

## **Modelos animais no estudo dos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento**

***Paula Jaqueline de Moura; Maria Lucila Ribeiro Campos (Mestres em Distúrbios do Desenvolvimento, UPM) e Hellen Meire Cavalcanti (Aluna do Programa do Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento, UPM)***

### **Resumo**

O amplo espectro dos transtornos invasivos do desenvolvimento (TID) caracteriza-se por atrasos no desenvolvimento de habilidades de socialidade e de comunicação, e se destaca pela dificuldade encontrada pelos pesquisadores em mimetizar esses transtornos para o estudo em laboratório. Modelos animais de transtornos com marcador biológico, como a síndrome de Rett, são desenvolvidos por meio da manipulação do fator causal para investigar suas consequências. Por outro lado, os modelos animais de transtornos sem marcador biológico como transtorno autista, síndrome de Asperger, transtorno desintegrativo da infância ou transtornos do desenvolvimento sem causa definida objetivam o entendimento das bases neurobiológicas de cada domínio afetado de forma isolada. Até agora, nenhum dos modelos animais propostos capturam todos os domínios afetados em TID. Nessa revisão, são apresentados os modelos animais de síndrome de Rett que focam as consequências comportamentais das manipulações do gene MECP2, e modelos animais de autismo que podem ser divididos em três grupos refletindo cada domínio do desenvolvimento afetado.

**Palavras-chave: TID, autismo, síndrome de Rett, modelos animais, marcador biológico**

## **Abstract**

The broad spectrum of pervasive development disorders (PDD) is mainly characterized by delays in the development of social and communication skills, highlighted by the problems found by researchers in mimicry this disorder in laboratory studies. Animal models of syndromes with biological markers, such as Rett syndrome, are developed through the manipulation of its causal factors to investigate its consequences. On the other hand, animal models of disorders without defined biological markers, such as autistic disorder, Asperger's syndrome, childhood disintegrative disorder and pervasive developmental disorder not otherwise specified aim to understand each affected domain individually. Up to now, none of the proposed animal models capture all three affected domains in PDD. In this review are presented animal models for Rett syndrome that focus in the behavioral consequences of MEP2 gene manipulations, as well as animal models of autism that could be divided in three groups, reflecting each impaired developmental domain.

**Key-words: PDD, autism, Rett syndrome, animal models, biological marker**

## **Introdução**

Transtornos invasivos do desenvolvimento (TID) incluem transtorno autista, síndrome de Asperger, síndrome de Rett, transtorno desintegrativo da infância e transtornos do desenvolvimento sem causa definida (DSM IV). Pessoas com esses transtornos têm em comum disfunções nos domínios da comunicação e socialização. Dentre os cinco transtornos acima citados, a síndrome de Rett é a única disfunção com marcador biológico (AMIR et al., 1999; HUPPKE et al., 2000). O desconhecimento de marcadores biológicos para os outros transtornos dificultam o estudo da neuropatofisiologia, bem como seu diagnóstico. Com o desenvolvimento de novas tecnologias, avanços têm sido possíveis, destacando-se o uso de ressonância funcional magnética e o traçado do olhar (eye-tracking) (KLIN et al., 2002a; KLIN et al., 2002b; BRAMBILLA et al., 2003; PALMEN e VAN ENGELAND, 2004; COURCHESNE et al., 2004; HUGHES, 2007). No entanto, a natureza complexa de TID pesquisas utilizando apenas modelos humanos é limitado. Assim, modelos animais não-humanos podem contribuir no entendimento das bases neurobiológicas de TID (LIM, BIELSKY e YOUNG, 2005). Nessa revisão iremos abordar modelos animais em síndrome de Rett e autismo enfatizando as diferentes estratégias utilizadas no desenvolvimento de modelos quando se conhece o marcador biológico ou não. Modelos em síndrome de Rett concentram-se na manipulação do gene MECP2 em camundongos e consequente investigação das alterações neuroanatômicas e funcionais. Já modelos em autismo são gerados baseando-se nos sinais comportamentais e neurobiológicos apresentados pelos pacientes, bem como manipulação de possíveis causas como agentes teratogênicos ou mesmo alterações genéticas, e suas consequências neurofuncionais.

