



ARTIGO DE REVISÃO

Autism in 2016: the need for answers[☆]



Annio Posar^{a,b,*} e Paola Visconti^a

^a IRCCS Institute of Neurological Sciences of Bologna, Child Neurology and Psychiatry Unit, Bologna, Itália

^b University of Bologna, Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, Bologna, Itália

Recebido em 23 de agosto de 2016; aceito em 13 de setembro de 2016

KEYWORDS

Autism spectrum disorder;
Neurobiology;
Epidemiology;
Environmental factors;
Air pollutants;
Epigenetics

Abstract

Objective: Autism spectrum disorders are lifelong and often devastating conditions that severely affect social functioning and self-sufficiency. The etiopathogenesis is presumably multifactorial, resulting from a very complex interaction between genetic and environmental factors. The dramatic increase in autism spectrum disorder prevalence observed during the last decades has led to placing more emphasis on the role of environmental factors in the etiopathogenesis. The objective of this narrative biomedical review was to summarize and discuss the results of the most recent and relevant studies about the environmental factors hypothetically involved in autism spectrum disorder etiopathogenesis.

Sources: A search was performed in PubMed (United States National Library of Medicine) about the environmental factors hypothetically involved in the non-syndromic autism spectrum disorder etiopathogenesis, including: air pollutants, pesticides and other endocrine-disrupting chemicals, electromagnetic pollution, vaccinations, and diet modifications.

Summary of the findings: While the association between air pollutants, pesticides and other endocrine-disrupting chemicals, and risk for autism spectrum disorder is receiving increasing confirmation, the hypothesis of a real causal relation between them needs further data. The possible pathogenic mechanisms by which environmental factors can lead to autism spectrum disorder in genetically predisposed individuals were summarized, giving particular emphasis to the increasingly important role of epigenetics.

Conclusions: Future research should investigate whether there is a significant difference in the prevalence of autism spectrum disorder among nations with high and low levels of the various types of pollution. A very important goal of the research concerning the interactions between genetic and environmental factors in autism spectrum disorder etiopathogenesis is the identification of vulnerable populations, also in view of proper prevention.

© 2016 Sociedade Brasileira de Pediatria. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

DOI se refere ao artigo:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2016.09.002>

[☆] Como citar este artigo: Posar A, Visconti P. Autism in 2016: the need for answers. J Pediatr (Rio J). 2017;93:111–9.

* Autor para correspondência.

E-mail: annio.posar@unibo.it (A. Posar).

PALAVRAS-CHAVE

Transtorno do espectro autista;
Neurobiologia;
Epidemiologia;
Fatores ambientais;
Poluentes atmosféricos;
Epigenética

Autismo em 2016: necessidade de respostas**Resumo**

Objetivo: Os transtornos do espectro autista (TEAs) são vitalícios e normalmente são doenças devastadoras que afetam gravemente o funcionamento social e a autossuficiência. A etiopatogenia é presumivelmente multifatorial, resultante de uma interação muito complexa entre fatores genéticos e ambientais. O aumento drástico na prevalência de TEAs observado nas últimas décadas levou à maior ênfase no papel dos fatores ambientais na etiopatogenia. O objetivo desta análise da narrativa biomédica foi resumir e discutir os resultados dos estudos mais recentes e relevantes sobre os fatores ambientais hipoteticamente envolvidos na etiopatogenia dos TEAs.

Fontes: Foi feita uma pesquisa na Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (PubMed) sobre os fatores ambientais hipoteticamente envolvidos na etiopatogenia dos TEAs não sindrômicos, inclusive poluentes atmosféricos, pesticidas e outros desreguladores endócrinos, poluição eletromagnética, vacinas e alterações na dieta.

Resumo dos achados: Embora a associação entre poluentes atmosféricos, pesticidas e outros desreguladores endócrinos e o risco de TEA tenha recebido cada vez mais confirmações, a hipótese de uma relação causal real entre eles ainda precisa de mais dados. Os possíveis mecanismos patogênicos por meio dos quais os fatores ambientais podem causar TEA em indivíduos geneticamente predispostos foram resumidos, com ênfase especial no papel cada vez mais importante da epigenética.

Conclusões: Futuras pesquisas devem investigar se há uma diferença significativa na prevalência de TEA entre nações com níveis altos e baixos de vários tipos de poluição. Um objetivo muito importante da pesquisa a respeito das interações entre fatores genéticos e ambientais na etiopatogenia do TEA é a identificação de populações vulneráveis, também em virtude da prevenção adequada.

© 2016 Sociedade Brasileira de Pediatria. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

Transtornos do espectro autista (TEAs) são vitalícios e normalmente são doenças devastadoras que afetam gravemente o funcionamento social e a autossuficiência, exercem um impacto muito negativo sobre as vidas de toda a família dos indivíduos afetados. Segundo os critérios do Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª edição (DSM-5), os TEAs são definidos pelos déficits persistentes na comunicação e interação social, bem como por comportamentos, interesses e atividades restritas e repetitivas.¹ Presumivelmente, os TEAs têm uma etiopatogenia multifatorial resultante de uma interação muito complexa entre fatores genéticos e ambientais.^{2,3} A presença de um problema médico definido é demonstrada em apenas uma minoria dos casos.

Estudos epidemiológicos mostraram, nas últimas décadas, um aumento drástico na prevalência de TEAs, que, nos últimos anos, atingiram 1-2% das crianças.⁴ O estudo epidemiológico de Nevison sugere que esse aumento é principalmente real⁵ e, portanto, atribuível apenas em pequena parte a um conhecimento melhor do problema. Esse fenômeno precisa de mais investigação e possíveis hipóteses explicativas em termos de saúde pública. Obviamente, não podemos explicar esse aumento de prevalência com base apenas em fatores genéticos e devemos considerar com cuidado o papel de possíveis fatores ambientais. Primeiramente, devemos tentar entender o que mudou em nosso ambiente e nossos hábitos nessas últimas décadas. Na literatura, diversas hipóteses foram levadas em consideração.

Nesta análise, fizemos uma síntese das hipóteses mais intrincadas a seguir: selecionamos toda a literatura recente (entre 1º de janeiro de 2013 e 20 de agosto de 2016) e relevante (preferencialmente estudos caso-controle que envolvessem indivíduos humanos) disponível na Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (PubMed), com as seguintes palavras-chave: "autismo", "poluentes atmosféricos", "poluição", "pesticidas", "desreguladores endócrinos", "fatores ambientais", "campos eletromagnéticos", "vacinas", "ômega 3" e "epigenética".

Poluentes atmosféricos

Nos últimos anos, o papel etiopatogênico da exposição a poluentes atmosféricos, principalmente metais pesados e material particulado (MP), durante os períodos pré-, peri- e pós-natal, foi seriamente considerado na literatura, embora não existam conclusões definidas. Segue uma breve descrição de alguns dos mais importantes trabalhos recentes nesse sentido.

