

Autismo:

Aspectos Genéticos

Agnes Cristina Fett-Conte

Como citar: FETT-CONTE. Autismo: Aspectos Genéticos. *In* : GIACHETI, C. M. (org.). **Avaliação da fala e da linguagem** : perspectivas interdisciplinares. Marília: Oficina Universitária; São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016. p.73-92. DOI: <https://doi.org/10.36311/2016.978-85-7983-782-1.p73-92>



All the contents of this work, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 (CC BY-NC-ND 4.0).

Todo o conteúdo deste trabalho, exceto quando houver ressalva, é publicado sob a licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-SemDerivações 4.0 (CC BY-NC-ND 4.0).

Todo el contenido de esta obra, excepto donde se indique lo contrario, está bajo licencia de la licencia Creative Commons Reconocimiento-No comercial-Sin derivados 4.0 (CC BY-NC-ND 4.0).

AUTISMO: ASPECTOS GENÉTICOS

Agnes Cristina FETT-CONTE

INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro do Autismo (TEA), também nominado autismo, é um distúrbio comportamental complexo, não curável, caracterizado por manifestações observadas no início da infância, geralmente antes dos três anos de idade, prejuízo na comunicação social e presença de interesses restritos e comportamentos repetitivos¹. A etiologia é extremamente complexa e heterogênea, conhecida ou presumida em menos de 30% dos casos, com inúmeras causas descritas, que incluem fatores genéticos, epigenéticos e ambientais. Na maioria dos casos, os fatores causais são variados e provavelmente interagem, o que complica ainda mais a avaliação de um indivíduo e o Aconselhamento Genético das famílias. Não menos complexas são as manifestações fenotípicas da doença, com destaque para fala e linguagem, que variam amplamente entre os afetados.

Sem dúvida, o autismo é um paradigma dos transtornos do neurodesenvolvimento, e entender suas causas e manifestações fenotípicas é um dos maiores desafios da ciência moderna, dada a gravidade da doença e sua prevalência alta na população (1-2%), que o caracteriza como problema de saúde pública. Também, não menos preocupante é o fato de que muitos familiares de autistas apresentam manifestações brandas da doença, o que define o *Broad Autism Phenotype* (BAP) e aumenta o risco para a prole.

Neste contexto, o objetivo deste capítulo é fornecer uma visão geral das possíveis causas do comportamento autístico sob uma perspectiva genética, para que as informações oferecidas sirvam de ferramenta adicional para os profissionais das diferentes áreas que atuam no diagnóstico e terapêutica, e promovam reflexões que aprimorem o atendimento multidisciplinar. Não serão abordados todos os aspectos genéticos envolvidos na etiologia, que são muitos, mas aqueles mais destacados pela literatura especializada, além do Aconselhamento Genético.

A GENÉTICA DO AUTISMO: UMA VISÃO GERAL

TEA é diagnóstico de um comportamento, não um diagnóstico etiológico. Pode ser isolado em pacientes não dismórficos, como observado na maioria dos casos, ou fazer parte das manifestações de outras afecções, como síndromes genéticas. O estado atual de conhecimento permite afirmar que todo e qualquer fator genético ou ambiental que interfere na estruturação ou no funcionamento cerebral normal, até prova em contrário, pode resultar em autismo. Inclusive, não há qualquer fator biológico comum entre todos os afetados, ou seja, um marcador da doença. Assim, a avaliação dos pacientes obrigatoriamente envolve investigação detalhada da história familiar, gestacional e pessoal do indivíduo, exames de imagem, metabólicos e genéticos diversos, além de exame físico e avaliação da audição. A identificação de defeitos congênitos maiores e menores, isolados ou múltiplos, é fundamental para a investigação de afecções genéticas ou eventos disruptivos associados. Autismo em casos de doenças genéticas não ocorre em comorbidade, mas sim como uma das manifestações fenóticas das mesmas (mesma origem), ou seja, como consequência do defeito genético

A herdabilidade do TEA é estimada em 0,50, mas o risco individual e como os fatores genéticos e/ou fatores ambientais atuam não estão esclarecidos. Os avanços biotecnológicos, particularmente as ferramentas de biologia molecular e de bioinformática, têm permitido a identificação de centenas de genes candidatos².

Alterações hipomórficas em alguns genes sugerem herança oligogênica para alguns casos. Entretanto, as descobertas que empregam em grande escala o sequenciamento de todo o exoma (WES) e de todo o genoma (WGS)

já mostraram que um único gene muito dificilmente é capaz de conferir um risco significativo para o transtorno. Em vez disso, a hipótese mais provável é a contribuição, de forma aditiva, de diversas variantes de risco que estão espalhadas em centenas de genes. Há, aproximadamente, quatro mil genes envolvidos nas vias moleculares, regulação gênica e domínios funcionais, que podem contribuir para perturbações do desenvolvimento neurológico. Vale ressaltar que os mesmos genes podem causar outras doenças diferentes do neurodesenvolvimento, como esquizofrenia e deficiência intelectual, o que mostra uma sobreposição etiológica entre diferentes afecções.

Particularmente, as variações no número de cópias (CNVs), caracterizadas por microdeleções e microduplicações genômicas, ganharam destaque no cenário da descoberta das causas do autismo. CNVs *de novo* têm sido observadas em cerca de 7% das famílias *simplex* (com um único autista) e em cerca de 2% das famílias *multiplex* (com dois ou mais casos)³. Por este motivo, um dos testes laboratoriais que investigam CNVs, o aCGH (*Array-Comparative Genomic Hybridization*) é a primeira escolha na avaliação genética dos afetados. No entanto, exames baseados em *array* não são economicamente viáveis em muitos casos, especialmente no Brasil, devido ao custo alto.

