

CAUSAS GENÉTICAS, EPIGENÉTICAS E AMBIENTAIS DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

AUTISM SPECTRUM DISORDER: GENETIC, ENVIRONMENTAL AND EPIGENETIC CAUSES

Thais Arbocese Zanolla

Universidade Federal de São Paulo

Rodrigo Ambroiso Fock

Universidade Federal de São Paulo

Eduardo Perrone

Universidade Federal de São Paulo

Aline Correa Garcia

Universidade Presbiteriana Mackenzie

Ana Beatriz Alvarez Perez

Universidade Federal de São Paulo

Décio Brunoni

Universidade Presbiteriana Mackenzie

RESUMO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) decorre de várias etiologias configurando apresentações clínicas complexas, na forma de comorbidades. De um lado temos os quadros sindrômicos geneticamente determinados, representados por dezenas de síndromes. Entre elas estão desde as clássicas síndromes de Down ou X-Frágil até raras microdeleções e duplicações. Estas síndromes explicam a maioria das causas identificadas. Outro grupo é o das síndromes ambientais ou efeitos fetais devidos a intercorrências gestacionais, desde infecções até estresse psicológico materno. No entanto a maioria das causas são indefinidas e o modelo que melhor explica, cerca de 80% de indivíduos com TEA é o modelo multifatorial com regulação epistática. O presente artigo revisa estes grupos de causas e indica o método de avaliação diagnóstica para identifica-las. Na prática são necessários: equipes multidisciplinares experientes na avaliação dos pacientes e exames genéticos complementares, desde o cariótipo até o array genômico. O Sistema Único de Saúde brasileiro é amplamente deficiente nesta área e assim a maioria dos indivíduos com TEA não são adequadamente avaliados. Este déficit prejudica o cuidado a estes indivíduos e subtrai das famílias orientação adequada através do aconselhamento genético.

Palavras-chave: autismo; causas genéticas; epigenética.

ABSTRACT

Autism Spectrum Disorder (ASD) results from several etiologies configuring complex clinical presentations in the form of comorbidities. On the one hand we have the syndromes genetically determined, represented by dozens of syndromes. Among them are from the classic Down and Fragile-X Syndromes to rare microdeletions and duplications. These syndromes account for the majority of the identified causes. Another group is the environmental syndromes or fetal effects due to pregnancy complications, from infections to maternal psychological stress. However, most of the causes are undefined and the model that best explains about 80% of individuals with ASD is multifactorial with epistatic regulation. This article reviews these groups of causes and indicates the diagnostic evaluation method to identify them. In practice, it is needed: multidisciplinary teams experienced in the evaluation of patients and further genetic testing from the karyotype to the genomic array. The Brazilian Health System is widely deficient in this area and so most individuals with ASD are not adequately evaluated. This deficit impaired health care and genetic counseling to these individuals and families.

Keywords: autism disorder; genetics; epigenetic processes

1 – INTRODUÇÃO

A quarta edição do Manual de Diagnóstico e Estatística de Doenças Mentais (DSM-IV) da Associação Psiquiátrica Americana (APA,2002) e a décima edição da Classificação Internacional de Doenças (CID 10, 2000) da Organização Mundial de Saúde (OMS) criaram a categoria Diagnóstica dos "Pervasive Developmental Disorders", traduzidos nas edições brasileiras para Transtornos Globais do Desenvolvimento (TGD) e Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (TID), respectivamente. Nesta categoria diagnóstica interessa-nos o Autismo, a síndrome de Asperger e o Transtorno Global do Desenvolvimento não especificado em outra categoria. De uma maneira geral são todos considerados pela designação Autismo.

A quinta revisão do DSM (APA,2013) trouxe mudanças nos critérios diagnósticos dos transtornos relacionados ao Autismo. Adotando uma perspectiva dimensional, eliminou categorias diagnósticas isoladas, como as do DSM-IV-TR e da CID-10, e caracterizou o Transtorno do Espectro Autista (TEA) e os não TEA como uma única categoria de Transtorno.

Aspecto significativo deste transtorno tem sido, nos últimos anos, a evidência de que é bem mais prevalente do que se pensava. De fato, relato do CDC (Centers for Disease Control and Prevention - <http://www.cdc.gov>) de 28 de março de 2014 indica a impressionante cifra de 1:68 como sendo a prevalência de TEA entre crianças de 8 anos de idade em 11 cidades dos EUA (MMWR, 2014). O TEA tornou-se assim, o transtorno do desenvolvimento mais frequente, com alto impacto pessoal, familiar e social (FOMBONNE, 2009).

Com a abordagem do DSM-5, entendem-se os TEA hoje, como um grupo de transtornos que apresentam déficits clinicamente significativos e persistentes na comunicação e nas interações sociais, manifestadas de todas as maneiras seguintes: déficits expressivos na comunicação

não verbal e verbal usadas para interação social; falta de reciprocidade social; incapacidade para desenvolver e manter relacionamentos de amizade apropriados para o estágio de desenvolvimento; padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses e atividades. Estes comportamentos são representados por comportamentos motores ou verbais estereotipados, comportamentos sensoriais incomuns; excessiva adesão/aderência a rotinas e padrões ritualizados de comportamento; interesses restritos, fixos e intensos.

Além disso, considera que os sintomas devem estar presentes no início da infância, mas podem não se manifestar completamente até que as demandas sociais excedam o limite de suas capacidades.

A sintomatologia acima se manifesta desde os primeiros anos de vida, de tal maneira que aos 3 anos de idade praticamente todas as crianças podem ser diagnosticadas. Em maior ou menor grau, com ou sem intervenções, estes sintomas acompanham a pessoa com TEA. Ainda, uma série de complicadores, além da deficiência intelectual, já citada, pode manifestar-se em indivíduos com TEA. Tais são, por exemplo, a epilepsia; distúrbios do sono; esquizofrenia; anormalidades do Sistema Nervoso Central; doenças autoimunes; Diabetes Mellitus tipo I, deficiência visual e auditiva (KOHANE et al., 2012).