Becerra et al. investigaram o possível efeito da exposição à poluição atmosférica relacionada ao tráfego durante a gravidez sobre o desenvolvimento de autismo. Os autores fizeram um estudo caso-controle de base populacional com dados de estações de monitoramento atmosférico e um modelo de regressão baseado no uso do solo (LUR) para estimar as taxas de exposição. Eles identificaram crianças nascidas em Los Angeles, Califórnia, EUA, diagnosticadas com um transtorno autista (TA) primário de acordo com o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtor-

nos Mentais, 4ª edição, revisão de texto (DSM-IV-TR),⁶ de 3-5 anos entre 1998-2009. Eles incluíram 7.603 crianças com TA e 10 controles (por definição, sem a documentação do autismo) por caso, pareados por sexo, ano de nascimento e idade gestacional mínima. Os autores fizeram uma regressão logística condicional, ajustada por idade materna, local de nascimento, etnia e escolaridade; tipo de parto (único, múltiplo), paridade; tipo de convênio (uma medida opcional da situação socioeconômica); e idade gestacional no nascimento. Eles calcularam um aumento relativo de 12-15% nas chances de autismo por aumento do intervalo interquartil (IIQ) para ozônio e $MP_{2,5}$ (MP com um diâmetro aerodinâmico inferior a $2,5 \mu m$) quando ajustado mutuamente por ambos os poluentes. Ademais, eles calcularam um aumento relativo de 3-9% nas chances de TA por aumento do IIQ nas estimativas derivadas da LUR da exposição a óxido nítrico e dióxido de nitrogênio. As associações derivadas da LUR foram mais consistentes para crianças nascidas de mães com escolaridade inferior ao ensino médio. Os autores sugeriram a presença de associações entre a exposição pré-natal à poluição atmosférica relacionada, na maior parte do tempo, ao tráfego e ao autismo.⁷

Volk et al. examinaram a possível associação entre a poluição atmosférica e o autismo. Eles fizeram, na Califórnia (EUA), um estudo caso-controle de base populacional que incluiu 279 crianças em idade pré-escolar com autismo (de acordo com o Programa de Observação Diagnóstica do Autismo [ADOS] e a Entrevista Diagnóstica de Autismo Revisada [ADI-R]) e 245 controles normais, pareados por sexo, idade e ampla área geográfica. As razões de chance para autismo foram ajustadas pelo sexo e etnia da criança, nível de escolaridade dos pais, idade materna e tabagismo pré-natal. As crianças com autismo, durante a gestação e no primeiro ano de vida, mostraram-se mais suscetíveis a morar em casas com o quartil mais alto de exposição à poluição atmosférica relacionada ao tráfego em comparação aos controles. Nos mesmos períodos, a exposição também a dióxido de nitrogênio, $MP_{2,5}$ e MP_{10} (MP com um diâmetro aerodinâmico inferior a $10 \mu m$) foi associada ao autismo. Os autores concluíram que, durante a gravidez e no primeiro ano de vida, a exposição à poluição atmosférica relacionada ao tráfego, dióxido de nitrogênio, $MP_{2,5}$ e MP_{10} está associada ao autismo.⁸

Jung et al. estudaram, em Taiwan, a possível associação entre a exposição pós-natal de longo prazo à poluição atmosférica e o recém-diagnóstico de TEA. De 2000 a 2010, eles fizeram um estudo de coorte de base populacional prospectivo que considerou 49.073 indivíduos com menos de três 3 anos. Nessa coorte, 342 crianças desenvolveram TEA, de acordo com os critérios da Classificação Internacional de Doenças, 9ª revisão, modificação clínica (CID-9-MC).⁹ As razões de risco foram ajustadas por idade, ansiedade, sexo, deficiência intelectual, prematuridade e situação socioeconômica. O risco de novos diagnósticos de TEA aumentou de acordo com o aumento nos níveis de ozônio, monóxido de carbono, dióxido de nitrogênio e dióxido de enxofre. Os resultados do estudo sugerem que a exposição das crianças a esses quatro poluentes nos 1-4 anos anteriores pode aumentar o risco de desenvolvimento de TEA. Nenhuma associação foi encontrada entre MP_{10} e o risco de novos diagnósticos de TEA.¹⁰

Roberts et al. estudaram, nos EUA, a possível associação entre a exposição perinatal a poluentes atmosféricos e TEA. Eles estimaram associações entre os níveis de poluentes atmosféricos perigosos no momento/local de nascimento e o TEA nas crianças (325 casos em comparação com 22.101 controles) participantes do II Estudo de Saúde de Enfermeiras (*Nurses' Health Study II*), coorte longitudinal prospectivo de enfermeiras recrutadas em 1989. Os autores levaram em consideração possíveis vieses e ajustaram a situação socioeconômica da família e do setor censitário, idade materna no nascimento e ano de nascimento. As exposições perinatais ao maior quintil em comparação com o menor quintil de partículas de diesel, chumbo, manganês, níquel e cádmio, bem como uma medição geral dos metais, foram significativamente associadas ao TEA. Para a maior parte dos poluentes, a associação foi mais forte no sexo masculino do que no feminino. Os autores concluíram que a exposição perinatal a poluentes atmosféricos pode aumentar o risco de desenvolver TEAs e sugeriram estudos adicionais para os possíveis caminhos biológicos específicos de cada sexo que associam a exposição a poluentes atmosféricos aos TEAs.¹¹

Von Ehrenstein et al. avaliaram os riscos de autismo relacionados à exposição a poluentes atmosféricos monitorados durante a gravidez no Condado de Los Angeles, Califórnia (EUA). Entre a coorte de crianças nascidas entre 1995 e 2006, os autores consideraram 148.722 indivíduos cujas mães viviam a 5 km de estações de monitoramento de poluição atmosférica durante a gravidez. Os autores incluíram 768 crianças diagnosticadas com TA de acordo com os critérios do DSM-IV-TR⁶ entre 1998 e 2000. Os riscos de autismo foram elevados pelo aumento do intervalo interquartil em concentrações médias de vários poluentes durante a gravidez, incluindo 1,3-butadieno, meta/paraxileno, outros solventes aromáticos, chumbo, percloroetileno e formaldeído, e ajustados por idade materna, etnia, natividade, escolaridade, tipo de convênio, paridade, sexo da criança e ano de nascimento. Os autores concluíram que os riscos de autismo em crianças poderão aumentar após exposição no útero a tóxicos do ar ambiente relacionados a tráfego e indústrias.¹²