Um outro assunto muito discutido na literatura é o papel significativo de genes que codificam proteínas sinápticas que afetam direta ou indiretamente a estrutura e o funcionamento dos neurônios, dendritos e sinapses. Mudanças sutis nas estruturas dendríticas e sinápticas podem levar a grandes mudanças no processamento de informações cerebrais. Ramificações e espinhas dendríticas são essenciais para a formação e plasticidade dos circuitos neuronais, mas em muitas doenças neurológicas, como TEA, são observadas alterações nestas estruturas. Em muitos casos, as mesmas mutações são observadas nos familiares não afetados, o que sugere a existência de mecanismos compensatórios ou outras causas genéticas ou não genéticas associadas⁴.

Novas descobertas sobre a etiologia genética também têm apontado para a participação de regiões reguladoras dos fatores de transcrição, os micro RNAs (miRNAs), uma classe de RNAs não codificantes que suprimem a tradução por emparelhamento com elementos de reconhecimento de miRNA presentes na região 3' não transcrita (3'UTR) do RNA men-

sageiro (RNAm) alvo. Sabe-se que a expressão de muitos genes envolvidos no autismo é regulada por miRNAs. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) foram descritos como moduladores ou criadores de novos elementos de reconhecimento de miRNAs. Portanto, existe uma hipótese de que alguns SNPs interrompem a interação entre miRNAs e genes de susceptibilidade a doenças do neurodesenvolvimento, podendo alterar a expressão destes genes, pelo menos em uma sub-população de indivíduos afetados⁵.

Entretanto, considerando-se todas as causas genéticas do TEA, a recorrência baixa de qualquer uma delas é um dos aspectos mais intrigantes da etiologia, como é a diferença na proporção de afetados entre os sexos, uma vez que os homens são quatro vezes mais afetados do que as mulheres⁶. Além disso, há uma associação entre o aumento da idade parental, especialmente da idade paterna, e o risco para TEA, vinculada ao acúmulo de mutações *de novo* e mecanismos epigenéticos⁷.

Diante de tanta complexidade, incluindo-se os aspectos psicológicos impostos pela cronicidade da doença, o Aconselhamento Genético das famílias de autistas é desafiador, mesmo para aconselhadore experientes. Considerando-se o acesso a exames, dificilmente as famílias realizam todas ou a maior parte das investigações que constam nos protocolos preconizados. Mas, até onde for possível, é interessante investigar o diagnóstico etiológico, porque permite a determinação do risco de recorrência e, por conseguinte, diminui a ansiedade parental, além de oferecer a possibilidade de detectar outros problemas médicos associados, uma apreciação da natureza molecular, fisiopatologia celular e potenciais abordagens terapêuticas atuais e futuras.

ALTERAÇÕES EM 15q11-q13, 16p11.2 E 22q11.2

Além das síndromes gênicas reconhecidamente associadas com o comportamento autístico, muitos afetados apresentam alterações cromossômicas numéricas ou estruturais visíveis por meio de técnicas de citogenética convencional. Alterações em todos os cromossomos estão descritas em pacientes com TEA, desde cromossomopatias mais comuns até as muito raras ou únicas. Devido ao elevado número de casos descritos, tipo e localização dos genes, a associação da doença com algumas regiões cromossômi-

cas específicas já está bem estabelecida. Entre elas se destacam: 15q11-13, 16p11.2 e 22q11.2⁸.

O cromossomo 15 é claramente o local mais comum de anomalias autossômicas observadas em TEA, especialmente a duplicação de 15q11-q13. Esta região contém pelo menos trinta genes, muitos associados com autismo, com outros distúrbios neurocomportamentais, déficits cognitivos, hipotonia e atraso de linguagem. Conhecida por sua instabilidade genética, é a região crítica para as síndromes de Angelman e de Prader-Willi, e tem um padrão complexo de expressão (*imprinting*); contém pelo menos cinco genes de expressão unicamente paterna (*MKRN3*, *MAGEL2*, *NDN*, *C15orf2*, *snoRNAs* e *SNRPN-SNURF*) e dois genes de expressão materna (*UBE3A* e *ATP10A*). Além disso, fatores epigenéticos que regulam 15q11-13 têm sido associados com a doença⁹.

O fenótipo relacionado com microdeleções e microduplicações de cerca de ~600kb na região 16p11.2 é caracterizado por um espectro de deficiência do desenvolvimento neurológico, incluindo atraso do desenvolvimento, deficiência intelectual, epilepsia, autismo e outros transtornos psiquiátricos, com penetrância incompleta e expressividade variável. As microdeleções são observadas em cerca de 0,5% dos pacientes, caracterizando-se como a segunda anormalidade mais comum em TEA. A perda de genes candidatos nessa região, como *ALDOA*, *DOC2A*, *HIRIP3*, *MAPK3*, *MAZ*, *PPP4C*, *SEZ6L2* e *TAOK2*, parece ser a responsável pelo fenótipo¹⁰.

