

UNIVERSIDADE PRESBITERIANA MACKENZIE

Fabiane Trevizan

**Polimorfismo T102C do gene receptor 2A da serotonina: pesquisa
em indivíduos da população e relação com os Transtornos
Invasivos do Desenvolvimento**

São Paulo 2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FABIANE TREVIZAN

POLIMORFISMO T102C DO GENE RECEPTOR 2A DA SEROTONINA: PESQUISA EM
INDIVÍDUOS DA POPULAÇÃO E RELAÇÃO COM OS TRANSTORNOS INVASIVOS
DO DESENVOLVIMENTO

Dissertação apresentada à Universidade
Presbiteriana Mackenzie, como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre no curso de
Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento.

ORIENTADOR: PROF. DR. DÉCIO BRUNONI

São Paulo

2006

FABIANE TREVIZAN

POLIMORFISMO T102C DO GENE RECEPTOR 2A DA SEROTONINA:
pesquisa em indivíduos da população e relação com os Transtornos Invasivos do
Desenvolvimento

Dissertação apresentada à Universidade
Presbiteriana Mackenzie, como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre no curso de
Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento.

Aprovada em 30 de janeiro de 2007.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Décio Brunoni
Universidade Presbiteriana Mackenzie

Prof. Dr. Marcos Tomanik Mercadante
Universidade Presbiteriana Mackenzie

Prof. Dr. Ana Beatriz Alvarez Perez
Universidade Federal de São Paulo

À minha mãe e a Branca, quem mais me incentivaram; ao meu marido por compartilhar e ser amigo nos momentos mais difíceis; ao novo espírito que está chegando em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente ao meu orientador, Prof. Dr. Décio Brunoni, por sua dedicação, orientação, auxílio e paciência comigo durante este período em que convivemos.

Também gostaria de agradecer aos membros da banca: Prof. Dr. Marcos Tomanik Mercadante e Profa. Dra. Ana Beatriz Alvarez Peres, por participarem e opinarem neste trabalho dando sua honrosa contribuição e em especial a Dra. Beatriz, por me acolher e disponibilizar um espaço no laboratório da UNIFESP, sem o qual este projeto não teria sido desenvolvido.

Aos professores do Programa de Distúrbios do Desenvolvimento, sobretudo aos Profs. Dr. José Salomão Schwartzman, Dra. Maria Eloisa Famá D'Antino e Dr. Elizeu Coutinho de Macedo, pelo incentivo que representaram na minha vida.

Um agradecimento muito, muito especial à Naja Vergani, Mariana Porto, Lúcia Valéria e todos os colegas da UNIFESP, que me ensinaram a Biologia Molecular na prática e me deram tanto apoio.

Agradeço também às Profas. Denise de Carvalho do Centro de Estudos do Genoma Humano da USP e a Profa. Maria Beatriz Riveron Acosta do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde do Mackenzie, que apesar do rápido convívio e dos contratempos me auxiliaram em momentos difíceis.

Aos meus amigos do curso de mestrado, Ana Cristina, Fê Orsati, Carol, Kath, Sabrina, e todas, por todo o tempo que estivemos juntas, pelas brincadeiras e momentos sérios.

À minha família pela compreensão de minha ausência, carinho empregado e por me fazer tão feliz e capaz. Sem vocês eu não chegaria até aqui, mesmo.

Aos colegas do SESI pela agradável convivência e estímulo nas horas desanimadoras.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Instituto Presbiteriano Mackenzie por intermédio do MACKPESQUISA, que me concederam, respectivamente, uma bolsa e apoio financeiro durante a realização deste mestrado, fato este que muito contribuiu para viabilização desta tese. Portanto, deixo aqui expressos meus agradecimentos.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Obrigada!

História Natural

Cobras cegas são notívagas.
O orangotango é profundamente solitário.
Macacos também preferem o isolamento.
Certas árvores só frutificam de vinte e cinco em
vinte e cinco anos.
Andorinhas copulam no vôo.
O mundo não é o que pensamos.

