

AS ALTERAÇÕES GENÉTICAS E A NEUROFISIOLOGIA DO AUTISMO

GENETIC ALTERATIONS AND THE NEUROPHYSIOLOGY OF AUTISM

Leandra Ernst Kerche^{1*}, Marjori Leiva Camparoto², Felipe Viegas Rodrigues³

¹Doutora em Ciência e Tecnologia de Materiais pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Docente Pesquisador da Faculdade de Medicina de Presidente Prudente - Universidade do Oeste Paulista, FAMEPP/UNOESTE-SP.

²Doutora em Ciências Biológicas (Genética) pela Universidade de São Paulo, Docente Pesquisador da Faculdade de Medicina de Presidente Prudente - Universidade do Oeste Paulista, FAMEPP/UNOESTE-SP.

³Doutor em Ciências (Fisiologia Geral) pela Universidade de São Paulo, Docente Pesquisador da Faculdade de Medicina de Presidente Prudente - Universidade do Oeste Paulista, FAMEPP/UNOESTE-SP

Endereço para Correspondência: Rua José Bongiovani, 700, CEP: 19050680, Campus I, Universidade do Oeste Paulista, SP. E-mail: leakerche@unoeste.br

RESUMO

As perturbações do espectro autista (PEA) se referem a uma gama de doenças neurológicas caracterizadas por déficit de interação e comunicação social, além de comportamentos repetitivos e estereotipados. O objetivo do presente trabalho foi reunir as principais etiologias associadas ao autismo, além de suas consequentes alterações neurofisiológicas. Foram buscados artigos na base de dados Pubmed com os termos "autism" e "genetics", "autism" e "environment", "autism" e "neurophysiology", sem período delimitado. Referências cruzadas dos artigos de interesse também foram buscadas para compor a revisão, além de contribuições específicas dadas pelos autores com base no conhecimento da área. As PEA apresentam herdabilidade complexa e podem estar associada a outras desordens genéticas como a Síndrome do X-frágil. Os fatores de risco incluem desde fatores genéticos, como microdeleções e duplicações de genes ligados com a sinaptogênese, até fatores ambientais, principalmente aqueles relacionados à imunidade materna. Por conta das alterações nas sinapses neuronais, há um desbalanço neuroquímico nos portadores das PEA, o que faz com que neurotransmissores e hormônios importantes, como o GABA, a oxitocina e a serotonina, estejam em níveis comprometidos nesses indivíduos. Dessa forma, a etiologia das PEA não pode ser delimitada a um único fator, apesar dos sintomas observados serem uniformes com variado grau de prejuízo na interação social e execução de comportamentos repetitivos e estereotipados. As alterações sinápticas, com relativa hiperconectividade, e o desbalanço neuroquímico talvez sejam a assinatura neurofisiológica subjacente à uniformidade dos sintomas no autismo.

Palavras-Chave: transtorno autístico; genética; epigênese genética; neurofisiologia.

ABSTRACT

Autonomic spectrum disorders (ASD) are related to a range of neurological diseases characterized by interaction and social communication deficits, as well as repetitive and stereotyped behaviors. The present work was to review the main etiologies associated with autism, in addition to its consequent neurophysiological alterations. Pubmed database was searched with the terms "autism" and "genetics", "autism" and "environment", "autism" and "neurophysiology", with no delimited period. Cross references of articles of interest were also sought to compose the review, in addition to specific contributions given by the authors based on the knowledge of the area. ASD have complex heritability and may be associated with other genetic disorders such as X-Fragile Syndrome. Risk factors include genetic factors, such as microdeletions and duplications of genes linked to synaptogenesis, to environmental factors, especially those related to maternal immunity. Due to changes in neuronal synapses, there is a neurochemical imbalance in the ASD carriers, which causes important neurotransmitters and hormones such as GABA, oxytocin and serotonin to be at compromised levels in these individuals. Thus, the etiology of the PEA can not be delimited to a single factor, although the observed symptoms are uniform with varying degrees of impairment in social interaction and repetitive and stereotyped behaviors. Synaptic changes, with relative hyperconnectivity, and neurochemical imbalance may be the neurophysiological signature underlying the uniformity of symptoms in autism.

Key Words: autism spectrum disorder; genetics; genetic epigenesis; neurophysiology.

INTRODUÇÃO

As perturbações do espectro autista (PEAs) se referem a uma gama de doenças neurológicas caracterizadas por déficit de interação e comunicação social, além de comportamentos repetitivos e estereotipados (1). De acordo com estimativas do Centro Americano de Controle e Prevenção de Doenças (U.S. Centers for Disease Control and Prevention – CDC), uma em cada sessenta e oito crianças são afetadas pelas PEAs, e as mesmas são consideradas as mais prevalentes doenças da infância (2).

As PEAs parecem estar envolvidas com o desenvolvimento cerebral nos seus estágios iniciais, já que os principais sinais e sintomas aparecem precocemente nos primeiros 3 anos de vida, e acabam persistindo na vida adulta. Essas desordens aparecem até 5 vezes mais em meninos do que em meninas, e em adição a vários sintomas, aproximadamente 31% dos indivíduos portadores de PEAs apresentam inabilidades intelectuais (2) e de 20-25% têm convulsões (3). Outros sintomas comuns incluem as desordens de ansiedade (4), de sono (5), gastrointestinais (6) e respostas anormais a estimulação sensorial (7).

As PEAs estão entre as desordens mais herdáveis, sendo esta característica evidenciada por estudos familiares e de gêmeos, com uma concordância entre 70-90% entre gêmeos monozigóticos e de até 30% em gêmeos dizigóticos (8). No entanto, a herdabilidade é complexa, devido a diferenças nas manifestações dos sintomas, modificações graduais ao longo do tempo e diferenças nas respostas às intervenções (9). Além de que 10% a 25% dos casos de PEAs parecem estar ligados a outras desordens genéticas, como a Síndrome do X frágil, a Esclerose Tuberosa e a Síndrome de Rett (10).

Estudos recentes têm discutido os numerosos fatores de risco que podem contribuir para as PEAs, e estes riscos vão de fatores genéticos a fatores ambientais (11). É conhecido o fato de que várias microdeleções podem estar associadas aos sintomas de portadores das PEAs como, por exemplo, a microdeleção da região 15q, que tem sido descrita como um desbalanço genômico recorrente em indivíduos com PEA e com déficit intelectual (12,13). Recente dado obtido por meio da análise de

Microarray mostrou uma deleção de novo de 2,9-Mb na região 18q22 em portador de PEAs, na qual estão localizados os genes RTTN, SOCS6, CBLN2 e NETO (14).

Dentro dos fatores ambientais, temos os fatores obstétricos sendo relevantes, já que as condições pré e perinatais podem contribuir para o aparecimento de PEAs (15,16). Há evidências do envolvimento do folato ou vitamina B6 como fator essencial para o neurodesenvolvimento, especialmente na prevenção contra os defeitos do tubo neural. Segundo Lintas (17), os polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo do folato também podem agir como fatores de suscetibilidade genética ao aumento da probabilidade dos distúrbios de neurodesenvolvimento, bem como as variações epigenéticas.

Apesar das diferentes etiologias, indivíduos autistas apresentam sintomas que se sobrepõem, indicando déficits comuns em vias de desenvolvimento neural. Uma dessas vias envolve as vias de neurotransmissão do ácido γ -aminobutírico (GABA), conhecido por desenvolver um papel crucial nos ajustes sinápticos nos primeiros dias pós-natal (18).

Considerando os fatores genéticos e as alterações neurológicas dos indivíduos autistas, esta revisão tem como objetivo enfatizar os genes implicados nas PEAs, especialmente os que contribuem com a formação e manutenção das sinapses neuronais, abordando também os fatores ambientais que contribuem para o surgimento do autismo, e os desbalanços químicos que podem contribuir para os sintomas dos indivíduos portadores das PEAs.

METODOLOGIA

Foram buscados artigos na base de dados Pubmed com os termos “autism” e “genetics”, “autism” e “environment”, “autism” e “neurophysiology”, sem período delimitado. Referências cruzadas dos artigos de interesse também foram buscadas para compor a revisão de literatura, além de contribuições específicas dadas pelos autores com base no conhecimento da área.

Foram incluídos todos os artigos que trouxessem algum tipo de alteração genética e/ou neurofisiológica associada ao autismo. Foram excluídos relatos de casos e artigos

que não tratassem diretamente dos fatores etiológicos ou fisiopatológicos da doença.

RESULTADOS

Genética das perturbações do espectro autista

Variação no número de cópias (CNV)

A variação no número de cópias (CNV) está entre as alterações no genoma humano mais difundidas, além de ser correlacionada com a patofisiologia dos desordens complexos de neurodesenvolvimento. As CNVs compreendem deleções e duplicações que podem ser *de novo* ou familiares, e estas deleções e duplicações alteram a estrutura gênica, a expressão e a função do gene, sendo uma das causas de retardo no desenvolvimento global do indivíduo (19).