### **Modelos Animais em Síndrome de Rett**

A síndrome de Rett afeta meninas que apresentam desenvolvimento normal entre 6 e 18 meses e que gradualmente perdem suas habilidades motoras, de linguagem, e apresentam movimento estereotipados. Em pelo menos 80% dos casos, o quadro é resultado de alterações no gene MECP2, localizado no braço longo do cromossomo X dominante (AMIR et al., 1999; HUPPKE et al., 2000). O gene MECP2 é responsável pela produção da proteína MeCP2, envolvida na repressão da transcrição, prevenindo a produção de proteínas desnecessárias. Essa proteína é expressada em diferentes tecidos corporais, mas pesquisas sugerem ser essencial para o funcionamento normal de neurônios aonde é ricamente expressado. Pessoas com síndrome de Rett apresentam anomalias na morfologia neuronal, mas ausência de morte neuronal anormal o que

sugere um transtorno do desenvolvimento e não um transtorno neurodegenerativo (ARMSTRONG et al., 1995).

Depois de 30 anos da primeira descrição da síndrome de Rett seu marcador biológico foi identificado, e após dois anos modelos utilizando animais transgênicos foram criados (AMIR et al., 1999; GUY et al., 2001; CHEN et al., 2001). Pelo menos três modelos animais foram desenvolvidos com alterações diferentes no gene MECP2 levando a diferentes fenótipos.

Utilizando a tecnologia Cre-lox, que possibilita deleções seletivas de genes, foram gerados camundongos sem a expressão do gene MECP2 (GUY et al., 2001; CHEN et al., 2001). Inicialmente os camundongos mutantes apresentavam desenvolvimento aparentemente normal seguido por progressiva disfunção neurológica culminando em morte aos dois meses. Fenótipos similares foram encontrados ao comparar camundongos com repressão do gene MECP2 em todos os tecidos do corpo ou especificamente em neurônios. Esses resultados sugerem que a repressão da proteína MeCP2 em neurônios é suficiente para gerar comportamentos similares aos de pessoas com síndrome de Rett (GUY et al., 2001; CHEN et al., 2001). Interessantemente, a inativação de MECP2 apenas em neurônios pós-mitóticos também causa alterações fenotípicas, mas com início tardio sugerindo que a proteína MeCP2 possui uma função crítica em neurônios pós-mitóticos (CHEN et al., 2001).

Em um outro modelo, foi inserido um codon de terminação prematuro (*truncating mutation*) no gene MECP2 que causa a produção de proteínas menores, instáveis e que são facilmente degradadas pelas células (SHAHBAZIAN et al., 2002). Essa mutação causa um fenótipo moderado se comparado ao modelo acima mencionado. Esses camundongos apresentaram sinais de comprometimento neurológico apenas após seis semanas como disfunções motoras progressivas (SHAHBAZIAN et al., 2002), prejuízos em comportamentos sociais (MORETTI et al., 2005) e prejuízos de memória e aprendizagem (MORETTI et al., 2006).

Recentemente foram gerados camundongos com deleção condicional do gene MECP2. Nesse modelo o gene pode ser ativado externamente por meio de injeções de *tamoxifen*, substância que ativa o receptor modificado de estrogênio acoplado a recombinase Cre, o que permite a translocação ao núcleo neuronal. Esses camundongos apresentam desenvolvimento normal entre 4 e 12 semanas seguido de alterações locomotoras, tremores e anormalidades respiratórias. O tratamento com injeções semanais de *tamoxifen* após o início das manifestações neurológicas foi eficaz na redução dos sintomas e prolongamento do tempo de vida para 17 semanas (GUY et al., 2007). Esses dados sugerem que as manifestações neurológicas decorrentes de alterações do funcionamento do gene MECP2 podem ser revertidas, pelo menos em camundongos, por meio da

ativação do gene MECP2. Vale ressaltar que esses resultados não podem ser diretamente extrapolados para modelos humanos pelo fato de que mutações no gene humano não podem ser manipuladas em humanos utilizando a mesma técnica utilizada por Guy e cols (GUY et al., 2007).

Diferente dos modelos animais em síndrome de Rett que se concentram em alterações do gene MECP2, modelos animais em autismo partem dos sinais apresentados pelas pessoas com autismo em busca da causa neurobiológica.