Talbott et al. estudaram a possível relação entre exposição pré-natal e na primeira infância a $MP_{2,5}$ e risco de TEA. O diagnóstico de TEA era feito se uma criança apresentava score ≥ 15 no Questionário de Comunicação Social (SCQ) e tinha documentação escrita, inclusive o ADOS ou outros resultados de ferramentas de diagnóstico, de um diagnóstico de TEA de um psicólogo ou psiquiatra infantil. Os autores fizeram um estudo caso-controle de base populacional e consideraram 217 crianças com TEA, nascidas no Sudoeste da Pensilvânia (EUA) entre 2005 e 2009, em comparação com 226 grupos de controle sem TEA, pareados por idade, sexo e etnia. As razões de chance (ajustadas por idade materna, escolaridade, etnia e tabagismo) eram elevadas, mas não significativas, para intervalos específicos pré- e pós-natal (pré-gravidez, gravidez e ano um), ao passo que o ano dois pós-natal era significativo. Os autores também avaliaram o efeito de períodos cumulativos de gravidez: começaram três meses antes da gravidez e até a gravidez as razões de chance ajustadas eram significativas para pré-gravidez no ano 2. Os autores concluíram que ambas as exposições pré e pós-natal ao $MP_{2,5}$ estão relacionadas ao aumento do risco de TEA, sugeriram que estudos futuros devem considerar vários modelos poluentes, bem como a

elucidação do envolvimento do $MP_{2,5}$ na etiopatogenia do TEA.¹³

Novamente, Talbott et al. Fizeram um estudo caso-controle de base populacional no sudoeste da Pensilvânia (EUA) para estimar a possível relação entre a exposição a 30 neurotoxinas ambientais e o TEA.¹³ Os autores estudaram 217 crianças com TEA nascidas entre 2005 e 2009 em comparação com 224 controles pareados por ano de nascimento, sexo e etnia e 5.007 controles a partir de uma amostra aleatória de certidões de nascimento com o mesmo local de nascimento. Os autores calcularam as razões de chance, ajustadas por idade, escolaridade, etnia e tabagismo da mãe e pelo ano de nascimento e sexo da criança. Eles descobriram que viver em áreas com níveis mais elevados de estireno e cromo durante a gravidez estava associado ao aumento do risco de TEA, ao passo que os efeitos limítrofes foram constatados com relação a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) e cloreto de metileno. Entretanto, com base nesses achados, não está claro se os produtos químicos mencionados representam fatores de risco em si ou se refletem o efeito de uma mistura de poluentes.¹⁴

Considerando que nos EUA crianças com TEA parecem viver em agrupamentos espaciais e o motivo desse agrupamento é difícil de determinar devido a variações ilimitadas de acesso a serviços de saúde e práticas de diagnóstico, Schelly et al. exploraram a difusão do TEA na Costa Rica, em um pequeno ambiente em que nenhuma variação no acesso a serviços de saúde e práticas de diagnóstico está presente. Além disso, na Costa Rica, o potencial de exposição a mercúrio da fonte hipoteticamente implicada no TEA (consulte a seção sobre usinas termelétricas) está ausente e as áreas com níveis elevados de poluição atmosférica estão concentradas espacialmente. O estudo incluiu 118 crianças com TEA diagnosticadas de acordo com o ADOS, avaliado entre 2010-2013. Os autores identificaram agrupamentos espaciais que sugeriam um mecanismo que não depende de fatores como informações sobre TEA, acesso a serviços de saúde, práticas de diagnóstico ou toxinas ambientais. Os resultados verificados pelo estudo não corroboram a causa mais provável de agrupamento ambiental – a poluição atmosférica.¹⁵

Dickerson et al. Fizeram um estudo ecológico em cinco locais dos EUA: Arizona, Maryland, Nova Jersey, Carolina do Sul e Utah, respectivamente. Eles verificaram a associação, durante os anos 1990, entre a prevalência de TEA (diagnosticado de acordo com os critérios do DSM-IV-TR),⁶ no nível do setor censitário, e a proximidade dos centros dos setores com as instalações industriais mais próximas que emitem arsênio, chumbo ou mercúrio. Eles analisaram 2.489 setores censitários com 4.486 casos de TEA, ajustaram às características demográficas e socioeconômicas das áreas. Os autores constataram que a prevalência de TEA foi aumentada em setores censitários no 10º percentil mais próximo comparado com a distância dos setores localizados no 50º percentil mais distante. Os autores concluíram que esses achados sugerem uma associação entre a proximidade residencial com instalações industriais que emitem poluentes atmosféricos e o aumento da prevalência de TEA.¹⁶

Novamente, Dickerson et al., que consideraram a mesma amostra de 4.486 crianças com TEA que vivem em 2.489 setores censitários, usaram modelos binomiais negativos multinível, estudaram a possível relação entre chumbo, mercúrio e concentrações de arsênio no ar e prevalência

de TEA. Ao ajustar pelos fatores demográficos e socioeconômicos, os setores com concentrações de chumbo no quartil mais alto apresentaram prevalência de TEA significativamente maior em comparação com setores com concentrações de chumbo no quartil mais baixo. Além disso, os setores com concentrações de mercúrio acima do 75º percentil e concentrações de arsênio abaixo do 75º percentil apresentaram prevalência de TEA significativamente maior em comparação com setores com concentrações de arsênio, chumbo e mercúrio abaixo do 75º percentil. Os autores sugeriram uma possível relação entre concentrações de chumbo no ar e prevalência de TEA e sustentaram que exposições a vários metais podem gerar efeitos sinérgicos sobre o desenvolvimento de TEA.¹⁷

Kalkbrenner et al. examinaram nos EUA a exposição a MP_{10} no local de nascimento de 979 crianças com TEA, diagnosticadas de acordo com o DSM-IV-TR,⁶ nascidas de 1994 a 2000 (645 na Carolina do Norte e 334 na Califórnia), em comparação com 14.666 controles amostrados aleatoriamente nascidos nos mesmos condados e anos (12.434 na Carolina do Norte e 2.232 na Califórnia, respectivamente). Os autores calcularam as razões de chance de autismo em um aumento de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ na concentração de MP_{10} em períodos de três meses a partir do período pré-concepcional até o primeiro aniversário da criança. As razões de chance foram ajustadas por ano, estado, escolaridade e idade da mãe, etnia, nível de urbanização do bairro e renda familiar média. Além disso, um termo não paramétrico para a semana de nascimento foi incluído para representar tendências sazonais. Os autores constataram que a exposição a MP_{10} durante o terceiro trimestre, e não no início da gestação, foi associada a um risco maior de autismo. Os autores indicaram que seus dados não permitiram que conhecessem a composição do MP (MP_{10} surge de tráfego, fumaça de madeira e usinas de energia), mas outra pesquisa nesse campo é importante também para facilitar os esforços de prevenção contra as diferentes fontes das quais o MP pode surgir.¹⁸