As PEAs podem ser associadas principalmente com as microdeleções, como por exemplo as deleções nos *loci* 16p11.2, 7q11.23 associado à Síndrome de Williams, 22q11.2 associado à Síndrome de DiGeorge, 1q21.1, e 15q11-13 associado às Síndromes de Angelman e Prader-Willi (20). Interessantemente, os genes associados às CNVs, e que já foram relacionados com o autismo, estão envolvidos com a regulação da sinaptogênese e com a anatomia neural. O Quadro 1 traz comentários a respeito das principais CNVs envolvidas com as PEAs.

As CNVs provocam diversos problemas, já que normalmente os genes envolvidos estão sob restrita regulação, e a interrupção desses genes altera a dosagem normal de sua expressão, conferindo riscos para um grande espectro de fenótipos alterados de neurodesenvolvimento, incluindo as PEAs (21).

Quadro 1. Principais anormalidades cromossômicas envolvidas com as PEAs (adaptada de Liu & Takumi¹).

Locus	Alterações
1q21.1	A deleção de 1,35Mb está associada com atraso de desenvolvimento, deficiência intelectual, esquizofrenia. A duplicação está associada com a deficiência intelectual e PEA. Esta região pode estar associada com micro e macrocefalia.
2p16.3	As deleções nessa região provocam a interrupção do gene NRXN1 que codifica proteínas (neurexinas) que funcionam como receptores e moléculas de adesão celular. São reguladores de transdução de sinais.
3q29	Deleções nessa região estão associadas com as PEAs e esquizofrenia. Os genes FBXO45 (regulador da neurotransmissão em neurônios maduros), PAK2 (proteína p21) e DLG1 (regulador de adesão celular) são genes envolvidos com essa região.
7q11.23	A deleção nessa região é responsável pela Síndrome de Williams. A duplicação está associada com as PEAs e com o atraso da fala.
15q11-13	A deleção ou mutação materna do gene UBE3A (ubiquitina 3 ligase, envolvida com a degradação de proteínas alvo) causa a Síndrome de Angelman. A deleção paterna leva à Síndrome de Prader-Willi. A duplicação dessa região é a causa mais frequente de autismo.
16p11.2	A microduplicação ou microdeleção dessa região (500kb) está associada com a PEA e a esquizofrenia. A deleção é mais penetrante do que a duplicação. O gene KCNT13 envolvido nessa área está associado com o fenótipo neuroanatômico.
17p11.2	A deleção dessa região resulta na Síndrome de Smith-Magenis. A duplicação está associada à Síndrome de Potocki-Lupski. E as duas síndromes estão associadas com as PEAs.
17q12	A deleção dessa região está associada com diabetes, cistos renais, epilepsia, deficiência intelectual e PEA.
22q11.2	A deleção dessa região está associada com a Síndrome de DiGeorge, PEA e esquizofrenia. Os sintomas das duplicações são heterogêneos, mas leva ao retardo mental, atraso de desenvolvimento e PEA.

Epigenética

Imprinting genômico, epimutações, metilações do DNA, e modificações nas histonas são exemplos de mecanismos

epigenéticos envolvidos com distúrbios neurológicos. Esses mecanismos envolvem modificações de nucleotídeos ou cromossomos sem alterar a sequência de

DNA (22). Acredita-se que os mecanismos epigenéticos trabalhem na interface entre os fatores genéticos e ambientais (23). Estudos associando esses fatores têm ganhado importância para um real entendimento das desordens complexas, incluindo o autismo.

Enquanto os mecanismos epigenéticos têm sido implicados no desenvolvimento de muitas desordens, os mesmos fazem parte de fenômenos intrínsecos para o desenvolvimento normal do cérebro. O *imprinting* genômico é o principal exemplo de mecanismo epigenético que acontece normalmente ao longo da vida. E o mesmo pode ser descrito quando um dos alelos de um gene se torna inativo, resultando na expressão monoalélica de um gene (19,24).

Os principais pontos envolvidos com *imprinting* genômico foram localizados nos braços longos dos cromossomos 7 e 15, e coincidentemente esses dois *loci* estão altamente envolvidos com as PEAs (25,26). Estas correlações sugerem fortemente o envolvimento da epigenética na etiologia do autismo.

Adicionalmente, a metilação do DNA é um mecanismo importante no controle

epigenético dos genes. As proteínas de ligação às regiões metiladas (MeCP – Methyl-CpG *binding proteins*) se ligam ao DNA para controle da expressão gênica. Mutações no gene MeCP2 causa a Síndrome de Rett, um dos distúrbios no espectro autista, associada à convulsões, ataxia e movimentos estereotipados das mãos (27). A proteína MeCP2 também foi associada à regulação de vários genes que estão envolvidos com a plasticidade sináptica, proliferação neuronal e fatores de transcrição neural, incluindo o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), a proteína *distal-less homeobox 5* (DIX5), e a proteína ligante do fator de crescimento insulínico 3 (IGF3) (26).

Assim, a desregulação epigenética de genes sinápticos poderia contribuir para as PEAs, e vários estudos sugerem que fatores extrínsecos, como fumar e altos índices de estresse, podem alterar os genes epigeneticamente, levando a disfunções neuronais (19,28,29). A figura 1 abaixo faz uma representação diagramática de como a genética e a epigenética interagem na etiologia do autismo.

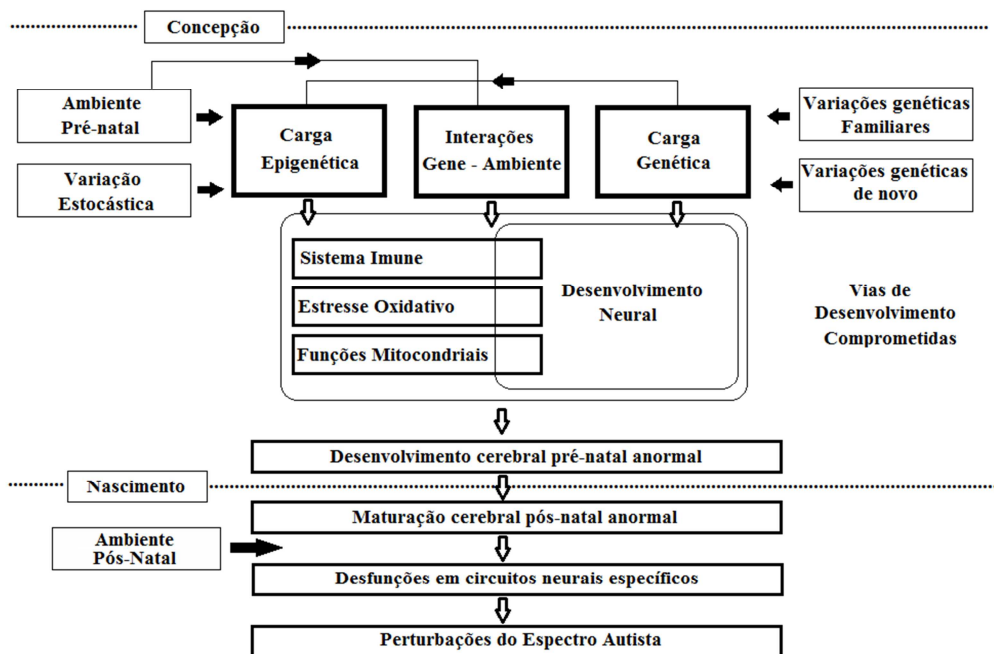


Figura 1. Representação diagramática de como as alterações genéticas e a epigenéticas se combinam e interagem na etiologia das PEAs. As alterações epigenéticas (provinha do ambiente pré-natal e das variações estocásticas) e as alterações genéticas (provinha de variações familiares e *de novo*) interagem comprometendo diversas vias que promovem defeitos nas funções, conectividade e morfogênese sinápticas, o que levaria à maturação cerebral anormal e disfunção nos circuitos neurais, endofenótipos característicos do autismo (adaptado de Loke, Hannan, Craig³⁰).

Genes sinaptotênicos

As PEAs resultam de mutações em uma grande gama de genes que controlam processos fisiológicos celulares como remodelação cromatínica, tradução, metabolismo e funções sinápticas. Em modelos experimentais, um erro comum aparece nos níveis de formação e estabilização sináptica, assim como na habilidade das sinapses serem modificadas por experiência através de mecanismos de plasticidade (31). Alterações morfológicas em espinhas dendríticas de portadores de PEAs já são bem descritas (32,33).

Estas mesmas disfunções sinápticas encontram-se na convergência entre as PEAs e outras desordens neuropsiquiátricas, como a esquizofrenia e algumas deficiências intelectuais (34). Adicionalmente, o autismo ocorre juntamente com a epilepsia, e deve haver mecanismos subjacentes comuns entre as duas patologias, como genes e fatores de risco ambientais (31).