Carlos Drummond de Andrade in: O corpo

RESUMO

Os Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (TIDs), são uma doença neuropsiquiátrica com profundas consequências sócio-familiares que começam na infância precoce e afetam um número significativo de crianças e suas famílias. Ainda que as causas e muito da fisiopatologia do transtorno ainda sejam desconhecidas, atualmente, a convergência entre tecnologias genômicas em rápido avanço e trabalhos que investigam pacientes e famílias com metodologia genético-clínica, citogenética e biologia molecular, acumulam uma série de informações que implicam os genes na etiologia dos TIDs. Resultados de trabalhos apontam a serotonina (5-HT) associada a diversos processos psicológicos incluindo o humor, ansiedade, sintomas obsessivo-compulsivos e interação social. Resultados consistentes têm indicado hiperserotonemia plaquetária em 30% dos pacientes com TIDs. Polimorfismos envolvendo o gene produtor da triptofano-hidroxilase são quase todos não funcionais e pouco estudados nos TIDs. No presente trabalho descrevemos, baseado na literatura científica atual, a caracterização dos estudos genéticos para os TIDs em geral e do sistema serotoninérgico em particular. Também investigamos através de amostras de sangue periférico o polimorfismo T102C no gene HTR2A em 206 indivíduos da população normal separados por sexo e antecedentes raciais e 9 pacientes que cumpriram os critérios diagnósticos para TID e os respectivos pais biológicos desses pacientes. Resultados: considerando tanto a classificação sexual, quanto a variável raça, não houve evidência de diferença significativa, apresentando no teste do qui-quadrado os valores ($\chi^2=0,19$; GL=2; $p=0,907$) para diferença sexual e ($\chi^2=0,54$; GL=2; $p=0,762$) para a classificação racial, estando a amostra em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Nos pacientes analisados, a frequência dos genótipos TT foi de 33,33%; do genótipo CT foi de 66,67% e do genótipo CC foi de 0%. O genótipo CC, considerado vulnerável não foi encontrado entre os pacientes. Conclusão: embora os estudos etiológicos indiquem que os TIDs são um transtorno com forte suscetibilidade genética, os genes responsáveis por esta doença complexa não foram definidos ainda. Entre os possíveis genes, aqueles envolvidos com a diferenciação embriológica e funcionamento dos neurônios produtores da serotonina, estão merecendo destaque atual. A existência de múltiplos polimorfismo nestes genes torna atraente o estudo deles em nossa população. Auxílio: CAPES, Macpesquisa.

Palavras-chave: Transtorno Invasivo do Desenvolvimento, Genética dos TIDs, Autismo, Serotonina, HTR2A, polimorfismo T102C.

ABSTRACT

The “Pervasive Developmental Disorders” (PDD) are neuropsychiatric diseases from social – familiar consequences that begin in the precocious infancy and affect a significant number of children and their families. Although the causes and physiopathology of the disorder are unknown, nowadays the convergence between genomics technology in fast advance and works that investigate patients and families with methodological genetic-clinic, cytogenetic and molecular biology, accumulate information that implicate the genes in the PDD etiology. Work results point that serotonin (5-HT) is associated to several psychological process including humor, anxiety, compulsive-obsessive symptoms and social interaction. Consistent results have shown plaquetary hyperserotonemia in 30% of PDD patients. Polymorphysm including the producer gene of tryptophan are almost all of them no functional and few studied in PDD. In the present work are described, based on current scientific literature, the characterization of genetic studies to the PDD in general and of serotoninergic system in particular. This work also investigate through periferic blood samples, the polymorphysm T102C in the gene HTR2A in 206 people of normal population separately by sex, racial background and 9 patients that fulfill the diagnostic criteria to PDD and their respective biological parents. Results: Considering both sex and racial variety, there were no evidence of significant difference in the qui-squared test, presenting the values ($\chi^2=0,19$; GL=2; p=0,907) to sexual difference and ($\chi^2=0,54$; GL=2; p=0,762) to racial classification; these sample are in Hardy-Weinberg equilibrium. In the analyzed patients, the frequency of genotype TT was 33,33%; genotype CT 66,67% and genotype CC was 0%. The CC genotype, considered vulnerable was not found in the patients. Conclusion: Even though the ethnologic studies indicate that PDD are disorders with strong genetic touchness, the responsible genes for these complex diseases were not defined yet. Among the possible genes, the involved with embryologic differentiation and operation of neurons producers of serotonin deserve current highlight. The existence of multiples polymorphysm in these genes makes attractive their study in our population.