Apesar de intensa investigação desde que foi reconhecido como uma entidade clínica por Leo Kanner em 1943 (KANNER, 1943) permanece como um desafio em termos etiológicos. Os avanços obtidos no sentido de melhoria do diagnóstico ocorreram com a uniformização de critérios de inclusão pelos diferentes grupos de pesquisa.

A partir de 1970, mais consistentemente, começou-se a investigar as causas orgânicas do autismo já que, até então, predominava a teoria psicogênica de Kanner. Assim emergiu a teoria etiológica neurobiológica, de um

comprometimento orgânico extenso do SNC, determinado por fatores biológicos. Exames de neuroimagem, o refinamento dos eletroencefalogramas e mais recentemente os potenciais evocados associados a estudos bioquímicos de neurotransmissores deram suporte a esta visão. No entanto, deles não emergiu um marcador diagnóstico.

No momento a disciplina que parece deter a metodologia capaz de evidenciar a etiologia, senão de todos pelo menos de parte significativa dos casos de autismo, é a genética humana. De fato, evidências citogenéticas, do estudo de gêmeos, do estudo genealógico de crianças e indivíduos com autismo e mais recentemente da biologia molecular acumulam uma série de informações que implicam os genes na etiologia do autismo (Quadro 1). Entre estas evidências são significativas: concordância em gêmeos monozigóticos de 50%; sexratio extremamente desviado para o lado masculino; concentração

em famílias; sintomas de autismo em pacientes com cromossomopatias (convencionais ou submicroscópicas) e doenças gênicas. Em um percentual de pacientes, em torno de 3-5% causas ambientais perinatais podem ser detectadas. No entanto a maioria das crianças e indivíduos diagnosticados como autistas não apresentam alterações cromossômicas, não há genes preferentemente envolvidos, não há história genealógica indicativa de um traço mendeliano e intercorrências gestacionais são negativas. Estes pacientes constituem a maioria, em torno de 80%. Neles o possível mecanismo causal é o multifatorial com interação epistática (MUHLE et al., 2004; ABRAHAMS e GESCHWIND, 2008; CARTER e SCHERER, 2013; JESTE e GESHWIND, 2014; FAKHOURY et al., 2015).

O quadro 1 resume os grupos possíveis de fatores etiológicos envolvidos no TEA (Quadro 1).

Quadro 1. Grupos de alterações genéticas e ambientais associadas ao TEA

GRUPOS DE CAUSAS	%
Anormalidades cromossômicas	2
Microduplicações/Microdeleções	10
Doenças monogênicas	5
Ambiental	3
Multifatorial e epigenética	80

2 – OBJETIVO

O objetivo deste artigo é fazer revisão e atualização das possíveis causas identificadas no TEA e os métodos utilizados para tanto.

3 – MÉTODO

Revisão bibliográfica não-sistemática foi realizada, sendo a base de dados utilizada PubMed. As palavras chave foram utilizadas de forma combinada e estão de acordo com os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS); são elas: “autism disorder”, “genetics” e “epigenetic processes”.

Para organizar a descrição dos resultados nos baseamos no Quadro 1, descrito anteriormente.

4 – RESULTADOS

Causas genéticas

Entende-se como causas genéticas a coexistência, na forma de comorbidade entre determinadas síndromes genéticas e o TEA. Este conhecimento remonta à década de 1980 com a identificação de que cerca de 20% de pacientes com o diagnóstico da síndrome do X Frágil também tinham sintomas que atendiam ao diagnóstico de Autismo. Diversas outras síndromes genéticas, devidas a alterações cromossômicas, mutações gênicas ou síndromes sem causa identificada foram reconhecidas. A característica comum a elas é a presença de defeitos morfológicos associados à deficiência intelectual. Entre 10 e 30% dos pacientes, com estas síndromes, apresentam comorbidade com o TEA.

Anormalidades Cromossômicas Convencionais e as Microdeleções e Microduplicações

No Quadro 2, podemos notar síndromes cromossômicas que podem ser diagnosticadas pelo cariótipo comum como as clássicas síndromes de Down e Turner ou algumas alterações cromossômicas estruturais com perdas ou ganho de material cromossômico suficientemente grande que podem ser identificadas pelo cariótipo. No entanto a maioria delas só podem ser identificadas por técnicas laboratoriais moleculares como o array genômico. Estas alterações são comumente chamadas de submicroscópicas porque o segmento cromossômico deletado ou duplicado é menor que o nível de resolução do microscópio comum. Estas microdeleções e microduplicações confundem-se com o conceito de variação de número de cópias (CNVs - do inglês, "copy number variation"). As CNVs podem ser patogênicas (como as do quadro 2) mas também podem não ter significado clínico. É por isso que a identificação de uma CNV não claramente patogênica demanda estudo minucioso que também deve envolver os pais. Há diretrizes internacionais para esta correta interpretação (SOUTH e cols, 2013).

CNVs representam as causas genéticas mais frequentes nos TEA. O genoma humano compreende 6 bilhões de pares de bases, cada uma representando um nucleotídeo. Ao longo desta sequência estima-se a existência de 30 mil

genes. Tradicionalmente aceita-se a existência de 2 cópias de cada um destes genes herdadas cada uma de um progenitor. No entanto, achados recentes indicam a existência de regiões genômicas que podem chegar a milhões de nucleotídeos, as quais diferem em número de cópias. Estas regiões podem conter genes codificadores os quais podem estar duplicados ou mesmo deletados. Assim especula-se que alguns genes podem ter uma, duas, três ou até mais cópias. Dependendo da função de um determinado gene, esta variação pode ou não ter consequência orgânica. Aparentemente 12% do genoma apresenta CNVs envolvendo cerca de 2900 genes, 10% do total de 30 mil. O real significado dos CNVs está sob intensa investigação. O significado delas pode ser interpretado como patogênico, não patogênico ou incerto. Estudo de arrays genômicos em pacientes com TEA idiopáticos, muito bem selecionados, indicam CNVs, microdeleções e microduplicações, em até 20% deles. Tal seleção envolve: a) pacientes com deficiência intelectual; b) teste molecular do X-Frágil negativo; c) ausência de complicações perinatais e ausência de alterações cerebrais investigadas por ressonância magnética; d) ausência de síndromes dismórficas conhecidas (JACQUEMONT et al., 2006; SEBAT et al., 2007; PINTO et al., 2010; BREMER A et al., 2010; DEVLIN e SCHERER, 2012; SHISHIDO et al., 2014; ROBERTS et al., 2014).

