

As Perturbações do Espectro do Autismo – Avanços da Biologia Molecular

Ilda Patrícia Ribeiro¹, Manuela Freitas², Natália Oliva-Teles²

RESUMO

As perturbações do espectro do autismo (PEA) constituem-se como perturbações do neurodesenvolvimento, incluindo alterações comportamentais, de comunicação e de interação social. De acordo com o DSM-IV TR estão descritas cinco perturbações do espectro do autismo na categoria das perturbações do desenvolvimento: a perturbação autista, a síndrome de Asperger, a perturbação invasiva do desenvolvimento sem outra especificação, a perturbação desintegrativa da infância e a síndrome de Rett. A prevalência das perturbações do espectro do autismo é variável conforme os diferentes estudos, estimando-se entre 10/10000 e 60/10 000 crianças. De acordo com a literatura, uma reduzida percentagem de indivíduos com PEA tem etiologia conhecida, sendo este facto particularmente desafiador para a comunidade científica. Estudos familiares e de gémeos têm trazido novos esclarecimentos para a elevada hereditabilidade da perturbação autista; contudo, permanece por esclarecer inequivocamente as suas bases genéticas, bem como a identificação de determinados genes ou proteínas passíveis de serem utilizados no diagnóstico destas perturbações. As perturbações do espectro do autismo têm sido associadas a causas genéticas conhecidas em 10-15% dos casos. Estão descritos diferentes genes e regiões cromossómicas (*loci*) potencialmente associados à PEA, sendo atribuída uma percentagem inferior a 10% dos casos de autismo às anomalias cromossómicas. Assim, encontram-se descritas algumas anomalias citogenéticas em pacientes com autismo, nomeadamente a duplicação 15q11-q13, as deleções e as duplicações da banda 16p11, e as deleções na região 22q13. Estas regiões cromossómicas são alvo de análise mais detalhada neste artigo de revisão, acreditando-se que estas, em futuros estudos, poderão contribuir para esclarecer algumas das complexas bases genéticas deste tipo de perturbações. As anomalias citogenéticas observadas no *locus* 15q11-q13 estão presentes em 1-4% dos doentes autistas; parece também ser possível estabelecer uma associação entre a microdeleção na sub-banda 16p11.2 e o autismo, e, as deleções ou duplicações na região q13.3 do cromossoma 22 parecem poder ser potenciais fatores de risco para a perturbação autista.

Palavras-chave: Perturbações do espectro do autismo, autismo, cromossoma, *locus*, gene.

Nascer e Crescer 2013; 22(1): 19-24

INTRODUÇÃO

Na categoria das perturbações do desenvolvimento neurológico encontram-se as perturbações do espectro do autismo (PEA), caracterizadas por perturbações de gravidade variável nos padrões de interação social recíproca, por comunicação atípica ou deficiente e um comportamento estereotipado/repetitivo⁽¹⁾. A designação de “perturbação do espectro” é utilizada para indicar que as PEA englobam um conjunto diversificado de situações comportamentais, diagnosticadas através da observação clínica do desenvolvimento e de vários instrumentos de avaliação internacionalmente validados. Contudo, entre as características essenciais das PEA existem diferenças significativas na extensão e qualidade dos sintomas, seja pelos problemas da linguagem ou pelo atraso na linguagem falada, o que tem sido observado apenas em 50% dos indivíduos com PEA⁽²⁾.

A prevalência da perturbação autista é altamente variável, consoante os diversos estudos. Atualmente, esta é cerca de 20/10 000 e 60/10 000 crianças para todas as perturbações do espectro do autismo^(3,4). Em Portugal continental e nos Açores a prevalência da PEA, em 2007, era cerca de 9,2/10 000 crianças no continente e 15,6/10 000 nos Açores⁽⁵⁾. Os indivíduos de género masculino apresentam um risco quatro vezes superior, comparativamente com os do género feminino. O género feminino afetado com autismo ou com perturbações do desenvolvimento tende a ser mais comprometido cognitivamente e menos afetado socialmente relativamente ao género masculino⁽⁶⁾. Comparativamente com a prevalência de outras perturbações na infância, a taxa da PEA é mais baixa do que a do atraso mental, mas mais elevada que as de paralisia cerebral, perda auditiva e deficiência visual⁽⁴⁾. O aumento do número de casos de PEA diagnosticados que se tem verificado nos últimos anos tem despertado a atenção, constatando-se haver uma maior sensibilização para o diagnóstico do autismo⁽³⁾. Contudo, apenas 10-20% dos indivíduos com PEA apresenta etiologia conhecida com causa genética associada.