Raz et al. examinaram nos EUA a possível associação entre a exposição da mãe ao MP e as chances de TEA em seu filho, fizeram um estudo caso-controle aninhado dos participantes do II Estudo de Saúde de Enfermeiras (*Nurses' Health Study II*).¹¹ Eles incluíram 245 crianças diagnosticadas com TEA, confirmado pela ADI-R e pela Escala de Responsividade Social (ERS), e 1.522 crianças sem TEA selecionadas aleatoriamente. Durante a gravidez, a exposição ao $MP_{2,5}$ foi associada a chances mais altas de TEA, com razão de chance ajustada (por sexo da criança, ano de nascimento, mês de nascimento, idade materna no nascimento, idade paterna no nascimento e renda segundo o censo) de TEA de 1,57 por aumento de IIQ no $MP_{2,5}$ e consideraram apenas as mulheres que mantiveram o mesmo endereço antes e depois da gravidez (160 casos e 986 indivíduos no grupo de controle). A associação entre a exposição ao $MP_{2,5}$ e TEA foi mais forte no terceiro trimestre do que nos dois primeiros trimestres de gravidez quando ajustada mutuamente. Foi encontrada pouca associação entre o $MP_{10-2,5}$ (MP com diâmetro aerodinâmico entre $10 \mu\text{m}$ e $2,5 \mu\text{m}$) e TEA. Os autores concluíram que, durante a gravidez, principalmente no terceiro semestre, uma exposição materna maior ao $MP_{2,5}$ está associada ao aumento das chances de uma criança com TEA.¹⁹

Guxens et al. Fizeram um estudo em quatro coortes de base populacional de nascimento/crianças da Europa. Eles

avaliaram se a exposição pré-natal a óxidos de nitrogênio e MP, estimada entre 2008 e 2011, estava associada a traços de autismo. Os autores incluíram 8.079 crianças entre 4 e 10 anos no estudo. Os traços de autismo foram avaliados com, respectivamente, o módulo de TEA do inventário de tiques de autismo, transtornos de déficit de atenção e hiperatividade e outras comorbidades (A-TAC) na coorte sueca; a subescala de problemas invasivos do desenvolvimento da lista de verificação do comportamento infantil (CBCL1½-5) nas coortes holandesa e italiana; uma versão adaptada de 18 itens da ERS na coorte holandesa; e o teste do espectro de autismo na infância (Cast) nas coortes espanholas. A exposição pré-natal a óxidos de nitrogênio e ao MP não estava associada a traços de autismo. Os autores trabalharam com a hipótese de que a exposição pré-natal à poluição atmosférica poderia estar relacionada ao TEA, porém não a amplos traços de autismo. Eles sugeriram uma pesquisa adicional, inclusive estudos europeus sobre crianças diagnosticadas com TEA; comparação da manifestação e da detecção de TEA entre os EUA e a Europa; e exploração de mecanismos subjacentes à associação entre poluentes atmosféricos e TEA para melhor entender os diferentes resultados em comparação com estudos anteriores.²⁰

Pesticidas e outros desreguladores endócrinos

Os desreguladores endócrinos (DEs) normalmente são substâncias feitas pelo homem que podem interferir no sistema endócrino e estão presentes em uma grande quantidade de produtos domésticos e industriais. A possível relação entre DEs, principalmente pesticidas, e o autismo tem sido muito discutida nos últimos anos, até agora sem chegar a conclusões definidas.

No contexto do estudo caso-controle de base populacional chamado riscos de autismo infantil devido à genética e ao meio ambiente (Charge), Shelton et al. exploraram na Califórnia (EUA) a possível relação entre a proximidade da residência com pesticidas agrícolas durante a gestação e TEA ou atraso no desenvolvimento (AD). No que diz respeito a 970 participantes de 2-5 anos, os dados de aplicação de pesticida comercial coletados com o uso do relatório de uso de pesticidas na Califórnia (de 1997 a 2008) estavam relacionados com os endereços durante a gestação. As libras do princípio ativo aplicado em organofosforados, organoclorados, piretroides e carbamatos (quatro famílias de pesticida selecionadas pelos autores) foram agregadas às distâncias de 1,25 km, 1,5 km e 1,75 km da residência. Os autores usaram regressão logística multinomial para calcular a razão de chance de exposição, compararam casos afetados por TEA (486, diagnosticados de acordo com a ADI-R e o ADOS) ou por AD (168, avaliados pela Escala de Mullen de Aprendizagem Precoce e pela Escala de Comportamento Adaptativo Vineland) com controles normais (316) pareados com os casos de TEA por sexo, idade e área de captação regional. Os dados foram ajustados por escolaridade paterna, propriedade da casa, local de nascimento da mãe, raça/etnia da criança, ingestão de vitaminas pré-natal materna e ano de nascimento. Durante a gravidez, cerca de um terço das mães vivia a 1,5 km da aplicação de pesticidas agrícolas. Viver próximo a organofosforados por algum tempo durante a gravidez foi associado a um risco 60% maior de TEA, mais alto na exposição a organofosforados em geral no terceiro

trimestre e na aplicação de clorpirifós (organofosforado explorado independentemente) no segundo trimestre. Crianças de mães que viviam próximo de aplicações de piretroides durante o período pré-concepcional ou gravidez no terceiro trimestre estavam sujeitas a um risco maior de TEA e AD. O risco de AD foi maior naqueles que vivem próximo às aplicações de carbamatos, sem período vulnerável específico. Os autores concluíram que esse estudo corrobora a associação entre a exposição a pesticidas durante a gravidez, principalmente organofosforados, e os transtornos do neurodesenvolvimento e fornece novos achados sobre as associações de piretroides e carbamatos com TEA e AD.²¹

Keil et al., na Califórnia (EUA), examinaram a possível associação entre o uso de imidacloprida relatado pelas mães, pesticida doméstico comum usado para o tratamento de pulgas e carrapatos em animais de estimação, e TEA. Os participantes foram inscritos como parte do estudo Charge mencionado.²¹ O conjunto de dados analíticos incluiu informações completas, coletadas antes de setembro de 2011, de 407 crianças com TEA (avaliadas com a ADI-R e o ADOS) e 262 controles normais, pareados por sexo, idade na entrevista e região de nascimento. Os autores usaram os modelos de Bayesian para avaliar a associação entre imidacloprida e TEA, bem como corrigir a possível classificação errônea da exposição diferencial devido à memória em um estudo caso-controle de TEA. Na entrevista, os casos de controle eram ligeiramente mais novos do que as crianças com TEA (média de três anos e sete meses e três anos e 10 meses, respectivamente). Os dados foram ajustados por sexo da criança, centro regional de nascimento e idade; escolaridade da mãe, etnia e paridade; e se possuíam animais durante o período pré-natal. As chances de exposição pré-natal à imidacloprida entre os casos com TEA foram apenas ligeiramente maiores do que entre os controles. Uma análise da janela de susceptibilidade apresentou maiores razões de chance para exposições durante a gestação do que para exposições durante o início da vida e, apesar de considerar apenas usuários sistemáticos de imidacloprida, as razões de chance aumentaram para 20. Os autores concluíram que a associação entre a exposição à imidacloprida e o TEA pode resultar da classificação errônea da exposição em si, devido ao viés de memória. Contudo, eles sugeriram uma investigação adicional sobre essa associação e enfatizaram a necessidade de estudos de validação com relação à exposição pré-natal à imidacloprida em pacientes com TEA.²²