Quadro 2. Anormalidades cromossômicas conhecidas associadas com autismo

	GENE/REGIÃO CROMOSSÔMICA	PREVALÊNCIA
Síndrome da deleção 1q21	<i>1q21 del</i>	desconhecido
Síndrome da duplicação 1q21	<i>1q21 dup</i>	desconhecido
Síndrome da deleção 2q37	<i>2q37 del</i>	desconhecido
Síndrome da duplicação da região Williams-	<i>7q11.23 dup</i>	1/12.500-1/20.000
Síndromes do cromossomo 15q		
Síndrome de Angelman	del/mut no <i>UBE3A</i> materno	1/10.000-1/12.000
Síndrome de Prader-Willi	del no alelo paterno em	1/10.000-1/15.000
15q isodicêntrico	dup 15q11-q13, <i>GABRB3</i>	1/30.000
Hipomelanose de Ito	del mosaico 15q11-q13	1/10.000
Síndrome Smith-Magenesis	17p11.2 del	1/15.000
Síndrome Potocki-Lupsky	17p11.2 dup	desconhecido
Síndrome de Down	Trissomia do crom. 21	1/1.000
Síndrome Velocardiofacial/Di George	22q11.2 del	1/4.000
Síndrome da duplicação 22q11	22q11.2 dup	desconhecido
Síndrome Phelan-McDermid	22q13.3 del	Desconhecido

Algumas CNVs encontradas nos pacientes com autismo também têm sido encontradas em pacientes com outras psicopatias, especialmente deficiência intelectual e esquizofrenia (Quadro 3).

Serão apresentadas a seguir algumas características de poucas síndromes de microdeleção/microduplicação com alta comorbidade com o TEA. O leitor poderá procurar na bibliografia indicada descrição ampla sobre todas.

Síndrome da Duplicação do 7q11.23

A duplicação da região 7q11.23 apresenta fenótipo facial e comportamental característico. Essa região é a mesma envolvida na síndrome de William, uma síndrome de microdeleção caracterizada por um fenótipo facial característico, estenose aórtica supravalvar e comportamento amigável. O fenótipo comportamental que observamos nos portadores da duplicação é o oposto, com comportamento característico de TEA em 37% dos pacientes. O fenótipo facial sugestivo da duplicação do 7q11.23 é caracterizado por fronte proeminente, sobrancelhas retificadas, olhos profundos, nariz largo, lábios finos, e filtro nasal curto.

Quadro 3. Autismo síndrômico com CNVs recorrentes

Região crom.	Del/Dup	Sinais e sintomas
1q21	Del	autismo, déficit de atenção, hiperatividade, comportamento anti-
	Dup	autismo, déficit de atenção, hiperatividade, epilepsia, deficiência
2p15-2p16.1	Del	autismo, atraso no desenvolvimento, microsomia, microcefalia,
15q13	Del	autismo, déficit de atenção, hiperatividade, agressão, ansiedade,
	Dup	autismo, ansiedade, transtorno bipolar, deficiência intelectual, atraso
16p11.2	Del	autismo, Síndrome de Asperger, déficit de atenção, hiperatividade,
	Dup	autismo, déficit de atenção, hiperatividade, ansiedade, epilepsia,

Síndrome de deleção e duplicação do cromossomo 15q11-13 (Síndrome de Angelman, Prader-Willi, 15 isodicêntrico e duplicação intersticial)

A região q11-13 do cromossomo 15 é associada com quadros de TEA e/ou deficiência intelectual. Esta região apresenta a particularidade de conter genes imprintados segundo a origem parental fazendo com que a falta de cópia materna ou paterna leve ao desenvolvimento de determinadas síndromes. Duas delas são a Síndrome de Prader-Willi (SPW) (DRISCOLL et al., 2014) e a Síndrome de Angelman (AS) (DAGLI A et al., 2015).

A SPW é caracterizada por baixo peso ao nascimento, hipotonia grave, dificuldades de alimentação na infância precoce seguida de hiperfagia, obesidade tardia, baixa estatura, mãos e pés pequenos, diâmetro bifrontal estreito, olhos com fenda palpebral oblíqua para cima, boca triangular. Ao lado das alterações morfológicas

os pacientes exibem um quadro cognitivo comportamental descrito em diversas revisões. A SPW ocorre por perda da expressão gênica no cromossomo paterno. Em 70% dos casos tal perda se deve a deleções enquanto que 25% os pacientes apresentam ausência do cromossomo 15 paterno (dissomia uniparental materna). Os 5% restante carregam erros de imprinting no homólogo paterno, levando a metilação aberrante do centro de imprinting da SPW e baixa regulação dos transcritos expressados paternalmente.

A SA é caracterizada por microcefalia, marcha atáxica, deficiência mental grave, ausência limitação da fala, transtornos do sono, convulsões com eletroencefalograma característico. O fenótipo comportamental é único sendo que as crianças apresentam uma aparente atitude feliz com risos imotivados.

A perda da região 15q11-13 é materna: 65-75 % deleção, 3-7% dissomia uniparental paterna e 3% erros de imprinting.

As duplicações intersticiais 15q11-q13 são cromossomos isodicêntricos. Estes cromossomos idic (15) são originados por mecanismos complexos e são quase que exclusivamente de origem materna.

O idic (15) leva a uma síndrome que é caracterizada por atraso no desenvolvimento/deficiência intelectual moderado-profundo, hipotonia facial, epilepsia. Características dismórficas menores também foram identificadas e incluem nariz pequeno e empinado, fissuras palpebrais para baixo, palato alto e arqueado, orelhas posteriormente rodadas e lábios grossos (HOGART et al., 2010).