Key words: Pervasive Developmental Disorders, PDD Genetic, Autism, Serotonin, HTR2A, polymorphysmT102C.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Projeções do Sistema Serotoninérgico a partir dos Núcleos de Rafe.....	45
Figura 2 - Captação do Triptofano e Metabolismo da Serotonina em Repouso.....	48
Figura 3 - Síntese e Degradação da Serotonina.....	51
Figura 4 - Modelo de Sinapse Serotoninérgica.....	53
Figura 5 – Fisiologia normal da Liberação Sináptica da Serotonina	53
Figura 6 – Fisiologia do Aumento do Nível de Serotonina.....	54
Figura 7 – Representação Esquemática da Barreira Hemato-Encefálica (BBB).....	58
Figura 8 – Cromossomo 13.....	62
Figura 9 - Estrutura de HTR2A e de Região circunvizinha.....	62
Figura 10 - Gel de Agarose mostrando os três Genótipos do Polimorfismo T102C.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios Diagnósticos do DSM-IV para Transtorno Autista.....	22
Tabela 2 - Distribuição dos genótipos observados para o Polimorfismo T102C do gene HTR2A nos grupos controles separados por sexo.....	78
Tabela 3 - Distribuição dos genótipos observados para o Polimorfismo T102C do gene HTR2A nos grupos controles separados por raça	78
Tabela 4 - Distribuição dos genótipos nos grupos familiares dos pacientes analisados para o Polimorfismo T102C do gene HTR2A.....	80

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Condições Clínicas Associados com o Autismo.....	27
Quadro 2 – Resultado dos Estudos Obtidos com Gêmeos.....	31
Quadro 3 – Estudos Genéticos nos TIDs	38
Quadro 4 - Principais Estudos, Regiões cromossômicas e Genes candidatos associados aos TIDs.....	40
Quadro 5 – Principais Vias Serotoninérgicas, suas projeções e implicações fisiológicas e clínicas.....	46
Quadro 6 – Subtipos de Receptores 5HT1 e suas Funções.....	60
Quadro 7 – Receptores de Serotonina.....	61
Quadro 8 – Principais Estudos que evidenciaram o envolvimento de Polimorfismos do Receptor 2A da Serotonina com Transtornos Neurológicos.....	65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	JUSTIFICATIVA	14
3	OBJETIVO	15
4	FUNDAMENTAÇÃO	15
4.1	Histórico	15
4.1.1	<i>Caracterização clínico-epidemiológica e critérios diagnósticos</i>	19
4.1.2	<i>Classificação dos TIDs</i>	25
4.2	Síndromes Associadas	26
4.3	Génética dos TIDs	28
4.3.1	<i>Evidências Neurobiológicas</i>	28
4.3.2	<i>Estudos de Gêmeos e Estudos de Família</i>	30
4.3.3	<i>Estudos Cromossômicos e de Ligação</i>	32
4.4	Sistema Serotoninérgico	41
4.4.1	<i>Neurotransmissores</i>	41
4.4.2	<i>Evolução</i>	42
4.4.3	<i>Histórico</i>	43
4.4.4	<i>Vias Serotoninérgicas</i>	44
4.4.5	<i>Triptofano</i>	46
4.4.6	<i>Formação Química da Serotonina</i>	49
4.4.7	<i>Sinapse Serotoninérgica</i>	51
4.4.8	<i>Causas do Aumento do Nível de Serotonina</i>	54
4.4.9	<i>Evidências do Aumento do Nível de Serotonina em Autistas</i>	55
4.4.10	<i>Barreira Hemato-Encefálica e TIDs</i>	56
4.4.11	<i>Transportadores de Serotonina</i>	58
4.4.12	<i>Receptores de Serotonina</i>	59
4.5	Receptor 5HTR2A	62
4.5.1	<i>Localização</i>	62
4.5.2	<i>Estudos Genéticos e Moleculares</i>	62
4.5.3	<i>Polimorfismo T102C</i>	65
5	CASUÍSTICA E MÉTODO	68
5.1	Sujeitos	68