A deleção 22q11.2 é uma das alterações intersticiais mais comumente identificadas em humanos, com uma frequência de cerca de 1:4.000 nascidos vivos na população em geral. Está relacionada com a síndrome de DiGeorge/ Velocardiofacial, com alta prevalência de comportamento autista e esquizofrenia. No entanto, os genes responsáveis pelo fenótipo comportamental ainda não estão bem identificados, embora existam candidatos, inclusive, com expressão singular em pacientes com a deleção e TEA e naqueles com deleção e psicose¹¹.

Muitos estudos têm relatado a prevalência de CNVs em pessoas com doenças específicas, mas poucos investigaram a prevalência na população em geral. Em uma investigação de CNVs em 6.813 amostras de sangue de cordão umbilical de recém-nascidos consecutivos de uma população

predominantemente franco-canadense, 23 crianças apresentaram alterações em 15q11-q13, 16p11.2 ou 22q11.2¹². Certamente são necessários estudos longitudinais de seguimento para determinar as consequências clínicas destas CNVs identificadas no nascimento. De qualquer forma, considerando as importantes implicações para o Aconselhamento Genético, estas regiões devem ser avaliadas em pacientes com TEA, independente do fato de que todos devem realizar o exame do cariótipo.

CNVs E AUTISMO

A expressão alterada de vários genes que convergem para o mesmo efeito ou efeitos de diferentes variações genéticas deletérias combinatórias parece exceder um limiar e resultar no fenótipo autista. Em apoio a essa hipótese, estratégias baseadas em bioinformática identificaram vários genes candidatos, mostrando que TEA pode ser desencadeado por diferentes tipos de variações genéticas, normalmente alguma ou algumas raras combinadas com algumas comuns, em muitos genes (heterogeneidade genética não-alélica), particularmente em genes sinápticos e genes envolvidos na neurogênese. Assim, presume-se que a maioria dos afetados tenha um conjunto de variantes genéticas que predis põem ao desenvolvimento anormal de estruturas cerebrais envolvidas no processamento da informação social (o “cérebro social”). Entretanto, não existe um denominador comum entre os casos¹³.

O fenômeno biológico que se encaixa perfeitamente nesta hipótese, e por este motivo é tão estudado em TEA, é o das CNVs, ou seja, microduplicações e microdeleções que resultam de inserções, deleções ou translocações no genoma humano. São observadas como variantes isoladas na população em geral, mas com frequências maiores, isoladamente ou em associação, em indivíduos com distúrbios neuropsiquiátricos. Podem ser herdadas ou *de novo*, frequentes ou raras (menos que em 1% da população). Uma parte substancial dos casos de autismo parece resultar de CNVs raras, com variações maiores que 100kb. CNVs *de novo* são detectadas em 5-10% dos casos de TEA idiopático¹⁴.

Algumas CNVs ocorrem em frequências significativamente mais elevadas do que outras e há as que são exclusivamente observadas em autistas. Isto tem permitido a identificação de novos genes candidatos que

ainda não foram descritos em rearranjos cromossômicos, como *GABRA5*, *GABRA3*, *GABRG3*, *UBE3A*, *E2F1*, *PLCB1*, *PMP22*, *AADAT*, *MAPK3*, *NRXN1*, *NRG3*, *DPP10*, *UQCRC2*, *USH2A*, *NECAB3*, *CNTN4*, *LINGO2*, *IL1RAPL1*, *STXBP5*, *DOC2A*, *SNRPN*, *E2F1*, *AADAT*, *NECAB3*, *GPHN*, *dlg2*, *HPCAL1*, *BDNF-OS* e *IL1RAPL1*¹⁵.

Os novos loci de risco para TEA têm papéis importantes na função e arquitetura do cérebro. Assim, certas CNVs poderiam interferir em vias bioquímicas normais e predispor à doença. Entretanto, poderiam ter expressividade variável, pois como referido anteriormente, CNVs associadas com TEA também estão fortemente associadas com esquizofrenia e problemas cognitivos.

MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR, VESÍCULAS SINÁPTICAS E CITOESQUELETO

Enquanto a maioria das mutações genéticas ligadas ao Autismo são variantes raras que alteram a sequência de codificação de proteínas de genes candidatos, especialmente os sinápticos, polimorfismos regulatórios que afetam o *splicing* alternativo ou constitutivo do RNAm têm sido apontados como outro fator de risco da doença.

Os neurônios se comunicam através das sinapses, mediadas principalmente por interações intercelulares precisamente controladas. Interações entre moléculas de adesão celular (MACs) pré e pós-sinápticas orientam a maturação sináptica durante o desenvolvimento. As MACs fornecem “pontes”, ou seja, estabelecem uma conexão célula-célula entre os sítios pré e pós-sinápticos. Estas interações trans-sinápticas são reguladas por *splicing* alternativo de RNAs de MACs, que, em última análise, determina o fenótipo neurotransmissor. A falha para gerar MACs adequadas pode resultar em perda de plasticidade neuronal e perturbações do neurodesenvolvimento. Embora existam várias famílias de MACs já reconhecidas [neurexinas (Nrxs) e neuroliginas (NLS), proteínas transmembranas neuronais ricas em leucina (LRRTMs), N-caderina/ β -catenina, efrinas, receptores Eph, SynCAM e integrinas], ainda não está claro como, quantas e quais proteínas estão envolvidas no processo sinaptogênico, embora se suponha que sejam mais de mil¹⁶.