### **Modelos Animais em Autismo**

O diagnóstico clínico em autismo é predominantemente baseado na sintomatologia, ou seja, presença de comportamentos estereotipados, restrição de interesses, prejuízos em comunicação, linguagem e socialização (DSM-IV). Autismo, diferente da síndrome de Rett, não pode ser detectado por meio de testes laboratoriais ou comportamentais. Evidências apontam que se trata de um transtorno com causa poligênica (entre cinco e dez genes) devido ao quadro de manifestações complexo (RAMOZ et al., 2001). Alguns achados são recorrentes como aumento do tamanho da cabeça e volume cerebral (PIVEN et al., 1995; COURCHESNE et al., 2001), e alterações em estruturas encefálicas como redução do volume do hipocampo, amígdala, e corpo caloso (PIVEN et al., 1997; AYLWARD et al., 1999; SAITOH et al., 2001, mas ver também SPARKS et al., 2002; SCHUMANN et al., 2004). Outros achados incluem redução do número de células de Purkinje no cerebelo e alterações funcionais nos cortices frontal e temporal (HAPPÉ et al., 1996; SCHULTZ et al., 2000). Esses achados morfológicos e consequentemente funcionais são variáveis, em parte devido a sua causa poligênica e a alta taxa de comorbidades.

Avanços têm sido alcançados no conhecimento da neurobiologia do autismo, mas o uso apenas de modelos humanos é limitante para o entendimento de mecanismos disfuncionais associados à patofisiologia do autismo. Modelos não-humanos podem ser utilizados para promover conhecimento a respeito das bases neuroanatômicas, moleculares e funcionais comprometidas em pessoas com autismo (LIM, BIELSKY e YOUNG, 2005). Os modelos animais propostos em autismo avaliam de forma isolada cada componente da tríade (1) interações sociais, (2) linguagem e comunicação, (3) interesses restritos, comportamentos repetitivos e resistência à mudança (YOUNG, 2002; CRAWLEY, 2004).

### **Interações Sociais**

Relações sociais são construídas e mantidas a partir de reconhecimento social entre indivíduos da mesma espécie. Pesquisadores têm investido em pesquisa básica para desvelar as regiões do sistema nervoso, bem como neurotransmissores e cascatas moleculares engajadas no estabelecimento das interações sociais em diferentes espécies. Inúmeras manipulações das variáveis de interesse, i.e. neurotransmissores, genes, etc, são analisados utilizando testes comportamentais.

Experimentos desde a década de 70 buscaram desvelar o papel dos neurotransmissores oxitocina e vasopressina na memória social de roedores. A memória social em roedores pode ser avaliada como a capacidade de roedores modularem seus comportamentos sociais ao encontrar um conspecífico, i.e. reduzir a quantidade de comportamentos sociais ao re-encontrarem o mesmo roedor (THOR e HOLLOWAY, 1982). Tanto a oxitocina como a vasopressina modulam a memória social (DANTZER et al., 1988; INSEL, 1997; EVERTS e KOOLHAAS, 1997; FERGUSON et al., 2000; FERGUSON et al., 2001; YOUNG, 2002; YOUNG et al., 2002). Camundongos que não expressam oxitocina foram gerados (OTKO), e apresentaram prejuízos específicos na formação de memória social, ou seja, ao reencontrar um mesmo camundongo os OTKO não eram capazes de reduzir a quantidade de investigação social (FERGUSON et al., 2000; FERGUSON et al., 2001). No entanto, a memória social pôde ser recuperada após infusão de oxitocina no núcleo medial da amígdala antes do encontro social (FERGUSON et al., 2000; FERGUSON et al., 2001). Uma crítica a esse modelo fundamenta-se no fato de que dificilmente animais não produziram um neurotransmissor, mas sim poderiam ter disfunções relacionadas com a liberação ou síntese do mesmo.