Síndrome Velocardiofacial ou síndrome da deleção do 22q11.2 e a síndrome da duplicação do 22q11.2

A síndrome de microdeleção 22q11.2, também conhecida como Síndrome Velocardiofacial apresenta um fenótipo morfológico característico: baixa estatura, insuficiência velofaríngea e cardiopatia em até 85% dos casos, sendo que os defeitos cardíacos conotrunciais são os mais comuns. Entre as características morfológicas mais marcantes o nariz, descrito como bulboso, e dedos longos são sugestivo da síndrome. Micrognatia com a sequência de Pierre-Robin é comum. Esquizofrenia e TEA são comorbidades da síndrome velocardiofacial.

A duplicação da região responsável pela síndrome velocardiofacial se encontra presente

de forma recorrente em diversos estudos populacionais envolvendo pacientes portadores de distúrbios psiquiátricos diversos, sendo descrita como causa etiológica de TEA, esquizofrenia e deficiência intelectual.

Síndrome de Phelan-Mcdermid ou síndrome da deleção 22q13

Causada por deleção terminal ou intersticial o fenótipo inclui hipotonia neonatal, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, linguagem ausente/atrasada, crescimento normal/acelerado, mãos alargadas, polegares displásicos, cílios alongados, orelhas grandes ou proeminentes, sobrancelhas grossas, bochechas grandes, olhos profundos, face média plana, ponte nasal ampla e nariz bulboso, mento pontudo, fosseta sacral, transpiração diminuída (PHELAN, 2015).

O gene SHANK3, presente na região 22q13, é crucial para o fenótipo da síndrome. Deleções, mutações de ponto e translocações envolvendo este gene são a origem da síndrome (ZAFEIROU et al., 2013).

Síndromes monogênicas

Diversas síndromes monogênicas com os tradicionais modelos de herança autossômico e ligado ao sexo, dominante e recessivo estão listadas no quadro 2.

Algumas tem alta comorbidade com o TEA enquanto que em outras as evidências não são tão claras (Quadro 4). Descreveremos brevemente as principais.

Quadro 4. Transtornos de genes únicos reconhecíveis clinicamente

Síndrome	Gene
X frágil	FMR1
PTEN macrocefalia extrema	PTEN
Rett	MECP2
Esclerose tuberosa	TSC1 E TSC2
Timothy	CACNA1C E CACNA1F
Fenilcetonúria	PAH
Biosíntese da creatinina e transtorno de	SLCA8
	l-arginina: glicina amidinotransferase
	Guanidinoacetato metiltransferase
Smith-Lemli-Optiz	7-deidrocolesterolredutase
Phelan-McDermid	SHANK3

Síndrome do X Frágil

A Síndrome do X Frágil é a causa mais comum hereditária de deficiência intelectual, apresentando a prevalência de aproximadamente 1/5000 homens vivos. É quase exclusivamente atribuída devido ao silenciamento transcricional parcial/completo do gene FMR1 e a consequente deficiência do seu produto, a proteína de mesmo nome. A SXF pertence a um grupo dos transtornos que inclui a Insuficiência Ovariana Primária (IOPFX) e a síndrome Ataxia/Tremor – SATXF. O silenciamento do gene FMR1 é causado pela expansão do trinucleotídeo (CGG) (localizado na região 5' não traduzida do gene) com um comprimento maior de 200 repetições. Indivíduos não afetados carregam 4-45 repetições CGG, a presença de 55-199 repetições é caracterizada como “pre-mutação”. Homens/mulheres portadores podem exibir déficit comportamental e cognitivo ou IOPFX/SATXF que são mais propensos a toxicidade dos níveis elevados de mRNA FMR1 do que aos níveis de FMRP interrompida. A síndrome é caracterizada por deficiência intelectual com QI em torno de 40 nos homens que apresentam a mutação completa. O fenótipo comportamental envolve hiperatividade, impulsividade, déficit de atenção, pobre contato ocular, timidez, falar sozinho, ansiedade, flapping de mãos e mordidas, agressão, instabilidade de humor, hiperexcitação ao estímulo sensorial e autismo. O diagnóstico desta

síndrome num menino ou menina exige ampla investigação na família. Revisão atualizada sobre a síndrome com acesso livre em Saul e Tarleton (2012).

Complexo da Esclerose Tuberosa (CTE)

O Complexo Tuberosa Esclerose é um transtorno multissistêmico de herança autossômica dominante caracterizado por hamartomas e tumores em múltiplos órgãos incluindo o cérebro, pele, coração, rins e pulmões. Lesões cerebrais no CTE consistem em túberes glioneuronal cortical/subcortical, nódulos glial subependimal e astrocitomas. Deficiência intelectual ocorre em 15% dos pacientes variando de leve a grave. A síndrome se deve a mutação no gene TSC1 localizado no cromossomo 9q34 e ou gene TSC2 localizado no cromossomo 16p13.3 e em torno de 50% dos pacientes apresentam TEA como comorbidade (NORTHROP, 2015).

Mutações em diversos outros genes têm sido descritas associadas ao TEA. O real significado da associação (casual ou causal) ainda não é bem conhecido. Bases de dados disponíveis eletronicamente são regularmente atualizadas com estas informações. Recomendamos uma delas, de acesso gratuito e de operação amigável (SFARI – Simon Foundation Autism Research Initiative: <https://sfari.org/>).

Erros inatos do metabolismo

Um grupo especial de alterações monogênicas com possível comorbidade com o TEA são os erros inatos do metabolismo e as mutações do DNA mitocondrial. Estas alterações associam-se frequentemente à epilepsia e devem ser pensadas especialmente nos casos de autismo regressivo (ROSSIGNOL e FRYE, 2012; GHAZUIDIN e AL-OWAIN, 2013; FRYE, 2015).

Deficiência de Adenilosuccinase

A deficiência de adenilosuccinase é um erro inato do metabolismo das purinas.