Assim, alterações na neurotransmissão e seus componentes podem desencadear TEA e, neste contexto, as vesículas sinápticas (VS) parecem ser uma das chaves para a compreensão dos distúrbios neurológicos. São organelas de 40nm de diâmetro envolvidas na liberação de neurotransmissores. Centenas de vesículas sinápticas cheias de neurotransmissores são encontradas em cada terminal de nervo pré-sináptico, e a regulação da liberação de neurotransmissores é realizada por muitas moléculas pré-sinápticas, incluindo as MACs. Estão em constante ciclo de endocitose e reciclagem que, se alterado, poderia contribuir com a gênese dos transtornos do neurodesenvolvimento¹⁷.

Por exemplo, o principal neurotransmissor excitatório, o glutamato, modula a formação neuronal e sináptica nas fases iniciais do desenvolvimento. Há receptores de glutamato presentes em todo o cérebro, no cerebelo e no hipocampo, regiões implicadas na patogênese do TEA. Alterações genéticas na sinalização/liberação do glutamato são propostas como um mecanismo envolvido na predisposição à doença durante os estágios iniciais de desenvolvimento e entre um e três anos de idade, mas pouco se sabe sobre os mecanismos de controle envolvidos¹⁸.

Também, um conjunto de proteínas do citoesqueleto vem sendo descrito como alterado em autistas. O citoesqueleto forma a espinha dorsal da arquitetura neuronal e é essencial para o crescimento do axônio e formação de sinapses. O citoesqueleto dos microtúbulos tem um papel ativo em diferentes fases da polarização neuronal; microtúbulos e sua estabilidade determinam a formação do axônio, mantêm sua identidade e regulam a dinâmica das espinhas dendríticas. Os distúrbios resultantes de anormalidades do citoesqueleto são chamados de sinaptopatias, com disgenesia das espinhas dendríticas encontrada como uma característica anatômica recorrente.

Uma vez que as sinapses são formadas, o citoesqueleto neuronal fornece o suporte para a maturação e manutenção das mesmas, sendo essencial para a estabilização e remodelação das conexões sinápticas. Filamentos de actina são o componente predominante do citoesqueleto em espinhas dendríticas. Mudanças em moléculas mediadoras-chaves que se ligam à actina e membros da família Rho de GTPases pequenas, tais como RhoA, Rac e Cdc42, por exemplo, podem perturbar esse processo,

como as expressas pelos genes *OPHN1*, *MEGAP*, *OCRL1*, *ARHGEF6*, *ARHGEF9*, *FGD1*, *LIMK1*, *PAK3* e *IQSEC2*^{17,19}.

Além disso, mutações em genes supressores de tumor, como *TSC1* e *TSC2*, descritas em alguns autistas, parecem perturbar a dinâmica do citoesqueleto e a estrutura das espinhas dendríticas²⁰. A proteína associada a microtúbulos, *KATNAL2*, também emergiu como um fator de risco para TEA²¹. Mas o melhor exemplo de defeitos da estrutura dos dendritos é a síndrome do Cromossomo X Frágil (FXS), também conhecida como o melhor exemplo de processo errado de tradução.

A região 5' não traduzida do gene *FMRI* normalmente contém cerca de 50 repetições de trinucleotídeos CGG, que é expandida para mais de 200 em pacientes com FXS. A região muito expandida sofre hipermetilação, que conduz ao silenciamento transcricional do gene. O gene codifica a proteína FMRP, uma proteína de ligação ao RNA, que é altamente expressa no cérebro e nos órgãos reprodutivos. A doença resulta da perda da função da proteína. A ausência de FMRP nos neurônios leva a anormalidades do desenvolvimento cerebral, como imaturidade neuronal e espinhas dendríticas de morfologia alterada, afiladas e altamente ramificadas. Essas alterações surgem da falta de controle de FMRP na tradução de proteínas nas espinhas dendríticas (síntese excessiva)²².

Os pacientes apresentam dificuldades de aprendizagem e de socialização, hiperatividade, aumento da susceptibilidade para convulsões, hipersensibilidade a estímulos sensoriais, macroorquidismo, incoordenação motora, distúrbios do sono e comportamento autístico. Alguns estudos revelaram que uma grande variedade de RNAs mensageiros neuronais é controlada pela FMRP, sugerindo que a desregulação simultânea de muitas proteínas culmina na síndrome²³. FXS é considerada a causa monogênica principal de TEA, motivo pelo qual está incluída nos protocolos de investigação do diagnóstico etiológico.

Assim, é lógico que o nível de expressão de muitas proteínas que atuam na manutenção da função sináptica adequada é rigorosamente controlado. A ubiquitinação, a ligação covalente de ubiquitina a uma proteína-alvo, regula a maioria dos processos celulares e está envolvida em vários distúrbios neurológicos. Muitos genes na via da ubiquitina e prote-

ínas neuronais que estão orientadas pelo sistema ubiquitina-proteassoma também têm sido associados a déficits cognitivos²⁴. Este sistema media a degradação de proteínas, além de também desempenhar um papel na regulação da sinalização celular e na progressão do ciclo celular, e estar associado com elementos do citoesqueleto. É necessário para o bom desenvolvimento do cérebro, orientação dos axônios e para o desenvolvimento e plasticidade das sinapses.

Por exemplo, mutações em *UBE3A* têm sido associadas com TEA. *UBE3A* codifica uma ubiquitina-ligase E3, que contém um domínio que catalisa a ubiquitinação das proteínas-alvo. Uma redução de sua expressão resulta em defeitos de plasticidade sináptica. *UBE3A* regula o desenvolvimento das sinapses excitatórias, controlando a degradação da proteína ARC, fundamental para a formação da memória de longo prazo e todo tipo de plasticidade²⁵.