Infelizmente, os dois estudos^{21,22} tiveram como base dados coletados retrospectivamente, sem coleta de amostras biológicas durante a gravidez. Nesse sentido, o trabalho de Braun et al. representa um passo à frente. Nesse estudo sobre a exposição gestacional a DEs e comportamentos autistas, os autores consideraram, além de seis pesticidas organoclorados, oito metabólitos de ftalatos (ftalatos são usados principalmente como plastificantes), bisfenol A (usado para produzir alguns plásticos e resinas epóxi), 25 bifenilos policlorados (PCBs) (por exemplo, amplamente usado em equipamentos elétricos como fluidos dielétricos e de refrigeração), oito retardantes de chamas bromados (amplamente usados, por exemplo, em produtos eletrônicos) e quatro substâncias perfluoroalquilos (usadas em materiais plásticos de laboratório e tubulações). No contexto do estudo chamado Home (Resultados de Saúde e Medidas do

Meio Ambiente), os autores mediram as concentrações sanguíneas ou na urina das substâncias mencionadas em 175 mulheres grávidas que residem na região metropolitana de Cincinnati (Ohio, EUA), inscritas para participar entre 2003 e 2006 (estudo prospectivo de coorte de nascimento). Quando as crianças chegaram a 4 e 5 anos, as mães receberam a ERS. Os dados foram ajustados por idade materna no parto, etnia, estado civil, escolaridade, paridade, cobertura de convênio, trabalho, renda familiar, uso de vitaminas no período pré-natal, sintomas de depressão e QI da mãe, ambiente de cuidado e exposição gestacional a fumaça de cigarro. Os autores exploraram as associações ajustadas pelo fator de confusão entre os DEs mencionados e os comportamentos de autismo avaliados pela ERS com um modelo de regressão hierárquica de dois estágios para considerar as medidas e os fatores de confusão por DEs correlacionados. Grande parte dos DEs foi associada a diferenças sem importância em pontos na ERS. Cada aumento de 2 dp nas concentrações séricas do éter difenil polibromado-28 (PBDE-28) (retardante de chamas bromado) ou transnonaolclo (pesticida organoclorado) foi associado a comportamentos mais relacionados a autismo. Por outro lado, os autores constataram menos comportamentos autistas em filhos de mulheres com PCB-178 (bifenilo policlorado), β -hexaclorocicloexano (pesticida organoclorado) ou PBDE-85 (retardante de chamas bromado) em concentrações detectáveis em comparação com não detectáveis. O aumento das concentrações de perfluoro-octanoato (PFOA) (substância perfluoroalquilada) também estava associado a menos comportamentos autistas. Essas últimas associações com menos comportamentos autistas podem sugerir uma possível ação protetora das substâncias envolvidas. Os autores concluíram que alguns DEs estavam associados a mais ou menos comportamentos de autismo na infância, porém o tamanho pequeno da amostra não permitiu que chegassem a conclusões definidas.²³

A hipótese intrigante de que os DEs podem modificar os eixos de hormônios endógenos, interferir no neurodesenvolvimento esteroide-dependente e aumentar o risco de TEA^{23,24} ainda exige confirmação experimental.

Outros fatores ambientais

Gao et al. investigaram a associação entre fatores de risco ambiental pré-natal e autismo em Tianjin (China). Eles fizeram um estudo caso-controle que incluiu 193 crianças com autismo e 733 controles normalmente desenvolvidos pareados por idade e sexo de 2007 a 2012 com o uso de um questionário. O grupo do caso consistiu em crianças diagnosticadas por um pediatra segundo os critérios do DSM-IV-TR⁶ e com escore ≥ 30 na Escala de Classificação de Autismo na Infância (CARS). A análise estatística foi feita com a Árvore Estatística Rápida, Imparcial e Eficiente (Quest) e a análise de regressão logística para calcular a razão de chance de cada fator de risco ajustado por fatores socioeconômicos. Ao combinar uma árvore de classificação à análise de regressão logística, os autores constataram que a depressão materna durante a gravidez e as complicações neonatais (anóxia, icterícia e pneumonia aspirativa) estavam associadas ao aumento do risco de autismo na infância, ao passo que o uso de ar condicionado pela mãe e a dieta com peixes de água doce do pai antes da gravidez estavam associados à redução do risco de autismo na infância. Os

autores mencionaram que o uso do ar condicionado pode diminuir a concentração de poluentes atmosféricos resultante da redução de MP no ar pelos filtros. Outra hipótese é que um ambiente interno mais bem controlado pode reduzir a umidade e as condições que favorecem o crescimento de micróbios. A dieta de peixes dos pais pode ajudar a reduzir ou evitar a obesidade paterna; além disso, o óleo dos peixes pode melhorar a qualidade do esperma.²⁵

Em nossa opinião, o possível envolvimento da poluição eletromagnética na etiopatogenia dos TEAs é uma das hipóteses mais intrigantes, porém, ao mesmo tempo, uma das menos estudadas.²⁶ O grande aumento na poluição eletromagnética, relacionado ao uso de tecnologias sem fio, parece se sobrepor cronologicamente ao aumento da prevalência do autismo detectada nas últimas décadas. Muitos estudos da literatura sugeriram os possíveis efeitos biológicos e sobre a saúde, inclusive carcinogenicidade, atribuível à exposição eletromagnética, provavelmente mediada, pelo menos em parte, pelos danos ao DNA.²⁷⁻²⁹ Principalmente no que diz respeito ao TEA, os mecanismos patogênicos hipotéticos de poluição eletromagnética incluem: danos ao DNA, estresse oxidativo, aumento do cálcio intracelular, disfunção do sistema imunológico e rompimento da barreira hematoencefálica.^{28,29} O estudo caso-controle observacional feito por Pino-López e Romero-Ayuso na Espanha, que envolveu 70 casos com TEA e 136 controles (com idade de 16-36 meses), sugeriu a presença de uma correlação entre exposição eletromagnética relacionada ao trabalho dos pais, principalmente do pai, e TEA em seus filhos.³⁰ Contudo, o estudo mostra algumas limitações em termos de metodologia, inclusive o fato de que os autores usaram dados de um único centro (Ciudad Real) e uma ferramenta (Lista de Verificação Modificada para Autismo em Crianças de Um a Três Anos: M-Chat) não totalmente confiável para o diagnóstico de TEA. Um estudo epidemiológico sistemático que envolva centros localizados em diferentes áreas geográficas com diversos níveis de exposição eletromagnética é necessário para avaliar a hipótese de uma relação entre a extensão de poluição eletromagnética e prevalência de autismo.²⁶ Porém, infelizmente, até agora esses tipos de estudos sobre esse tópico estão em falta.