A maturação sináptica e suas funções dependem de uma vasta gama de interações proteína-proteína que permitem fidelidade na liberação do neurotransmissor e sua reciclagem no sítio pré-sináptico, assim como na localização do receptor e sua sinalização no sítio pós-sináptico. Além disso, moléculas de adesão sináptica ligam e estabilizam os sítios pré e pós-sinápticos, e controlam as modificações induzidas pela plasticidade (31).

As teorias sinápticas para o autismo se originaram com a identificação de mutações nos genes da neuroligina (NLGN3 e NLGN4X), proteínas responsáveis pela adesão sináptica, e que são expressas nos sítios pós-sinápticos (35,36). Depois disso, um crescente repertório de genes, codificadores de proteínas pré e pós-sinápticas, têm sido implicados nas PEAs não sindrômicas, tais como: 1) Moléculas de adesão sináptica: neuroliginas, neurexinas, caderinas, contactinas (10,37,38); 2) Proteínas de *scaffold* sináptico: família dos genes PROSAP/SHANK (39); 3) Canais iônicos e receptores de neurotransmissores (40-42).

Além disso, mutações em outros genes sinaptogênicos, como os pré-sinápticos RIMS3/NIM3 e os pós-sinápticos IL1RAP1 e SYNGAP1, envolvidos com a

organização das vesículas sinápticas ou com a formação da sinapse em si, já foram identificados como causadores das PEAs (43-45).

A identificação de genes sinápticos implicados com as PEAs está aumentando junto com a caracterização de modelos animais que evidenciam mutações ou deleções nesses genes. Esses modelos animais permitem uma análise mais sistemática do papel desses genes na etiologia do autismo, e permitem também descobrir mecanismos biológicos que subsidiam os comportamentos autísticos, assim como a avaliação da eficácia de possíveis novos tratamentos (31).

Nesse sentido, Qin, Ma, Wang, Hu, Matas, Wei et al. (46) mostraram em camundongos que o uso de Romidepsina, um inibidor da Histona Deacetilase (HDAC), em baixas doses (0,25mg/kg) e por um breve período (uma vez ao dia, por três dias) foi capaz de minimizar os sintomas primários do autismo, de déficit de comunicação social, por até três semanas. Interessantemente, a Romidepsina é um conhecido agente antitumoral aprovado pela FDA para o tratamento de câncer e a dosagem utilizada corresponde a apenas ~5% da dose clínica do tratamento de tumores. A droga provocou diminuição dos níveis de HDAC2 no córtex pré-frontal, normalmente encontrada em maior quantidade nos camundongos *knockout* para o gene SHANK3 utilizados no trabalho, reduzindo os prejuízos de comunicação social encontrados neste modelo animal.

Os efeitos observados foram exclusivos à Romidepsina e as drogas comumente utilizadas para tratamento de outros sintomas do autismo, como a Fluoxetina, Clozapina, Ácido Valpróico, Risperidona e o Aripiprazol foram ineficazes na mitigação dos prejuízos sociais. Os autores ainda relatam que a função da maioria de 213 genes regulados para baixo nos camundongos *knockout* utilizados foram restauradas após o tratamento com Romidepsina. Os resultados evidenciam mecanismos epigenéticos envolvidos com os prejuízos sociais do autismo. O Quadro 2 mostra os genes sinaptotênicos que já foram associados com as PEAs

Quadro 2. Genes sinápticos associados com as PEAs (adaptado de Giovedí, Corradi, Fassio, Benfenati³¹).

Gene	Nome	Locus	Fenótipo	Função
SYN1	Sinapsina1	Xp11.23	PEAs, epilepsia	Ciclo de vesículas sinápticas
SYN2	Sinapsina2	3p25	PEAs, epilepsia	Ciclo de vesículas sinápticas
RIMS3	Regular de exocitose sináptica 3	1p34.2	PEAs	Ciclo de vesículas sinápticas
CACNA1E	Canal de cálcio, subunidade alfa 1E	1q25.3	PEAs	Neurotransmissão
CACNB2	Canal de cálcio, subunidade beta2	10p12	PEAs	Neurotransmissão
SCN1A	Canal de sódio tipo 1	2q24.3	Síndrome de Dravet, PEAs	Excitabilidade neuronal
SCN2A	Canal de sódio tipo 2	2q24.3	PEAs, epilepsia	Excitabilidade neuronal
SCN3A	Canal de sódio tipo 3	2q24	PEAs, epilepsia	Excitabilidade neuronal
KCNMA1	Canal de Potássio alfa1	10q22.3	PEAs	Excitabilidade neuronal
KCNMB4	Canal de Potássio beta4	12q	PEAs	Excitabilidade neuronal
KCNQ3	Canal de potássio	8q24	PEAs, epilepsia	Excitabilidade neuronal
KCNQ5	Canal de potássio	6q14	PEAs, epilepsia	Excitabilidade neuronal
KCND2	Canal de potássio	7q31	PEAs, epilepsia	Excitabilidade neuronal
NRXN1	Neurexina1	2p16.3	PEAs, esquizofrenia	Adesão celular
NLGN3	Neuroligina3	Xq13.1	PEAs	Adesão celular
NLGN4X	Neuroligina4	Xp22.32-p22.31	PEAs, deficiência intelectual	Adesão celular
CNTNAP2	Proteína associada à conectina tipo 2	7q35	PEAs, deficiência intelectual, esquizofrenia	Adesão celular
CDH5	Caderina 5	16q22.1	PEAs	Adesão celular
CDH8	Caderina 8	16q22.1	PEAs	Adesão celular
CDH9	Caderina 9	5p14	PEAs	Adesão celular
CDH10	Caderina 10	5p14.2	PEAs	Adesão celular
CDH11	Caderina 11	16q21	PEAs	Adesão celular
CDH13	Caderina 13	16q23.3	PEAs	Adesão celular
CDH15	Caderina 15	16q24.3	PEAs, deficiência intelectual	Adesão celular
PCDHB4	Protocaderina beta4	5q31	PEAs	Adesão celular
PCDH10	Protocaderina delta 10	4q28.3	PEAs	Adesão celular
PCDH19	Protocaderina delta 19	Xq22.1	PEAs, deficiência intelectual	Adesão celular

Recentemente, Siu, Lam, Gao, Vincent Tang, Jin, Mak (13) revelaram um novo gene associado com as PEAs no cromossomo 15q24. O gene NEO1 codifica a neogenina, uma proteína que funciona como receptor de membrana e que está envolvida com a migração e comunicação dos neurônios corticais e com orientação axonal. Esse achado comprova que as interrupções no desenvolvimento e função da comunicação entre neurônios corticais estão fortemente associadas com a etiologia do autismo.

Todas estas alterações podem subsidiar as recentes evidências de que o córtex cerebral nas PEAs é hiperconectado em circuitos locais e hipoconectado entre regiões cerebrais (47).

Fatores ambientais envolvidos com as perturbações do espectro autista

Exposições ambientais agem no organismo e podem ser estudadas utilizando-se marcadores de exposição, suscetibilidade e efeito. Um número muito grande de achados clínicos têm encorajado o estudo dos efeitos ambientais no autismo. Dentre esses achados, os mais proeminentes estão as perturbações nas funções imunológicas através da indução de imunotoxicidade por xenobióticos, infecções pré-natais, estresse pré-natal, e ruptura das barreiras cerebrais por células imunes (48).

A passagem de anticorpos maternos através da placenta é um mecanismo muito bem conhecido para proteção imunológica fetal. No feto, porém, a barreira hematoencefálica não está completamente formada, fazendo com que o desenvolvimento cerebral fique vulnerável a substâncias advindas do sangue materno (49). A exposição intrauterina do feto aos anticorpos maternos tem se mostrado um importante gatilho para o desenvolvimento anormal do cérebro (50). Evidências sugerem que anticorpos anti-DNA, anti-receptores N-metil-D aspartato e outros anticorpos reativos, presentes em mulheres com lúpus eritematoso sistêmico, são neurotóxicos para o desenvolvimento do cérebro (51).

Acredita-se que a associação das desordens autoimunes maternas com as PEAs seja mediada pela transferência ao feto de anticorpos imunoglobulinas G (IgG),

que exibem reatividade a proteínas próprias na mãe e no feto, e que foi demonstrado ser sexo-específico. Esses anticorpos teriam maior reatividade ao cérebro feminino, gerando morte neuronal no neocórtex fetal, e levando a uma maior quantidade de recém-nascidos masculinos com déficits cognitivos. Em adição a esse fato, os fetos femininos que são levados a termo teriam deficiências cognitivas e de interação social mais profundas (52).