OS miRNAs NO AUTISMO

Como já citado, CNVs são reconhecidas como fatores genéticos importantes na etiologia do autismo, com uma alta prevalência das *de novo* em casos esporádicos e familiares, em comparação com indivíduos controles normais. No entanto, os estudos têm destacado um papel patogênico de CNVs em termos de mudanças na dosagem de genes que codificam proteínas, sem levar em conta o envolvimento potencial de CNVs em loci de miRNAs. Eles são pequenas moléculas de RNA, de sequência curta, com aproximadamente 19-22 nucleotídeos, não codificantes, capazes de regular a expressão gênica. Influenciam na expressão de maneira dinâmica e funcionam como importantes mediadores na diferenciação celular. O micro se liga à região 3'(3'UTR) do RNA mensageiro e, ocorrendo complementaridade, o RNA mensageiro é clivado e degradado. Assim, é capaz de silenciar o gene-alvo²⁶. Geralmente, CNVs e miRNAs são investigados separadamente. Inclusive, há poucos estudos de transcriptoma em amostras de cérebros de autistas *post-mortem* e há alguns realizados a partir do sangue periférico dos pacientes. No entanto, as células linfoblásticas não são representativas de tecido neural.

O fato é que a expressão alterada de genes de miRNAs tem sido repetidamente relatada em estudos de microarranjos observados em TEA, sugerindo estar relacionada com a patogênese do transtorno. Alguns sugestivos de desempenhar um papel patogênico no autismo já foram identificados, como o hsa-mir-4436b-1 e hsa-mir-4436b-2, presentes em CNVs observadas apenas em autistas. Mas, infelizmente, os alvos destes miRNAs ainda não foram identificados. Quanto aos outros candidatos descritos, todos estão envolvidos no desenvolvimento e na função do sistema nervoso central²⁷.

Certamente, as funções atribuídas aos miARNs podem explicar anomalias de crescimento, atraso e alteração da maturação neuronal observada nos cérebros de autistas. As alterações no controle da tradução de RNAm mediada por múltiplos alvos de cada miRNA podem levar à diferença de fenótipos observados em TEA. Além disso, vários miRNAs podem ter como alvo o mesmo RNAm resultando em fenótipos de convergência de vários loci da CNV. Assim, uma alteração na expressão ou no nível de um miRNA poderia afetar a expressão de genes-alvo e ter um efeito pleiotrópico, que iria produzir um fenótipo mais grave. A caracterização da relação CNVs/miRNA pode ilustrar a complexidade do desenvolvimento neuronal e auxiliar na compreensão e, talvez, no tratamento do autismo.

ORGANIZAÇÃO DA CROMATINA

Outro assunto relacionado à origem do fenótipo autístico é a remodelação da cromatina, uma vez que alguns genes reguladores deste processo, como *SMARCC1*, *SMARCC2*, *ARID1A*, *ARID1B*, *CHD8*, *CHD1*, *CHD3*, *CHD75* e *ATRX*, apresentam mutações *de novo* em uma pequena proporção de casos. Tais mutações teoricamente poderiam resultar em TEA porque os genes envolvidos, além de serem altamente expressos no cérebro, do ponto de vista hierárquico, são reguladores fundamentais para o funcionamento celular normal e proteção do genoma dos danos do ambiente. Interação com inúmeros outros genes e por diferentes vias, o que significa que, se alterados, podem afetar vários processos celulares simultaneamente. Também, alterações em genes reguladores de cromatina são frequentemente descritas como a causa de outros transtornos do desenvolvimento neurológico e neuropsiquiátricos.

Os nucleossomos são a principal unidade de organização da cromatina, com um núcleo de histonas (H2A/B, H3 e H4) e a subunidade H1, que mantêm o DNA condensado e regulado para que a conformação se abra apenas quando a sua acessibilidade seja necessária, atendendo às necessidades de expressão gênica tecido-específicas e as fases do ciclo celular. E há uma grande variedade de fatores envolvidos nesta mudança do estado da cromatina. Entre eles se destaca a metilação. A regulação de cada modificação de histonas requer enzimas específicas que adicionam e removem grupos metil (ou acetil). Algumas mutações descritas em autismo ocorrem em genes que codificam demetilases, incluindo o *KDM5C*, cujo produto é uma demetilase da histona H3K4, implicada na supressão gênica, e o *JMJD1C*, uma demetilase da histona H3K9 responsável pela ativação da transcrição hormônio-dependente²⁸⁻²⁹.

MECANISMOS EPIGENÉTICOS E TEA

Epigenética é um termo usado para referir-se aos processos biológicos de controle do DNA e da cromatina, que não envolvem mudanças na sequência do DNA. Mecanismos epigenéticos agem na acessibilidade à cromatina e na regulação da transcrição. Os efeitos do ambiente no fenótipo geralmente são mediados por esses mecanismos que, como a metilação do DNA, podem ser programados (*imprinting*). Neste caso, os genes são expressos de forma monoalélica, e a escolha de qual alelo é expresso é determinada pela origem parental do mesmo. As alterações nesta programação são denominadas epimutações, algumas corrigíveis pela reprogramação epigenética específica da linhagem germinativa normal e, portanto, não transmitidas transgeracionalmente, mas outras não, que são transmitidas por múltiplas gerações³⁰.

Anormalidades epigenéticas estão associadas com várias doenças do neurodesenvolvimento, como mencionado anteriormente. A ligação entre TEA e epigenética vem da identificação de mutações em regiões e genes que sofrem *imprinting*, como em 15q11-13.