As perturbações do espectro do autismo

A Associação Americana de Psiquiatria descreve cinco PEA na categoria das perturbações do desenvolvimento, que são: **(1)** a perturbação autista, frequentemente designada de autismo clássico, e que representa o tipo mais identificado das PEA; **(2)** a síndrome de Asperger; **(3)** a perturbação invasiva do desenvolvimento sem outra especificação, também designada de autismo atípico; **(4)** a perturbação desintegrativa da infância; e **(5)** a síndrome de Rett⁽⁷⁾.

¹ Dep. Biologia, Universidade do Minho, Braga

² Dep. Genética, INSA, I.P., CG Doutor Jacinto Magalhães, Porto

Considera-se o autismo, a síndrome de Asperger e a perturbação invasiva do desenvolvimento sem outra especificação como uma mesma perturbação com vários patamares de gravidade.

O autismo clássico ou perturbação autista, foi descrito pela primeira vez em 1943, por Kanner⁽⁸⁾, quando observou crianças que demonstravam extrema indiferença e total desinteresse em relação às outras pessoas. Os estudos neurológicos e neuropsiquiátricos têm indicado que a população autista pode apresentar atraso mental, hipotonia, fraca coordenação motora em crianças, estereótipos motores, comportamento obsessivo-compulsivo e auto-prejudicial, padrões eletroencefalográficos anormais e/ou epilepsia⁽⁹⁾. Em muitas crianças o aparecimento das manifestações do autismo parece ser gradual; no entanto, como em qualquer patologia do neurodesenvolvimento, a sintomatologia não é estática, dependendo das aquisições (ou não) de cada criança, em cada fase do desenvolvimento e do observador. Aproximadamente 30% apresentam-se com um quadro de regressão⁽¹⁰⁾, ou seja, começam por proferir algumas palavras mas depois entre os 15 e 24 meses, param habitualmente de falar; contudo, a regressão não se restringe à linguagem. Quase dois terços das crianças com autismo clássico são definidas como tendo atraso mental por testes de inteligência (QI) não verbais⁽¹⁰⁾. Têm sido descritas na literatura distintas regiões cerebrais potencialmente envolvidas na génese do autismo, nomeadamente o sistema límbico, a amígdala, as áreas pré-frontais e o cerebelo. Os estudos neuropatológicos do tecido cerebral de indivíduos com autismo têm revelado algumas anomalias, designadamente: a redução do número de células *Purkinje* no cerebelo; anormal maturação do sistema límbico do cérebro anterior, incluindo a redução do tamanho neuronal, o aumento da “*cell-packing density*”, e a diminuição da complexidade do neurópilo (isto é, uma complexa rede de ramificações axonais, dendríticas e da glia, onde estão incorporadas as células nervosas); e anomalias no lóbulo frontal e temporal das minicolunas corticais, mais numerosas, pequenas e menos compactas na sua configuração celular, que demonstram uma redução na periferia do espaço do neurópilo⁽¹¹⁾. Alguns estudos imagiológicos referem alterações estruturais no cérebro de crianças autistas. Courchesne e colaboradores⁽¹²⁾, no primeiro estudo utilizando imagens de ressonância magnética, constataram que 90% dos cérebros de crianças autistas apresentam volumes superiores ao normal. Adicionalmente, Sparks e colaboradores⁽¹³⁾ demonstraram não só o aumento do volume do cérebro em crianças autistas, cerca de 10% maior do que o normal, mas também constataram volumes superiores aos normais no cerebelo e na amígdala. Os estudos neuropatológicos e de imagiologia acima referidos sugerem que estas anomalias estruturais no cérebro e as conectividades sinápticas aberrantes poderão ser a base fenotípica autista em alguns indivíduos.