Caracteriza-se por graus variáveis de deficiência intelectual e aproximadamente 50% dos pacientes exibem sintomas de autismo. Alterações de eletroencefalograma e convulsões podem estar presentes, assim como fraqueza muscular. A ressonância magnética de crânio pode exibir hipotrofia ou hipoplasia de cerebelo, particularmente do vérmis. Os sintomas provavelmente são causados pela toxicidade causada pelo acúmulo das succinilpurinas

Deficiência de creatina

Causadas por deficiência na síntese ou transporte da creatina Dentro do primeiro grupo estão a deficiência da arginina –glicina amidino transferase e a deficiência da guanidinoacetato metiltransferase (padrão de herança autossômico recessivo). No segundo grupo, a deficiência do transportador transmembrana de creatina (padrão de herança ligado ao X).

As doenças relacionadas à deficiência na síntese de creatina podem ser tratadas com suplemento oral de monidrato de creatina. A resposta clínica a essa reposição se manifesta por melhora dos sintomas extrapiramidais, do atraso de desenvolvimento neuropsicomotor e da epilepsia.

Doenças Mitocondriais

A relação entre doenças mitocondriais e TEA foi bem caracterizada por estudo de revisão sistemática o qual detectou uma frequência de 5% de doença mitocondrial em pacientes com TEA. Em relação aos marcos de desenvolvimento motor, 64% desses pacientes (com autismo e doença mitocondrial)

apresentaram atraso, ao contrário dos autistas sem doença mitocondrial que podem exibir certa hipotonia, porém raramente apresentam atraso dos marcos motores.

Aproximadamente 1/3 das crianças com transtorno do espectro autista apresentam um quadro caracterizado por regressão na interação social e na fala, que geralmente ocorre até os três anos de idade enquanto que 40% das crianças com autismo e doença mitocondrial apresentavam padrão de regressão. Além disso, 41% pacientes com TEA e doença mitocondrial apresentavam convulsões. Outras manifestações típicas de doença mitocondrial como fadigabilidade, disfunções endócrinas, hematológicas e cardiovasculares não são comuns e pacientes autistas sem doença mitocondrial.

Causas ambientais, modelo multifatorial e epigenética

O aumento da incidência de TEA e a pesquisa com os fatores genéticos e ambientais desembocaram, nas últimas décadas, em grande polêmica na área da saúde pública, relacionando a vacina antirubéolica (vacina tríplice MMR – sarampo, caxumba e rubéola) à etiologia do autismo. Nos anos 1970 houve um aumento na incidência de TEA, nos Estados Unidos, após a introdução da vacina, porém os estudos epidemiológicos na Europa não indicaram qualquer associação entre a vacina tríplice e TEA (HALSEY e HYMAN, 2001).

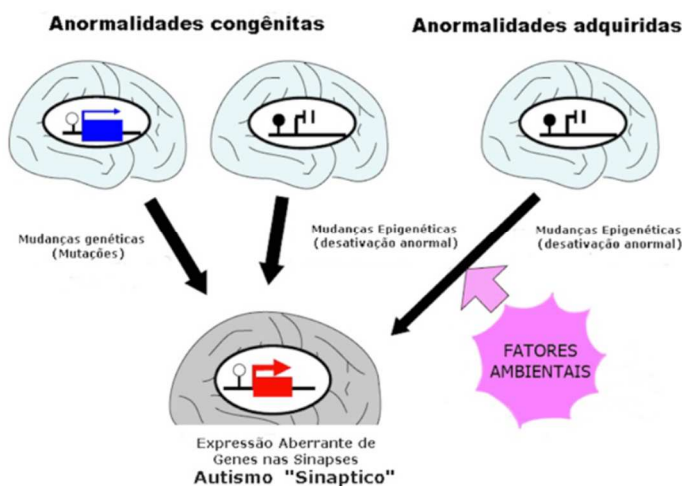
Assim como as vacinas muitos outros fatores de risco foram apontados, todos com fraca evidência epidemiológica. Teriam atuação no período perinatal: infecções com encefalite; álcool; drogas; intoxicação por metal; anticonvulsivantes como o ácido valpróico; talidomida; tentativa de abortamento com o misoprostol; cocaína, opióides; tabaco; ambiente social; exposição à poluição e a outros tipos de contaminação através de substâncias tóxicas; estação do ano em que a criança nasceu; sangramento uterino, hiperbilirubinemia; avanço da idade materna e paterna; Apgar inferior a 7, malformações congênitas, RN pequeno para a

idade gestacional; estresse materno; pais com Transtornos Afetivos e Esquizofrenia; prematuridade; nível de exposição fetal à testosterona. Revisão sobre estes fatores pode ser encontrada em PORTO e BRUNONI (2015). Em anos mais recentes diversos fatores levaram ao recrudescimento de pesquisas epidemiológicas a procura de fatores ambientais: noção de que a herdabilidade não deve ser tão alta (90% de concordância em gêmeos monozigóticos baixou para 50%); aumento da prevalência chegando a insuspeitada cifra maior do que 1%; evidência de que o aumento da prevalência não é amplamente explicado por critérios diagnósticos e reconhecimento do transtorno na área de saúde e sociedade em geral e falência dos poderosos exames genômicos em desvendar significativa frequência de mutações genéticas explicativa do TEA (GAUGLER et al., 2014; ROBERTS e cols., 2014; JESTE e GESCHWIND, 2014; FAKHOURY, 2015; HANSEN et al., 2015).

Trabalhos mais recentes pontuaram como fatores de risco aceitos: aumento da idade materna e paterna; prematuridade e baixo peso ao nascer; estresse materno gestacional. Uma série de outros fatores merecem ainda comprovação como diabetes; uso de antidepressivos inibidores da recaptação da serotonina e até o uso de suplementação vitamínica periconcepcional com ácido fólico para prevenção de anomalias congênitas (TORJMAN e cols., 2014; GRABRUCKER, 2013).