Há várias explicações para o envolvimento de genes que sofrem *imprinting* na etiologia do Autismo. A teoria do “cérebro imprintado” sugere que o cérebro autista está excessivamente “imprintado” em função de um de-

sequilíbrio causado por um aumento dos efeitos do chamado “cérebro paterno” em detrimento dos do “cérebro materno”. A desproporção sexual entre os afetados (quatro homens:uma mulher) é explicada por alguns autores pelo *imprinting* de loci do cromossomo X. Também, genes “imprintados” parecem contribuir de forma indireta para a doença, por serem controlados por outros genes, como acontece entre o *MECP2*, associado com a Síndrome de Rett, e o *UBE3A*, associado com a Síndrome de Angelman, duas doenças em que os sinais autísticos fazem parte do quadro clínico. Além disso, genes que sofrem *imprinting* atuam de forma haploide, o que os torna muito vulneráveis à inativação por mutações. Ainda, uma mutação nestes genes pode resultar na perda do *imprinting* e na expressão bialélica anormal³¹.

Genes que sofrem *imprinting* são expressos em vários tipos de tecidos, mas são altamente expressos no cérebro humano. Neurônios humanos sofrem modificações do processo de metilação ao longo do desenvolvimento e da vida pós-natal. Merece destaque neste contexto o mecanismo de ação do gene *SHANK3*, localizado em 22q13.3 e expresso em diferentes regiões do cérebro. Possui cinco ilhas CpG reguladas por metilação. A haploinsuficiência deste gene está relacionada com a síndrome da deleção 22q13.3 (síndrome de Phelan-McDermid), um transtorno do desenvolvimento que se caracteriza por atraso de fala, hipotonia, atraso no desenvolvimento global e comportamento autista, e com casos não sindrômicos de TEA, que apresentam mutações não observadas em controles saudáveis²⁸.

Também, o estresse oxidativo em células cerebrais, causado por fatores ambientais e genéticos, conduz a uma diminuição da atividade da enzima metionina-sintetase, que participa em processos de metilação do DNA. Quando a atividade desta enzima é comprometida, os indivíduos afetados podem apresentar déficits de atenção e sinais autísticos, devido a alterações na expressão de genes controlados por este mecanismo³². Portanto, fatores ambientais também podem ativar vias intracelulares durante o desenvolvimento embrionário, causando mudanças epigenéticas na função neural, que explicariam a relação entre ambiente e genoma na regulação do comportamento.

O risco aumentado de prole com Autismo relacionado ao avanço da idade parental também é explicado pela exposição da linhagem germi-

nativa a agentes tóxicos durante a vida, que poderiam causar mutações *de novo* e alterações epigenéticas³³.

Portanto, alterações epigenéticas podem ser os alvos biológicos através dos quais fatores ambientais podem causar autismo. Dentre os achados em TEA altamente consistentes com a desregulação epigenética se destacam: a discordância entre os gêmeos monozigóticos, origem parental e os efeitos dependentes do gênero de algumas alterações. Isso justifica o crescente número de publicações sobre o assunto.

Muitos destes mecanismos também poderiam explicar a diferença na proporção entre os sexos. As meninas são menos afetadas e acredita-se que tenham eventos cerebrais “protetores”, como genes localizados no X que não são inativados e regulam a condensação da cromatina. Entretanto, o fenômeno é frequentemente mais grave nas meninas do que nos meninos, o que é explicado pelo fato de que elas geralmente apresentam um número maior de mutações, inclusive SNPs e CNVs. Embora muitas hipóteses sejam consideradas, pouco se sabe sobre os fenômenos envolvidos nesta desproporção.

ACONSELHAMENTO GENÉTICO

A alta prevalência e complexidade do autismo tem motivado vários estudos utilizando diferentes estratégias de pesquisa. Os fatores genéticos são os mais estudados e sua causa potencial, em muitos casos, resultou em um aumento significativo no número de encaminhamentos para Aconselhamento Genético (AG).

O AG é um processo de comunicação. Como tal, deve ser entendido como “uma “via de mão dupla”, isto é, como uma situação de “troca””. Os aconselhadores não têm nenhuma garantia ou controle de que a sua “mensagem” será entendida como pretendido, nem mesmo sobre as consequências do processo. Assim, além da comunicação de informações biológicas e clínicas, eles devem priorizar os aspectos educacionais e psicológicos do processo, de modo a oferecer apoio para tomada de decisão e ajuda para reduzir a ansiedade e a culpa.

É essencial lembrar que a não diretividade é crucial neste processo. Não é uma questão de se evitar dizer o que é melhor ou não. É uma

forma de promover e melhorar a autonomia e o auto-direcionamento dos consulentes. É necessário fornecer informações precisas, completas e imparciais, e ter uma relação empática entre os envolvidos, profissionais e familiares.

O AG, embora pautado em diretrizes tradicionais que recomendam determinadas ações, fases e intenções, varia muito na forma que é desenvolvido, de centro para centro, região para região e de país para país. Não só a ênfase em algum objetivo pode variar, como a composição da equipe e as formas diferentes de participação de cada um dos seus membros. É desenvolvido de maneira contínua e integrada, com o objetivo de auxiliar a família a compreender todas as informações sobre o problema, suas causas, consequências e manejo, fornecer riscos de ocorrência ou recorrência e proporcionar apoio psicológico.