Para contornar essa crítica, pesquisadores encontraram uma espécie de roedores que é naturalmente a-social, não-monogâmico e que não cuida da prole, conhecida como arganzaz da montanha (*Microtus montanus*). Nessa mesma família, há outra espécie predominantemente social, monogâmica, e que cuida da prole, o arganzaz do campo (*Microtus ochrogaster*). A comparação entre essas duas espécies possibilitou um avanço na compreensão das bases biológicas da sociabilidade. Em geral, o estudo da sociabilidade em arganazes se dá pelo teste de preferência social, ou seja, arganazes sociais após coabitarem ou cruzarem com uma fêmea, a preferem em relação a uma fêmea desconhecida, mas os arganazes a-sociais não mostram essa preferência (para revisão ver YOUNG e HAMMOCK, 2007). Uma diferença marcante entre eles é a distribuição de receptores de vasopressina do tipo V1a nas regiões encefálicas relacionadas ao sistema de recompensa (INSEL et al., 1994; PITKOW et al., 2001; LIM, HAMMOCK e YOUNG, 2004). Receptores V1a são encontrados na região ventro-palidal em arganazes sociais, mas não nos arganazes a-sociais (INSEL et al., 1994).

Adicionalmente, para investigar o papel dos receptores V1a um arganaz transgênico foi desenvolvido de forma que a expressão de receptores V1a fosse semelhante ao dos arganazes sociais (PITKOW et al., 2001). Após infusão de vasopressina nos ventrículos laterais, os arganazes transgênicos exibiram aumento na quantidade de comportamentos afiliativos e aumento da preferência pela arganaz com a qual eles coabitaram à uma arganaz desconhecida mimetizando o fenótipo dos arganazes sociais. Esses arganazes transgênicos possuíam maior expressão de receptores na região ventro palidal quando comparados aos arganazes a-sociais não transgênicos. Esses dados sugerem que a expressão de V1a na região ventro palidal parece crítica para adesão social (*social attachment*) e afiliação (PITKOW et al., 2001). Existem algumas especulações de que talvez esse gene tenha funções similares em humanos, ou seja, na localização e densidade de receptores de vasopressina. Essas alterações poderiam estar relacionadas à falta de sensação de recompensa ao reencontrar com uma pessoa, o que levaria a falta de interesse em manter relações sociais. Essas especulações surgiram após pesquisas sugerindo que autistas apresentam variações no gene AVPR1a (WASSINK et al., 2004). Alterações encontradas em outros genes têm motivado investigações utilizando modelos animais em outros domínios como linguagem e comunicação.

### **Linguagem e Comunicação**

Diferente de humanos, roedores não apresentam linguagem, no entanto exibem interessantes mecanismos de comunicação social. A vocalização ultrassônica emitida pelos filhotes e a utilização de pistas olfatórias ambientais são modelos utilizados para avaliação da comunicação (EHRET, 2005; BRUDZYNSKI, 2005). Como roedores são animais macrosmáticos eles utilizam informações feromonais para definir limites territoriais, comportamentos sexuais e determinação de relações de dominância e submissão em grupos sociais (BAKKER, 2003; NEVISON et al., 2003). Disfunções na identificação da presença de feromônios de conspecíficos no ambiente indicam prejuízos nos padrões de comunicação (CRAWLEY, 2004).

O modelo mais utilizado para investigar comunicação social baseia-se na emissão de ondas ultrassônicas por filhotes após separação maternal (BRANCHI et al., 2004). Para investigar o papel do gene FOXP2 que foi associado a prejuízos de comunicação e linguagem em humanos, e que está localizado em um dos cromossomos identificados em estudos de ligação em pessoas com autismo (7q31), foram gerados camundongos com alteração nesse gene (FISHER et al., 1998; SHU et al., 2005). Esses camundongos apresentaram alterações significativas na vocalização ultrassônica decorrentes da separação materna e anormalidades cerebelares, mas outras habilidades como aprendizagem e memória mostraram-se intactas (SHU et al., 2005). Investigações utilizando esse

modelo contribuem para a identificação de mecanismos neurobiológicos afetados culminando em alterações da comunicação.

Para investigar os mecanismos neurobiológicos que suportam a presença de comportamentos repetitivos, comportamentos repetitivos e resistência a mudanças, alguns modelos comportamentais têm sido propostos, bem como as consequências da administração de drogas teratogênicas durante o período gestacional.