Como se percebe no Quadro 1 uma avaliação conservadora aponta somente 20% de causas identificadas em pacientes não selecionados. Assim em 80% deles o modelo explicativo seria o multifatorial com interação epistática. Este modelo explicaria os pacientes com TEA não sindrômico. Nestes, vulnerabilidade genética representada por variantes genômicas, associados com fatores de risco perinatais estariam na origem do Transtorno. Estudos atuais

têm mostrado que variantes genômicas em indivíduos com TEA podem ser herdadas de pais sem o Transtorno. Uma possível explicação seria mecanismos que interferem na expressão gênica tornando possível o desenvolvimento do transtorno nuns e não em outros indivíduos. Tal mecanismo explicaria também a heterogeneidade clínica entre os pacientes, mesmo dentro da mesma família. A evidência de que mesmo sem a alteração na sequência nucleotídica do DNA pode-se ter expressões gênicas diferenciadas, podendo chegar até a inativação gênica, não é nova. De fato, como explicar a expressão gênica tecido-específica? Se todas as células nucleadas do nosso organismo possuem todos os 25 a 30 mil genes, mas nem todos são expressos, é porque existem mecanismos intrínsecos, fisiológicos, que inibem o funcionamento de certos genes e ativam outros. Os exemplos mais conhecidos desta ação epigenética é representada pelo fenômeno do imprinting genômico ao qual nos referimos na descrição das síndromes de Angelman e Prader-Willi; ao silenciamento do gene FMR1 na síndrome do X-Fragil, também referido e ainda à inativação de um cromossomo X nas células 46 XX de mulheres normais. Atualmente ao lado destes mecanismos normais de regulação gênica, acredita-se que fatores ambientais, como as intercorrências gestacionais descritas acima, podem interferir na expressão de determinados genes, críticos para o desenvolvimento do TEA e outros transtornos do desenvolvimento. Ainda mais surpreendente, durante a vida de um indivíduo podem ocorrer modificações na regulação gênica e estas marcas epigenéticas passarem para a geração seguinte. O assunto é vasto, complexo e está sendo intensamente investigado. Indicamos ao leitor alguns artigos que aprofundam o tema (LOKE et al., 2015; FAHRNER et al., 2014). A Figura 1 ilustra como o mecanismo epigenético funcionaria, neste caso com foco em genes com expressão sináptica.

Figura 1. Espressão aberrante de genes críticos


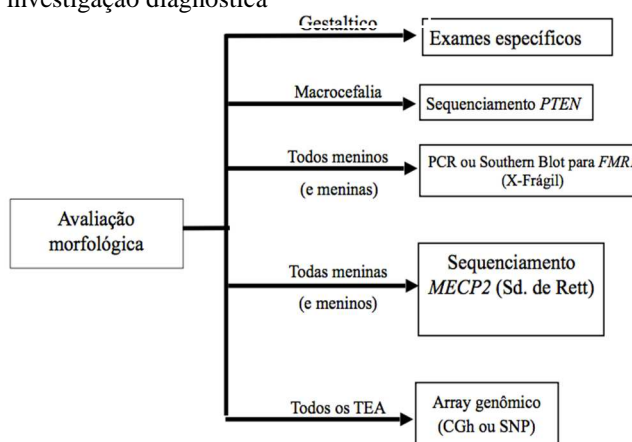
Fonte: Modificado de *Frontiers in Neurology* 6;107, 2015

Protocolo de investigação diagnóstica

O American College of Medical Genetics (2013) apresenta um protocolo de investigação diagnóstica dos quadros de TEA. Tal protocolo pode ser observado na Figura 2.

O protocolo de investigação da etiologia genética para o TEA se inicia com a avaliação morfológica do paciente, onde buscamos sinais dismórficos que sugiram uma síndrome genética através de um diagnóstico gestáltico. Os dismorfismos são sinais da embriogênese. Está bem estabelecido que quanto maior o número de

dismorfismos de um paciente, mais provável que ele apresente malformações associadas e que seja portador de uma síndrome genética. O diagnóstico gestáltico é aquele que se obtém através de exame morfológico, no qual se realiza uma suspeita clínica baseado nos dismorfismos presentes no paciente, e o qual a partir de tal diagnóstico é possível realizar a solicitação de um exame genético específico. Como exemplo claro podemos citar a Esclerose Tuberosa, a síndrome do X Frágil, as alterações cromossômicas típicas como a síndrome de Down e outras como visto anteriormente.

Figura 2 . Protocolo de investigação diagnóstica


Todos os pacientes do sexo masculino e feminino devem passar por teste para a Síndrome do X-Frágil. A síndrome do X-Frágil é uma condição ligada ao X, afetando mais comumente os pacientes do sexo masculino, porém existem relatos de pacientes do sexo feminino, portadoras da mutação característica da síndrome do X-Frágil que apresentem fenótipo de TEA. Analogamente, o sequenciamento do gene MECP2 deve ser realizado em todas as pacientes do sexo feminino. O MECP2 é o gene responsável pela síndrome de Rett, que apresenta fenótipo que se assemelha ao TEA, em especial durante seu estágio inicial. O sequenciamento do MECP2 para os meninos deve ser reservado para os casos no qual as características clínicas do paciente se assemelhem à Síndrome de Rett.

Seguindo o protocolo de acompanhamento, todos os pacientes cujo perímetro cefálico se apresente acima de 2,5 DP (desvios padrões) da normalidade devem ser sequenciados para mutações no PTEN.

Por fim, devido à prevalência de alterações cromossômicas submicroscópicas a realização de array genômico é fundamental para buscar microdeleções ou microduplicações que podem ser a causa do transtorno.

Esse protocolo nos permite chegar ao diagnóstico etiológico de cerca de 30% dos casos de TEA. Tais casos diagnosticados são aqueles nos quais podemos realizar um aconselhamento genético com segurança, além de conhecer a história natural da síndrome, o que nos permite realizar um acompanhamento clínico mais seguro. Os demais casos de TEA não diagnosticados por esse protocolo, provavelmente irão fazer parte de um grupo de TEA multifatorial, no qual teremos a influência de diversos fatores, com uma base genética ampla, porém da qual não temos conhecimento atualmente para realizar um aconselhamento genético ou um acompanhamento clínico diferenciado e, portanto, não há benefício de realizar outros exames genéticos em busca de uma alteração genica única. Nestes casos usa-se o risco empírico de recorrência o qual, no caso de irmãos é de cerca de 10% (GAUGLER, 2014).