Há tantos fatores complexos envolvidos com as causas dos TEA, alguns herdados e outros não. Então, o que fazer em cada caso, uma vez que as causas genéticas podem desempenhar um papel importante na etiologia? A descoberta do agente etiológico em um dado caso, muito provavelmente, não interferirá no tratamento. No entanto, poderá reduzir o sofrimento dos pais, explicando a causa do problema e esclarecendo se há risco de recorrência ou não. O geneticista deve tentar identificar causas específicas ou excluí-las para um AG mais eficaz, e essa nem sempre é uma tarefa fácil. Duas situações devem ser sempre consideradas: autismo síndrômico e não síndrômico (idiopático ou primário). Na primeira, há uma causa conhecida ou presumida relacionada ao fenótipo comportamental, muitas vezes identificada por características dismórficas. Pode estar associada com doenças monogênicas bem conhecidas, alterações cromossômicas e eventos ambientais. O AG deve ser, então, direcionado para tal etiologia. Em casos não síndrômicos ou idiopáticos, determinados após investigação detalhada, nem sempre disponível ou acessível para todas as famílias, a abordagem deve ser diferente, discutindo-se em particular a predisposição poligênica e a contribuição ambiental para o fenótipo autista.

Mas, AG para as famílias de indivíduos autistas é um procedimento complicado até mesmo para aconselhadore experientes. O aspecto mais importante é que não envolve apenas dar informações técnicas relacionadas com toda a complexidade etiológica e terapêutica. O diagnóstico

de autismo por si já é um grande estressor para as famílias, que têm de se adaptar a uma realidade que, além de nova, é muito heterogênea, complexa e difícil, e pode resultar em muitos conflitos. Envolve uma situação de cronicidade muito peculiar. Invariavelmente, estresse, ansiedade e desesperança estão presentes no contexto. A cascata de efeitos psicológicos é imprevisível. Certamente, o aconselhador irá se deparar com indivíduos chocados e muito vulneráveis, com sentimentos de perda, culpa e vergonha. Questões familiares, estrutura, dinâmica emocional, religião, padrões de comunicação, tipos de interações, de etnia e de apoio social devem ser considerados durante o processo, porque todas estas questões irão influenciar no resultado do AG e, conseqüentemente, na adesão aos tratamentos e qualidade de vida dos familiares.

CONCLUSÃO

É muito difícil realizar uma abordagem global sobre toda a complexidade etiológica do TEA, sem correr o risco de super ou subestimar alguns fatores. A literatura sobre o tema é tão vasta e diversificada que dá a impressão ao leitor de que tudo pode causar autismo. A verdade é que tudo o que potencialmente pode afetar o cérebro, na sua estrutura e função normais, pode interferir com a saúde mental e isso abre um universo de possibilidades, o que torna crucial a atuação multidisciplinar. Entretanto, na investigação de causas genéticas e orientações quanto aos tratamentos, ainda paliativos e sintomáticos, cada caso deve ser considerado em particular, e todos devem realizar o AG. A compreensão dos fatores genéticos envolvidos na etiologia deste transtorno é crucial, inclusive para delinear intervenções futuras.

REFERÊNCIAS

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. 5th ed. Arlington: American Psychiatric Association; 2013. 443p.
2. Sandin S, Lichtenstein P, Kuja-Halkola R, Larsson H, Hultman CM, Reichenberg A. The familial risk of autism. *JAMA*. 2014;311(17):1770-7. doi:10.1001/jama.2014.4144.

3. Cukier HN, Dueker ND, Slifer SH, Lee JM, Whitehead PL, Lalanne E, et al. Exome sequencing of extended families with autism reveals genes shared across neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *Mol Autism*. 2014;5(1):1-10.
4. Talkowski ME, Minikel EV, Gusella JF. Autism spectrum disorder genetics: diverse genes with diverse clinical outcomes. *Harv Rev Psychiatry*. 2014;22(2):65-75. doi: 10.1097/HRP.0000000000000002
5. Vaishnavi V, Manikandan M, Munirajan AK. Mining the 3'UTR of autism-implicated genes for SNPs perturbing microRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2014;12(2):92-104. doi:10.1016/j.gpb.2014.01.003
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. *MMWR Surveill Summ*. 2014;63(2):1-21.
7. Idring S, Magnusson C, Lundberg M, Ek M, Rai D, Svensson AC, et al. Parental age and the risk of autism spectrum disorders: findings from a Swedish population-based cohort. *Int J Epidemiol*. 2014;43(1):107-15.
8. Zafeiriou DI, Ververi A, Dafoulis V, Kalyva E, Vargiami E. Autism spectrum disorders: the quest for genetic syndromes. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2013;162B(4):327-66. doi: 10.1002/ajmg.b.32152
9. Tan ES, Yong MH, Lim ECP, Li ZH, Brett MSY, Tan EC. Chromosome 15q11-q13 copy number gain detected by array-CGH in two cases with a maternal methylation pattern. *Mol Cytogenet*. 2014;7:32. doi: 10.1186/1755-8166-7-32
10. Filges I, Sparagana S, Sargent M, Selby K, Schlade-Bartusiak K, Lueder GT, et al. Brain MRI abnormalities and spectrum of neurological and clinical findings in three patients with proximal 16p11.2 microduplication. *Am J Med Genet A*. 2014;164A(8):2003-12. doi: 10.1002/ajmg.a.36605
11. Jalbrzikowski M, Lazaro MT, Gao F, Huang A, Chow C, Geschwind DH, et al. Transcriptome profiling of peripheral blood in 22q11.2 deletion syndrome reveals functional pathways related to psychosis and autism spectrum disorder. *PLoS One*. 2015;10(7):e0132542. doi: 10.1371/journal.pone.0132542
12. Tucker T, Giroux S, Clément V, Langlois S, Friedman JM, Rousseau F. Prevalence of selected genomic deletions and duplications in a French-Canadian population-based sample of newborns. *Mol Genet Genomic Med*. 2013;1(2):87-97. doi: 10.1002/mgg3.12

