

Sandra Isabel Maia de Almeida

Genes envolvidos na determinação do autismo

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, Junho 2014

Sandra Isabel Maia de Almeida

Genes envolvidos na determinação do autismo

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, Junho 2014

Sandra Isabel Maia de Almeida

Genes envolvidos na determinação do autismo

Monografia apresentada à
Universidade Fernando Pessoa como
parte dos requisitos para obtenção do
grau de mestre em Ciências
Farmacêuticas.

(Sandra Isabel Maia de Almeida)

Porto, Junho de 2014

Resumo

A doença do Autismo é ainda considerada muito complexa, pois apresenta uma etiologia diversa, com múltiplos fatores aparentemente associados ao seu aparecimento, contudo, nenhum deles se revela responsável na sua totalidade.

Atualmente considera-se que o desenvolvimento desta patologia tem uma forte componente genética com interação de diversos genes. Mais ainda, outras doenças perfeitamente desvendadas e com etiologia conhecida podem também estar relacionadas com o autismo.

Com esta tese pretende-se englobar numa só revisão bibliográfica, algumas doenças associadas ao aparecimento do autismo, denominado de autismo secundário (5-10% dos casos) e discutir alguns dos genes candidatos no autismo idiopático (90-95% dos casos) como: *AVPR1a*, *DISC1*, *DYX1C1*, *ITGB3*, *SLC6A4*, *RELN*, *RPL10*, e o *SHANK3*. Todos estes genes apresentam características quer ao nível de fenótipo associado à sua alteração, quer ao nível dos resultados obtidos de acordo com a deteção de *linkage* ou desequilíbrio de *linkage*, com os valores de LOD score, com os estudos de famílias e de associação, que os tornam candidatos passíveis de explicarem a origem do autismo.

Abstract

The Autism disease is still considered very complex, because it has a diverse etiology, with multiple factors apparently associated with its appearance, however, none of them reveals to be totally responsible.

Nowadays the appearance of this disorder is considered to have a strong genetic component with the interaction of several genes. Furthermore other diseases with well-known etiology might also be related with autism.

This thesis is a literature review concerning some diseases associated with the onset of autism, called secondary autism (5-10% of cases) and discuss some of the candidate genes in idiopathic autism (90-95% of cases) like: *AVPR1A*, *DISC1*, *DYX1C1*, *ITGB3*, *SLC6A4*, *RELN*, *RPL10*, and *SHANK3*. All these genes have characteristics both in terms of phenotype associated with their mutation, and in terms of the results obtained through detection of linkage or linkage disequilibrium, with LOD score, family and association studies, which make them likely candidates to explain the origin of autism.

Agradecimentos

Agradeço a todas as pessoas que durante este percurso, que se demonstrou cheio de adversidades porém muito rico ao nível pessoal e profissional, se revelaram importantes na concretização de mais esta etapa acadêmica.

À Professora Doutora Inês Lopes Cardoso, pela orientação deste trabalho, pela paciência, compreensão e por toda ajuda.

À Sandra Pinto e à Ana Pimentel, agradeço a amizade, a compreensão, o respeito, e a presença desde o primeiro dia.

Aos meus pais que são os meus alicerces, e que me deram todas as condições para que eu seguisse em frente e lutasse pelos meus objetivos. Obrigada por seguirem sempre ao meu lado.

Índice

Resumo	i
Abstract	ii
Agradecimentos	iii
Índice	iv
Índice de Tabelas	vi
Índice de Figuras	vii
Acrónimos	viii
1. Introdução	1
2. Espectro do Autismo	2
2.1. História e definição	2
2.2. Análise comportamental das PEAs	4
2.3. Prevalência	6
2.4. Etiologia	7
2.5. Diagnóstico	8
2.5.1. Autismo secundário: fatores genéticos	8
2.5.2. Autismo Idiopático	11
3. Bases genéticas do autismo	12
3.1. Conceitos básicos	13
3.1.1. Fenómenos de Mutação	13
3.2. Estudo genético	15
4. Mapeamento Genético vs. Doenças Complexas	18
4.1. Estudos de associação	18

4.2.	<i>Linkage</i> vs. Desequilíbrio de <i>Linkage</i>	19
4.3.	Valores de LOD score	20
4.4.	Epistasia Genética	20
4.5.	Vias Biológicas	20
5.	Genes envolvidos no autismo: Genes candidatos	22
6.	Conclusão	28
7.	Bibliografia	30

Índice de Tabelas

Tabela 1: Categorias diagnósticas dos TGDs segundo a classificação do DSM-IV-TR (American Psychiatric Association, 2000) (adaptado de Longo, 2009).....	3
Tabela 2: Descrição das mutações que ocorrem ao nível do ADN (adaptada de Clancy, 2008 (b)).....	14

Índice de Figuras

Figura 1: Loci responsáveis pela predisposição para as PEAs (adaptada de Folstein e Rosen-Sheidley, 2001).....	22
--	----

Acrónimos

ADI-R - Autism Diagnostic Interview-Revised

ADOS - Autism Diagnostic Observation Shedule

ADN – Ácido desoxirribonucléico

ARN – Ácido ribonucléico

DSM-IV - Quarta Edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais

PEAs – Perturbações do Espectro Autista

PGD – Perturbação Global do Desenvolvimento

QI - Quociente de Inteligência

PGD-NE - Perturbação Global do Desenvolvimento Não Especificado

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Single Nucleotide Polimorphism

SXF - Síndrome do X-Frágil

1. Introdução

Desde o início da existência humana que as comunidades excluía ou negligenciavam aqueles que se afastavam da norma tanto ao nível físico como mental, tendo-se edificado em torno daqueles ditos *normais*. Muito se deveu aos mitos e crenças infundadas e ao próprio desconhecido. Atualmente, o interesse sobre esta população é crescente, e, por isso, a investigação roda em torno do conhecimento acerca destes fenómenos visando a sua integração numa sociedade construída à margem de todos aqueles que apresentem necessidades especiais (Siegel, 2008).

O termo “Autismo” oriunda de “autos”, palavra grega que significa “próprio” ou “de si mesmo”. Trata-se de um síndrome com sintomas e graus de manifestação extremamente variados, sendo considerado um distúrbio do desenvolvimento humano, ainda com diversas lacunas no âmbito do conhecimento científico, sobre o qual permanecem grandes questões, ainda indecifráveis, pela diversidade de características que apresenta (Siegel, 2008).

Os relatos de aumento da prevalência do autismo na população, os escassos estudos de eficácia de tratamento e os custos acrescidos em educação e cuidados destes pacientes tornam esta patologia um foco de grande interesse no que concerne a questões de saúde pública (Álvarez e Camacho-Arroyo, 2010; Gonçalves, 2011).

Estima-se que a prevalência das Perturbações do Espectro Autista (PEAs) esteja entre 0,5% e 1%, e estes valores parecem aumentar em cerca de 15% por ano. Continua latente o debate entre um aumento real destes transtornos ou uma possível relação com o melhoramento da prática do seu diagnóstico (Meyer *et al.*, 2011).

2. Espectro do Autismo

2.1. História e definição

O estudo do Autismo já tem cerca de 7 décadas e foi descrito em 1943 pela primeira vez pelo médico austríaco Leo Kanner, no seu artigo científico intitulado “Distúrbios Autísticos do Contacto Afetivo”. Neste trabalho, o autor começou por agrupar um conjunto de comportamentos aparentemente característicos, manifestados por onze crianças seguidas por si, maioritariamente do sexo masculino. Teoricamente, estes comportamentos poderiam identificar crianças com este distúrbio, verificando-se que demonstravam défice perceptivo, emocional e cognitivo (Gonçalves, 2011; Folstein e Rosen-Sheidley, 2001; Kanner, 1943). Nas duas décadas que se sucederam, e apesar da publicação deste estudo, assistiu-se a um desinteresse pelo tema que colmatou com ausência de novas propostas que refutassem ou validassem a de Leo Kanner.

Contudo, as primeiras análises referiam a existência de uma similaridade frequentemente suscetível de confusão entre os termos *Autismo* e *Esquizofrenia Infantil*, o que poderá ter induzido incorretamente à sua indiferenciação. Corroborando este facto, recorde-se que o conceito de Autismo já havia sido difundido em 1911 por Bleuler, ao tentar referir-se ao quadro de esquizofrenia no âmbito da limitação apresentada nas relações humanas e na relação com o mundo exterior (Longo, 2009). Não obstante, no ano de 1971 os dois conceitos foram finalmente dissociados devido às diferenças de sintomas (p.e., idade de aparecimento dos primeiros sintomas), historial familiar e diferença na resposta ao tratamento de indivíduos adultos com suspeita de esquizofrenia/autismo infantil (Meyer *et al.*, 2011).