A síndrome de Asperger é caracterizada por dificuldades nas relações sociais, falta de empatia e interesses particulares e restritos. Em oposição à perturbação autista, está associada a um QI normal e a capacidades linguísticas relativamente normais, existindo uma certa controvérsia sobre se a síndrome de Asperger representa uma forma de autismo ou se, pelo contrário, poderá ser uma entidade nosológica separada.

No que respeita à perturbação desintegrativa da infância, sendo rara, é caracterizada habitualmente por um início mais tardio (com idade superior a 24 meses), perda da linguagem e regressão, que frequentemente é mais grave do que a observada na perturbação autista ou perturbação invasiva do desenvolvimento sem outra especificação, bem como um forte predomínio no género masculino.

A síndrome de Rett, sendo um distúrbio neurológico dominante, ligado ao cromossoma X, é, em muitos casos, originada por mutações no gene *MECP2*, que codifica a *methyl-CpG binding protein 2* (MeCP2)⁽¹⁴⁾. Ocorre quase exclusivamente em meninas, com início durante o primeiro ou segundo ano de vida, após um período de desenvolvimento normal; é habitualmente caracterizada por um padrão de microcefalia adquirida e perda das habilidades manuais no final do primeiro ano de vida, aparecimento progressivo de perturbação da marcha (ou, em alguns casos, não aquisição da mesma) e estereotípias.

A perturbação invasiva do desenvolvimento sem outra especificação é conotada com crianças que apresentam manifestações autistas mas que não cumprem a totalidade dos critérios nos três domínios de diagnóstico do autismo, apresentando sintomas mais leves.

As perturbações do espectro do autismo e a Genética

A frequência do autismo é mais elevada em irmãos de crianças com autismo, comparativamente à população em geral; contudo, a evidência da hereditariedade do autismo surge nos estudos de gémeos⁽¹⁵⁾. Os estudos familiares e em gémeos têm demonstrado que o risco para o autismo é largamente determinado por fatores genéticos (>90%)⁽¹⁶⁾, verificando-se que cerca de 60-90% dos gémeos monozigóticos são concordantes para a perturbação do espectro do autismo, comparativamente com os cerca de 10% nos gémeos dizigóticos⁽¹⁷⁾. O padrão de hereditariedade não parece ser simples e poderá incluir mutações de genes raros, anomalias cromossómicas, *Copy Number Variants* (CNVs) e, ainda, fatores epigenéticos. Assim, a PEA parece ser multifatorial, uma vez que vários fatores de risco atuam em conjunto para originar o fenótipo⁽¹⁸⁾. A diferença entre as taxas de concordância monozigótica e dizigótica sugerem a interação entre alguns fatores de risco (como interações gene-gene ou gene-ambiente), onde os efeitos podem ser o resultado da combinação de fatores ambientais tóxicos ou fatores epigenéticos alterando-se a função dos genes e do tecido neural⁽¹⁸⁾.

Os estudos citogenéticos convencionais, com bandas de alta resolução, em famílias com indivíduos afetados, permitiram localizar genes específicos ou regiões cromossómicas (*loci*) potencialmente associados à PEA. No entanto, apenas uma percentagem inferior a 10% dos casos de autismo estará associada a anomalias cromossómicas⁽¹⁹⁾ e, em cerca de 5% dos casos de autismo, parece estar presente outra perturbação⁽²⁰⁾. Crê-se que a PEA possa estar associada a causas genéticas conhecidas em 10-15% dos casos, sendo as mais comuns: a síndrome de X frágil, a esclerose tuberosa; a duplicação 15q11-q13 de origem materna; as deleções e as duplicações de 16p11⁽²¹⁾. Para além destas, a síndrome de Klinefelter (XXY), a trissomia 21, as