5.1.1	<i>Amostra da População</i>	68
5.1.2	<i>Amostra de Afetados</i>	69
5.1.3	<i>Tamanho da Amostra</i>	69
5.2	Instrumentos	70
5.2.1	<i>Fatores Genéticos em Estudo</i>	70
5.2.2	<i>Delineamento.....</i>	70
5.3	Procedimentos	71
5.3.1	<i>Extração de DNA</i>	71
5.3.2	<i>Soluções para extração de DNA</i>	72
5.3.3	<i>PCR</i>	73
5.3.4	<i>Digestão do Produto de PCR.....</i>	74
5.3.5	<i>Eletroforese</i>	75
5.3.6	<i>Preparação dos Géis para Eletroforese</i>	77
5.3.7	<i>Tampão de Corrida para Eletroforese</i>	77
5.3.8	<i>Padronização dos Métodos.....</i>	77
6	RESULTADO E DISCUSSÃO.....	78
6.1	Amostra de Indivíduos Normais.....	78
6.2	Amostra de Indivíduos com TID.....	80
7	CONCLUSÃO.....	84
8	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	89

1 INTRODUÇÃO

A quarta edição do Manual de Diagnóstico e Estatística de Doenças Mentais (DSM-IV-R, 2000) da Associação Psiquiátrica Americana (APA) 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” (PDD) traduzidos nas edições brasileiras, por um e outro como, respectivamente, Distúrbios Globais do Desenvolvimento e Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (TID). Nesta categoria diagnóstica interessa-nos o Autismo, a síndrome de Asperger e o Transtorno Global do Desenvolvimento sem outra especificação.

Os TIDs prejudicam a interação social, a comunicação e o comportamento sendo assim responsáveis por um custo social elevado, comprometendo os portadores e seus familiares. Segundo as informações do “Autism Information Center” dos “Centers of Disease Control –CDC” dos EUA, esta condição afeta indivíduos de todos os extratos raciais e nível sócio-econômico com uma prevalência alta, que pode chegar a 5 casos por 1000 crianças. É um distúrbio do desenvolvimento humano e como tal o histórico do desenvolvimento infantil é crucial no diagnóstico. A suspeita diagnóstica ocorre entre 12 e 15 meses de idade mas o diagnóstico formal costuma ser feito na criança pré-escolar ou mesmo já escolar com grande prejuízo às intervenções precoces terapêuticas.

Apesar de intensa investigação desde que foi reconhecido como uma entidade clínica por Leo Kanner em 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 Sistema Nervoso Central (SNC), determinado por fatores biológicos. Exames de neuro-imagem, o refinamento dos eletro-encefalogramas 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.

2 JUSTIFICATIVA

As pesquisas mais recentes sugerem que a etiologia dos TIDs seja multifatorial. Evidências acumuladas têm sugerido desequilíbrios em vários sistemas neuroquímicos, primariamente o dopaminérgico e o serotoninérgico, como sendo relevantes para a fisiopatologia deste transtorno.

Nos últimos anos, inúmeros pesquisadores vêm tentando identificar genes de suscetibilidade para doenças psiquiátricas ou distúrbios de comportamento. Identificou-se, por exemplo, um polimorfismo ligado ao gene transportador da serotonina que causa uma recaptação diminuída dessa substância na fenda sináptica (HEIL et al., 1996).

Evidências de níveis aumentados de serotonina no sangue periférico de pacientes com TIDs sugerem um forte relação deste neurotransmissor com o transtorno e genes que codificam proteínas participantes do sistema serotoninérgico são, portanto, fortes candidatos para o estudo em TIDs.

Os genes envolvidos na síntese das proteínas que participam do sistema de produção, transporte, captação e recaptação da serotonina são altamente polimórficos. Conhecer a frequência destas variantes polimórficas na população geral e em indivíduos afetados

permitem a realização de estudos de associação, uma das estratégias na procura de genes possivelmente envolvidos com os TID. Tais estudos não têm sido levados a efeito na população e em pacientes brasileiros.