### **Interesses Restritos e Movimentos Repetitivos**

Autistas apresentam interesses restritos, comportamentos repetitivos e resistência a mudanças. Alguns testes comportamentais têm sido propostos para estudar esses comportamentos em roedores. Em geral, nesses testes os animais são treinados a adotar uma rotina para receber recompensa, i.e. encontrar a plataforma em uma piscina na qual eles foram colocados, ou encontrar comida no final de um labirinto, e após terem aprendido essas tarefas, os animais são forçados a adotar diferentes estratégias para receber recompensas em outros locais. As dificuldades encontradas por animais em adotar outras estratégias talvez sejam semelhantes à inflexibilidade cognitiva mediante rotinas observado no autismo (CRAWLEY, 2004).

Alguns modelos se baseiam nas consequências da exposição pré-natal a agentes teratogênicos, pois esse tem sido considerado um fator de risco para o autismo (WILLIAM e HERSH, 1997; WILLIAM et al., 2001). Um dos modelos baseia-se na exposição de ratas prenhas ao ácido valpróico, uma droga antiepilética, no 12º dia gestacional. Essa exposição não produz anormalidades neuroanatômicas semelhantes às encontradas em pessoas com autismo, mas os filhotes apresentam distúrbios comportamentais pós-natais como o aumento de tempo gasto em atividades estereotipadas (SCHNEIDER e PRZEWLOCKI, 2005; INGRAM et al., 2000). Essas alterações comportamentais exibidas por animais expostos ao ácido valproato são afetadas por alterações no ambiente, e amenizadas por meio de enriquecimento de ambiente (SCHNEIDER, TURCZAK e PRZEWLOCKI, 2006). Autores sugerem que talvez o enriquecimento do ambiente pode ser uma importante ferramenta para o tratamento de pessoas com TID (SCHNEIDER, TURCZAK e PRZEWTOCKI, 2006).

### **Conclusões**

Devido à multiplicidade etiológica e fenotípica apresentada por pessoas com TID pesquisadores têm investido em modelos que possam auxiliar na compreensão das bases

neurobiológicas dessas desordens. Modelos animais em síndrome de Rett sugerem que manipulações do gene MECP2 em camundongos mimetizam os sinais encontrados em humanos, e pelo menos em animais, os danos podem ser revertidos por meio da ativação desse gene. Já os modelos animais em autismo tem auxiliado na compreensão das bases neurobiológicas de cada um dos três domínios do desenvolvimento. Modelos animais em TID não são facilmente aceitos por envolver regiões corticais que são desenvolvidas em humanos, mas não em animais inferiores. Vale ressaltar que os modelos animais não tem por objetivos suprir a insuficiência de conhecimento à respeito de TID, e sim contribuir para o entendimento do mesmo. E mais, os resultados provenientes de experimentação animal não podem ser extrapolados diretamente para a clínica. O próximo passo é aumentar a interação entre pesquisa básica e clínica para que estudos controlados em humanos, bem como modelos animais possam, em associação, promover melhorias na qualidade de vida de pessoas com TID.