duplicações na região 7q11.23 da síndrome de Williams-Beuren e as deleções na região 22q11 (estas designadas por síndrome-velo-cardio-facial - SVCF) comportam maior risco. Vários genes associados ao atraso mental, autossómico ou ligado ao cromossoma X, têm sido igualmente, encontrados em crianças com diagnóstico de PEA: o gene *MECP2* da síndrome de Rett, o gene *FMR1* da síndrome de X frágil, os genes *TSC* da esclerose tuberosa, o gene *DHCR7* da síndrome Smith-Lemli-Opitz, os genes *neurologin* (*NLGN3* e *NLGN4*), os *ATR-X* e *neurotrypsin* e ainda variações genéticas no *SLC25A12*⁽²²⁾. Em 2010, Pinto e colaboradores⁽²³⁾ identificaram novos genes de suscetibilidade para o autismo: *SHANK2*, *SYNGAP1*, *DLGAP2* e *DDX53-PTCHD1*. Estes genes parecem estar envolvidos em processos essenciais para o funcionamento saudável do sistema nervoso, particularmente na transmissão sináptica, na proliferação celular ou em processos de sinalização intracelular. Um número elevado de genes identificados na PEA apresenta elevadas taxas de mutações *de novo*, tendo sido reportadas anomalias submicroscópicas nos cromossomas em 1-2% dos casos de autismo⁽²⁴⁾.

No que respeita aos cromossomas envolvidos no autismo, o primeiro rastreio genómico para o autismo, realizado pela *International Molecular Genetic Study of Autism Consortium*⁽²⁵⁾, sugeriu o envolvimento de seis regiões cromossómicas diferentes (4, 7, 10, 16, 19 e 22). Em 2006, Vorstman e colaboradores⁽²⁴⁾, utilizando estudos de *linkage* e de associação, identificaram *loci* associados ao risco de autismo em quase todos os cromossomas, excetuando os cromossomas 8, 9, 14, 18 e Y.

Para uma melhor compreensão do mecanismo da PEA tem vindo a ser feita uma análise mais pormenorizada de três regiões cromossómicas (15q11-q13, 16p11 e 22q13.3), que se acredita poderem contribuir para um melhor entendimento das bases genéticas envolvidas nas perturbações do espectro do autismo, sugerindo o eventual envolvimento de vários genes com penetrância variável, fazendo um aporte explicativo para os diferentes fenótipos.

Região do cromossoma 15q11-q13

As anomalias citogenéticas observadas no *locus* 15q11-q13 estarão presentes em 1-4% de pacientes autistas⁽²⁰⁾, sendo descritas na literatura duplicações, deleções e inversões neste *locus*. As duplicações poderão ocorrer como repetições intersitiais em *tandem* (de tal modo que múltiplas cópias deste *locus* estão presentes no cromossoma) ou como um cromossoma supranumerário isodicêntrico 15 (um cromossoma 15 extra com uma ou duas cópias da região cromossómica 15q11-q13), originando trissomia ou tetrassomia de genes no *locus* 15q11-q13. As duplicações serão herdadas por via materna e pensa-se que possam determinar autismo através da criação de um excesso de produtos dos genes maternos que não sofreram *imprinting* (que não terão sido silenciados). As duplicações da região 15q11-q13 têm sido as anomalias cromossómicas mais frequentemente identificadas em indivíduos com PEA⁽²⁴⁾. As anomalias nesta região do cromossoma parecem estar associadas a outras perturbações do neurodesenvolvimento que partilham algumas características com o autismo, especialmente a deleção intersti-

cial do 15q11-q13, que resulta na síndrome de Prader-Willi ou de Angelman, dependendo se a deleção é no cromossoma paterno ou no materno, respetivamente. Estas duas síndromes estão descritas em doentes com PEA ou com comportamento autista, sendo estimado que mais de metade dos indivíduos com a síndrome de Angelman têm PEA⁽²⁶⁾.