O possível papel de vacinas infantis na etiopatogenia do TEA foi muito discutido ao longo dos anos e o debate ainda é atual. Em sua metanálise com base em evidência, Taylor et al. consideraram cinco coortes e cinco estudos de caso-controle sobre esse tópico que envolveram 1.256.407 e 9.920 crianças, respectivamente. Os dados da coorte não apresentaram relação entre vacinação e autismo ou TEA nem entre várias vacinas (SCR), timerosal ou mercúrio e autismo ou TEA. Da mesma forma, os dados do caso-controle não apresentaram um aumento do risco de autismo ou TEA após exposição a SCR, mercúrio ou timerosal quando agrupados por doença ou tipo de exposição. Os autores sugeriram que vacinações, bem como os componentes da vacina (timerosal ou mercúrio) ou SCR, não estão associadas a um aumento do risco de autismo ou TEA.³¹ Contudo, deve-se notar que, de acordo com a observação de Turville e Golden, a metanálise de Taylor et al. confirmou estudos anteriores, os quais mostraram que a incidência de TEA é semelhante em grupos de crianças que foram vacinadas de maneira diferente, mas não compararam a incidência de TEA em crianças vacinadas e não vacinadas.³²

Portanto, ainda existe alguma incerteza a respeito dessa questão e, de acordo com Sealy et al., esse assunto deve ser estudado ainda mais e a comunidade científica ainda deve estar atenta a respeito da possível associação entre vacinas e TEA.³³ Entretanto, no momento, desistir das vacinas parece uma escolha injustificada e perigosa para a saúde pública.

Van Elst et al. desenvolveram uma teoria animadora de acordo com a qual pode existir um vínculo entre ácidos graxos poli-insaturados (Pufa) e TEA. Os autores indicaram que, nas últimas décadas, o aumento na prevalência de TEA parece ser concomitante às modificações na composição dos ácidos graxos da dieta, a saber: a substituição do colesterol pelo ômega 6 em muitos produtos alimentícios, o que causou um aumento impressionante na razão ômega 6/ômega 3. Os autores trabalharam com a hipótese de que, durante os primeiros estágios da vida, o déficit de ômega 3 poderá levar a alterações: na neurogênese, sinaptogênese, mielinização; síntese e rotatividade de neurotransmissores; conectividade do cérebro; expressão de receptores ativados por proliferador de peroxissoma; respostas à inflamação; funcionamento e comportamento cognitivo; todos eles parecem estar relacionados ao TAE.³⁴ Infelizmente, até o momento, os ensaios clínicos randomizados como um todo não mostraram efeitos significativos da suplementação com ômega 3 em crianças afetadas pelo TEA, mesmo sem excluir a existência de um subgrupo de pacientes com TEA que possa responder a esse tratamento.³⁵

Discussão

Atualmente, se aceita amplamente que ambos os fatores genéticos e ambientais são implicados na etiopatogenia do denominado TEA não síndrômico, que não é secundário a uma doença genética bem conhecida (como o complexo da esclerose tuberosa ou a síndrome do X frágil). Por muito tempo, o peso do componente genético foi considerado claramente prevalente, porém, nos últimos anos, considerando o aumento drástico na prevalência do ASD, o papel dos fatores ambientais ganhou uma importância relativamente maior. Além dessas considerações epidemiológicas óbvias, conforme sugerido por Wong et al., a hipótese de que a exposição a fatores ambientais pode contribuir consideravelmente para o desenvolvimento de TEA é justificada pela presença de diferentes subconjuntos de genes candidatos em cada indivíduo com TEA e pela ampla variedade de fenótipos desses indivíduos.³⁶ Contudo, ainda há muito a se descobrir sobre a complexa interação entre esses fatores causais. O conceito relativamente novo de epigenética pode ser muito útil nesse sentido, pelo menos em uma subpopulação de casos com TEA. A epigenética representa um mecanismo fundamental de regulação genética com base nas modificações químicas de DNA e das proteínas de histonas sem alterar a sequência de DNA. Foi proposto que os fatores ambientais, como os metais pesados e os DEs, podem modificar o status epigenético e a expressão do gene e causar o TEA.^{37,38}

Contudo, o papel etiopatogênico dos fatores ambientais ainda precisa ser considerado com cuidado devido à falta de dados conclusivos. Apesar de a associação entre, por exemplo, os poluentes atmosféricos e o risco de TEAs receber cada vez mais confirmação, a hipótese de uma relação

causal real entre eles precisa de dados adicionais e os possíveis mecanismos patogênicos dos poluentes atmosféricos envolvidos nos TEAs continuam hipotéticos. Em humanos, a exposição a poluentes atmosféricos tem mostrado um favorecimento do estresse oxidativo e das inflamações,¹⁶ o que pode contribuir para a patogênese dos TEAs.³⁹ Adicionalmente, chumbo, mercúrio e arsênio são neurotóxicos conhecidos que podem ultrapassar a barreira hematoencefálica e prejudicar o neurodesenvolvimento.¹⁶ Os mecanismos epigenéticos podem ser hipotetizados com base nos resultados do estudo experimental em animais feito por Hill et al.³⁷ Outra coisa que deve ser considerada é a possibilidade de as misturas de poluentes atmosféricos, e não poluentes isolados, estarem relacionadas aos TEAs devido a efeitos sinérgicos:^{12,17} obviamente, isso tornaria a interpretação dos dados resultantes dos estudos sobre poluentes e TEAs muito mais difícil. Segundo Guxens et al., a exposição do pai a poluentes atmosféricos durante o período pré-concepção também pode ter um papel na etiopatogenia dos TEAs,²⁰ porém são escassos os estudos sobre esse assunto. Infelizmente, atualmente nosso conhecimento nessa área ainda está nas suposições ou apenas um pouco mais adiante.

Por outro lado, não devemos esquecer a importância do componente genético na etiopatogenia dos TEAs, demonstrada por uma quantidade expressiva de dados na literatura durante os últimos anos e confirmada hoje também por uma simples observação: apesar do aumento na prevalência da doença nas últimas décadas, a grande desproporção entre homens e mulheres em favor dos primeiros tem sido confirmada.⁴ Caso a etiopatogenia dos TEAs estivesse relacionada apenas a fatores ambientais, com os quais homens e mulheres estão inevitavelmente em contato, não deve haver motivo para essa persistência na diferença na prevalência entre os sexos.

A figura 1 representa uma tentativa de resumir várias possíveis interações entre fatores genéticos e ambientais envolvidos na etiopatogenia de TEAs não síndrômicos. O esquema mostra que, em indivíduos geneticamente predispostos, os fatores ambientais podem levar a autismo diretamente ou por meio de mecanismos epigenéticos, alterações na função imune da mãe durante a gravidez (ativação imune materna) e do indivíduo afetado e modificações do microbioma (representado pela totalidade de microrganismos simbióticos abrigados pelo corpo humano), que, por sua vez, interage de forma recíproca com a função imune, o estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial.³⁷⁻⁴⁵ Esse esquema não pretende ser exaustivo e, certamente, precisará de atualizações.

Contudo, apesar da falta de dados conclusivos, o possível impacto dos poluentes ambientais sobre a saúde pública deve ser lembrado e, assim, o princípio da precaução, segundo Suades-González et al., deve ser aplicado para proteger as crianças de possíveis fatores patogênicos.⁴⁶ Primeiro, há motivos éticos e morais óbvios para incitar uma abordagem preventiva com relação aos poluentes na hipótese de isso conseguir reduzir a ocorrência de novos casos de TEAs. Contudo, mesmo além dessas considerações essenciais, há também motivos relacionados à possibilidade de obter, com uma prevenção adequada, uma redução no uso de recursos humanos e financeiros devido aos custos elevados à sociedade causados pelo tratamento de pessoas com TEA.