Seguindo-se a Kanner, Hans Asperger (1944) publicou o artigo com o título “Psicopatologia Autística da Infância”, (tendo sido alvo de interesse pela comunidade científica internacional somente no início dos anos 80) baseado no estudo que envolveu quatro crianças descritas como portadoras da mesma resistência em estabelecer contacto

social, e os mesmos padrões de interesse restritos, contudo, demonstravam habilidades linguísticas sofisticadas. Apareceu assim a designação de *Perturbação de Asperger* (Gonçalves, 2011; Johnson *et al.*, 2007; Vila *et al.*, 2009). Atualmente diferencia-se facilmente do autismo clássico (Siegel, 2008).

Após as publicações destes dois cientistas, seguiram-se muitos outros estudos clínicos, porém, somente com a publicação da quarta edição do *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais* (DSM-IV), da Associação Americana de Psiquiatria, o Autismo foi classificado como um tipo de *Perturbação Global do Desenvolvimento* (PGD) (Gonçalves, 2011; Hughes, 2012; Vila *et al.*, 2009). Atualmente é definido como uma alteração no desenvolvimento normal da criança que apresenta perturbações ao nível da “comunicação, socialização e comportamentos restritos e estereotipados” (Vila *et al.*, 2009). Dentro das PGDs, podemos distinguir diferentes categorias: Síndrome de Asperger; *Perturbação Global do Desenvolvimento Não Especificado* (PGD-NE); Síndrome de Rett; *Perturbação Desintegrativa da Infância* (Gonçalves, 2011; Hughes, 2012; Longo, 2009) (Tabela 1).

Tabela 1: Categorias diagnósticas dos TGDs segundo a classificação do DSM-IV-TR (American Psychiatric Association, 2000) (adaptado de Longo, 2009).

Perturbações Globais do Desenvolvimento	Caraterísticas
<i>Perturbação Autística*</i>	Autismo clássico
<i>Síndrome de Rett</i>	Condição genética (mutações no gene <i>MECP2</i>). Afeta predominantemente meninas e atinge o desenvolvimento cerebral pós-natal.
<i>Perturbação Desintegrativa da Infância</i>	Regressão cognitiva, comportamental e na linguagem de 2 a 10 anos, precedida de desenvolvimento completamente normal, e com posterior aparecimento das características autísticas.
<i>Perturbação de Asperger*</i>	Indivíduos com algumas características autistas que desenvolvem a linguagem na idade esperada, sem atraso mental.
<i>Perturbação Global do Desenvolvimento sem outra especificação*</i>	Indivíduos com algumas características autistas, mas não tão graves ou extensivas, e que não pertencem às categorias anteriores.

*Também denominadas conjuntamente como *Perturbações do Espectro do Autista* (PEAs).

Assim, de acordo com a conclusão a que chegou a psiquiatra inglesa Lorna Wing (*cit in. Vila et al., 2009*), o grau de autismo varia conforme os défices observados ao longo do tempo no âmago da interação social, da comunicação verbal e não verbal e do uso da imaginação, denominando-se de “Triade de Impedimentos Sociais” (Vila *et al., 2009*; Happé *et al., 2006*). Os desvios que estas perturbações apresentam, derivam de uma etiologia muito heterogénea e, inclusivamente, desconhecida na sua maioria (Ecker *et al., 2012*). Neste seguimento, a descrição do espectro autista vai para além das definições estritas, podendo combinar-se em áreas comportamentais que resultam desde os indivíduos com um potencial cognitivo baixo e que revelam défice na comunicação verbal recíproca e comportamentos repetitivos, acompanhados de atraso mental, até aqueles que apresentam elevado potencial cognitivo, e que embora apresentem défice na interação social com comportamentos estereotipados e repetitivos, não revelam atraso no desenvolvimento da linguagem (p.e., Síndrome de Asperger) (Vila *et al., 2009*).

As PGDs (entre as quais se integram as PEAs) abrangem, então, um leque de alterações clínicas de início precoce cujas diversas áreas básicas do comportamento e desenvolvimento estão comprometidas simultaneamente. Aqui incluem-se, também, o Síndrome de Rett, e a Perturbação Desintegrativa da Segunda Infância (Longo, 2009; Wing, 1997).

Passaram várias décadas desde a descrição de Kanner em 1943 até que se reconhecesse a etiologia complexa do autismo, e o papel fundamental dos fatores genéticos (Wing, 1997).

2.2. Análise comportamental das PEAs

Embora o Autismo seja atualmente bem mais conhecido, ainda surpreende pela diversidade de características que pode apresentar.

A criança autista tem uma aparência física normal, podendo apresentar macrocefalia (Folstein e Rosen-Sheidley, 2001; Veenstra-Vanderweele e Blakely, 2012), contudo,

também lhe é característico um perfil irregular do desenvolvimento detetável nos primeiros três anos de vida, persistindo até à idade adulta. A *Triade de Impedimentos Sociais* é caracterizada por um padrão estrito e contínuo, mas com níveis de inteligência que podem variar entre o *atraso mental* e um desempenho extraordinário em certos domínios cognitivos (p.e., música, artes, matemática, memória), isto é, as capacidades *savant* (Folstein e Rosen-Sheidley, 2001; Gonçalves, 2011; Happé *et al.*, 2006; Santos, 2010; Wing, 1997). Apesar de 80% das crianças com autismo apresentarem atraso mental, as capacidades *savant* podem existir, embora o QI (Quociente de Inteligência) global seja baixo (Folstein e Rosen-Sheidley, 2001; Santos, 2010; Wing, 1997). Salienta-se, desta forma, a diferença entre o *atraso mental* e o *autismo*, onde o primeiro apresenta uniformemente um défice do desenvolvimento, enquanto o último apresenta um perfil irregular, com graus de comprometimento diferenciados.

Para a diferenciação do autismo relativamente a outros transtornos, existem alguns sistemas de classificação e diagnóstico que servem como base de sustentação. Podem evidenciar-se a Classificação Internacional de Doenças da Organização Mundial de Saúde (CID-10), e o Manual de Diagnóstico e Estatística de Doenças Mentais da Academia Americana de Psiquiatria 4ª Edição (DSM-IV), no qual diversas revisões levaram inclusivamente, à substituição do termo *Autismo Infantil* por *Perturbação Autista*, distinguindo-se oficialmente esta da *Perturbação de Asperger* (Oliveira, 2009).

De acordo com a análise de Siegel (2008), são comportamentos característicos do autismo a ecolalia (a criança repete o mesmo som consecutivamente), incapacidade de jogar jogos simbólicos, inversão prenominal (utilização da terceira pessoa em vez da primeira), entoação anormal da voz, ausência ou défice na linguagem, relação peculiar com objetos inanimados, interesses estereotipados, comportamentos repetitivos, défice na partilha social, emocional e de interesses, dificuldade em estabelecer contato visual e físico. Alguns sintomas frequentemente observados nestes indivíduos abrangem também a hiperatividade, défice de atenção, impulsividade, agressividade e auto agressividade, e birras no caso dos mais jovens (Veenstra-Vanderweele e Blakely, 2012; Vila *et al.*, 2009).

Os indivíduos com Perturbação de Asperger, revelam défices sociais e interesses restritos, todavia, mantêm intactas as capacidades linguísticas ou até se encontram acima da média para a idade (Gonçalves, 2011; Siegel, 2008).

No Perturbação Global do Desenvolvimento Não Especificado, os indivíduos revelam prejuízos numa ou mais áreas do desenvolvimento, contudo, não são suficientes para se incluírem no transtorno autista ou de Asperger, pois estão abaixo em número ou intensidade (Oliveira *et al.*, 2007).

A sua heterogeneidade fenotípica ou elevada variação observada nos padrões comportamentais e nos níveis de capacidade social e de comunicação originou a predominante utilização do termo *Perturbações do Espetro Autista* (Oliveira *et al.*, 2007).

A distinção entre a Perturbação Autista e as restantes PEAs é mais complicada dada a ocorrência em simultâneo de um ou mais transtornos psiquiátricos e neurológicos na grande maioria dos pacientes (72%), incluindo: deficit de atenção/hiperatividade, transtorno de tiques, dispraxia (disfunção motora neurológica), dislexia (dificuldade na leitura, escrita e soletração), transtorno obsessivo-compulsivo, fobias, ansiedade, transtornos de humor, transtornos do sono e transtornos alimentares (Longo, 2009).

2.3. Prevalência

Na população portuguesa, a prevalência das PEAs é de cerca de uma em cada mil crianças (Folstein e Rosen-Sheidley, 2001; Oliveira *et al.*, 2005). Estima-se que cerca de 60-70 em 10.000 indivíduos sofram de uma Perturbação Global do Desenvolvimento, e 20 em cada 10.000 se relacione com as perturbações que compreendem o espectro do autismo (sendo um terço referente à Perturbação de Asperger). Estes valores tornam as PEAs as formas mais frequentes de distúrbio no desenvolvimento infantil, e tem-se verificado um aumento ao longo das últimas décadas (Fombonne, 2009). Contudo, de acordo com o sexo a prevalência difere, sendo quatro vezes superior em indivíduos do sexo masculino. Ainda assim, quando o indivíduo do sexo feminino é autista tende a ser mais afetado ao nível cognitivo, contrariamente ao que acontece ao nível social (Folstein and Rosen-Sheidley, 2001; Oliveira *et al.*, 2005).