Anticorpos reativos ao cérebro fetal foram encontrados em 11% das mães que não apresentam doenças autoimunes e que tiveram crianças portadoras de autismo. Esses anticorpos reconheceriam proteínas fetais de 37 kDa, 39 kDa e 73 kDa, e poderiam conferir crescimento cerebral anormal e grandes deficiências de fala (53). Sete proteínas – Lactato Desidrogenase A (LDHA), LDHB, Proteína de Ligação a Y-box (YBX1), Guanina Desaminase (cypin), Fosfoproteína induzida pelo estresse tipo 1 (STIP1), Proteína 1 mediadora de resposta à Colapsina (CRMP1) e CRMP2 – foram reportadas como sendo alvos de anticorpos reativos ao cérebro fetal. Essas sete proteínas são expressas no cérebro em desenvolvimento, onde participa de várias funções, como morfologia dendrítica e regulação da transcrição (54).

Em relação aos anticorpos maternos, a ativação imunológica aguda, causada por infecções maternas durante períodos específicos da gestação, pode contribuir para um aumento no risco de PEAs no recém-nascido (55). As infecções maternas foram primeiramente associadas com as PEAs através da observação no aumento da incidência de crianças autistas de 0,05% a 8-13% após a pandemia de Rubéola de 1964 (56). Vários estudos associaram também as PEAs com infecções parasitárias e bacterianas, incluindo toxoplasmose, sífilis, varicela, citomegalovírus e herpes (55). Consistentemente com a ideia de aumento da atividade imunológica, alguns estudos têm abordado o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias no líquido amniótico de mães com filhos portadores da PEA (57,58).

A figura 2 detalha os fatores de risco durante a gestação por conta da ativação do sistema imunológico materno

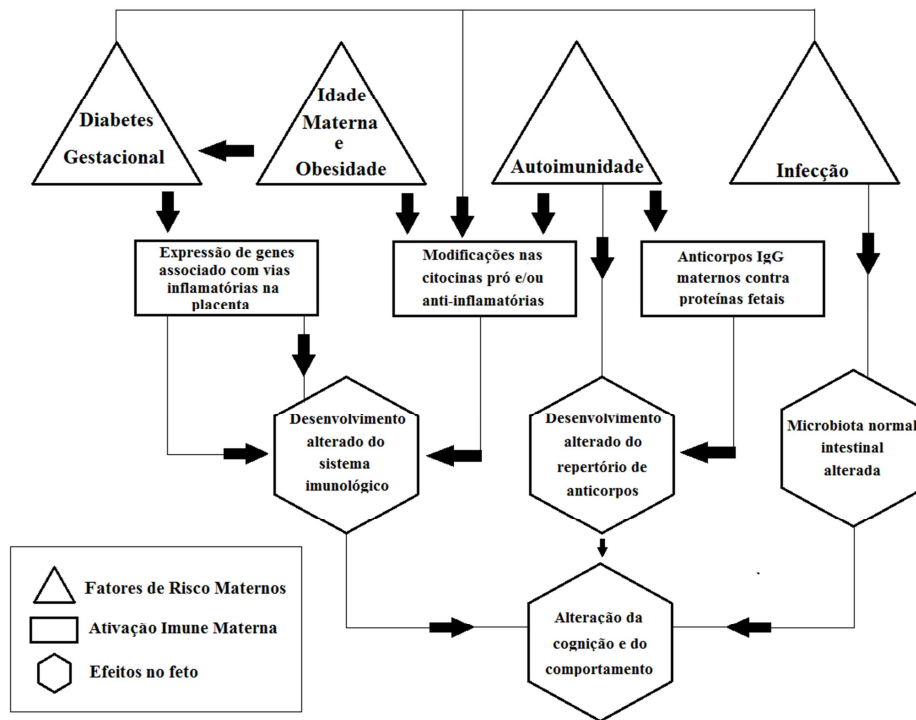


Figura 2. Fatores de risco para PEAs durante a gravidez. Autoimunidade materna, infecções durante a gravidez, idade materna e obesidade e diabetes gestacional são fatores associados com uma alta incidência de Perturbações do Espectro Autista (PEAs). Os fatores de risco (triângulos) causam ativação imunológica na mãe (retângulos), que manifesta as modificações na formação de IgG e nas citocinas. A ativação imunológica materna seria suficiente para provocar mudanças no cérebro em desenvolvimento (hexágonos) (adaptado de Estes & Mcallister⁵⁹).

Além das desregulações imunológicas familiares, especialmente nas mães, há amplas evidências de disfunção imunológica no sistema imune periférico e cerebral dos indivíduos portadores de PEAs (60). Autistas, assim como seus familiares, apresentam um aumento na incidência de desordens autoimune, alergias e asma (61). Um grupo de portadores de PEAs apresentam anticorpos reativos a proteínas próprias, incluindo receptores de serotonina e proteínas gliais (62), proteína mielínica (63), e alvos não identificados no gânglio basal, córtex pré-frontal e cerebelo (62-64).

Muitos estudos têm demonstrado modificações nos níveis de citocinas, e essas alterações incluem: aumento nos níveis de IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 β e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), consideradas citocinas pró-inflamatórias; e diminuição nos níveis de IL-10 e fator de crescimento transformante β (TGF β), conhecidas como citocinas anti-inflamatórias (65-70).

Assim como existem alterações na imunidade humoral dos autistas, há também alterações na imunidade celular. Células

natural killer (NK) são defeituosas em suas funções normais de lisar células infectadas. Os monócitos secretam excesso de citocinas pró-inflamatórias quando estimulados por infecções bacterianas, mas secretam as mesmas de maneira reduzida quando estimulados por infecções virais (71).

Há uma complexidade envolvida no papel dos agentes inflamatórios e anti-inflamatórios na etiologia das PEAs. Entender os mecanismos e a neuroinflamação provê um novo e importante leque de alvos para a descoberta de novas drogas para as PEAs.

Neurofisiologia das perturbações do espectro autista

Ácido γ -aminobutírico (GABA)

As PEAs estão fortemente associadas com mutações em muitos genes que afetam a taxa de excitabilidade e inibição neuronal. No entanto, entender o impacto dessas mutações na atividade neuronal em rede se torna complicado devido à dificuldade, em muitos casos, de separar os déficits iniciais da compensação homeostática (72). As

evidências de disfunção inibitória associada com as PEAs surgiram devido ao fato de pacientes autistas desenvolverem epilepsia em uma taxa 25 vezes maior do que a população geral (73). De fato, existe alta comorbidade dos portadores de PEAs com epilepsia (30%) (74).

Estudos com modelos animais suportam que uma disfunção relacionada à sinalização envolvendo o ácido γ -aminobutírico (GABA) pode contribuir com a maior parte dos sintomas clínicos encontrados em pacientes autistas. Na normalidade, o GABA é o neurotransmissor inibitório mais importante no cérebro adulto de um mamífero, no qual consegue inibir a excitação neuronal pela ativação de duas diferentes classes de receptores: GABA_A e GABA_B. Os receptores GABA_A são canais iônicos integrais de membrana, enquanto os GABA_B são acoplados com canais iônicos via proteínas de ligação do nucleotídeo guanina (proteínas G) e segundos mensageiros. A abertura dos receptores GABA_A causam um influxo de cloreto (Cl⁻) com consequente hiperpolarização e redução da excitabilidade celular. Geralmente, baixas concentrações de Cl⁻ ([Cl⁻]) facilitam a inibição mediada pelo GABA, enquanto altas [Cl⁻] facilitam a excitabilidade mediada pelo GABA (75).

O eletroencefalograma (EEG) dos pacientes portadores das PEAs apresenta alterações na morfologia dos traçados que pode ser causada por disfunções na transmissão GABAérgica e desbalanço entre excitação e inibição em circuitos que envolvem os sentidos, memória, processos sociais e emocionais (75). Em análises *post-mortem* de tecidos cerebrais de indivíduos autistas, há uma redução na densidade de receptores GABA_A e GABA_B nas camadas supra e infragranular do córtex cingulado (área que participa de uma variedade de processos, incluindo os comportamentos sócio-emocionais e outras funções associativas via conectividade do córtex pré-frontal) (76).

Estudos neuropatológicos mostraram também que nos cerebelos de indivíduos com PEAs, as células de Purkinje GABAérgicas são particularmente vulneráveis, já que seu número aparece consideravelmente reduzido (77).

Ocitocina e Vasopressina

Nas PEAs existem déficits no reconhecimento social, de expressões faciais, de idade e sexo. Os comportamentos repetitivos envolvem interesses restritos, rotinas rígidas ou comportamentos ritualísticos, estereotípias, comportamentos de auto-estimulação, e preocupação com apenas partes dos objetos (78). Há algumas décadas já vem sendo sugerida a importância do neuropeptídeo ocitocina (OXT) na etiologia do autismo (79). A OXT é sintetizada nos neurônios magnocelulares do núcleo paraventricular e do núcleo supraóptico do hipotálamo, e é liberada na corrente sanguínea pelos axônios terminais da hipófise posterior. Sua função fisiológica periférica envolve a saída do leite e o aumento das contrações uterinas, e sua função central envolve a neuromodulação do peptídeo vasopressina (AVP) (80).