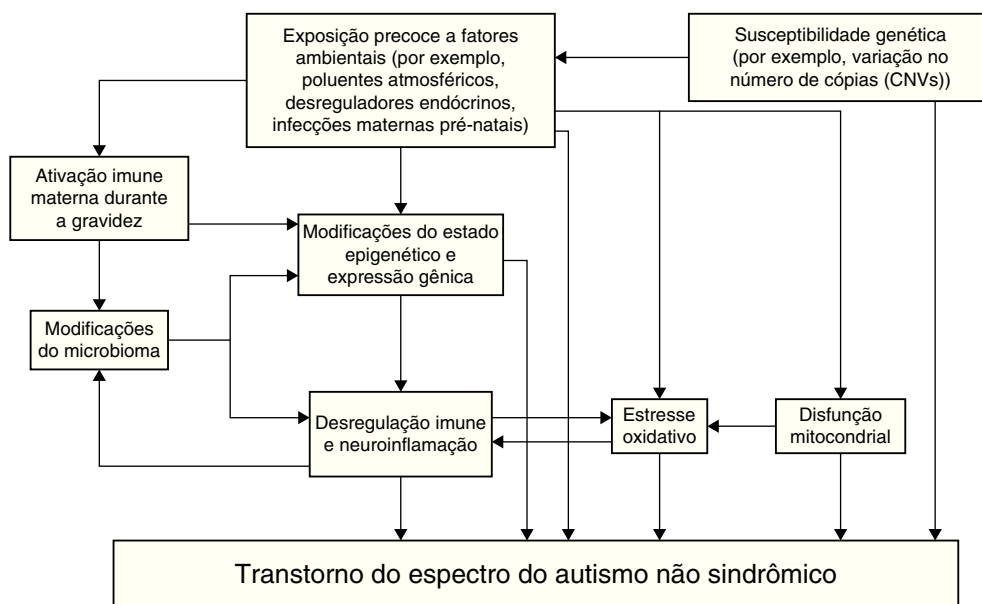


Figura 1 Etiopatogenia de transtorno do espectro do autismo não síndrômico. Obs.: A figura 1 resume várias possíveis interações entre fatores genéticos e ambientais envolvidos na etiopatogenia de transtorno do espectro do autismo não síndrômico. Cada seta significa um efeito facilitador.

Conclusões

Apesar dos grandes esforços envidados nas últimas décadas em pesquisa médica que envolve recursos humanos e financeiros consideráveis, atualmente muitos aspectos da etiopatogenia do TEA ainda são desconhecidos, ao passo que a prevalência dessa doença heterogênea aumentou muito sem explicações satisfatórias. Isso nos levou a desenvolver várias hipóteses normalmente divergentes que ainda precisam de confirmação. Graças à enorme quantidade de dados da pesquisa sobre o autismo esses anos, atualmente sabemos muito mais informações sobre o funcionamento do cérebro desses indivíduos, mas também dos indivíduos desenvolvidos normalmente. Contudo, infelizmente, mesmo atualmente não existe um tratamento específico que o cure. Em 2016, ainda observamos que essa doença invalidante é cada vez mais frequente, sem uma etiopatogenia conhecida ou tratamentos decisivos. Essa situação favoreceu indiretamente, nas famílias envolvidas, o uso de tratamentos de medicina complementar e alternativa,⁴⁷ fenômeno que nem sempre é seguro para os pacientes.

Futuras pesquisas devem investigar se há uma diferença significativa na prevalência de TEA entre nações com níveis altos e baixos de vários tipos de poluição. Até agora, a ampla maioria dos estudos que buscaram uma correlação entre poluentes e autismo foi feita nos EUA e isso pode ser um fator limitante do ponto de vista epidemiológico, também porque a maioria dos poucos estudos feitos em outros locais não confirmou os resultados obtidos nos EUA. Não está claro se isso é devido a problemas metodológicos ou a diferenças reais entre as áreas geográficas levadas em consideração. De acordo com Shelton et al.,²¹ um objetivo muito importante da pesquisa a respeito das interações entre genética e ambiente é a identificação de populações vulneráveis, também em virtude da prevenção adequada. Por fim, outro aspecto que consideramos muito importante na pesquisa nessa área é a uniformidade dos critérios de diagnóstico e das

ferramentas de avaliação de TEA para tornar comparáveis os resultados dos estudos feitos em todo o mundo.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

A Cecilia Baroncini pela revisão do inglês.

Referências

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5). 5th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2013.
2. Lyall K, Schmidt RJ, Hertz-Picciotto I. Maternal lifestyle and environmental risk factors for autism spectrum disorders. *Int J Epidemiol.* 2014;43:443–64.
3. Bölte S. Is autism curable? *Dev Med Child Neurol.* 2014;56:927–31.
4. Christensen DL, Baio J, Van Naarden Braun K, Bilder D, Charles J, Constantino JN, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years – Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2012. *MMWR Surveill Summ.* 2016;65:1–23.
5. Nevison CD. A comparison of temporal trends in United States autism prevalence to trends in suspected environmental factors. *Environ Health.* 2014;13:73.
6. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, text revision (DSM-IV-TR). 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
7. Becerra TA, Wilhelm M, Olsen J, Cockburn M, Ritz B. Ambient air pollution and autism in Los Angeles County, California. *Environ Health Perspect.* 2013;121:380–6.
8. Volk HE, Lurmann F, Penfold B, Hertz-Picciotto I, McConnell R. Traffic-related air pollution, particulate matter, and autism. *JAMA Psychiatry.* 2013;70:71–7.