2.4. Etiologia

Desde os estudos de Kanner, começaram a ser analisados alguns dos aspectos característicos do autismo na personalidade dos pais das crianças afetadas. Inicialmente associava-se a sua causa a pais emocional e socialmente frios. Seguiram-se diversos estudos científicos que associaram o autismo a atraso mental, síndromes genéticas, epilepsia e a outras condições neurológicas que evidenciaram as bases orgânicas do autismo e de transtornos relacionados (Longo, 2009).

Estas abordagens contribuíram em grande escala para elucidar a relação dos aspectos biológicos envolvidos nas PEAs, e demonstraram que se trata de condições complexas, com múltiplas etiologias, e variados níveis de gravidade. Ainda que as evidências reflitam que grande parte dos casos de PEAs resultem de causas genéticas, a expressão desses genes pode ser modulada por fatores ambientais desde o período gestacional. É de salientar que muitas deficiências com envolvimento cerebral associadas a PEAs, ocorrem durante o primeiro e segundo trimestre de gestação (efeito teratogénico) (Meyer *et al.*, 2011).

Sendo ainda desconhecida a origem das PEAs, é já evidente a existência de uma correlação estreita entre a predisposição genética (superior a 90%) e os fatores ambientais (Vila *et al.*, 2009). São conhecidas algumas alterações consistentes durante a gestação de indivíduos afetados, contudo, não se torna ainda possível o seu diagnóstico pré-natal, sobretudo, por não se identificarem quaisquer traços físicos associados. O primeiro sinal de alerta resume-se, maioritariamente, à interação social deficiente da criança, observada geralmente entre os 6 meses e os 3 anos de vida (Oliveira, 2009).

Na etiologia do autismo, “verifica-se uma acentuada diminuição do risco para os familiares em segundo e terceiro grau, o que aponta para o envolvimento de múltiplos genes interatuantes”, isto é, que se influenciam entre si (Correia, 2008). Contudo, apesar das inúmeras investigações ao nível farmacológico, patológico, eletrofisiológico e de imagiologia, a etiologia dos PEAs continua a ser alvo de debate (Spence *et al.*, 2009).

2.5. Diagnóstico

Dada a impossibilidade atual de atribuir marcadores genéticos identificativos desta doença, o diagnóstico baseia-se numa investigação minuciosa do histórico evolutivo do paciente e inquérito familiar (p.e., capacidades cognitivas e comportamentais) de acordo com a *Autism Diagnostic Interview-Revised*, ADI-R, e a *Autism Diagnostic Observation Schedule*, ADOS (Oliveira *et al.*, 2007).

Pensa-se que o aparecimento do autismo esteja relacionado com alguma anormalidade do cérebro, ainda não definida, contudo associada a um princípio genético. As PEAs demonstram uma etiologia bastante heterogénea, de forma que a existência de um teste médico definitivo ou de cura para este tipo de enfermidades, encontra-se dificultada. Assim, são escassos os casos em que o seu diagnóstico definitivo surge antes dos vinte e quatro meses (normalmente o diagnóstico é bem sucedido entre os 3 e os 6 anos) (Landa, 2008).

Desta forma, a sua avaliação deverá ser realizada por um ou mais profissionais com formação em medicina e vários anos de experiência clínica. O médico procura investigar, através da solicitação de diversos exames, a existência de doenças com causas conhecidas e que podem apresentar um quadro de autismo infantil, como é o caso do *Síndrome do X-Frágil* e da *Perturbação de Rett* (Oliveira, 2009).

A génese do autismo divide-se em *Autismo Secundário* (com agentes ambientais, anomalias cromossómicas ou alterações genéticas identificadas) e em *Idiopático* (sem causa conhecida, e no qual se estima estarem envolvidos mais de dez genes), sendo este último o mais comum (Folstein e Rosen-Sheidley, 2001).

2.5.1. Autismo secundário: fatores genéticos

São diversas as doenças genéticas relacionadas com o aumento de risco de ocorrência de PEA, justificando 5 a 10% do total de casos diagnosticados. Na sequência da prevalência do autismo ser superior em homens, têm surgido estudos que colocam em

hipótese a influência genética do cromossoma X, que os torna mais suscetíveis para as PEAs (Santos, 2010).

Síndrome do X-Frágil (SXF). O indivíduo apresenta geralmente atraso no desenvolvimento, particularmente atraso na linguagem e atraso motor, ou ainda, comportamentos autistas. Dada a localização do principal gene responsável se encontrar no cromossoma X (Xq27.3), a probabilidade está aumentada no género masculino. Na maioria dos casos (99%), a doença está ligada à perda de função do gene *FMRI*, explicada pela repetição do triplete CGG na região 5' não traduzida (5' UTR). A proteína FMR1 (FMR1P - *fragile X mental retardation 1 protein*) é o produto do gene *FMRI*, e encontra-se maioritariamente no citoplasma dos neurónios, estando envolvida em processos importantes como a associação a ribossomas de tradução e a maturação da estrutura e função das sinapses, tendo um efeito supressor na região pós-sináptica (Belmonte e Bourgeron, 2006; Santos, 2010).

O número de repetições do trinucleótido CGG pode variar significativamente, dando origem a pré-mutações (59-200 repetições), ou mutações completas (acima de 200 repetições). Na presença de uma pré-mutação transmitida por via materna, a instabilidade meiótica poderá resultar em mutação completa (Figura 1) (Santos, 2010).

O autismo tem uma elevada prevalência em indivíduos com SXF, estimando-se valores entre os 25 e 33%. A proteína FMR1 pode afetar a expressão de diversos genes envolvidos no desenvolvimento do autismo. Contudo, o SXF distingue-se do autismo pela presença de um biomarcador específico, a anormal expansão da sequência CGG no cromossoma X (Belmonte e Bourgeron, 2006; Santos, 2010).

Síndrome de Down e de Pradel-Willi/Angelman. A Síndrome de Down é a anormalidade citogenética mais comum em pacientes com PEAs (7-10% dos indivíduos são portadores de PEAs), seguindo-se da encontrada na região 15q11-13 (presente em 1 a 4% dos pacientes autistas). Quando a região 15q11-13 sofre duplicação ou inversão, verifica-se uma alta incidência de epilepsia na infância, hipotonia muscular e problemas de coordenação motora, juntamente com atraso mental grave ou moderado, atraso ou ausência de fala e ainda, hiperatividade grave. Se ocorrerem deleções das regiões cromossómicas

referidas, maternas ou paternas, aparecem associadas a doenças com *inprinting* (fenómeno caracterizado por certos genes serem expressos apenas por um alelo): Síndrome de Angelman e de Prader-Willi (Carvalho *et al.*, 2004).

Síndrome de Rett. A Síndrome de Rett, cujo gene associado, o *MeCP2*, é bem conhecido, é uma doença dominante ligada ao cromossoma X, sendo considerada um dos fatores responsáveis para um pequeno número de autistas. Esta síndrome é normalmente letal em meninos, pelo que a análise da sequência do gene *MeCP2* é solicitada em meninas com fenótipo de Rett. As mutações mais frequentes são as que ocorrem nos exões 2, 3 e 4 do gene referido (Santos, 2010).

Epilepsia. Alguns investigadores referem que os episódios de epilepsia em indivíduos diagnosticados com PEAs ocorrem de forma casual. Ainda assim, a literatura difunde também, um risco aumentado da ocorrência de epilepsia em indivíduos com PEAs, resultante da existência de uma anormalidade no Sistema Nervoso Central (SNC) demonstrada através de alterações neuropatológicas, e de diferenças neuroimagiológicas estruturais e funcionais. Como as disfunções associadas ao SNC aumentam fortemente o risco de epilepsia, verifica-se a sua ocorrência num terço dos indivíduos com autismo. A prevalência de crianças afetadas com autismo infantil que apresentam epilepsia, varia de 5 a 46% (Spence *et al.*, 2009; Veenstra-Vanderweele e Blakely, 2012).

Esquizofrenia. A sua etiologia poderá estar relacionada com a exposição a infeções antes do nascimento e subsequente resposta inflamatória. Do mesmo modo, pode dizer-se que o autismo deriva deste fenómeno, dado que parece partilhar com a esquizofrenia diversas alterações ao nível morfológico do cérebro (Meyer *et al.*, 2011).