Porém, a neuromodulação da OXT e da AVP está criticamente envolvida com vínculo e comportamentos sexuais, incluindo a ligação dos pares mãe-filho e adulto-adulto, angústia da separação, memória e reconhecimento social, assim como resposta ao estresse e regulação da alimentação (81). Como os danos sociais e déficits sociocognitivos estão presentes nas PEAs, muitos autores têm proposto que o sistema OXT esteja prejudicado em alguma fase do desenvolvimento desses indivíduos (82).

Modahl, Green, Fein, Morris, Waterhouse, Feinstein et al. (83) mediram os níveis de OXT plasmático em meninos com autismo, e os níveis foram mais baixo do que dos controles, sugerindo que o processamento do peptídeo está desregulado nos pacientes autistas. Posteriormente, Al-Ayadhi (84) realizou um segundo estudo, replicando os achados iniciais em outra população de autistas. Nesse mesmo estudo também foi encontrado baixos níveis de AVP no plasma dos portadores de PEAs.

Serotonina

A serotonina (5-hydroxytryptamine – 5-HT), como hormônio ou neurotransmissor do tipo monoamina, tem diversas funções, sendo a principal a modulação crítica da interação neuronal que dá suporte a diversos comportamentos e processos fisiológicos. A 5-HT age via diferentes transportadores específicos, receptores, e vias de sinalização intracelular (85).

Múltiplas linhas de pesquisa sugerem que uma sinalização serotoninérgica anormal estaria ligada ao desenvolvimento de patologias psiquiátricas e neurais. Elevadas concentrações de 5-HT no plasma, denominada hiperserotonemia, ocorre em aproximadamente 30% das crianças com PEAs (86,87). A 5-HT circulante no plasma é produzida no intestino, onde faz um papel crítico de regulação da motilidade e da inflamação (88).

Estes achados também são suportados por modelos animais. Camundongos transgênicos, com uma variante do gene SLC6A4, que codifica a proteína transportadora de 5-HT, exibem hiperserotonemia e possuem os mesmos prejuízos que os portadores de PEAs como menor número de vocalizações, prejuízo de interação social e comportamentos repetitivos (89).

A 5-HT também apresenta uma função de fator trófico durante o neurodesenvolvimento pré-natal (90). De acordo com modelos animais recentes, durante a gestação a 5-HT embrionária é primeiramente produzida pela placenta, utilizando triptofano materno, e subsequentemente a síntese de 5-HT é assumida pelos neurônios serotoninérgicos localizados nos núcleos da rafe, e que estendem suas projeções para o córtex, o gânglio basal, a amígdala, o hipocampo e o hipotálamo (91).

Anormalidades nos sistemas produtores de 5-HT no cérebro foram observados em pacientes autistas, incluindo uma alteração na trajetória de recaptção da 5-HT (92), e uma reduzida ligação entre os receptores de 5-HT e o SERT (93).

A consistência de associação entre elevadas concentrações de 5-HT no sangue e o autismo, assim como a relevância da 5-HT para o desenvolvimento neural, fazem das concentrações plasmáticas de 5-HT um candidato para biomarcador de PEAs (86). No entanto, estudos avaliando a 5-HT periférica em pacientes autistas diferem de acordo com a idade, o sexo, a etnia, as características do paciente, os protocolos de medição, e etc., e protocolos mais unificados devem ser criados para que as concentrações de 5-HT no plasma sejam utilizados como um biomarcador de PEAs.

Alterações eletrofisiológicas

O córtex cerebral de PEAs parece apresentar uma série de particularidades de funcionamento que se evidencia até mesmo no estado de repouso. Seus portadores falham em exibir atividade cortical característica de processos internos no córtex pré-frontal medial, cíngulo rostral anterior, cíngulo posterior e pré-cuneus (94).

O sistema de neurônios-espelho (SNE) possivelmente representa as mais características alterações eletrofisiológicas em portadores de PEAs. O SNE é um conjunto de neurônios do córtex pré-motor ventral de macacos que exibem atividade eletrofisiológica tanto ao manipular objetos, quanto ao observar outro macaco ou humano fazer ação similar (95). Posteriormente, Rizzolatti e Craighero (96) defenderam que estes neurônios são visuomotores e teriam implicações para as ações de imitação em humanos e animais, Teoria da Mente (capacidade de inferir pensamentos e antecipação de ações do outro) e empatia. Além disso, os autores adicionam a parte rostral do Lóbulo Parietal Superior como parte do SNE, além de afirmarem que o córtex do Sulco Temporal Superior está intimamente relacionado, apesar de não ser incluído no SNE pela ausência de neurônios motores.

Dadas as relações com imitação, o SNE logo foi incluído como um dos candidatos a disfunção nas PEAs (97) e experimentos posteriores confirmaram que este sistema, de fato, pode não exibir atividade em crianças PEAs (98). Mais do que isso, os autores encontraram uma relação inversa entre a desativação do Giro Frontal Inferior (parte opercular - equivalente ao córtex pré-motor ventral de macacos) e o grau de severidade dos prejuízos sociais das crianças.

Os prejuízos sociais também não podem ser explicados por variáveis como o Quociente de Inteligência (QI). Vale ressaltar que a atividade no córtex pré-motor está associada ao Ritmo Mu (μ) (99) e a atividade do SNE poderia ser inferida em humanos a partir do EEG. Tanto a execução, quanto a observação de ações intencionais provoca a supressão do Ritmo Mu. Interessantemente, Oberman, Pineda e Ramachandran (100) demonstraram que o grau de supressão do Ritmo Mu está diretamente relacionado ao

grau de familiaridade com a pessoa que executa o gesto observado. A supressão foi maior para indivíduos familiares ao observador do que para pessoas estranhas, e a diferença na supressão foi ainda maior para portadores de PEAs em relação a crianças com desenvolvimento típico (embora os resultados estatísticos tenham mostrado ausência de interação significativa entre grupo e familiaridade).

Este resultado também pode, em parte, explicar as diferenças observáveis no grau de interação dos portadores de PEAs com familiares e estranhos. Oberman, Pineda e Ramachandran (100) ainda defendem que o SNE responde também em portadores de PEAs, mas somente quando os indivíduos se identificam de uma forma pessoal com o estímulo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As perturbações do espectro autista (PEAs) tem etiologia complexa e provavelmente jamais será conhecido um único fator desencadeador da condição. Ainda assim, os sintomas observados são uniformes e implicam principalmente em

variado grau de prejuízo na interação social e execução de comportamentos repetitivos e estereotipados.

O conhecimento profundo dos possíveis fatores desencadeadores das PEAs, sejam eles genéticos, epigenéticos ou ambientais, tem o mérito de gerar melhores ações terapêuticas, que são ainda rudimentares. Os avanços na compreensão das alterações neurofisiológicas das PEAs apontam para resultados num futuro breve.

A melhor compreensão das relações entre o SNE e as PEAs pode resultar em ganhos consideráveis no tratamento dos seus portadores. A literatura científica tem vastos registros de que a imitação parece desempenhar papel importante na intervenção das PEAs, trazendo ganhos para a interação social e, portanto, para a qualidade de vida dos indivíduos (101).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o fomento da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE) para o presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- (1) Liu X, Takumi T. Genomic and genetic aspects of autism spectrum disorder. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **Biochem Biophys Res Commun**. 2014 Sep 19. v. 452(2):244-53. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.08.108.
- (2) Frieden TR, Jaffe HW, Cono J, Richards CL, Iademaro MF. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years – autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. **MMWR Surveill Summ**. 2014 Mar 28;63(2):1-21.
- (3) Canitano R. Epilepsy in autism spectrum disorders. **Eur Child Adolesc Psychiatry**. 2007 Feb. v. 16(1):61-6.
- (4) White SW, Oswald D, Ollendick T, Scahill L. Anxiety in children and adolescents with autism spectrum disorders. **Clin Psychol Rev**. 2009 Apr. v. 29(3):216-29. doi: 10.1016/j.cpr.2009.01.003
- (5) Richdale AL, Schreck KA. Sleep problems in autism spectrum disorders: prevalence, nature, and possible biopsychosocial aetiologies. **Sleep Med Rev**. 2009 Dec. v. 13(6):403-11. doi: 10.1016/j.smrv.2009.02.003.
- (6) Valicenti-McDermott M, Mcvicar K, Rapin I, Wershil BK, Cohen H, Shinnar S. Frequency of gastrointestinal symptoms in children with autistic spectrum disorders and association with family history of autoimmune disease. **J Dev Behav Pediatr**. 2006 Apr. v. 27(2 Suppl):S128-36.
- (7) Rogers SJ, Hepburn S, Wehner E. Parent reports of sensory symptoms in toddlers with autism and those with other developmental disorders. **J Autism Dev Disord**. 2003 Dec. v. 33(6):631-42.
- (8) Folstein S, Rosen-Sheidly B. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. **Nat Rev Genet**. 2001 Dec. v. 2(12):943-55.
- (9) Levitt P, Campbell DB. The genetic and neurobiologic compass points toward common signaling dysfunctions in autism spectrum disorders. **J Clin Invest**. 2009 Apr. v. 119(4):747-54. doi: 10.1172/JCI37934.