3 OBJETIVO

Os objetivos do presente projeto são: a) revisar a bibliografia sobre a genética dos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento de uma maneira geral e do sistema serotoninérgico em particular; b) determinar a frequência da mutação T102C no gene que codifica o receptor da 5-hidroxitriptamina (serotonina) 2A (HTR2A) em indivíduos normais.

4 FUNDAMENTAÇÃO

4.1 Histórico

Em 1938, Leo Kanner (1894-1981), médico psiquiatra nascido na Áustria e radicado nos EUA desde 1924, Professor Associado de Psiquiatria na Universidade Johns Hopkins, em Baltimore, descreveu um garoto de cinco anos de idade:

"[...] eu fiquei perplexo com as peculiaridades que Donald exibía; desde a idade de dois anos e meio, ele conseguia dizer os nomes de todos os presidentes e vice-presidentes, falar as letras do alfabeto na sequência habitual e de trás para frente e recitar de forma impecável o salmo 23; ao mesmo tempo, era incapaz de manter uma conversação ordinária; não estabelecia contacto com as pessoas, embora pudesse nomear objetos com facilidade; sua memória era fenomenal; as poucas vezes em que se dirigia a alguém, em geral para satisfazer as suas necessidades, referia-se a ele mesmo como "você", e à outra pessoa como "eu"; ele não respondia a nenhum teste de inteligência, porém conseguia manipular encaixes complexos com destreza" (KANNER *apud* SCHWARTZMAN, www.schwartzman.com.br).

Em 1943, Kanner estudou e descreveu a condição de 11 crianças especiais, numa época em que o termo esquizofrenia infantil viria a se tornar sinônimo de psicose infantil. Essas crianças tinham características especiais e exibiam uma incapacidade aparentemente congênita de se relacionarem com outras pessoas e de se “entenderem” melhor com os objetos. Apresentavam desordens no desenvolvimento da linguagem e quando a possuíam era comum a ecolalia, inversão pronominal e concretismo. O comportamento delas era salientado por atos repetitivos e estereotipados; não suportavam mudanças de ambiente e preferiam o contexto inanimado. O uso do termo “autista” pretendia mostrar a qualidade incomum e autoconcentrada do comportamento das crianças.

Numa sincronicidade histórica, em 1944, Hans Asperger, outro médico austríaco, formado na Universidade de Viena, escreveu artigo intitulado “Austistic psychopathy in childhood”, em que fez descrições similares às de Kanner ressaltando, entre outros sinais, a dificuldade apresentada pelas crianças para focalizarem o olhar, uma escassez de expressões faciais e gestos, um uso alterado da linguagem e uma tendência a seguir seus próprios impulsos (ARAÚJO, 2000).

Desde o início foram identificadas 03 concepções na Síndrome (MAZET & LEOVICI, 1991): psicológica, funcional e biológica.

Psicológica (1943)

Existe um distúrbio cultural do contato afetivo com as pessoas, sobretudo entre a criança e sua mãe. Os termos “mãe geladeira” ou “mãe esquizofrenizante” foram usados e permaneceram, por um longo tempo, marcando a relação desses pais, particularmente, as mães, com seus filhos e os profissionais. Eles vieram das observações de Kanner em seus 11 pacientes iniciais que ele acompanhava e cujos pais eram “intelectualizados” e “frios” (KANNER, 1943).

Funcional (1955)

No modelo psicopatológico a relação pais/filho é analisada a partir de 03 pontos de vista: 1) Comportamento dos pais – observando reação a particularidades do filho (conduta existente a priori); 2) Pais (sobretudo a mãe) – como fonte básica de patogenicidade.; 3) Incapacidade inata da criança em se relacionar - comprometida pela personalidade dos pais. Essas reflexões são finalizadas, pelos autores, com a compreensão mais globalizada da síndrome: “Uma total desordem psicobiológica, que torna necessário um estudo da compreensão da disfunção em cada etapa da integração, biológica, psíquica e social” (KANNER & EISENBERG, 1955; KANNER & EISENBERG, 1956).