De acordo com Meyer *et al.* (2011), a ocorrência de infeção na mulher durante os períodos críticos da gravidez poderá levar a inflamação aguda associada a citocinas (grupo de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre células durante a resposta imunitária) no sistema fetal, particularmente ao nível do cérebro afetando-o negativamente nos processos de desenvolvimento neuronal: proliferação, migração e sobrevivência celular. Assim, a inflamação aguda na fase fetal do desenvolvimento neuronal poderá estar

envolvida na formação de substratos neuronais anómalos nos processos do comportamento social, cognitivo e emocional, entre outros.

Atraso mental. O gene *AGTR2*, presente na região Xq22-q23, parece estar relacionado com o aparecimento de atraso mental em indivíduos com autismo, uma vez que estes indivíduos apresentam a sua deleção. Contudo, a região Xq13-q21 que contém genes da família das neuroliginas ainda se revela mais importante. As neuroliginas são fundamentais nos processos de mediação da interação celular através de moléculas de adesão, entre células neuronais. Estas células apresentam nas suas membranas plasmáticas recetores do tipo neuroxinas (Carvalheira *et al.*, 2004; Ylisaukko-Oja *et al.*, 2005).

Aproximadamente 75-80% das crianças com autismo infantil sofrem de um atraso mental severo (Longo, 2009).

2.5.2. Autismo Idiopático

Denomina-se de autismo idiopático a mesma condição mas com etiologia desconhecida, sendo este tipo de autismo 90 a 95% do total diagnosticado. Suscitando um grande interesse científico, vários genes têm sido testados como possíveis candidatos, tendo sido atribuído envolvimento de mais de 10 genes (Ecker *et al.*, 2012; Longo, 2009).

3. Bases genéticas do autismo

São várias as doenças psiquiátricas com fortes evidências de envolvimento genético na sua origem, de entre as quais estão a esquizofrenia, o distúrbio bipolar e o autismo. Foi em 1977 que a predisposição genética para a doença do autismo foi descrita pela primeira vez, de acordo com um estudo que envolvia gémeos mono e dizigóticos (Álvarez, 2010; Freitag, 2007).

Atualmente, dados revelados por estudos populacionais sugerem que o modelo que melhor descreve os PEAs é o multifatorial (Kilpinen *et al.*, 2008; Mendelsohn e Schaefer, 2008; Wassink *et al.*, 2004; Veenstra-Vanderweele e Blakely, 2012). Verifica-se uma concordância de 60-92% em gémeos monozigóticos e de 0-10% em gémeos dizigóticos (Napolioni *et al.*, 2011). A diferença de valores encontrados nos estudos entre gémeos monozigóticos apoia o modelo multifatorial, demonstrando a importância dos fatores ambientais.

São diversos os estudos realizados no sentido de ver esclarecidos quais os fatores genéticos associados à doença. Das causas relacionadas ao autismo que sugerem uma forte componente genética salientam-se as convulsões, deficiência mental, diminuição de neurónios e sinapses na amígdala, hipocampo e cerebelo, tamanho aumentado do encéfalo, e concentração de serotonina circulante aumentada. Inclusivamente, os estudos realizados com gémeos monozigóticos demonstram uma concordância significativa, contrariamente ao que se passa com os gémeos dizigóticos. Os irmãos não gémeos apresentam um risco de desenvolver autismo que varia entre os 0-30% sendo este risco muito superior ao apresentado pela população em geral (Mendelsohn e Schaefer, 2008).

Comparando os diferentes grupos populacionais supracitados, assim como a diferença entre o género feminino e masculino, estão evidenciados efeitos epistáticos (hierarquia entre alelos) que envolvem uma interação entre diversos genes, sugerindo a ação de pressões ambientais (Dawson *et al.*, 2007).

3.1. Conceitos básicos

Na espécie humana, a maioria do material genético está armazenada no núcleo das células. Cada célula somática (diploide) é, normalmente, constituída por 46 cromossomas (23 maternos e 23 paternos), sendo cada um deles constituído por uma longa sequência de ADN (ácido desoxirribonucleico), e por proteínas (sequência de aminoácidos). Deste modo, os cromossomas detêm toda a informação genética hereditária de uma pessoa. Denomina-se de *locus*, o local invariável onde um cromossoma detém um determinado gene (sendo *loci* o seu plural). *Alelo* é a forma alternativa que um gene pode apresentar. Um gene pode ser representado por diferentes alelos, manifestados num fenótipo perante a interação entre o alelo proveniente do cromossoma paterno e o alelo proveniente do cromossoma materno (formação de uma célula diploide) (Campos, 2002).

Os genes são porções de ADN (ácido desoxirribonucleico), contendo uma sequência particular de bases azotadas (que compõem os nucleótidos): a Adenina; a Timina; a Guanina; a Citosina, formando tripletos de nucleótidos (codões), onde cada um pode codificar para um aminoácido, salvo o codão de iniciação e três codões de terminação. Os genes podem ser transcritos em ARN (ácido ribonucleico), para a conseqüente síntese de proteínas essenciais à sobrevivência e manutenção do organismo. As proteínas exercem uma função específica em cada uma das diferentes células, fazendo parte da estrutura de órgãos e tecidos, e sendo necessárias para diversas funções do organismo (Campos, 2002). Os genes apresentam a informação necessária para a construção das diferentes partes do corpo, especificando características como a altura, a cor do cabelo e dos olhos e traços relacionados com o funcionamento cerebral, entre muitas outras (NICHD, 2005).

3.1.1. Fenómenos de Mutação

Alterações ao nível da sequência de nucleótidos de um ácido nucleico, que resistem aos fenómenos naturais de reparação, tornam-se mutações permanentes, após a divisão celular. Nesta fase, a célula deixa de reconhecer esta alteração como um erro, e a sequência de ADN incorreta serve de molde para a sua futura replicação (Pray, 2008).

Uma mutação pode dever-se à alteração de um único nucleótido – mutação pontual (p.e. *SNP*, *Single Nucleotide polymorphism*), ou ainda, ocorrer ao nível do cromossoma, comprometendo um grande segmento de ADN. Neste último caso, o fragmento mutado pode ter sido sujeito a deleção, duplicação, inversão, translocação para outro cromossoma, ou rearranjado. Assim, a alteração poderá resultar na modificação do tamanho do gene, a completa ausência do gene, ou ainda, alteração na sequência do gene. A alteração que ocorre quando áreas completas do cromossoma são duplicadas ou eliminadas, são denominadas de Variação do Número de Cópias (*CNV – Copy Number Variation*). As CNVs são consideradas fundamentais na ocorrência de doença e/ou evolução da espécie (diversidade genómica), a par dos SNPs (Clancy, 2008(a)).

Uma mutação *frameshift* é resultante de uma inserção ou deleção de pares de nucleótidos, levando a que no ARN mensageiro correspondente o ribossoma identifique codões desfasadamente a partir dessa alteração, isto é leva a uma alteração do quadro de leitura (Clancy, 2008 (b)).

A tabela 2 resume os tipos de mutação ao nível do ADN.

Tabela 2: Descrição das mutações que ocorrem ao nível do ADN (adaptada de Clancy, 2008 (b))

Classificação da Mutação	Tipo de Mutação	Descrição
Mutação Pontual	Substituição	Uma base é adicionada incorretamente durante a replicação e substitui o par na posição correspondente na sequência complementar
	Inserção	Um ou mais nucleótidos extra são inseridos na replicação do ADN, resultando geralmente numa mutação <i>frameshift</i>
	Deleção	Um ou mais nucleótidos saem durante a replicação ou excisadas, resultando geralmente numa mutação <i>frameshift</i>
Mutação Cromossómica	Inversão	Uma região do cromossoma é invertida e reinserida
	Deleção	Uma região do cromossoma é perdida, resultando na ausência dos genes dessa região
	Duplicação	Uma região do cromossoma é repetida, resultando num aumento no número de genes naquele local
	Translocação	Uma região de um cromossoma liga-se a outro cromossoma, de forma aberrante
CNV	Amplificação do gene	Um número de um conjunto de cópias de um <i>locus</i> é aumentado
	Expansão da repetição de nucleótidos	O número normal de sequências repetidas de nucleótidos é ampliado

3.2. Estudo genético

O estudo da etiologia, distribuição e controlo de uma patologia dentro de grupos de familiares, e da identificação dos fatores genéticos de risco envolvidos na doença numa dada população, são objeto de análise da *Epidemiologia genética*. Em doenças complexas, resultantes da interação de diferentes fatores genéticos e ambientais, a hereditariedade, ou modo de transmissão, não segue as leis de Mendel. São conhecidas a: hereditariedade autossómica, como sendo aquela cujos genes estão localizados num autossoma (um dos 22 cromossomas que não determinam o sexo do indivíduo); e a hereditariedade ligada ao sexo (cromossoma X ou cromossoma Y) cuja probabilidade de expressar um determinado alelo é diferente da autossómica. Assim, tratando-se de um carácter recessivo do cromossoma X (que só se expressa na presença de uma cópia igual no caso dos autossomas), este será sempre expresso em homens (Correia, 2008).