- (10) Betancur C, Sakurai T, Buxbaum JD. The emerging role of synaptic cell-adhesion pathways in the pathogenesis of autism spectrum disorders. **Trends Neurosci.** 2009 Jul. v. 32(7):402-12. doi: 10.1016/j.tins.2009.04.003
- (11) Zoghbi HY, Bear MF. Synaptic dysfunction in neurodevelopmental disorders associated with autism and intellectual disabilities. **Cold Spring Harb Perspect Biol.** 2012 Mar. v. 1;4(3). doi: 10.1101/cshperspect.a009886.
- (12) McInnes LA, Nakamine A, Pilorge M, Brandt T, Jiménez González P, Fallas M, Manghi ER, Edelmann L, Glessner J, Hakonarson H, Betancur C, Buxbaum JD. A large-scale survey of the novel 15q24 microdeletion syndrome in autism spectrum disorders identifies an atypical deletion that narrows the critical region. **Mol Autism.** 2010 Mar 19. v. 1(1):5. doi: 10.1186/2040-2392-1-5.
- (13) Siu WK, Lam CW, Gao WW, Vincent Tang HM, Jin DY, Mak CM. Unmasking a novel disease gene NEO1 associated with autism spectrum disorders by a hemizygous deletion on chromosome 15 and a functional polymorphism. **Behav Brain Res.** 2016 Mar 1. v. 300:135-42. doi: 10.1016/j.bbr.2015.10.041.
- (14) Ceylan AC, Citli S, Erdem HB, Sahin I, Acar Arslan E, Erdogan M. Importance and usage of chromosomal microarray analysis in diagnosing intellectual disability, global developmental delay, and autism; and discovering new loci for these disorders. **Mol Cytogenet.** 2018 Sep 24. v. 11:54. doi: 10.1186/s13039-018-0402-4
- (15) Kolevzon A, Gross R, Reichenberg A. Prenatal and perinatal risk factor for autism: a review and integration of findings. **Arch Pediatr Adolesc Med.** 2007 Apr. v. 161(4):326-33.
- (16) Guinchat V, Thorsen P, Laurent C, Cans C, Bodeau N, Cohen D. Pre-, peri- and neonatal risk factor for autism. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 2012 Mar. v. 91(3):287-300. doi: 10.1111/j.1600-0412.2011.01325.x.
- (17) Lintas, C. Linking genetics to epigenetics: The role of folate and folate-related pathways in neurodevelopmental disorders. **Clin Genet.** 2019 Jan, 11. v. 95(2):241-252. doi: 10.1111/cge.13421.
- (18) Ben-Ari Y, Khalilov I, Kahle KT, Cherubini E. The GABA excitatory/inhibitory shift in brain maturation and neurological disorders. **Neuroscientist.** 2012 Oct. v. 18(5):467-86.
- (19) Banerjee S, Riordan M, Bhat MA. Genetic aspects of autism spectrum disorders: insights from animal models. **Front Cell Neurosci.** 2014 Feb 24. v. 8:58. doi: 10.3389/fncel.2014.00058.
- (20) Sanders SJ, Ercan-Sencicek AG, Hus V, Luo R, Murtha MT, Moreno-De-Luca D, Chu SH, Moreau MP, Gupta AR, Thomson SA, Mason CE, Bilguvar K, Celestino-Soper PB, Choi M, Crawford EL, Davis L, Wright NR, Dhodapkar RM, DiCola M, DiLullo NM, Fernandez TV, Fielding-Singh V, Fishman DO, Frahm S... State MW et al. Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism. **Neuron.** 2011 Jun 9. v. 70(5):863-85. doi: 10.1016/j.neuron.2011.05.002.
- (21) Talkowski ME, Minikel EV, Gusella JF. Autism Spectrum Disorder Genetics: Diverse Genes with Diverse Clinical Outcomes. **Harv Rev Psychiatry.** 2014 Mar-Apr. v. 22(2):65-75. doi: 10.1097/HRP.0000000000000002.
- (22) Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. **Nature.** 2004 May 27. v. 429(6990):457-63.
- (23) Qiu J. Epigenetics: unfinished symphony. **Nature.** 2006 May 11. v. 441(7090):143-5.
- (24) Jiang H, Köhler C. Evolution, function, and regulation of genomic imprinting in plant seed development. **J Exp Bot.** 2012 Aug. v. 63(13):4713-22. doi: 10.1093/jxb/ers145.
- (25) International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (IMGSA). Further characterization of the autism susceptibility locus AUTS1 on chromosome 7q. **Hum Mol Genet.** 2001 Apr 15. v. 10(9):973-82.
- (26) Miyake K, Hirasawa T, Koide T, Kubota T. Epigenetics in autism and other neurodevelopmental diseases. **Adv Exp Med Biol.** 2012. v. 724:91-8. doi: 10.1007/978-1-4614-0653-2_7.

- (27) 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 Oct. v. 23(2):185-8.
- (28) Ma DK, Jang MH, Guo JU, Kitabatake Y, Chang ML, Pow-Anpongkul N, Flavell RA, Lu B, Ming GL, Song H. Neuronal activity-induced Gadd45b promotes epigenetic DNA demethylation and adult neurogenesis. **Science.** 2009 Feb 20. v. 323(5917):1074-7. doi: 10.1126/science.1166859.
- (29) Feil R, Fraga MF. Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. **Nat Rev Genet.** 2012 Jan 4. v. 13(2):97-109. doi: 10.1038/nrg3142.
- (30) Loke YJ, Hannan AJ, Craig JM. The role of epigenetic change in autism spectrum disorders. **Front Neurol.** 2015 May 26. v. 6:107. doi: 10.3389/fneur.2015.00107.
- (31) Giovedì S, Corradi A, Fassio A, Benfenati D. Involvement of synaptic genes in the pathogenesis of autism spectrum disorders: the case of synapsins. **Front Pediatr.** 2014 Sep 4. v. 2:94. doi: 10.3389/fped.2014.00094.
- (32) Bowling H, Klann E. Shaping Dendritic Spines in Autism Spectrum Disorder: mTORC1-Dependent Macroautophagy. **Neuron.** 2014 Sep 3. v. 83(5):994-6. doi: 10.1016/j.neuron.2014.08.021.
- (33) Tang G, Gudsruk K, Kuo SH, Cotrina ML, Rosoklija G, Sosunov A, Sonders MS, Kanter E, Castagna C, Yamamoto A, Yue Z, Arancio O, Peterson BS, Champagne F, Dwork AJ, Goldman J, Sulzer D. Loss of mTOR-Dependent Macroautophagy Causes Autistic-like Synaptic Pruning Deficits. **Neuron.** 2014 Sep 3. v. 83(5):1131-43. doi: 10.1016/j.neuron.2014.07.040.
- (34) Pinto D, Delaby E, Merico D, Barbosa M, Merikangas A, Klei L, Thiruvahindrapuram B, Xu X, Ziman R, Wang Z, Vorstman JA, Thompson A, Regan R, Pilorge M, Pellecchia G, Pagnamenta AT, Oliveira B, Marshall CR, Magalhães TR, Lowe JK, Howe JL, Griswold AJ, Gilbert J, Duketis E... Scherer SW. Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. **Am J Hum Genet.** 2014 May 1. v. 94(5):677-94. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.03.018.
- (35) Jamain S, Quach H, Betancur C, Råstam M, Colineaux C, Gillberg IC, Soderstrom H, Giros B, Leboyer M, Gillberg C, Bourgeron T; Paris Autism Research International Sibpair Study. Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 e NLGN4 are associated with autism. **Nat Genet.** 2003 May. v. 34(1):27-9.
- (36) Zoghbi HY. Postnatal neurodevelopmental disorders: meeting at the synapse? **Science.** 2003 Oct 31. v. 302(5646):826-30.
- (37) Sudhof TC. Neuroligins and neurexins link synaptic function to cognitive disease. **Nature.** 2008 Oct 16. v. 455(7215): 903–911. doi: 10.1038/nature07456.
- (38) Redies C, Hertel N, Hübner CA. Cadherins and neuropsychiatric disorders. **Brain Res.** 2012 Aug 27. v. 1470:130-44. doi: 10.1016/j.brainres.2012.06.020.
- (39) Jiang YH, Ehlers MD. Modeling autism by SHANK gene mutations in mice. **Neuron.** 2013 Apr 10. v. 78(1):8-27. doi: 10.1016/j.neuron.2013.03.016.
- (40) Shao Y, Cuccaro ML, Hauser ER, Raiford KL, Menold MM, Wolpert CM, Ravan SA, Elston L, Decena K, Donnelly SL, Abramson RK, Wright HH, DeLong GR, Gilbert JR, Pericak-Vance MA. Fine mapping of autistic disorder to chromosome 15q11-q13 by use of phenotypic subtypes. **Am J Hum Genet.** 2003 Mar. v. 72(3):539-48.
- (41) Li X, Zou H, Brown, WT. Genes associated with autism spectrum disorder. **Brain Res Bull.** 2012 Sep 1. v. 88(6):543-52. doi: 10.1016/j.brainresbull.2012.05.017.
- (42) Schmunk G, Gargus JJ. Channelopathy pathogenesis in autism spectrum disorders. **Front Genet.** 2013 Nov 5. v. 4:222. doi: 10.3389/fgene.2013.00222.
- (43) Kumar RA, Sudi J, Babatz TD, Brune CW, Oswald D, Yen M, Nowak NJ, Cook EH, Christian SL, Dobyns WB. A de novo 1p34.2 microdeletion identifies the synaptic vesicle gene RIMS3 as a novel candidate for autism. **J Med Genet.** 2010