As anomalias citogenéticas do cromossoma 15q11-q13 apontam para vários genes-alvo. De facto, o *cluster* recetor do gene *γ-amino butyric acid* (*GABA_A*) (o qual contém genes para as três subunidades dos recetores: *GABRB3*, *GABRA5*, e *GABRG3*) está fortemente implicado na patogénese do autismo, promovendo alterações no desenvolvimento similares às observadas no autismo, inibindo a excitação da via neural e a sua expressão já *in utero*⁽²⁷⁾. É o principal neurotransmissor inibidor do sistema nervoso central nos mamíferos, controlando, portanto, a excitabilidade do cérebro. O GABA interage com um complexo GABAR, uma estrutura heteromérica que medeia a inibição sináptica no cérebro adulto. Existem 19 subunidades conhecidas do recetor GABA dispersas em *clusters* no genoma⁽²⁸⁾. Os pentâmeros funcionais formados por várias combinações destas subunidades resultam em recetores com diferentes propriedades e sensibilidades, o que poderá afetar a capacidade de sinalização em diferentes partes do cérebro. Os recetores GABA parecem ter um papel central na ansiedade, e perturbações nestes recetores podem originar epilepsia. Durante o desenvolvimento cerebral o GABA pode atuar como um neurotransmissor excitatório, dada a elevada concentração intracelular de cloreto nos neurónios imaturos. Ma e colaboradores⁽²⁹⁾ examinaram as interações entre 14 genes de recetores GABA e identificaram interações gene-gene significativas entre *GABRA4* e *GABRB1*, o que sugere que o gene *GABRA4* está envolvido na etiologia do autismo e aumenta substancialmente o risco através da interação com o gene *GABRB1*. Estas descobertas suportam a hipótese de que a etiologia do autismo é multifatorial e que interações complexas podem contribuir para o risco de autismo. A subunidade β3 *GABA_A* apresenta um interesse peculiar, visto ser expressa no início do desenvolvimento, e a perda do gene *gabr3*, único em ratos, parece ser suficiente para produzir anomalias eletroencefalográficas, convulsões e características fenotípicas semelhantes às características clínicas da síndrome de Asperger⁽³⁰⁾.

Outro gene localizado na região 15q11-q13 é o gene materno *UBE3A* implicado na síndrome de Angelman. Em algumas regiões do cérebro normal, o *UBE3A* é apenas expresso no cromossoma materno, verificando-se a sua expressão somente em 10% dos indivíduos com a síndrome de Angelman, que evidenciam deleção 15q11.2⁽³¹⁾. A sua expressão é predominantemente observada no cérebro humano, e este é regulado por mecanismos complexos que envolvem *imprinting* e, possivelmente, silenciamento por transcritos RNA *antisense* do cromossoma paterno⁽⁹⁾. O gene *UBE3A* produz uma proteína designada de *E6-associated protein* (E6-AP), que atuará como uma enzima celular ubiquitina ligase.

O gene *CHRNA7*, localizado em 15q14, e já fora da região em apreço, codifica a subunidade α7 do recetor nicotínico neuronal, a qual, sendo uma proteína homopentamérica do canal

iónico sináptico⁽³²⁾, poderá vir a ser candidato para a epilepsia e para uma variedade de fenótipos neuropsiquiátricos baseados em associações genéticas com a epilepsia, a esquizofrenia e o distúrbio bipolar. Este gene tem sido implicado em distúrbios sensoriais e deficiências intelectuais.

Região do cromossoma 16p11

As microdeleções e as microduplicações da região 16p11.2 têm sido das causas genéticas mais frequentes na suscetibilidade individual da PEA. Estas alterações têm sido associadas com elevada frequência a alterações cognitivas e da linguagem bem como a problemas comportamentais, sendo maior a incidência destas anomalias nas microdeleções do que nas microduplicações⁽³³⁾. As características dismórficas, dificuldades na alimentação e otites recorrentes parecem ser sintomas comuns na síndrome de microdeleção 16p11.2. Em 2008, Weiss e colaboradores⁽³⁴⁾ sugeriram pela primeira vez a associação entre a microdeleção 16p11.2 e o autismo. Em 2011, Horev e colaboradores⁽³⁵⁾ verificaram que deleções em 16p11.2 afetam múltiplas regiões cerebrais originando alterações comportamentais, como hiperatividade, dificuldade de adaptação à mudança, anomalias no sono e comportamentos repetitivos. Estes comportamentos representam algumas das características típicas do autismo e poderão ser uma pista interessante para a sua compreensão.