## Referências Bibliográficas

- AMIR, R. E.; VAN DEN VEYVER, I. B.; WAN, M.; TRAN, C. Q.; FRANCKE, U.; ZOGHBI, H. Y. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nature Genetics*, v. 23, p. 185-188, 1999.
- ARMSTRONG, D.; DUNN, J. K.; ANTALFFY, B.; TRIVEDI, R. Selective dendritic alterations in the cortex of Rett syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol*, v. 54, p. 195-201, 1995.
- AYLWARD, E. H.; MINSHEW, N. J.; GOLDSTEIN, G.; HONEYCUTT, N. A.; AUGUSTINE, A. M.; YATES, K. O.; BARTA, P. E.; PEARLSON, G. D. MRI volumes of amygdala and hippocampus in non-mentally retarded autistic adolescents and adults. *Neurology*, v. 53, p. 2145-2150, 1999.
- BAKKER, J. Sexual differentiation of the neuroendocrine mechanisms regulating mate recognition in mammals. *J Neuroendocrinol*, v. 15, p. 615-621, 2003.
- BRAMBILLA, P.; HARDAN, A.; DI NEMI, S. U.; PEREZ, J.; SOARES, J. C.; BARALE, F. Brain anatomy and development in autism: review of structural MRI studies. *Brain Res Bull*, v. 61, p. 557-69, 2003.
- BRANCHI, I.; SANTUCCI, D.; PUOPOLO, M.; ALLEVA, E. Neonatal behaviors associated with ultrasonic vocalizations in mice (*Mus musculus*): A slow motion analysis. *Dev Psychobiol*, v. 44, p. 37-44, 2004.
- BRUDZYNSKI, S. M. Principles of rat communication: quantitative parameters of ultrasonic calls in rats. *Behav Genet*, v. 35, p. 85-92, 2005.
- CHEN, R. Z.; AKBARIAN, S.; TUDOR, M.; JAENISCH, R. Deficiency of methyl-CpG binding protein-2 in CNS neurons results in a Rett-like phenotype in mice. *Nature Genetics*, v. 27, p. 327-331, 2001.
- COURCHESNE, E.; KARNS, C. M.; DAVIS, H. R.; ZICCARDI, R.; CARPER, R. A.; TIGUE, Z. D.; CHISUM, H. J.; MOSES, P.; PIERCE, K.; LORD, C.; LINCOLN, A. J.; PIZZO, S.; SCHREIBMAN, L.; HAAS, R.H.; AKSHOOMOFF, N. A.; COURCHESNE, R. Y. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: an MRI study. *Neurology*, v. 57, p. 245-54, 2001.
- COURCHESNE, E.; REDRCAY, E.; KENNEDY, D. P. The autistic brain: birth through adulthood. *Curr Opin Neurol*, v. 17, p. 489-96, 2004.
- CRAWLEY, J. N. Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, v.10, p. 248-258, 2004.
- DANTZER, R.; KOOB, G. F.; BLUTHE, L. E.; MOAL, M. Septal vasopressin modulates social memory in male rats. *Brain Res*, v. 457, p. 143-47, 1988.
- EHRET G. Infant rodent ultrasounds - a gate to the understanding of sound communication. *Behav Genet*, v.35, p. 19-29, 2005.

- EVERTS, H. G. J.; HOOLHAAS, J. M. Lateral septal vasopressina in rats: role in social and object recognition? *Brain Research*, v. 760, p. 1-7, 1997.
- FERGUSON, J. N.; ALDAG, T. R.; INSEL, T. R.; YOUNG, L. J. Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse. *The Journal of Neuroscience*, v. 21, n. 20, p. 8278-8285, 2001.
- FERGUSON, J. N.; YOUNG, L. J.; HEARN, E. F.; MATZUK, M. M.; INSEL, T. R.; WINSLOW, J. T. Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. *Nature Genetics*, v. 25, p. 284-288, 2000.
- FIRST, M. B.; FRANCES, A.; PINCUS, H. A. Manual de diagnóstico do DSM-IV. Tradução: Dayse Batista. Porto Alegre: Artes Médicas, 2000. Original inglês.
- FISHER, S. E.; VARGHA-KHADEM, F.; WATKINS, K. E.; MONACO, A. P.; PEMBREY, M. E. Localization of a gene implicated in a severe speech and language disorder. *Nat Genet*, v. 18, p. 168-170, 1998.
- GUY, J.; GAN, J.; SELFRIDGE, J.; COBB, S. BIRD, A. Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome. *Science*, v. 315, p. 1143-1177, 2007.
- GUY, J.; HENDRICH, B.; HOLMES, M.; MARTIN, J. E.; BIRD, A. A mouse *Mecp2*-null mutation causes neurological symptoms that mimic Rett syndrome. *Nature Genetics*, v. 27, p. 322-6, 2001.
- HAPPÉ, F.; EHLERS, S.; FLETCHER, P.; FRITH, U.; JOHANSSON, M.; GILLBERG, C.; DOLAN, R.; FRACKOWIAK, R.; FRITH, C. 'Theory of mind' in the brain. Evidence from a PET scan study of Asperger syndrome. *Neuroreport*, v. 8, p. 197-201, 1996.
- HUGHES, J. R. Autism: The first firm finding = underconnectivity? *Epilepsy Behav*, versão on-line, 2007.
- HUPPKE, P., LACCOMME, F.; KRÄMER, N.; ENGEL, W.; HANEFELD, F. Rett syndrome: analysis of MeCP2 and clinical characterization of 31 patients. *Hum Mol Genet*, v. 9, p. 1369-75, 2000.
- INGRAM, J. L.; PECKHAM, S. M.; TISDALE, B.; RODIER, P. M. Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism. *Neurotoxicol Teratol*, v. 22, p. 319-24, 2000.
- INSEL, T. R. A Neurobiological basis of social attachment. *Am J Psychiatry*, v. 154, p. 726-735, 1997.
- INSEL, T. R.; WANG, Z. X.; FERRIS, C. F. Patterns of brain vasopressin receptor distribution associated with social organization in microtine rodents. *J Neurosci*, v. 14, p. 5381-5392, 1994.
- KLIN, A.; JONES, W.; SCHULTZ, R.; VOLKMAR, F.; COHEN, D. Defining and quantifying the social phenotype in autism. *Am J Psychiatry*, v. 159, n. 6, p. 895-908, 2002a.