Araújo (2000) em seu livro “O processo de individuação no Autismo”, faz uma breve revisão histórica dos autores que reconheceram e trataram o autismo como psicose. A psicanalista Melaine Klein (1981) foi pioneira em apontar o autismo como uma inibição do processo de desenvolvimento, um déficit na capacidade de simbolizar, uma estrutura mental alterada desde o início da vida, motivada por fatores constitucionais, sócio-afetivos, cognitivos e motivacionais.

O diagnóstico e subclassificações do autismo estiveram sob o amplo rótulo de “esquizofrenia infantil” por muitas décadas. Entretanto, segundo Rutter (1983), já havia nos anos 70, um reconhecimento de que seria necessário distinguir-se entre as severas desordens mentais, surgidas na infância, e as psicoses cujo aparecimento se faz mais tarde. Várias evidências foram revelando a distinção do autismo e a esquizofrenia ao longo dos anos.

Biológica

Existe desde a definição de Kanner: “Podemos supor que estas crianças vieram ao mundo com a incapacidade inata de constituir biologicamente o contato afetivo habitual com as pessoas, assim como outras crianças vêm ao mundo com deficiências físicas ou intelectuais inatas” (KANNER, 1943).

A partir de 1985 testemunhou-se um enorme avanço no estudo dos processos psicológicos fundamentais no autismo. Rutter reconheceu o campo da cognição no autismo no início da década de 80 (RUTTER, 1983) concluindo que os déficits cognitivos são básicos e não são secundários a outras características da síndrome. A partir destas observações o autismo é definido como uma síndrome comportamental de um quadro orgânico.

Com o passar do tempo, em função das diferentes etiologias supostas, do grau de gravidade e das características específicas e não usuais, o autismo deixou de ser considerado um quadro específico e único, e cada vez mais ficou evidente que se tratava de uma síndrome, comportando subtipos.

Essa nova visão produz um entendimento qualitativamente distinto do anterior. O TIDs é agora visto como uma síndrome comportamental de prejuízo neurológico com uma ampla variedade de causas.

4.1.1 *Caracterização clínico-epidemiológica e critérios diagnósticos*

O autismo se tornou uma entidade diagnóstica quando publicado no Manual de Diagnóstico e Estatística de Doenças Mentais – 3ª edição (DSM-III), em 1980. Com a consideração e descrição das características envolvidas um grupo novo de doenças surgiu, os "Pervasive Developmental Disorders" (PDD), traduzido para o português como “Distúrbio Global do Desenvolvimento” ou “Transtorno Invasivo do Desenvolvimento” (TID). Este termo foi aceito extensamente e é usado atualmente. Hoje, revisado, a quarta edição do Manual de Diagnóstico e Estatística Mentais (DSM – IV, 2000) da Associação Psiquiátrica América (APA) e a décima edição da Classificação Internacional de Doenças (CID 10; 2000) da Organização Mundial de Saúde (OMS) criaram categorias Diagnósticas dos PDDs que incluem o “Distúrbio Autista”, “Síndrome de Rett”, “Síndrome de Asperger”, “Distúrbio Desintegrativo da Infância” e “Transtorno Invasivo do Desenvolvimento não especificado em outra categoria”. De uma maneira geral são todos considerados pela designação TIDs.

As manifestações comportamentais que definem os TIDs incluem déficits qualitativos na interação social e na comunicação, padrões de comportamento repetitivos e estereotipados e um repertório restrito de interesses e atividades (DSM-IV). A grande variabilidade no grau de habilidades sociais e de comunicação e nos padrões de comportamento que ocorrem em autistas tornou mais apropriado o uso do termo "Transtornos Invasivos do Desenvolvimento" (TIDs) (RAPIN, 1991).

As dificuldades na interação social em pacientes com TIDs podem manifestar-se como isolamento ou comportamento social impróprio; pouco ou nenhum contato visual; indiferença afetiva ou demonstrações inapropriadas de afeto; dificuldade em participar de atividades em grupo; falta de empatia social ou emocional.