Região do cromossoma 22q13.3

As deleções ou duplicações na região q13.3 do cromossoma 22 parecem ser fatores de risco para a perturbação autista⁽³⁶⁾. A síndrome de microdeleção 22q13.3 está associada a défices cognitivos e caracteriza-se por hipotonia neonatal, atraso global do desenvolvimento, crescimento normal a acelerado, atraso de linguagem e comportamento autista⁽²⁴⁾. Entre os três genes (*ACR*, *RABL2B*, *SHANK3*) localizados na região subtelomérica, o gene *SHANK3* é candidato para os sintomas neurocomportamentais observados em indivíduos afetados com as deleções 22q13. O *SHANK3*, também conhecido como *ProSAP2*, está localizado no cromossoma 22q13.3, e codifica uma *synaptic scaffolding protein*. Este gene foi primeiramente identificado em ratos e posteriormente em humanos, como um gene expresso predominantemente no córtex cerebral e no cerebelo. Em 2007, Durand e colaboradores⁽³⁷⁾ identificaram duas alterações no *SHANK3*, em indivíduos com PEA, e que não estariam presentes nos indivíduos controlo. Uma dessas alterações consistiria numa inserção *de novo* do nucleótido G no exão 21 do *SHANK3*, originando uma *frameshift* e presumível perda de função. Desde a evidência desta variante em dois irmãos afetados, equaciona-se a possibilidade de que esta possa resultar de mosaicismo germinal materno. A segunda alteração encontrada numa família não relacionada consistiu numa deleção do 22q13 terminal *de novo*, com um ponto de quebra no intrão 8 do *SHANK3*. Este gene apresenta uma frequência de mutação de 0.5-1% em indivíduos com PEA⁽³⁸⁾. Contudo, a presença de mutação por si só parece não ser determinante de perturbação autista, pois Glessner e colaboradores⁽³⁹⁾ verificaram também deleções no *SHANK3* em indivíduos saudáveis.

CONCLUSÃO

Têm-se verificado avanços significativos na tentativa de elucidar as bases biológicas da PEA, que se refletem na identificação de mutações, de síndromes e de CNVs presentes em indivíduos afetados com estas perturbações. No entanto, apesar da descrição dos genes e das proteínas envolvidas no autismo, pouco tem sido esclarecido sobre as suas funções ou o seu papel no desenvolvimento do cérebro, não tendo sido ainda identificado nenhuma alteração genética relevante que, por si só, permita confirmar o diagnóstico clínico da perturbação autista, visto o seu fenótipo ter etiologias muito diversas. Esperam-se novos avanços nesta área, com o progresso tecnológico, o que será fundamental para direcionar as linhas de investigação e potenciar alvos para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Assim, espera-se que as investigações dos cromossomas 15, 16 e 22, nas regiões 15q11-q13, 16p11 e 22q13.3, possam contribuir para novas descobertas e esclarecimentos nesta temática tão complexa das perturbações do espectro do autismo.

