs découverts pour l’Autisme Découverte de bio-marqueurs pour l’autisme”. In: *Translational Psychiatry* 2, e91.
- Munnich, A. et al. (2019). “Impact of on-site clinical genetics consultations on diagnostic rate in children and young adults with autism spectrum disorder”. In: *Molecular autism* 10.1, pp. 1–10.
- Nordahl, C. W. et al. (2013). “Maternal autoantibodies are associated with abnormal brain enlargement in a subgroup of children with autism spectrum disorder”. In: *Brain, behavior, and immunity* 30, pp. 61–65.
- O’ Connor, K., J. P. Hamm, and I. J. Kirk (2005). “The neurophysiological correlates of face processing in adults and children with Asperger’s syndrome”. In: *Brain and Cognition* 59.1, pp. 82–95.
- Osterling, J. A., G. Dawson, and J. A. Munson (2002). “Early recognition of 1-year-old infants with autism spectrum disorder versus mental retardation”. In: *Development and psychopathology* 14.2, pp. 239–251.
- Oxelgren, U. W. et al. (2017). “Prevalence of autism and attention-deficit–hyperactivity disorder in Down syndrome: a population-based study”. In: *Developmental Medicine & Child Neurology* 59.3, pp. 276–283.
- Patterson, P. H. (2011). “Maternal infection and immune involvement in autism”. In: *Trends in molecular medicine* 17.7, pp. 389–394.
- Pinto, D., E. Delaby, et al. (2014). “Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders”. In: *The American Journal of Human Genetics* 94.5, pp. 677–694.
- Pinto, D., A. T. Pagnamenta, et al. (2010). “Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders”. In: *Nature* 466.7304, pp. 368–372.
- Piras, I. et al. (2014). “Anti-brain antibodies are associated with more severe cognitive and behavioral profiles in Italian children with Autism Spectrum Disorder”. In: *Brain, behavior, and immunity* 38, pp. 91–99.
- Port, R. G. et al. (2016). “Maturation of auditory neural processes in autism spectrum disorder—A longitudinal MEG study”. In: *NeuroImage: Clinical* 11, pp. 566–577.
- Quick, V. B. S., B. Wang, and M. W. State (2021). “Leveraging large genomic datasets to illuminate the pathobiology of autism spectrum disorders”. In: *Neuropsychopharmacology* 46.1, pp. 55–69.
- Rossi, M. et al. (2017). “Outcomes of diagnostic exome sequencing in patients with diagnosed or suspected autism spectrum disorders”. In: *Pediatric neurology* 70, pp. 34–43.
- Sanders, S. J., A. G. Ercan-Sencicek, et al. (2011). “Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11. 23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism”. In: *Neuron* 70.5, pp. 863–885.
- Sanders, S. J., X. He, et al. (2015). “Insights into autism spectrum disorder genomic architecture and biology from 71 risk loci”. In: *Neuron* 87.6, pp. 1215–1233.
- Satterstrom, F. K. et al. (2020). “Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism”. In: *Cell* 180.3, pp. 568–584.

- Schaefer, G. B. and N. J. Mendelsohn (2013). “Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders: 2013 guideline revisions”. In: *Genetics in Medicine* 15.5, pp. 399–407.
- Shen, L. et al. (2018). “iTRAQ-Based Proteomic Analysis Reveals Protein Profile in Plasma from Children with Autism”. In: *PROTEOMICS–Clinical Applications* 12.3, p. 1700085.
- Siero, J. C. et al. (2014). “BOLD matches neuronal activity at the mm scale: A combined 7 T fMRI and ECoG study in human sensorimotor cortex”. In: *Neuroimage* 101, pp. 177–184.
- Singer, H. S. et al. (2009). “Prenatal exposure to antibodies from mothers of children with autism produces neurobehavioral alterations: a pregnant dam mouse model”. In: *Journal of neuroimmunology* 211.1-2, pp. 39–48.
- Sinha, T., M. V. Munot, and R. Sreemathy (2019). “An efficient approach for detection of autism spectrum disorder using electroencephalography signal”. In: *IETE Journal of Research*, pp. 1–9.
- Skafidas, E. et al. (2014). “Predicting the diagnosis of autism spectrum disorder using gene pathway analysis”. In: *Molecular psychiatry* 19.4, pp. 504–510.
- Srivastava, S. et al. (2019). “Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders”. In: *Genetics in Medicine* 21.11, pp. 2413–2421.
- Stessman, H. A., R. Bernier, and E. E. Eichler (2014). “A genotype-first approach to defining the subtypes of a complex disease”. In: *Cell* 156.5, pp. 872–877.
- Szatmari, P. et al. (2007). “Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements”. In: *Nature genetics* 39.3, p. 319.
- Tammimies, K. et al. (2015). “Molecular diagnostic yield of chromosomal microarray analysis and whole-exome sequencing in children with autism spectrum disorder”. In: *Jama* 314.9, pp. 895–903.
- Tye, C. et al. (2014). “Altered neurophysiological responses to emotional faces discriminate children with ASD, ADHD and ASD+ ADHD”. In: *Biological psychology* 103, pp. 125–134.
- Vicnesh, J. et al. (2020). “Autism spectrum disorder diagnostic system using HOS bispectrum with EEG signals”. In: *International journal of environmental research and public health* 17.3, p. 971.
- Wetherby, A. M. et al. (2008). “Validation of the Infant–Toddler Checklist as a broadband screener for autism spectrum disorders from 9 to 24 months of age”. In: *Autism* 12.5, pp. 487–511.
- Willsey, A. J. et al. (2018). “The psychiatric cell map initiative: a convergent systems biological approach to illuminating key molecular pathways in neuropsychiatric disorders”. In: *Cell* 174.3, pp. 505–520.
- Xiao, X. et al. (2017). “Diagnostic model generated by MRI-derived brain features in toddlers with autism spectrum disorder”. In: *Autism Research* 10.4, pp. 620–630.
- Xu, L. et al. (2020). “Classification of autism spectrum disorder based on sample entropy of spontaneous functional near infra-red spectroscopy signal”. In: *Clinical Neurophysiology* 131.6, pp. 1365–1374.
- Yoo, H. (2015). “Genetics of autism spectrum disorder: current status and possible clinical applications”. In: *Experimental neurobiology* 24.4, p. 257.
- Yu, K.-H., A. L. Beam, and I. S. Kohane (2018). “Artificial intelligence in healthcare”. In: *Nature biomedical engineering* 2.10, pp. 719–731.
- Zablotsky, B. et al. (2015). “Estimated prevalence of autism and other developmental disabilities following questionnaire changes in the 2014 National Health Interview Survey”. In:

- Zoghbi, H. Y. and M. F. Bear (2012). “Synaptic dysfunction in neurodevelopmental disorders associated with autism and intellectual disabilities”. In: *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 4.3, a009886.
- Zwaigenbaum, L. and M. Penner (2018). “Autism spectrum disorder: advances in diagnosis and evaluation”. In: *Bmj* 361.