- Feb. v. 47(2):81-90. doi: 10.1136/jmg.2008.065821.
- (44) Hamdan FF, Daoud H, Piton A, Gauthier J, Dobrzyńska S, Krebs MO, Joobor R, Lacaille JC, Nadeau A, Milunsky JM, Wang Z, Carmant L, Mottron L, Beauchamp MH, Rouleau GA, Michaud JL. De novo SYNGAP1 mutations in nonsyndromic intellectual disability and autism. **Biol Psychiatry**. 2011 May 1. v. 69(9):898-901. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.11.015.
- (45) Berryer MH, Hamdan FF, Klitten LL, Møller RS, Carmant L, Schwartzenuber J, Patry L, Dobrzyńska S, Rochefort D, Neugnot-Ceroli M, Lacaille JC, Niu Z, Eng CM, Yang Y, Palardy S, Belhumeur C, Rouleau GA, Tommerup N, Immken L, Beauchamp MH, Patel GS, Majewski J, Tarnopolsky MA, Scheffzek K... Di Cristo, G. Mutations in SYNGAP1 cause intellectual disability, autism and a specific form of epilepsy by inducing haploinsufficiency. **Hum Mutat**. 2013 Feb. v. 34(2):385-94. doi: 10.1002/humu.22248.
- (46) Qin L, Ma K, Wang ZJ, Hu Z, Matas E, Wei J, Yan Z. Social deficits in Shank3-deficient mouse models of autism are rescued by histone deacetylase (HDAC) inhibition. **Nat Neurosci**. v.21:564–575. doi:10.1038/s41593-018-0110-8.
- (47) Geschwind DH, Levitt P. Autism spectrum disorders-developmental disconnection syndromes. **Curr Opin Neurobiol**. 2007 Feb. v. 17(1):103-11.
- (48) Herbert MR. Contributions of the environment and environmentally vulnerable physiology to autism spectrum disorders. **Curr Opin Neurol**. 2010 Apr. v. 23(2):103-10. doi: 10.1097/WCO.0b013e328336a01f.
- (49) Saunders NR, Liddel SA, Dziegielewska K. Barrier mechanisms in the developing brain. **Front Pharmacol**. 2012 Mar 29. v. 3:46. doi: 10.3389/fphar.2012.00046.
- (50) Diamond B, Honig G, Mader S, Brimberg L, Volpe BT. Brain-reactive antibodies and disease. **Annu Rev Immunol**. 2013. v. 31:345-85. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-075041.
- (51) Lee JY, Huerta PT, Zhang J, Kowal C, Bertini E, Volpe BT, Diamond B. Neurotoxic autoantibodies mediate congenital cortical impairment of offspring in maternal lupus. **Nat Med**. 2009 Jan. v. 15(1):91-6. doi: 10.1038/nm.1892.
- (52) Wang L, Zhou D, Lee J, Niu H, Faust TW, Frattini S, Kowal C, Huerta PT, Volpe BT, Diamond B. Female mouse fetal loss mediated by maternal antibody. **J Exp Med**. 2012 Jun 4. v. 209(6):1083-9. doi: 10.1084/jem.20111986.
- (53) Braunschweig D, Van de Water J. Maternal autoantibodies in autism. **Arch Neurol**. 2012 Jun. v. 69(6):693-9. doi: 10.1001/archneurol.2011.2506.
- (54) Braunschweig D, Krakowiak P, Duncanson P, Boyce R, Hansen RL, Ashwood P, Hertz-Picciotto I, Pessah IN, Van de Water J. Autism-specific maternal autoantibodies recognize critical proteins in developing brain. **Transl Psychiatry**. 2013 Jul 9. v. 3:e277. doi: 10.1038/tp.2013.50.
- (55) Patterson PH. Maternal infection and immune involvement in autism. **Trends Mol Med**. 2011 Jul. v. 17(7):389-94. doi: 10.1016/j.molmed.2011.03.001.
- (56) Swisher CN, Swisher L. Letter: congenital rubella and autistic behavior. **N Engl J Med**. 1975 Jul 24. v. 293(4):198.
- (57) Goines P, Croen LA, Braunschweig D, Yoshida CK, Grether J, Hansen R, Kharrazi M, Ashwood P, Van De Water J. Increased midgestational IFN- γ , IL-4 and IL-5 in women bearing a child with autism: a case-control study. **Molecular autism**. 2011, Aug. v.2:13. doi: 10.1186/2040-2392-2-13.
- (58) Abdallah MW, Larsen N, Grove J, Nørgaard-Pedersen B, Thorsen P, Mortensen EL, Hougaard DM. Amniotic fluid inflammatory cytokines: potential markers of immunologic dysfunction in autism spectrum disorders. **World J Biol Psychiatry**. 2013 Sep. v. 14(7):528-38. doi:10.3109/15622975.2011.639803.
- (59) Estes ML, Mcallister AK. Immune mediators in the brain and peripheral tissues in autism spectrum disorder. **Nat Rev Neurosci**. 2015 Aug. v. 16(8):469-86. doi: 10.1038/nrn3978.
- (60) Onore C, Careaga M, Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. **Brain Behav**

- Immun.** 2012 Mar. v. 26(3):383-92. doi: 10.1016/j.bbi.2011.08.007.
- (61) Mostafa GA, Al-Ayadhi LY. The possible relationship between allergic manifestations and elevated serum levels of brain specific auto-antibodies in autistic children. **J Neuroimmunol.** 2013 Aug 15. v. 261(1-2):77-81. doi: 10.1016/j.jneuroim.2013.04.003.
- (62) Singh VK, Warren R, Averett R, Ghaziuddin M. Circulating autoantibodies to neuronal and glial filament proteins in autism. **Pediatr Neurol.** 1997 Jul. v. 17(1):88-90.
- (63) Singer HS, Morris CM, Williams PN, Yoon DY, Hong JJ, Zimmerman AW. Antibrain antibodies in children with autism and their unaffected siblings. **J Neuroimmunol.** 2006 Sep. v. 178(1-2):149-55.
- (64) Wills S, Cabanlit M, Bennett J, Ashwood P, Amaral DG, Van de Water J. Detection of autoantibodies to neural cells of the cerebellum in the plasma of subjects with autism spectrum disorders. **Brain Behav Immun.** 2009 Jan. v. 23(1):64-74. doi: 10.1016/j.bbi.2008.07.007.
- (65) Vargas DL, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman AW, Pardo CA. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. **Ann Neurol.** 2005 Jan. v. 57(1):67-81.
- (66) Molloy CA, Morrow AL, Meinzen-Derr J, Schleifer K, Dienger K, Manning-Courtney P, Altaye M, Wills-Karp M. Elevated cytokine levels in children with autism spectrum disorder. **J Neuroimmunol.** 2006 Mar. v. 172(1-2):198-205.
- (67) Okada K, Hashimoto K, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Tsuchiya KJ, Sekine Y, Suda S, Suzuki K, Sugihara G, Matsuzaki H, Sugiyama T, Kawai M, Minabe Y, Takei N, Mori N.. Decreased serum levels of transforming growth factor- β 1 in patients with autism. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** 2007 Jan 30. v. 31(1):187-90.
- (68) Ashwood P, Enstrom A, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen RL, Croen LA, Ozonoff S, Pessah IN, Van de Water J. Decreased transforming growth factor β -1 in autism: a potential link between immune dysregulation and impairment in clinical behavioral outcomes. **J Neuroimmunol.** 2008 Nov 15. v. 204(1-2):149-53. doi: 10.1016/j.jneuroim.2008.07.006.
- (69) Ashwood P, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen R, Pessah I, Van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. **Brain Behav Immun.** 2011 Jan. v. 25(1):40-5. doi: 10.1016/j.bbi.2010.08.003.
- (70) Ashwood P, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen R, Pessah IN, Van de Water J. Associations of impaired behavior with elevated plasma chemokines in autism spectrum disorders. **J Neuroimmunol.** 2011 Mar. v. 232(1-2):196-9. doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.10.025.
- (71) Enstrom AM, Onore CE, Van de Water JA, Ashwood P. Differential monocyte responses to TLR ligands in children with autism spectrum disorders. **Brain Behav Immun.** 2010 Jan. v. 24(1):64-71. doi: 10.1016/j.bbi.2009.08.001.
- (72) Nelson SB, Valakh V. Excitatory/Inhibitory Balance and Circuit Homeostasis in Autism Spectrum Disorders. **Neuron.** 2015 Aug 19. v. 87(4):684-98. doi: 10.1016/j.neuron.2015.07.033.
- (73) Bolton PF, Carcani-Rathwell I, Hutton J, Goode S, Howlin P, Rutter M. Epilepsy in autism: features and correlates. **Br J Psychiatry.** 2011 Apr. v. 198(4):289-94. doi: 10.1192/bjp.bp.109.076877.
- (74) Frye RE, Rossignol D, Casanova MF, Brown GL, Martin V, Edelson S, Coben R, Lewine J, Slattery JC, Lau C, Hardy P, Fatemi SH, Folsom TD, Macfabe D, Adams JB. A review of traditional and novel treatments for seizures in autism spectrum disorder: findings from a systematic review and expert panel. **Front Public Health.** 2013 Sep 13. v. 1:31. doi: 10.3389/fpubh.2013.00031.
- (75) Cellot G, Cherubini E. GABAergic signaling as therapeutic target for autism. **Front Pediatr.** 2014 Jul 8. v. 2:70. doi: 10.3389/fped.2014.00070.