Conforme alguns estudos referem, existe uma correlação genética forte como fator de risco ao aparecimento de PEA. A sua base genética confere uma maior predisposição ao indivíduo, seja por alterações pontuais de genes ou cromossomas que por si só sustentam a produção de um fenótipo compatível com PEA, ou por acumulação de *loci* alterados (Carvalho *et al.*, 2004; Grice e Buxbaum, 2006).

Sabendo que diferentes genes configuram um mesmo fenótipo, a determinação dos genes responsáveis por uma certa doença torna-se muito complicada. A par disto, os fatores ambientais envolvidos são bastante difíceis de controlar. Desta forma, são requeridas grandes amostras populacionais para possibilitar a deteção de uma associação entre causa-efeito. Pode dizer-se que, de acordo com estas doenças, os genes candidatos “não são necessários nem suficientes para causar a doença mas predispõem para a doença” (Correia, 2008).

De forma a diferenciar o efeito causado pelos dois fatores importantes para a predisposição para o autismo (genéticos e ambientais) num agregado familiar (sendo

necessária para esta a existência, em média, de uma frequência superior da doença em familiares próximos de indivíduos doentes do que nos de indivíduos não doentes), são fundamentais os estudos com gêmeos mono e dizigóticos e estudos de adoção (Correia, 2008).

Através do estudo de famílias pode estimar-se o risco de recorrência por meio da razão entre o risco de uma doença nos familiares, e o risco da doença na população em geral (Correia, 2008).

As taxas de concordância para uma determinada doença entre gêmeos monozigóticos e dizigóticos é diferente, dado que os primeiros são geneticamente idênticos e os segundos partilham 50% dos genes por descendência. Assume-se, nestes casos, que os gêmeos partilham os mesmos fatores ambientais. Outras taxas de concordância revelam o envolvimento de fatores ambientais e a interação de diversos genes. Aqui prevê-se a importância dos estudos de adoção através dos quais se compara a incidência da doença entre os pais de criação e os pais biológicos e os respetivos filhos (Correia, 2008).

A herança de um fator genético é determinada pelas diferenças entre as taxas de concordância da doença na população em estudo. Para a obtenção destes dados é indispensável que sejam realizados estudos genéticos que permitam o mapeamento do genoma por duas formas distintas, o *linkage* e a associação. Distinguem-se pela identificação de regiões do genoma que possuam genes de suscetibilidade, e pelo mapeamento fino dessas regiões (Borecki e Suarez, 2001; Frazer *et al.*, 2009).

No mapeamento genético são objeto de estudo marcadores polimórficos do ADN cossegregados na doença. Entenda-se por marcador genético a sequência de ADN que retém dois ou mais caracteres genéticos numa população (frequência superior a 1%), tendo um *locus* específico e conhecido e transmitido à descendência segundo as Leis de Mendel. (Frazer *et al.*, 2009; Kruglyak e Nickerson, 2001).

Cada marcador tem uma variante específica e esta é detetada por técnicas moleculares. Por conseguinte, testa-se a proximidade da variante causal com um determinado marcador genético, de modo a poder estimar-se a probabilidade de ocorrência

de separação de dois *loci* num cromossoma durante o processo de *crossing-over* ou recombinação meiótica. Assim, dois *loci* estão ligados quando os respectivos alelos são transmitidos em conjunto à descendência (Correia, 2008).

Na ocorrência simultânea e consistente de uma determinada doença, estamos perante um *locus* de suscetibilidade para a doença.

4. Mapeamento Genético vs. Doenças Complexas

O mapeamento genético requer a identificação de marcadores que desvendem a presença de determinados genes e, por conseguinte, do genoma humano. Os marcadores genéticos definem-se como pequenas sequências de nucleótidos do ADN cuja localização é bem conhecida, e com mais do que uma variante num determinado *locus* do cromossoma (polimorfismo). Os marcadores genéticos frequentemente utilizados são: microsátélites, SNP e CNV (Correia, 2008).

Os microsátélites consistem numa pequena sequência de nucleótidos (2-8) repetida múltiplas vezes dando origem a diferentes alelos consoante o número de repetições que apresenta (Correia, 2008).

Os SNP são as variantes possíveis de uma base (nucleótido) da sequência de ADN, que se encontram distribuídos uniformemente e em grande quantidade pelo genoma humano. Muito embora seja uma importante ferramenta de análise de doenças complexas, não é por si só suficiente para explicar a diversidade do genoma humano, nem a suscetibilidade para essas doenças (Frazer *et al.*, 2009; Kruglyak e Nickerson, 2001).

As doenças complexas exigem um conjunto de estratégias capazes de descodificar os genes de suscetibilidade e os mecanismos biológicos envolvidos, como é o caso dos testes de associação, um dos métodos mais utilizados e nos estudos de *linkage*. Não são ainda, contudo, suficientes para desvendar todo o desconhecido acerca da doença do autismo (Correia, 2008).

4.1. Estudos de associação

Os testes de associação pretendem determinar os alelos de marcadores genéticos associados ao fenótipo, na população. Existe associação entre um marcador e o fenótipo de interesse quando se verificar que o marcador genético é a variante causal, o marcador genético está em desequilíbrio de *linkage* com a variante causal e/ou frequências alélicas do marcador que se verificam superiores, associadas diretamente à doença através da

estratificação da população (subgrupos onde as amostras estão agrupadas de acordo com o sexo, a idade, a etnia, etc.) (Correia, 2008; Frazer *et al.*, 2009).

4.2. *Linkage vs. Desequilíbrio de Linkage*

A determinação das estruturas em desequilíbrio de *linkage* entre os marcadores genéticos nas diferentes populações é um dos fatores importantes no mapeamento genético. No que diz respeito a doenças complexas, cujo modo de transmissão é normalmente desconhecido, os métodos de *linkage* usados designam-se de não paramétricos (usando, p.e., a análise a pares de irmãos afetados). Procura identificar os marcadores, através dos alelos idênticos que são transmitidos à descendência mais frequentemente do que o esperado (Correia, 2008).

Para a identificação de marcadores conhecidos que segreguem em simultâneo com a doença, dentro de famílias afetadas em várias gerações, utiliza-se a análise de *linkage* paramétrico (Correia, 2008). A expressão “dois *loci* estão em *linkage*” utiliza-se quando existe uma proximidade física entre dois *loci* no cromossoma, suficiente para que os seus alelos não sejam separados durante o processo de *crossing-over* (cossegregados) (Borecki e Suarez, 2001). A análise de *linkage* é, por isso, o estudo da cossegregação de marcadores polimórficos de ADN em paralelo com uma doença complexa dentro de famílias com indivíduos afetados em diferentes gerações. Por outras palavras, identifica *loci* transmitidos em bloco juntamente com a doença dentro de famílias (Frazer *et al.*, 2009).

Ao contrário do que acontece no desequilíbrio de *linkage*, quando este está em equilíbrio as frequências genótípicas mantêm-se constantes, dependendo somente das frequências alélicas numa população dita infinita (sujeita a cruzamentos ao acaso e livre de seleção, mutação e migração). O desequilíbrio de *linkage* existe quando os dados refletem um desvio à ocorrência de transmissão alélica ao acaso (Frazer *et al.*, 2009).

O método de *linkage* não paramétrico é ainda pouco eficaz na deteção de genes que não têm um efeito tão imponente na doença mas que podem influenciar significativamente o seu aparecimento (Correia, 2008).

O *linkage* difere da associação dado que na primeira situação podem estar envolvidos diferentes alelos no aparecimento da doença verificada em diferentes famílias, e na segunda toda a população apresenta uma associação à doença através de um alelo comum (Correia, 2008).

4.3. Valores de LOD score

O valor de LOD score (*Logarithm of an odd ratio*) possibilita estimar a probabilidade de *linkage*. Para que o valor deste logaritmo seja considerado significativo estatisticamente, deverá ser superior ou igual a três, significando que a probabilidade de acontecer *linkage* é 10^3 maior do que a hipótese de dois *loci* não estarem em *linkage* (Borecki e Suarez, 2001; Correia, 2008).

4.4. Epistasia Genética

Caracteriza-se como a interação entre dois ou mais genes e desta resultar um desvio do efeito combinado dos seus fenótipos (soma dos efeitos). Isto significa que o alelo responsável por um fenótipo depende de um outro alelo noutra *locus* diferente (Correia, 2008).

A epistasia poderá ser uma das razões pelas quais se verifica ausência de associação entre as variantes genéticas e a doença. É neste sentido que perante uma doença complexa, a análise não é fidedigna quando se estudam os genes isoladamente, desvalorizando as suas potenciais interações que poderão contribuir para entender o fenótipo (Correia, 2008).