- KLIN, A.; JONES, W.; SCHULTZ, R.; VOLKMAR, F.; COHEN, D. Visual fixation patterns during viewing of naturalistic social situations as predictors of social competence in individuals with autism. *Arch Gen Psychiatry*, v. 59, p.809-816, 2002b.
- LIM, M. M.; BIELSKY, I. F.; YOUNG, L. J. Neuropeptides and the social brain: potential rodent models in autism. *Inter J Develop Neurosci*, v.23, 235-243, 2005.
- LIM, M. M.; HAMMOCK, E. A. D.; YOUNG, L. J. The role of vasopressin in the genetic and neural regulation of monogamy. *J Neuroendocri*, v. 16, p. 325-332, 2004.
- MORETTI, P.; BOUWKNECHT, J. A.; TEAGUE, R.; PAYLOR, R.; ZOGHBI, H. Y. Abnormalities of social interactions and home-cage behavior in a mouse model of Rett syndrome. *Hum Mol Genet*, v. 14, p. 205-220, 2005.
- MORETTI, P.; LEVENSON, J. M.; BATTAGLIA, F.; ATKINSON, R.; TEAGUE, R.; ANTALFFY, B.; ARMSTRONG, D.; ARANCIO, O.; SWEATT, J. D.; ZOGHBI, H. Y. Learning and memory and synaptic plasticity are impaired in a mouse model of Rett syndrome. *J Neurosci*, v. 26, p. 319-27, 2006.
- NEVISON, C. M.; ARMSTRONG, S.; BEYNON, R. J.; HUMPHRIES, R. E.; HURST, J. L. The ownership signature in mouse scent marks is involatile. *Proc R Soc Lond Biol Sci*, v. 270, p. 1957–1963, 2003.
- PALMEN, S. J.; VAN ENGELAND, H. Review on structural neuroimaging findings in autism. *J Neural Transm*, v. 111, p. 903-29, 2004.
- PITKOW, L. J.; SHARER, C. A.; REN, X.; INSEL, T. R.; TERWILLIGER, E. F.; YOUNG, L. J. Facilitation of affiliation and pair-bond formation by vasopressin receptor gene transfer into the ventral forebrain of a monogamous vole. *J Neurosci*, v. 21, p. 7392-7396, 2001.
- PIVEN, J.; ARNDT, S.; BAILEY, J.; HAVERCAMP, S.; ANDREASEN, N. C.; PALMER, P. An MRI study of brain size in autism. *Am J Psychiatry*, v. 152, p. 1145-49, 1995.
- PIVEN, J.; BAILEY, J.; RANSON, B. J.; ARNDT, S. An MRI study of the corpus callosum in autism. *Am J Psychiatry*, v. 154, p. 1051-1056, 1997.
- RAMOZ, N.; REICHERT, J. G.; SMITH, C. J.; SILVERMAN, J. M.; BESPALOVA, I. N.; DAVIS, K. L.; BUXBAUM, J. D. Linkage and association of the mitochondrial aspartate/glutamate carrier SLC25A12 gene with autism. *Am J Psychiatry*, v. 161, p.662-69, 2004.
- SAITOH, O.; KARNS, C. M.; COURCHESNE, E. Development of the hippocampal formation from 2 to 42 years: MRI evidence of smaller area dentata in autism. *Brain*, v, 124, p. 1317-1324, 2001.
- SCHNEIDER, T.; PRZEWŁOCKI, R. behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. *Neuropsychopharmacol*, v. 30, p. 80-89, 2005.
- SCHNEIDER, T.; TURCZAK, J.; PRZEWŁOCKI, R. Enviromental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid issues for a therapeutic approach in autism. *Neuropsychopharmacol*, v. 31, p. 36-46, 2006.