- (76) Oblak AL, Gibbs TT, Blatt GJ. Decreased GABAB receptors in the cingulate cortex and fusiform gyrus in autism. **J Neurochem**. 2010 Sep 1. v. 114(5):1414-23. doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06858.x.
- (77) Whitney ER, Kemper TL, Bauman ML, Rosene DL, Blatt GJ. Cerebellar Purkinje cells are reduced in a subpopulation of autistic brains: a stereological experiment using calbindin-D28k. **Cerebellum**. 2008. v. 7(3):406-16. doi: 10.1007/s12311-008-0043-y.
- (78) Bartz J, Hollander E. Oxytocin and experimental therapeutics in autism spectrum disorders. **Prog Brain Res**. 2008;170. v. 451-62. doi: 10.1016/S0079-6123(08)00435-4.
- (79) Panksepp J. Oxytocin effects on emotional processes: separation distress, social bonding, and relationships to psychiatric disorders. **Ann N Y Acad Sci**. 1992 Jun 12. v. 652:243-52.
- (80) Burbach JPH, Young LJ, Russell JA. Oxytocin: synthesis, secretion, and reproductive functions. In: Neill JD, editor. **Knobil and Neill's physiology of reproduction**. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier. 2006. p.3055-3128.
- (81) McCarthy MM, Altemus M. Central nervous system actions of oxytocin and modulation of behavior in humans. **Mol Med Today**. 1997 Jun. v. 3(6):269-75.
- (82) Green JJ, Hollander E. Autism and Oxytocin: New developments in translational approaches to therapeutics. **Neurotherapeutics**. 2010 Jul. v. 7(3):250-7. doi: 10.1016/j.nurt.2010.05.006.
- (83) Modahl C, Green L, Fein D, Morris M, Waterhouse L, Feinstein C, Levin H. Plasma oxytocin levels in autistic children. **Biol Psychiatry**. 1998 Feb 15. v. 43(4):270-7.
- (84) Al-Ayadhi LY. Altered oxytocin and vasopressin levels in autistic children in Central Saudi Arabia. **Neurosciences (Riyadh)**. 2005 Jan. v. 10(1):47-50.
- (85) Adamsen D, Ramaekers V, Ho HT, Britschgi C, Rüfenacht V, Meili D, Bobrowski E, Philippe P, Nava C, Van Maldergem L, Bruggmann R, Walitza S, Wang J, Grünblatt E, Thöny B. Autism spectrum disorder associated with low serotonin in CSF and mutations in the SLC29A4 plasma membrane monoamine transporter (PMAT) gene. **Mol Autism**. 2014 Aug 13. v. 5:43. doi: 10.1186/2040-2392-5-43.
- (86) Gabriele S, Sacco R, Persico AM. Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. **Eur Neuropsychopharmacol**. 2014 Jun. v. 24(6):919-29. doi: 10.1016/j.euroneuro.2014.02.004.
- (87) Marler S, Ferguson BJ, Lee EB, Peters B, Williams KC, McDonnell E, Macklin EA, Levitt P, Gillespie CH, Anderson GM, Margolis KG, Beversdorf DQ, Veenstra-VanderWeele J. Brief report: Whole Blood Serotonin Levels and Gastrointestinal Symptoms in Autism Spectrum Disorder. **J Autism Dev Disord**. 2016 Mar. v. 46(3):1124-30. doi: 10.1007/s10803-015-2646-8.
- (88) Gershon MD. 5-Hydroxytryptamine (serotonin) in the gastrointestinal tract. **Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes**. 2013 Feb. v. 20(1):14-21. doi: 10.1097/MED.0b013e32835bc703.
- (89) Veenstra-VanderWeele J, Muller CL, Iwamoto H, Sauer JE, Owens WA, Shah CR, Cohen J, Mannangatti P, Jessen T, Thompson BJ, Ye R, Kerr TM, Carneiro AM, Crawley JN, Sanders-Bush E, McMahon DG, Ramamoorthy S, Daws LC, Sutcliffe JS, Blakely RD. Autism gene variant causes hyperserotonemia, serotonin receptor hypersensitivity, social impairment and repetitive behavior. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2012 Apr 3. v. 109(14):5469-74. doi: 10.1073/pnas.1112345109.
- (90) Persico AM. Developmental roles of the serotonin transporter. In: Kalueff AV. (Ed.), **Experimental Models in Serotonin Transporter Research**. Cambridge University Press, UK, 2009. p.78-104.
- (91) Bonnin A, Goeden N, Chen K, Wilson ML, King J, Shih JC, Blakely RD, Deneris ES, Levitt P. A transient placental source of serotonin for the fetal forebrain. **Nature**. 2011 Apr 21. v. 472(7343):347-50. doi: 10.1038/nature09972.
- (92) Chugani DC, Muzik O, Behen M, Rothermel R, Janisse JJ, Lee J, Chugani HT. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic

- and nonautistic children. **Ann Neurol.** 1999 Mar. v. 45(3):287-95.
- (93) Nakamura K, Sekine Y, Ouchi Y, Tsujii M, Yoshikawa E, Futatsubashi M, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Iwata Y, Suzuki K, Matsuzaki H, Suda S, Sugiyama T, Takei N, Mori N. Brain serotonin and dopamine transporter bindings in adults with high functioning autism. **Arch Gen Psychiatry.** 2010 Jan. v. 67(1):59-68. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.137.
- (94) Kennedy DP, Redcay E, Courchesne E. Failing to deactivate: Resting functional abnormalities in autism. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2006 May 23. v. 103(21):8275-80.
- (95) Rizzolatti G, Arbib MA. Language within our grasp. **Trends Neurosci.** 1998 May. v. 21(5):188-94.
- (96) Rizzolatti G, Craighero L. The Mirror-Neuron System. **Annu Rev Neurosci.** 2004. v. 27:169-92.
- (97) Oberman LM, Pineda JA, Ramachandran VS. The human mirror neuron system: A link between action observation and social skills. **Soc Cogn Affect Neurosci.** 2007 Mar. v. 2(1):62-6. doi: 10.1093/scan/nsl022.
- (98) Dapretto M, Davies MS, Pfeifer JH, Scott AA, Sigman M, Bookheimer SY, Iacoboni M. Understanding emotions in others-mirror neuron dysfunction in children with autism spectrum disorders. **Nat Neurosci.** 2006 Jan. v. 9(1):28-30.
- (99) Brown EC, Wiersema JR, Pourtois G, Brüne M. Modulation of motor cortex activity when observing rewarding and punishing actions. **Neuropsychologia.** 2013 Jan. v. 51(1):52-8. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2012.11.005.
- (100) Oberman LM, Pineda JA, Ramachandran VS. Modulation of mu suppression in children with autism spectrum disorders in response to familiar or unfamiliar stimuli: The mirror neuron hypothesis. **Neuropsychologia.** 2008 Apr. v. 46(5):1558-65. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2008.01.010.
- (101) Stephens CE. Spontaneous imitation by children with autism during a repetitive musical play routine. **Autism.** 2008 Nov. v. 12(6):645-71. doi: 10.1177/1362361308097117.

Enviado: 17/03/2019
Revisado: 05/06/2019
Aceito: 20/08/2019