Na realidade brasileira a disponibilidade de exames genéticos como os apontados no Quadro 5 é deficitária de uma maneira geral e praticamente inexistente no Sistema Único de Saúde. Por esta razão apresentaremos a seguir um fluxo de atendimento possível.

Investigação etiológica do TEA adaptada

A investigação etiológica dos pacientes com TEA pode ser orientada segundo o fluxo seguinte: 1- todos os pacientes suspeitos ou com diagnóstico devem passar por minuciosa avaliação interdisciplinar para garantir o diagnóstico de TEA; 2- feito o diagnóstico protocolos clínicos devem investigar causas ambientais; avaliação neuropsicológica deve efetuar avaliação do quociente intelectual (até 69 considerar deficiência intelectual-DI); exame físico deve determinar possíveis dismorfias ou quadros neurológicos; 3- definir clinicamente: a) com ou sem Deficiência Intelectual ; b) com ou sem dismorfias; c) com ou sem sinais neurológicos. Todas as situações do item 3, isoladas ou associadas, devem ser minuciosamente investigadas através de exames complementares.

Os principais exames complementares são os de neuroimagem e os testes genéticos.

Tais exames dependem da disponibilidade de cada um deles no sistema de saúde. No Brasil, SUS e saúde suplementar separam os pacientes radicalmente. No SUS garantir exame de cariótipo e do X Frágil é o desafio atual. Na saúde suplementar a separação dos pacientes é feita pelo tipo de plano que a família possui. Existem planos que dificultam até a realização do mais elementar dos exames genéticos, o cariótipo com bandas G (plenamente garantido pela Agência Nacional de Saúde). Diversos planos, da saúde suplementar, fazem cobertura dos custos de exames genômicos mais dispendiosos como o sequenciamento gênico ou o sequenciamento do exoma. Para informar-se melhor sobre esta situação, devemos incentivar nossos pacientes a procurarem informações como as fornecidas no site da Sociedade Brasileira de Genética Médica (<http://www.sbgm.org.br/orientacoes.asp>).

Para orientar a investigação de mutações gênicas, minimizando custos podemos adotar o conceito de endofenótipos: definir a condição clínica mais preponderantemente associada ao TEA como epilepsia, alterações motoras, transtornos do sono, etc (JESTE e GESCHWIND, 2014).

Definindo os riscos genéticos

A identificação de fatores genéticos e ambientais possibilita o esclarecimento de cerca de 20 a 25% dos pacientes com diagnóstico de TEA. Estes pacientes com causa definida terão as condutas clínicas e de aconselhamento genético de acordo com a causa: os riscos de recorrência podem variar de insignificantes, como nos casos esporádicos nos quais a mutação genética ocorreu de novo, ou seja, pela primeira vez até riscos consideráveis, de 50% (translocações cromossômicas herdadas; mutações dominantes herdadas ou de 25%, nas síndromes com modelo autossômico recessivo. Lembrar com particular cuidado da síndrome do X Frágil (FRAXA) na qual, casos esporádicos tem risco, a priori, de 30% de terem sido herdados da mãe. Sempre será necessária a investigação da condição materna de heterozigota.

Uma vez esgotadas as possíveis causas identificáveis os pacientes com TEA são interpretados como decorrentes de herança multifatorial. Neste modelo, variantes genômicas de vulnerabilidade ao transtorno, associadas a causas ambientais perinatais, seriam a causa do TEA. No momento, este modelo explica a grande maioria dos casos (cerca de 75%). O aconselhamento genético aqui se dá em função do modelo multifatorial: tanto maior quanto maior for o grau de parentesco com o afetado. Para irmãos este risco varia de 10 a 15%.

5 - CONCLUSÃO

Em torno de 20% dos casos de TEA uma etiologia específica pode ser identificada. A definição da etiologia dos TEA ainda está longe de ser uma realidade para a maioria da população brasileira usuária do Sistema Único de Saúde. Esta deficiência torna a assistência à saúde precária nestes pacientes. Além disso sem a avaliação e diagnóstico o Aconselhamento

Genético para as famílias não pode ser adequadamente executado. Apenas recentemente políticas públicas estão sendo adotadas para que no SUS esta avaliação seja garantida. Com tais medidas será possível orientar melhor as famílias quanto ao risco de terem filhos com TEA ou, em situações mais delicadas, de tendo ocorrido o diagnóstico de TEA num membro da família, a probabilidade deste evento repetir.

6 - REFERÊNCIAS

ABRAHAMS BS, GESCHWIND DH. Connecting genes to brain in the autism spectrum disorders. Arch Neurol. 2010; 67(4):395–9

AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS. Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders: 2013 guideline revisions. Genetics in Medicine, 21 March 2013.doi:10.1038/gim.2013.32

APA - AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – DSM IV. 4ª Ed. Porto Alegre: Editora ArtMed, 2002.

APA - AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistic manual of mental disorders. 5th ed. Revised. Washington, D.C.: American Psychiatric Publishing, 2013.

BREMER, A.; GIACOBINI, A.; ERIKSSON, M. et al. Copy number variation characteristics in subpopulations of patients with Autism Spectrum Disorders. Am. J. Med. Genet. Part B 156:115-124, 2010.

BUTLER M.G.; DASOUKI M.J.; ZHOU X-P, et al. 2005. Subset of individuals with autism spectrum disorders and extreme macrocephaly associated with germline PTEN tumour suppressor gene mutations. J Med Genet 42:318–321.

CARTER MT, SCHERER SW. Autism spectrum disorder in the genetics clinic: a review. Clin Genet. 2013 May;83(5):399–407.