13. Suliman R, Ben-David E, Shifman S. Chromatin regulators, phenotypic robustness, and autism risk. *Front Genet.* 2014;5:81. doi: 10.3389/fgene.2014.00081
14. Conolly JJ, Glessner JT, Hakonarson H. A genome-wide association study of autism incorporating autism diagnostic interview-revised, autism diagnostic observation schedule, and social responsiveness scale. *Child Dev.* 2013;84(1):17-33. doi: 10.1111/j.1467-8624.2012.01838.x
15. The Centre for Applied Genomics. Autism Chromosome Rearrangement Database – ACRD: a database of structural variants in autism spectrum disorder [database on the internet]. Ontario; 2014 [cited 2015 ago 17]. Available: <http://projects.tcag.ca/autism/>
16. Yang X, Hou D, Jiang W, Zhang C. Intercellular protein-protein interactions at synapses. *Protein Cell.* 2014;5(6):420-44. doi: 10.1007/s13238-014-0054-z
17. Srivastava AK, Schwartz CE. Intellectual disability and autism spectrum disorders: causal genes and molecular mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014;46(pt.2):161-74. doi: 10.1016/j.neubiorev.2014.02.015
18. Canitano R, Scandurra V. Glutamatergic agents in autism spectrum disorders: current trends. *Res Autism Spectr Disord.* 2014;8:255-65. doi: 10.1007/s12035-013-8534-3
19. Hotulainen P, Hoogenraad CC. Actin in dendritic spines: connecting dynamics to function. *J Cell Biol.* 2010;189(4):619-29.
20. Grajkowska W, Kotulska K, Jurkiewicz E, Matyja E. Brain lesions in tuberous sclerosis complex: review. *Folia Neuropathol.* 2010;48(3):139-49. doi: 10.1083/jcb.201003008
21. Neale BM, Kou Y, Liu L, Ma'ayan A, Samocha KE, Sabo A, et al. Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature.* 2012;485(7397):242-5. doi: 10.1038/nature11011
22. De Rubeis S, Pasciuto E, Li KW, Fernández E, Di Marino D, Buzzi A, et al. CYFIP1 coordinates mRNA translation and cytoskeleton remodeling to ensure proper dendritic spine formation. *Neuron.* 2013; 79(6):1169-82. doi: 10.1016/j.neuron.2013.06.039
23. Chen E, Joseph S. Fragile X mental retardation protein: a paradigm for translational control by RNA-binding proteins. *Biochimie.* 2015; 114:147-54. doi: 10.1016/j.biochi.2015.02.005
24. Jolly LA, Homan CC, Jacob R, Barry S, Gecz J. The UPF3B gene, implicated in intellectual disability, autism, ADHD and childhood onset schizophrenia regulates neural progenitor cell behaviour and neuronal outgrowth. *Hum Mol Genet.* 2013; 22(23):4673-87. doi: 10.1093/hmg/ddt315

25. Uzunova G, Hollander E, Shepherd J. The role of ionotropic glutamate receptors in childhood neurodevelopmental disorders: autism spectrum disorders and fragile x syndrome. *Curr Neuropharmacol*. 2014; 12(1):71-98. doi: 10.2174/1570159X113116660046
26. Ronemus M, Iossifov I, Levy D, Wigler M. The role of de novo mutations in the genetics of autism spectrum disorders. *Nat Rev Genet*. 2014; 15(2):133–41. doi: 10.1038/nrg3585
27. Marrale M, Albanese NN, Calì F, Romano V. Assessing the impact of copy number variants on miRNA genes in autism by Monte Carlo simulation. *PLoS One*. 2014; 9(3):e90947. doi: 10.1371/journal.pone.0090947
28. Lasalle JM. Autism genes keep turning up chromatin. *OA Autism*. 2013; 1(2):14.
29. Taniguchi H, Moore AW. Chromatin regulators in neurodevelopment and disease: analysis of fly neural circuits provides insights: networks of chromatin regulators and transcription factors underlie *Drosophila* neurogenesis and cognitive defects in intellectual disability and neuropsychiatric disorder models. *Bioessays*. 2014; 36(9):872-83. doi: 10.1002/bies.201400087
30. McCarrey JR. Distinctions between transgenerational and non-transgenerational epimutations. *Mol Cell Endocrinol*. 2014; 398(1/2):13-23. doi: 10.1016/j.mce.2014.07.016
31. Mbadiwe T, Millis RM. Epigenetics and autism. *Autism Res Treat*. 2013; 2013:1-9. [id-826156].
32. Dhillon S, Hellings JA, Butler MG. Genetics and mitochondrial abnormalities in autism spectrum disorders: a review. *Curr Genomics*. 2011; 12(5):322-32. doi: 10.2174/138920211796429745
33. Sandin S, Schendel D, Magnusson P, et al. Autism risk associated with parental age and with increasing difference in age between the parents. *Mol Psychiatry*. 2015; 1-8. doi: 10.1038/mp.2015.70