AUTISM SPECTRUM DISORDERS – ADVANCES IN MOLECULAR BIOLOGY

ABSTRACT

Autism spectrum disorders (ASD) are neurodevelopmental disorders that include behaviour, communicational and social interaction impairments. According to DSM-IV TR there are five ASDs in the category of pervasive developmental disorders: autistic disorder, Asperger Syndrome, pervasive developmental disorder not otherwise specified, childhood disintegrative disorder, and Rett syndrome. The prevalence of ASD varies from 10 per 10000 to 60 cases per 10 000 children, according to different epidemiological studies. A small number of individuals with ASD has a well defined aetiology, being this challenging for scientific purposes. Studies of twins and families have showed a high heritability of autistic disorder, nonetheless its genetic bases, as well as the identification of some genes or proteins that can be use to identify these disorders have not been completely clarified. According to the literature only a small percentage of subjects with ASDs have know aetiology, which has raised concern in the scientific community in the last decade. The ASDs have been associated with known genetic causes in 10-15% of the cases. Different genes and chromosomal regions (*loci*) potentially associated with ASDs have been described, being the chromosomal anomalies responsible for less than 10% of the autism cases. There are also some cytogenetic abnormalities in patients with autism described in the literature, namely the duplication of 15q11-q13, the deletion and duplication in the 16p11 band, and the deletion in the 22q13 region. The chromosomal regions are reviewed in detail in the present article, as it is our conviction that future research will clarify some of the complex genetic basis of ASDs. The cytogenetic anomalies of the locus 15q11-q13 are present in 1-4% of the autism patients; it is reasonable to establish an association between the microdeletion

in the sub-band 16p11.2 and the autism, and, in addition, the deletion and duplication in the chromosome 22q13.3 are potential risk factors to the ASDs.

Keywords: Autism spectrum disorders; Autism; Chromosome; Locus; Gene.

Nascer e Crescer 2013; 22(1): 19-24

BIBLIOGRAFIA

1. Abrahams BS, Geschwind DH. Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nat Rev Genet* 2008;9:341-55.
2. Alarcon M, Cantor RM, Liu J, Gilliam TC, Geschwind DH. Evidence for a language quantitative trait locus on chromosome 7q in multiplex autism families. *Am J Hum Genet* 2002;70:60-71.
3. Chakrabarti S, Fombonne E. Pervasive developmental disorders in preschool children: confirmation of high prevalence. *Am J Psychiatry* 2005;162:1133-41.
4. Yeargin-Allsopp M, Rice C, Karapurkar T, Doernberg N, Boyle C, Murphy C. Prevalence of autism in a US metropolitan area. *JAMA* 2003; 289:49-55.
5. Oliveira G, Ataíde A, Marques C, Miguel TS, Coutinho AM, Mota-Vieira L, et al. Epidemiology of autism spectrum disorder in Portugal: prevalence, clinical characterization, and medical conditions. *Dev Med Child Neurol* 2007;49:726-33.
6. Volkmar FR, Szatmari P, Sparrow SS. Sex differences in pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord* 1993;23:579-91.
7. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision*. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000.
8. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child* 1943; 2:217-250.
9. Nurmi EL, Bradford Y, Chen Y, Hall J, Arnone B, Gardiner MB, et al. Linkage disequilibrium at the Angelman syndrome gene UBE3A in autism families. *Genomics* 2001;77:105-13.
10. Reddy KS. Cytogenetic abnormalities and fragile-X syndrome in Autism Spectrum Disorder. *BMC Med Genet* 2005;6:3.
11. Casanova MF, Buxhoeveden DP, Cohen M, Switala AE, Roy EL. Minicolumnar pathology in dyslexia. *Ann Neurol* 2002;52:108-10.
12. Courchesne E, Karns CM, Davis HR, Ziccardi R, Carper RA, Tigue ZD, et al. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: an MRI study. *Neurology* 2001;57:245-54.
13. Sparks BF, Friedman SD, Shaw DW, Aylward EH, Echelard D, Artru AA, et al. Brain structural abnormalities in young children with autism spectrum disorder. *Neurology* 2002;59:184-92.
14. Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M., Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet* 1999;23:185-8.
15. Manzi B, Porfirio MC, Pennacchia S, Galasso C, Curatolo P. Molecular Genetics of Autism. *Int J Ch Neuropsychiatry* 2005;2:103-9.
16. Geschwind DH, Levitt P. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Curr Opin Neurobiol* 2007;17:103-11.
17. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, et al. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol Med* 1995;25:63-77.
18. Levy SE, Mandell DS, Schultz RT. Autism. *Lancet* 2009;374:1627-38.
19. Folstein SE, Rosen-Sheidley B. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nat Rev Genet* 2001;2:943-55.
20. Gillberg C. Chromosomal disorders and autism. *J Autism Dev Disord* 1998;28:415-25.
21. Kumar RA, Christian SL. Genetics of autism spectrum disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2009;9:188-97.
22. Veenstra-VanderWeele J, Christian SL, Cook ED Jr. Autism as a paradigmatic complex genetic disorder. *Annu Rev Genomics Human Genet* 2004;5:379-405.
23. Pinto D, Pagnamenta AT, Klei L, Anney R, Merico D, Regan R, et al. Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature* 2010;466:368-72.
24. Vorstman JA, Staal WG, van Daalen E, van Engeland H, Hochstenbach PF, Franke L. Identification of novel autism candidate regions through analysis of reported cytogenetic abnormalities associated with autism. *Mol Psychiatry* 2006; 11:18-28.
25. International Molecular Genetic Study of Autism Consortium. A full genome screen for autism with evidence for linkage to a region on chromosome 7q. *Hum Mol Genet* 1998;7:571-8.
26. Bonati MT, Russo S, Finelli P, Valsecchi MR, Cogliati F, Cavalleri F, et al. Evaluation of autism traits in Angelman syndrome: a resource to unfold autism genes. *Neurogenetics* 2007;8:169-78.
27. Owens DF, Kriegstein AR. Is there more to GABA than synaptic inhibition? *Nat Rev Neurosci* 2002;3:715-27.
28. Collins AL, Ma D, Whitehead PL, Martin ER., Wright HH, Abramson RK, et al. Investigation of autism and GABA receptor subunit genes in multiple ethnic groups. *Neurogenetics* 2006;7:167-74.
29. Ma DQ, Whitehead PL, Menold MM, Martin ER, Ashley-Koch AE, Mei H, et al. Identification of significant association and gene-gene interaction of GABA receptor subunit genes in autism. *Am J Hum Genet* 2005; 77:377-88.
30. DeLorey TM, Olsen RW. GABA and epileptogenesis: comparing gabrb3 gene-deficient mice with Angelman syndrome in man. *Epilepsy Res* 1999;36:123-32.
31. Rougeulle C, Glatt H, Lalonde M. The Angelman syndrome candidate gene, UBE3A/E6-AP, is imprinted in brain. *Nat Genet* 1997;17:14-5.
32. Ben-Shachar S, Lanpher B, German JR, Qasaymeh M, Potocki L, Nagamani SC, et al. Microdeletion 15q13.3: a locus