4.5. Vias Biológicas

Definem-se como os processos biológicos que envolvem desenvolvimento embrionário, biossíntese, processos metabólicos, processamento da informação genética, funções e sinalização celular, e respostas do sistema imunitário (Cantor *et al.*, 2010).

Dentro das funções celulares, é importante ressaltar o conjunto de ações entre moléculas. Os genes que as codificam são agrupados na mesma via biológica refletora do processo celular em causa. Desta forma, e para facilitar a compreensão da interação e

atuação dos genes dentro de uma via biológica, considera-se este grupo como *gene set*. (Cantor *et al.*, 2010).

São exemplos de disfunções nas vias biológicas as envolvidas no desenvolvimento e formação de sinapses, onde podem surgir alterações na estrutura das proteínas participantes nestes processos (neuroliginas e neuroxinas) e serem responsáveis pela patofisiologia do autismo (Cantor *et al.*, 2010).

5. Genes envolvidos no autismo: Genes candidatos

O estudo de gémeos monozigóticos, dizigóticos e adotados e de famílias ajudam a estabelecer uma relação genética forte na doença do autismo, ainda assim, os diversos exames realizados ao genoma de indivíduos autistas falharam no que concerne à produção consistente de sinais de ligação. Nenhuma das doenças cognitivas e afetivas, bem como certas psicoses, seguem um padrão hereditário segundo as Leis de Mendel, o que fortalece a hipótese de múltiplos genes envolvidos na sua gênese (Carvalho *et al.*, 2004).

Pelo facto de ser uma doença complexa onde existem diversas variantes envolvidas, e onde cada uma confere um risco reduzido no fenótipo, tem sido muito difícil a identificação dos genes de suscetibilidade genética. Ainda, hipóteses que sustentam a presença de sinergismo e/ou epistasia entre múltiplos genes candidatos baseiam-se em alterações cromossómicas que nem sempre se verificam suficientes para a manifestação da doença (Carvalho *et al.*, 2004). Assim, os métodos tradicionais de *linkage* utilizados na maior parte dos estudos realizados, demonstram-se insuficientes para detetar efeitos genéticos modestos, de acordo com as amostras tipicamente pequenas. É então necessário seleccionar genes candidatos de acordo com a categoria das proteínas codificadas, que desempenham uma função importante perante a doença do autismo (Skaar *et al.*, 2005).

Na figura 1, estão ilustrados os *loci* no genoma humano que apresentam

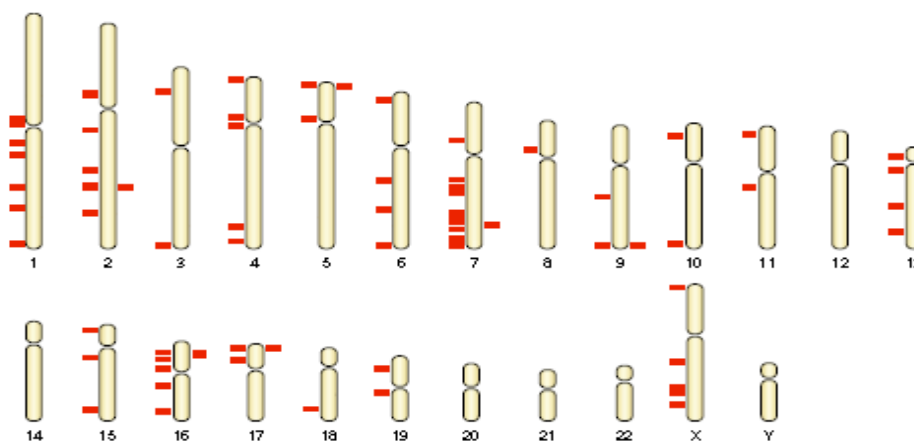


Figura 1: Loci responsáveis pela predisposição para as PEAs (adaptada de Folstein e Rosen-Sheidley, 2001)

sobreposição de sinais de *linkage* de diversos estudos genómicos. Como é possível verificar, os sinais repetem-se significativamente nos cromossomas 7q (braço longo), 2q e 16p (braço curto).

Grande parte dos cromossomas envolvidos sofrem translocações e inversões que resultam na interrupção de genes e em deleções e duplicações responsáveis por diferenças nos efeitos de dose dependente da expressão genética. As alterações mais frequentemente reportadas são duplicações em 15q11-q13, e deleções em 2q37, embora a maior parte delas sejam indetetáveis utilizando o exame comum ao cariótipo (Castermans *et al.*, 2007).

Conforme citado por Freitag, 2007 (*cit in* Santos, 2010), algumas deleções cromossómicas em 2q37, 7q31, 22q11 e 22q13.3, são também importantes no estudo da avaliação citogenética do autismo. As microdeleções cromossómicas responsáveis por certas síndromes, estão associadas ao aparecimento de autismo secundário: Síndrome velocardiofacial, Síndrome DiGeorge, Síndrome de Anomalia Facial Conotruncal.

Gene AVPR1a. Este gene está localizado no braço longo do cromossoma 12 (12q), e codifica o recetor para arginina-vasopressina (AVP). Mutações neste gene levam à alteração do número de recetores. Existe uma diferença na distribuição deste recetor no tecido do SNC (Sistema Nervoso Central) entre organismos, que poderá influenciar os efeitos do sistema AVP, entre os quais: colocação vocal; comportamento sexual e parental; agressividade; reconhecimento social. A hormona AVP revela efeitos mais intensos no género masculino (Wassink *et al.*, 2004).

De acordo com Wassink *et al.* (2004), a suscetibilidade para o autismo pode estar aumentada com alterações, verificadas através de evidências de *linkage* e desequilíbrio de *linkage*, no gene codificador do recetor 1a do sistema AVP (AVPR1a), que são expressas por deficiente interação social, ausência de comportamento parental, agressividade acentuada, entre outros.

Gene DISC1. Está presente no *locus* 1q42. Este *locus* contém ainda os genes *TRAX* e *DISC2* (envolvidos na regulação da expressão do gene *DISC1*). O gene *DISC1* codifica uma proteína com uma função essencial no crescimento e migração neuronal, na

sinaptogênese, na neurotransmissão glutamatérgica (cujos processos moleculares de modificação sináptica demonstram estar entre os mais comuns de todo o SNC), e na sinalização de um mensageiro secundário importante em diversos processos biológicos, o AMPc (adenosina monofosfato cíclica) (Kilpinen *et al.*, 2008).

De acordo com Kilpinen *et al.* (2008) diversos estudos populacionais independentes verificaram uma associação entre desordens psicóticas e o gene *DISC1*, podendo ser explicado por: uma translocação que promove a inativação do gene; e a presença de *linkage* e resultados de associação; um microsatélite intragênico no gene *DISC1*, um SNP intragênico, e três SNPs num haplótipo (combinação de alelos em *loci* adjacentes de um mesmo cromossoma, e que são transmitidos à descendência em conjunto). A descoberta da interação dos genes *TRAX* e *DISC2* com o gene *DISC1* levantou uma nova hipótese que assenta na possibilidade de mecanismos moleculares conduzirem a disfunções cerebrais ao nível afetivo e cognitivo. Na sequência da versatilidade das disfunções neuropsiquiátricas encontradas com ligação ao gene *DISC1*, de conhecida a função da proteína DISC1, e da semelhança de defeitos neurocognitivos observados entre a esquizofrenia e as PEAs, os resultados obtidos indicam que existe uma associação deste gene com o aparecimento da perturbação autista.

Gene *DYX1C1*. Encontra-se no *locus* 15q21 e codifica uma proteína cuja função ainda não é totalmente conhecida. Contudo, sabe-se que é expresso num subgrupo de células humanas neuronais e da glia, e foi o primeiro gene candidato para a dislexia, e o segundo associado a fenótipos relacionados com a linguagem. Perante a existência de alteração genética, nomeadamente de translocação, o gene é interrompido podendo dar origem a duas variantes. Uma das variantes está relacionada com a perda do local de ligação a diversos fatores de ligação. A outra conduz ao aparecimento de um códon de terminação prematuro, e ao consequente desaparecimento de quatro aminoácidos no final da região codificadora da proteína (Ylisaukko-Oja *et al.*, 2005).

A dislexia é uma perturbação caracterizada pela dificuldade em aprender a ler e escrever (independentemente do grau de inteligência, estrato social, ou interesse do indivíduo). Este fenótipo apresenta algum interesse no estudo dos PEAs na medida em que

poderá também representar outras perturbações com atraso no desenvolvimento da linguagem. Contudo, não parece provável que seja um gene de grande relevância para o aparecimento do autismo (Ylisaukko-Oja *et al.*, 2005).

Gene *ITGB3*. Está localizado no cromossoma 17q21.3, e codifica a β -integrina 3. Esta proteína faz parte da superfície celular, particularmente das plaquetas. As integrinas são conhecidas por participarem na adesão celular, e no metabolismo e neurotransmissão da serotonina (5-HT). Os recetores de integrina têm demonstrado um papel importante na sinalização podendo influenciar a transcrição e a tradução (Napolioni *et al.*, 2011; Weiss *et al.*, 2006).