9. Practice Management Information Corporation. International Classification of Diseases, 9th revision, clinical modification (ICD-9-CM). Los Angeles, CA: Practice Management Information Corporation; 1999.
10. Jung CR, Lin YT, Hwang BF. Air pollution and newly diagnostic autism spectrum disorders: a population-based cohort study in Taiwan. *PLOS ONE*. 2013;8:e75510.
11. Roberts AL, Lyall K, Hart JE, Laden F, Just AC, Bobb JF, et al. Perinatal air pollutant exposures and autism spectrum disorder in the children of Nurses' Health Study II participants. *Environ Health Perspect*. 2013;121:978–84.
12. von Ehrenstein OS, Aralis H, Cockburn M, Ritz B. In utero exposure to toxic air pollutants and risk of childhood autism. *Epidemiology*. 2014;25:851–8.
13. Talbott EO, Arena VC, Rager JR, Clougherty JE, Michanowicz DR, Sharma RK, et al. Fine particulate matter and the risk of autism spectrum disorder. *Environ Res*. 2015;140:414–20.
14. Talbott EO, Marshall LP, Rager JR, Arena VC, Sharma RK, Stacy SL. Air toxics and the risk of autism spectrum disorder: the results of a population based case–control study in southwestern Pennsylvania. *Environ Health*. 2015;14:80.
15. Schelly D, Jiménez González P, Solís PJ. The diffusion of autism spectrum disorder in Costa Rica: evidence of information spread or environmental effects? *Health Place*. 2015;35:119–27.
16. Dickerson AS, Rahbar MH, Han I, Bakian AV, Bilder DA, Harrington RA, et al. Autism spectrum disorder prevalence and proximity to industrial facilities releasing arsenic, lead or mercury. *Sci Total Environ*. 2015;536:245–51.
17. Dickerson AS, Rahbar MH, Bakian AV, Bilder DA, Harrington RA, Pettygrove S, et al. Autism spectrum disorder prevalence and associations with air concentrations of lead, mercury, and arsenic. *Environ Monit Assess*. 2016;188:407.
18. Kalkbrenner AE, Windham GC, Serre ML, Akita Y, Wang X, Hoffman K, et al. Particulate matter exposure, prenatal and postnatal windows of susceptibility, and autism spectrum disorders. *Epidemiology*. 2015;26:30–42.
19. Raz R, Roberts AL, Lyall K, Hart JE, Just AC, Laden F, et al. Autism spectrum disorder and particulate matter air pollution before, during, and after pregnancy: a nested case–control analysis within the Nurses' Health Study II Cohort. *Environ Health Perspect*. 2015;123:264–70.
20. Guxens M, Ghassabian A, Gong T, Garcia-Esteban R, Porta D, Giorgis-Allemand L, et al. Air pollution exposure during pregnancy and childhood autistic traits in four European population-based cohort studies: the ESCAPE Project. *Environ Health Perspect*. 2016;124:133–40.
21. Shelton JF, Geraghty EM, Tancredi DJ, Delwiche LD, Schmidt RJ, Ritz B, et al. Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: the CHARGE study. *Environ Health Perspect*. 2014;122:1103–9.
22. Keil AP, Daniels JL, Hertz-Picciotto I. Autism spectrum disorder, flea and tick medication, and adjustments for exposure misclassification: the CHARGE (Childhood Autism Risks from Genetics and Environment) case-control study. *Environ Health*. 2014;13:3.
23. Braun JM, Kalkbrenner AE, Just AC, Yolton K, Calafat AM, Sjödin A, et al. Gestational exposure to endocrine-disrupting chemicals and reciprocal social, repetitive, and stereotypic behaviors in 4- and 5-year-old children: the HOME study. *Environ Health Perspect*. 2014;122:513–20.
24. Braun JM. Endocrine disrupting compounds, gonadal hormones, and autism. *Dev Med Child Neurol*. 2012;54:1068.
25. Gao L, Xi QQ, Wu J, Han Y, Dai W, Su YY, et al. Association between prenatal environmental factors and child autism: a case control study in Tianjin, China. *Biomed Environ Sci*. 2015;28:642–50.
26. Posar A, Visconti P. To what extent do environmental factors contribute to the occurrence of autism spectrum disorders? *J Pediatr Neurosci*. 2014;9:297–8.
27. Baan R, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, et al. Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields. *Lancet Oncol*. 2011;12:624–6.
28. Herbert MR, Sage C. Autism and EMF? Plausibility of a pathophysiological link – part I. *Pathophysiology*. 2013;20:191–209.
29. Herbert MR, Sage C. Autism and EMF? Plausibility of a pathophysiological link – part II. *Pathophysiology*. 2013;20:211–34.
30. Pino-López M, Romero-Ayuso DM. Parental occupational exposures and autism spectrum disorder in children. *Rev Esp Salud Publica*. 2013;87:73–85.
31. Taylor LE, Swerdfeger AL, Eslick GD. Vaccines are not associated with autism: an evidence-based meta-analysis of case–control and cohort studies. *Vaccine*. 2014;32:3623–9.
32. Turville C, Golden I. Autism and vaccination: the value of the evidence base of a recent meta-analysis. *Vaccine*. 2015;33:5494–6.
33. Sealey LA, Hughes BW, Sriskanda AN, Guest JR, Gibson AD, Johnson-Williams L, et al. Environmental factors in the development of autism spectrum disorders. *Environ Int*. 2016;88:288–98.
34. van Elst K, Bruining H, Birtoli B, Terreaux C, Buitelaar JK, Kas MJ. Food for thought: dietary changes in essential fatty acid ratios and the increase in autism spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014;45:369–78.
35. Posar A, Visconti P. Complementary and alternative medicine in autism: the question of omega-3. *Pediatr Ann*. 2016;45:e103–7.
36. Wong CT, Wais J, Crawford DA. Prenatal exposure to common environmental factors affects brain lipids and increases risk of developing autism spectrum disorders. *Eur J Neurosci*. 2015;42:2742–60.
37. Hill DS, Cabrera R, Wallis Schultz D, Zhu H, Lu W, Finnell RH, et al. Autism-like behavior and epigenetic changes associated with autism as consequences of *in utero* exposure to environmental pollutants in a mouse model. *Behav Neurol*. 2015;2015:426263.
38. Kubota T, Mochizuki K. Epigenetic effect of environmental factors on autism spectrum disorders. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13:E504.
39. Ghezzi A, Visconti P, Abruzzo PM, Bolotta A, Ferreri C, Gobbi G, et al. Oxidative stress and erythrocyte membrane alterations in children with autism: correlation with clinical features. *PLOS ONE*. 2013;8:e66418.
40. Block ML, Calderón-Garcidueñas L. Air pollution: mechanisms of neuroinflammation and CNS disease. *Trends Neurosci*. 2009;32:506–16.
41. Rossignol DA, Frye RE. A review of research trends in physiological abnormalities in autism spectrum disorders: immune dysregulation, inflammation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and environmental toxicant exposures. *Mol Psychiatry*. 2012;17:389–401.
42. Grayson DR, Guidotti A. Merging data from genetic and epigenetic approaches to better understand autistic spectrum disorder. *Epigenomics*. 2016;8:85–104.
43. Nardone S, Elliott E. The interaction between the immune system and epigenetics in the etiology of autism spectrum disorders. *Front Neurosci*. 2016;10:329.
44. Moos WH, Faller DV, Harpp DN, Kanara I, Pernokas J, Powers WR, et al. Microbiota and neurological disorders: a gut feeling. *Biores Open Access*. 2016;5:137–45.
45. Wong S, Giulivi C. Autism, mitochondria and polybrominated diphenyl ether exposure. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2016;15:614–23.
46. Suades-González E, Gascon M, Guxens M, Sunyer J. Air pollution and neuropsychological development: a review of the latest evidence. *Endocrinology*. 2015;156:3473–82.
47. Akins RS, Angkustsiri K, Hansen RL. Complementary and alternative medicine in autism: an evidence-based approach to negotiating safe and efficacious interventions with families. *Neurotherapeutics*. 2010;7:307–19.