- with incomplete penetrance for autism, mental retardation, and psychiatric disorders. *J Med Genet* 2009;46:382-8.
33. Rosenfeld JA, Coppinger J, Bejjani B, Girirajan S, Eichler EE, Shaffer LG, et al. Speech delays and behavioral problems are the predominant features in individuals with developmental delays and 16p11.2 microdeletions and microduplications. *J Neurodevelop Disord* 2010;2:26-38.
34. Weiss LA, Shen Y, Korn JM, Arking DE, Miller DT, Fossdal R, et al. Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism. *N Engl J Med* 2008;358:667-75.
35. Horev G, Ellegood J, Lerch JP, Son Y-EE, Muthuswamy L, Vogel H, et al. Dosage-dependent phenotypes in models of 16p11.2 lesions found in autism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:17076-81.
36. Heilstedt HA, Ballif BC, Howard LA, Kashork CD, Shaffer LG. Population data suggest that deletions of 1p36 are a relatively common chromosome abnormality. *Clin Genet* 2003;64:310-6.
37. Durand CM, Betancur C, Boeckers TM, Bockmann J, Chaste P, Fauchereau F, et al. Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet* 2007;39:25-7.
38. Freitag CM, Staal W, Klauck SM, Duketis E, Waltes R. Genetics of autistic disorders: review and clinical implications. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2010; 19:169-78.
39. Glessner JT, Wang K, Cai G, Korvatska O, Kim CE, Wood S, et al. Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes. *Nature* 2009;459:569-73.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Ilda-Patricia Ribeiro
ildaribeiro.patricia@gmail.com