De acordo com Napolioni *et al.* (2011), a presença de um SNP localizado na extremidade 5' do gene *ITGB3*, está fortemente relacionado com os níveis plasmáticos elevados da 5-HT, uma das características mais encontradas em autistas (cerca de 30% dos indivíduos com autismo) (Cross *et al.*, 2008; Weiss *et al.*, 2006). Variantes alélicas do gene *ITGB3* foram identificadas em alguns estudos de autismo, quer isoladamente ou em interação com variantes alélicas do gene codificador do transportador de 5-HT (gene *SLC6A4*, que se encontra próximo do gene *ITGB3*) (Napolioni *et al.*, 2011; Weiss *et al.*, 2006).

Os genes que influenciam o sistema da serotonina são genes de suscetibilidade fortes, como demonstram os medicamentos seletivos para o sistema serotonina que revelam maior eficácia no tratamento de alguns comportamentos desajustados presentes no autismo (p.e., perturbações relacionadas com a ansiedade e agressão) (Weiss *et al.*, 2006).

Gene *SLC6A4*. Este gene está localizado no cromossoma 17q e codifica o transportador de serotonina. Este é uma substância química que atua ao nível do cérebro, através da transmissão de sinais entre os neurónios (sinapses). O papel do sistema de serotonina no autismo ainda não está totalmente clarificado, contudo, sabe-se que polimorfismos deste gene podem modular a recaptação do transportador, o que explica a ocorrência de hiperserotonemia em alguns indivíduos com autismo (Coutinho *et al.*, 2004; Weiss *et al.*, 2006).

De acordo com Longo (2009) foram detetados polimorfismos de inserção/deleção localizados no promotor do gene *SLC6A4*. Os níveis de serotonina nas sinapses são regulados pelo seu transportador, e quando este se torna mais ativo, a serotonina acumula-se nas plaquetas sanguíneas em vez de aumentarem ao nível das sinapses (onde se encontra reduzida). Isto pode levar a mudanças comportamentais importantes que determinam o aparecimento do autismo (Coutinho *et al.*, 2004; Weiss *et al.*, 2006).

Gene *RELN*. Gene presente no *locus* 7q22, que codifica uma proteína com um papel importante na migração de diversos tipos celulares, e no desenvolvimento de conexões neuronais. De acordo com estas funções de desenvolvimento neuronal, considera-se que alterações ao gene *RELN* poderão ter influência no aparecimento do autismo (Skaar *et al.*, 2005).

Segundo Skaar *et al.* (2005), um dos efeitos com mais impacto da deleção deste gene em ratos, é a formação anormal do córtex cerebral. Mais ainda, o estudo deste gene revelou a sua importância na formação correta das estruturas cerebrais pela orientação que conferem na migração dos precursores neuronais. De acordo com estes dados, o gene *RELN* está relacionado com diversas doenças neurogenéticas (p.e., esquizofrenia e desordem bipolar), que revelam valores baixos de mRNA (RNA mensageiro) e da proteína *RELN* em múltiplas áreas cerebrais. Podem salientar-se as seguintes alterações genéticas: repetição de um trinucleótido polimórfico (GGC) e haplótipos com substituições de duas bases de um exão (Carvalheira *et al.*, 2004; Skaar *et al.*, 2005).

Alguns estudos revelaram picos de *linkage* no cromossoma 7q que contém o gene *RELN*, e ainda outros genes de suscetibilidade para o autismo, nomeadamente na região 7q22-q33 (Carvalheira *et al.*, 2004; Skaar *et al.*, 2005). Na medida em que as alterações apresentadas ao nível dos neurónios cerebelares se revelam com impacto no aparecimento do autismo, dever-se-á reservar-lhe alguma atenção (Carvalheira *et al.*, 2004).

Gene *RPL10*. Está localizado no cromossoma Xq28, e codifica a família de proteínas ribossomais L10. Estas proteínas localizam-se no citoplasma, nomeadamente, no retículo endoplasmático, participando no controlo de expressão genética, e podendo estar envolvidas nas vias de sinalização celular. De acordo com a conclusão a que Klauck *et al.*

(2006) chegaram através de análises funcionais realizadas em leveduras, as mutações no gene *RPL10* (envolvendo substituição de aminoácidos) permitem a ocorrência de tradução, mas ocorre uma interrupção prematura da síntese proteica. Desta forma, a tradução atempada de mRNA em cadeias de polipéptidos pode ficar comprometida.

É certa a diferença de prevalência do autismo entre os gêneros feminino e masculino, sendo o último o mais frequentemente afetado, sugerindo um possível envolvimento do cromossoma X. Ficou demonstrada a existência de *linkage* com marcadores em Xq22.3, Xq13-q26, e Xq27-q28. Há predisposição para o atraso mental, na presença de alterações verificadas em genes da região Xq28, estando o atraso mental muitas vezes associado à doença do autismo (Klauck *et al.*, 2006).

Gene *SHANK3*. Encontra-se localizado no cromossoma 22q13.3 e codifica uma proteína (expressa ao nível do córtex, do hipocampo, e do cerebelo) envolvida nas sinapses excitatórias em frente à zona ativa pré-sináptica, e na formação de complexos proteicos intracelulares, por estabelecimento de ligações que favorecem a interação entre proteínas (Sykes *et al.*, 2009).

Sykes *et al.* (2009) referem a identificação de diversos CNVs no gene *SHANK3*, através da publicação de diversos estudos. Estes parecem ter um papel muito importante no autismo. Foram também descritos casos de deleção de 22q13.3 com interrupção ou exclusão do gene *SHANK3*. O fenótipo resultante inclui atraso na linguagem expressiva, atraso mental grave, e autismo.

6. Conclusão

Tem-se assistido a diversos avanços na área da genética, envolvidos na doença do autismo, e o próprio conceito sofreu alterações drásticas ao longo das últimas décadas, perante o melhoramento do seu conhecimento.

De acordo com a complexidade das perturbações do espectro autista, não é conclusiva a análise de genes isoladamente, mas sim o estudo da interação dos mesmos. Qualquer estudo realizado a um gene candidato, dificilmente abrange uma percentagem elevada de população amostral, pelo que, a sua inclusão no fenótipo torna-se difícil de identificar.

Atualmente, a grande parte dos estudos científicos genéticos focam-se em zonas específicas de cromossomas de acordo com a probabilidade dos genes correspondentes se relacionarem de alguma forma com características observadas na doença. Os conhecimentos obtidos quer ao nível dos fatores genéticos ou dos fatores ambientais são importantíssimos para a obtenção de um diagnóstico e tratamento corretos e permitir ainda atuar na fase de prevenção desta perturbação.

É ainda vasto o que se mantém por esclarecer na perturbação do espectro autista, dado ser provável que muitos fatores de suscetibilidade estejam envolvidos e continuam ainda por descobrir. Seria urgente identificar as variantes genéticas ainda não detetáveis nos estudos de genotipagem convencionais, abandonando a análise de um único *locus* e maturando as metodologias de análise de múltiplos *loci* em simultâneo.

Os critérios de diagnóstico, utilizados para as perturbações do espectro autista foram aperfeiçoados e tornou-se mais fácil a sua análise incluindo fenótipos clínicos característicos da doença, a par do estudo de genes completos e a associação de genes candidatos. O ideal seria o reconhecimento das variantes genéticas responsáveis por fenótipos específicos do autismo. Assim, tanto os testes de associação do genoma como as tecnologias utilizadas deverão considerar os fenótipos intermediários, e a interação entre os diferentes polimorfismos na pesquisa de genes candidatos em doenças complexas.

Com tudo isto, é indiscutível a contribuição da hereditariedade na doença do autismo mas esta sem a influência dos fatores ambientais torna-se insuficiente para explicar uma doença complexa como a analisada neste estudo.

7. Bibliografia

Álvarez I. e Camacho-Arroyo I. (2010). Bases genéticas del Autismo. Artículo de Revision. *Acta Pediátrica de México*. 31(1), pp.22-28.

Belmonte M.K. e Bourgeron T. (2006). Fragile X syndrome and autism at the intersection of genetic and neural networks. *Nature Neuroscience*. 9(10), pp.1221-1225. doi: 10.1038/nn1765.

Borecki I.B. e Province M.A. (2008). Linkage and association: basic concepts. *Advances in Genetics*, 60, pp.51-74. doi: 10.1016/S0065-2660(07)00403-8.

Campos L.S. *Entender a Bioquímica, 3.^a Edição*. Lisboa: Escolar Editora, 2002.

Cantor R.M., Lange K., Sinsheimer J.S. (2010). Prioritizing GWAS results: A review of statistical methods and recommendations for their application. *American Journal of Human Genetics*; 86(1), pp.6-22. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.11.017.