- CID-10 - Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde. 10o Revisão; p. 361-362. OMS/OPAS. EDUSP – 2000.
- DAGLI I.A.; MUELLER J.; WILLIAMS C.A. GeneReviews Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1144/> (Acessado em 10 de outubro de 2015).
- DEVLIN, B.; SCHERER, S. W. Genetic architecture in Autism Spectrum Disorder. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 22:229-237, 2012.
- DRISCOLL, D.J.; MILLER, J.L.; SCHWARTZ, S., et al. GeneReviews Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1330/> (Acessado em 10 de outubro de 2015)
- FAHRNER, J.A.; BJORNSSON, H.; Mendelian disorders of the epigenetic machinery: tipping the balance of chromatin states. 2014. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 15:269-93.
- FAKHOURY, M. Autistic spectrum disorders: A review of clinical features, theories and diagnosis. *Int J Dev Neurosci.* 2015 Jun;43:70-7.
- FOMBONNE E. Epidemiology of pervasive developmental disorders. *Pediatr Res.* 2009;65(6):591-8.
- FRYE, R., E. Metabolic and mitochondrial disorders associated with epilepsy in children with autism spectrum disorder. *Epilepsy Behav.* 2015 Jun;47:147-57. doi: 10.1016/j.yebeh.2014.08.134. Epub 2014 Nov 4
- GLAUGLER, T.; KLEI, L.; SANDERS S et al., Most genetic risk for autism resides with common variation. 2014. *Nature Genetics*:46: 881-5
- GRABRUCKER, A. M.; Environmental factors in autism. 2013. *Front Psychiatry.* 18;3:118.
- HALSEY, N.A.; HYMAN, S.L.; Conference Writing Panel. Measles-mumps-rubella vaccine and autistic spectrum disorder: report from the New Challenges in Childhood Immunizations Conference convened in Oak Brook, Illinois, June 12-13, 2000. 2001. *Pediatrics.*107(5):E84. Review.
- HANSEN, S., N; SCHENDEL, D.,E. Explaining the increase in the prevalence of Autism Spectrum Disorders. The proportion attributable to changes in reporting practices. *JAMA Pediatr.* 169:56-62, 2015.
- HOGART, A.; WU, D.; LASALLE, J.M.; SCHANEN, N.C. 2010. The comorbidity of autism with the genomic disorders of chromosome 15q11.2-q13. *Neurobiol Dis* 2010. 38:181-191.
- JACQUEMONT ML, SANLAVILLE D, REDON R et al. Array-based comparative genomic hybridization identifies high frequency of cryptic chromosomal rearrangements in patients with syndromic autism spectrum disorders. *J Med Genet* 2006; 43:843-9.
- JESTE, S.S., GESCHWIND, D., H. Disentangling the heterogeneity of autism spectrum disorder through genetic findings. *Nat.Rev.Neurol.* 2014; 10(2):74-81.
- KANNER, L. Autistic disturbances of affective contact. *Nerv. Child* 2: 217-250, 1943.
- KOHANE, I.,S.; MCMURRY, A.; WEBER, G. The Co-Morbidity Burden of Children and Young Adults with ASD. *PlosOne* 7:e33224, 2012.
- LOKE, Y.J.; HANNAN, A.J.; CRAIG, J.M.; The Role of Epigenetic Change in Autism Spectrum Disorders. *Front Neurol.* 2015 May 26;6:107
- MMWR. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Age 8 years 63(2), March 28, 2014.

MUHLE R, TRENTACOSTE S V, RAPIN I. The Genetics of Autism. *Pediatrics*. 2004 Apr 30;113(5):e472–e486.

NORTHRUP, H.; KOENIG, M.K.; PEARSON, D.A.; AU, K.S. GeneReviews Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1220/> (Acessado em 07 de outubro de 2015)

PHELAN, K.; ROGERS, R.C. GeneReviews Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1198/> (Acessado em 08 de outubro de 2015)

PORTO, R.F.; BRUNONI, D. Transtornos do Espectro do Autismo: intercorrências perinatais in Contribuições para a inclusão escolar de alunos com necessidades especiais: Estudos interdisciplinares em educação e saúde em alunos com Transtorno do Espectro do Autismo no município de Barueri, SP Editores: MEF D'Antino; D Brunoni; JS Schwartzman; pp 32-41. Memnon Edições Científicas, São Paulo, 2015.

PINTO D; PAGNAMENTA AT; KLEI L; et al., Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature*, 466:368-372, 2010.

ROBERTS, J. L., HOVANES, K., DASOUKI, M., et al. M.G. 2014. Chromosomal microarray analysis of consecutive individuals with autism spectrum disorders or learning disability presenting for genetic services. *Gene*. 535(1):70-8.

ROSSIGNOL, D.A.; FRYE, R.E. Mitochondrial dysfunction in ASD: a systematic re-view and meta-analysis. *Mol. Psychiatr.* 17:290-314, 2012

SAUL RA, TARLETON JC. FMR1-Related Disorders. 1998 Jun 16 [Updated 2012 Apr 26]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. GeneReviews® [Inter-net]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. Available from

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1384/> Acessado em 16/10/2015.

SEBAT. J., LAKSHI. B.; MALHOTRA, D. et al. Strong association of De Novo copy number mutation with autism. *Science* 2007; 316:445-9.

SHISHIDO, E.; ALEKSIC, B.; OZAKI, N. Copy-number variation in the pathogenesis of Autism Spectrum Disorder. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 68:85-95, 2014.

SOUTH, S.T.; LAMB, A.N.; HIGGINS, A.W. et al. ACMG Standars and Guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. *Genetics in Medicine* 15:901-909, 2013.

TORDJMAN, S., SOMOGYI, E., COULON N. et al. Gene x environmental interactions in autism spectrum disorders: role of epigenetic mechanisms. *Frontiers in Psychiatry*, 2014:article 53

ZAFEIRIOU, D.I.; VERVERI, A.; et al., 2013. Autism Spectrum Disorders: The Quest for Genetic Syndromes. *Am J Med Genet Part B* 162B:327–366

Recebido em: 18/10/2015

Aceito em: 08/12/2015