SCHULTZ, R. T.; GAUTHIER, I.; KLIN, A.; FULBRIGHT, R.K.; ANDERSON, A.W.; VOLKMAR, F.; SKUDLARSKI, P.; LACADIE, C.; COHEN, D. J.; GORE, J. C. Abnormal ventral temporal cortical activity during face discrimination among individuals with autism and Asperger syndrome. *Arch Gen Psychiatry*, v. 57, p. 331-340, 2000.

SCHUMANN, C. M.; HAMSTRA, J.; GOODLIN-JONES, B. L.; LOTSPEICH, L. J.; KWON, H.; BUONOCORE, M. H.; LAMMERS, C. R.; REISS, A. L.; AMARAL, D. G. The amygdala is enlarged in children but not adolescents with autism; the hippocampus is enlarged at all ages. *J Neurosci*, v. 24, p. 6392-6401, 2004.

SHAHBAZIAN, M.; YOUNG, J.; YUVA-PAYLOR, L.; SPENCER, C.; ANTALFFY, B.; NOEBELS, J.; ARMSTRONG, D.; PAYLOR, R.; ZOGHBI, H. Mice with truncated MeCP2 recapitulate many Rett syndrome features and display hyperacetylation of histone H3. *Neuron*, v. 35, p. 243-54, 2002.

SHU, W.; CHO, J. Y.; JIANG, Y.; ZHANG, M.; WEISZ, D.; ELDER, G. A.; SCHMEIDLER, J.; DE GASPERI, R.; SOSA, M. A. G.; ROBIDOU, D.; SANTUCCI, A.C.; PERL, D.; MORRISEY, E.; BUXBAUM, J. D. Altered ultrasonic vocalization in mice with a disruption in the Foxp2 gene. *PNAS*, v. 102, p. 9643-9648, 2005.

SPARKS, B.F.; FRIEDMAN, S. D.; SHAW, D. W.; AYLWARD, E. H.; ECHELARD, D.; ARTRU, A. A.; MARAVILLA, K. R.; GIEDD, J. N.; MUNSON, J.; DAWSON, G.; DAGER, S. R. Brain structural abnormalities in young children with autism spectrum disorder. *Neurology*, v. 59, p. 184-192, 2002.

WASSINK, T. H.; PIVEN, J.; VIELAND, V. J.; PIETILA, J.; GOEDKEN, R. J.; FOLSTEIN, S. E.; SHEFFIELD, V. C. Examination of AVPR1a as an autism susceptibility gene. *Mol Psychiatry*, v. 9, p. 968-972, 2004.

WILLIAMS, G.; KING, J.; CUNNINGHAM, M.; STEPHAN, M.; KERR, B.; HERSH, J. H. Fetal valproate syndrome and autism: additional evidence of an association. *Dev Med Child Neurol*, v. 43, p. 202-206, 2001.

THOR, D. H.; HOLLOWAY, W. R. Social memory of the male laboratory rat. *J Comp Physiol Psych*, v. 96, p. 1000-1006, 1982.

WILLIAMS, P. G.; HERSH, J. H. A male with fetal valproate syndrome and autism. *Dev Med Child Neurol*, v. 39, p. 632-634, 1997.

YOUNG, L. J. The neurobiology of social recognition, approach, and avoidance. *Biol Psychiatry*, v. 51, p. 18-26, 2002.

YOUNG, L. J.; HAMMOCK, E. A. On switches and knobs, microsatellites and monogamy. *Trends Genet*, v. 23, p. 209-212, 2007.

YOUNG, L. J.; PITKOW, L. J.; FERGUSON, J. N. Neuropeptides and social behavior: animal models relevant to autism. *Molecular Psychiatry*, v. 7, p. S38-S39, 2002.