Carvalho G., Vergani N. e Brunoni D. (2004). Genética do Autismo. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 26(4), pp.270-272.

Castermans D., Vermeesch J.R., Fryns J-P., Steyaert J.G., *et alli*. (2007). Identification and characterization of the TRIP8 and REEP3 genes on chromosome 10q21.3 as a novel candidate genes for autism. *Nature (European Journal of Human Genetics)*. 15, pp. 422-431. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201785.

Clancy S. (2008(a)). Copy number variation. *Nature Education* 1(1), p.95. [Em linha]. Disponível em <<http://www.nature.com/scitable/topicpage/Copy-Number-Variation-445>>. [Consultado em 14/05/2014]

Clancy S. (2008(b)). Genetic mutation. *Nature Education* 1(1), p.187-192. [Em linha]. Disponível em <<http://www.nature.com/scitable/topicpage/genetic-mutation-441>>. [Consultado em 14/05/2014]

Correia C. (2008). Epidemiologia Genética. *Revista Factores de Risco*. 8, pp.60-65.

Cross S., Soo-Jeong K., Weiss L.A., *et alli*. (2008). Molecular genetics of the Platelet Serotonin System in First-Degree Relatives of Patients with Autism. *Nature (Neuropsychopharmacology)*. 33, pp.353-360. doi:10.1038/sj.npp.1301406.

Coutinho A.M., Oliveira G., Morgadinho T., *et alli*. (2004). Variants of the serotonin transporter gene (SLC6A4) significantly contribute to hyperserotonemia in autism. *Nature (Molecular Psychiatry)*. 9, pp.264-271. doi: 10.1038/sj.mp.4001409.

Dawson G., Estes A., Munson J., *et alli*. (2007). Quantitative Assessment of Autism symptom-related traits in probands and parents: broader Phenotype autism symptom scale. *Journal Autism Development Disorders*. 37, pp.523-536.

Ecker C., Spooren W. e Murphy D.G.M. (2012). Translational approaches to the biology of Autism: false dawn or a new era? *Nature (Molecular Psychiatry)*. pp.1-8.

Folstein S.E. e Rosen-Sheidley B. (2001). Genetics of Autism: Complex etiology for a Heterogeneous Disorder. *Nature Reviews Genetics*, 2, pp.943-955.

Fombonne E. (2009). Epidemiology of pervasive development disorders. *Pediatric Research*, 65(6), pp.591-598.

Frazer K.A., Murray S.S., Schork N.J., *et alli*. (2009). Human Genetic Variation and its contribution to complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 10, pp.241-251.

Freitag C.M. (2007). The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. *Nature (Molecular Psychiatry)*. 12, pp.2-22. doi: 10.1038/sj.mp.4001896.

Gonçalves A.A. (2011). Dissertação: *Os Modelos de Intervenção são eficazes para melhorar a inclusão de crianças com Autismo*. Escola Superior de Educação Almeida Garrett. Lisboa.

Grice D. e Buxbaum J. (2006). The genetic architecture of autism and related disorders. *Clinical Neuroscience Research*. 6, pp.161-168. doi: 10.1016/j.cnr.2006.06.004.

Happé F., Ronald A. e Plomin R. (2006). Time to give up on a single explanation for autism. *Nature. Neuroscience*, 9(10), pp.1218-1220. doi: 10.1038/nn1770.

Hughs V. (2012). Complex Disorder. *Nature*. 491, pp.S2-S3.

Johnson C.P. e Myers S.M. (2007). American Academy of Pediatrics Council on Children with Disabilities. *Pediatrics*. 120(5), pp.1183-1215.

Kanner L. (1943). Autistic disturbances of affective contact. *The Nervous Child*. 2, pp.217-250.

Kilpinen H., Ylisaukko-Oja T., Hennah W., *et alli*. (2008). Association of DISC1 with autism and Asperger Syndrome. *Nature (Molecular Psychiatry)*. 13, pp.187-196.

Klauck S.M., Felder B., Kolb-Kokocinski A., *et alli*. (2006). Mutation in the ribosomal protein gene RPL10 suggest a novel modulating disease mechanism for autism. *Nature (Molecular Psychiatry)*. 11, pp.1073-1084. doi: 10.1038/sj.mp.4001883.

Kruglyak L. e Nickerson D.A. (2001). Variation is the spice of life. *Nature Genetics*, 27, pp.234-236.

Landa R.J. (2008). Diagnosis Spectrum Autism Disorders in the first 3 years of life. *Nature Clinical Practice (Neurology)*. 4(3), pp.138-147.

Longo D. (2009). *Influência de Fatores Genéticos Ambientais nos Transtornos do Espectro Autista*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Mendelsohn N.J. e Schaefer G.B. (2008). Genetic Evaluation of Autism. *Seminars in Pediatric Neurology*. 15, pp.27-31. doi: 10.1016/j.spen.2008.01.005.

Meyer U.R.S., Feldon J. e Dammann O. (2011). Schizophrenia and Autism: Both Shared and Disorder-Specific Pathogenesis *Via* Perinatal Inflammation? *Pediatric Research*. 69(5), pp.26R-33R.

Napolioni V., Lombardi F., Sacco R., *et alli.* (2011). Family-based association study of ITGB3 in autism spectrum disorder and its endophenotypes. *Nature (European Journal of Human Genetics)*. 19, pp.353-359.

NICHD: Departamento de Salud y de Servicios Humanos de Los Estados Unidos. (2005). El autismo y los genes. Investigaciones sobre el autismo en el NICHD. *NIH*. 05-5590(S).

Oliveira G. (2009). Autismo: Diagnóstico e Orientação. Parte I – Vigilância, Rastreio e Orientação nos cuidados primários de saúde. *Acta Pediátrica Portuguesa*, 40(6), pp.278-287.

Oliveira G., Ataíde A., Marques C., *et alli.* (2007). Epidemiology of autism spectrum disorder in Portugal: Prevalence, clinical, characterization and medical conditions. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 49, pp.726-733.

Oliveira G., Diogo L., Grazina M., *et alli.* (2005). Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: a population-based study. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 47(3), pp.185-189.

Pray L. (2008). DNA replication and causes of mutation. *Nature Education*. 1(1), pp.214. [Em linha]. Disponível em <<http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-replication-and-causes-of-mutation-409>>. [Consultado em 14/05/2014]

Santos P.A.C. (2010). *Análise de Mutações nos genes FMRI e MTHFR em pacientes com transtornos do espectro autista idiopático*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Siegel B. (2008). O mundo da criança com autismo. Compreender e tratar perturbações do espectro do autismo. Porto Editora: Porto.

Skaar D.A., Shao Y., Haines J.L., *et alli.* (2005). Analysis of RELN gene as a genetic risk factor for autism. *Nature (Molecular Psychiatry)*. 10, pp.563-571.

Spence S.J. e Shneider M.T. (2009). The Role of Epilepsy and Epileptiform EEGs in Autism Spectrum Disorders. *Pediatric Research*. 65(6), pp.599-606.

Sykes N.H., Toma C., Wilson N., *et alli*. (2009). Copy number variation and association analysis of SHANK3 as a candidate gene for autism in the IMGSAC collection. *Nature (European Journal of Human Genetics)*. 17, pp.1347-1353. doi: 10.1038/ejhg.2009.47.

Veenstra-Vanderweele J. e Blakely R.D. (2012). Networking in Autism: Leveraging Genetic, Biomarker and Model System Findings in the Search for New Treatments. *Neuropsychopharmacology*. 37, pp.196-212.

Vila C., Diogo S. e Sequeira S. (2009). *Autismo e Síndrome de Asperger*. [Em linha]. Disponível em < <http://www.psicologia.pt/artigos/textos/TL0140.pdf> >.

Wassink T.H., Piven J., Vieland V.J., *et alli*. (2004). Examination of AVPR1a as an autism susceptibility gene. *Nature (Molecular Psychiatry)*. 9, pp.968-972.

Weiss L.A., Kosova G., Delahanty R.J., *et alli*. (2006). Variation in ITGB3 is associated with whole-blood serotonin level and autism susceptibility. *Nature (European Journal of Human Genetics)*. 14, pp.923-931. doi: 10.1038/sj.ejhg.52016.

Wing L. (1997). The autistic spectrum. *The Lancet*. 350, pp.1761-1766.

Ylisaukko-Oja T., Rehnström K., Auranen M., *et alli*. (2005). Analysis of four neuroligin genes as candidates for autism. *Nature (European Journal of Human Genetics)*. 13, pp.1285-1292. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201474.

Ylisaukko-Oja T., Peyrard-Janvid M., Lindgren C.M., *et alli*. (2005). Family-based association study of DYX1C1 variants in autism. *Nature (European Journal of Human Genetics)*. 13, pp.127-130.