As dificuldades na comunicação ocorrem em graus variados, tanto na habilidade verbal quanto na não-verbal de compartilhar informações com outros. Algumas crianças não desenvolvem habilidades de comunicação. Outras têm uma linguagem imatura, caracterizada por jargão, ecolalia, reversões de pronome, prosódia anormal, entonação monótona, etc. Os que têm capacidade expressiva adequada podem ter inabilidade em iniciar ou manter uma conversação apropriada. Os déficits de linguagem e de comunicação persistem na vida adulta, e uma proporção significativa de pacientes com TIDs permanecem não-verbais. Aqueles que adquirem habilidades verbais podem demonstrar déficits persistentes em estabelecer conversação, tais como falta de reciprocidade, dificuldades em compreender sutilezas de linguagem, piadas ou sarcasmo, bem como problemas para interpretar linguagem corporal e expressões faciais (GADIA et al., 2004).

Os padrões repetitivos e estereotipados de comportamento característicos dos TIDs incluem resistência a mudanças, insistência em determinadas rotinas, apego excessivo a objetos e fascínio com o movimento de peças (tais como rodas ou hélices).

Embora algumas crianças pareçam brincar, elas se preocupam mais em alinhar ou manusear os brinquedos do que em usá-los para sua finalidade simbólica.

Estereotipias motoras e verbais, tais como se balançar, bater palmas repetitivamente, andar em círculos ou repetir determinadas palavras, frases ou canções são também manifestações freqüentes em pacientes com TIDs.

No paciente adulto, há uma melhora na adaptação a mudanças, mas os interesses restritos persistem, e aqueles com habilidades cognitivas adequadas tendem a concentrar seus interesses em tópicos limitados, tais como horários de trens/aviões, mapas ou fatos históricos, etc., os quais dominam suas vidas (GADIA et al., 2004).

Esses transtornos em geral se manifestam antes dos 36 meses de idade, persistindo até a idade adulta (LAMB et al., 2000) e freqüentemente estão associados com algum grau de

deficiência mental embora têm sido descritos casos clínicos de TIDs que apresentam habilidades verbais e inteligência normal.

Há ampla variação fenotípica: cerca de 75% dos pacientes apresentam deficiência mental, 15 a 30% apresentam convulsões (SMALLEY, 1997) e 20 a 50% mostram anormalidade nos eletroencefalogramas (VOLKMAR & PAULS, 2003). Além disto, 5 a 10% dos casos de TIDs podem estar associados a Síndrome do X Frágil, Esclerose Tuberosa ou de Fenilcetonúria (CASTERMANS et al., 2004).

Esta imensa heterogeneidade clínica manifesta-se na clínica com tal diversidade que tem levado os autores a discutir que os TIDs apresentam-se mais como um espectro do que como um continuum. Um espectro significa que apesar de existir um denominador comum, diferentes crianças manifestam-se com seus padrões específicos de TIDs (WILLENSEN-SWINKLES & BUITELLAAR, 2002).

Assim, utilizar critérios diagnósticos é fundamental para um mínimo de uniformidade quando se pretende estabelecer o diagnóstico de TID.

Os critérios diagnósticos propostos pelos dois sistemas de classificação, a CID-10 e o DSM-IV são os seguintes:

DSM-IV – Critérios Diagnósticos:

Transtornos Invasivos do Desenvolvimento

299.00 - Transtorno Autista (Tabela 1):

Tabela 1 – Critérios Diagnósticos do DSM-IV para Transtorno Autista

A – Um total de pelo menos seis (ou mais) itens de (1), (2) e (3), com pelo menos dois de (1), um de (2) e um de (3)	
(1) Comprometimento qualitativo na interação social, manifestado por pelo menos dois dos seguintes aspectos	a) comprometimento acentuado no uso de múltiplos comportamentos não-verbais, tais como contato visual direto, expressão facial, posturas corporais e gestos para regular a interação social.
	b) fracasso em desenvolver relacionamentos apropriados, com seus pares, próprios do nível de desenvolvimento.
	c) ausência de tentativas espontâneas de compartilhar prazer, interesses ou realizações com outras pessoas (por ex., não mostrar, trazer ou apontar objetos de interesse).
	d) ausência de reciprocidade social ou emocional.
(2) Comprometimentos qualitativos na comunicação, manifestados por pelo menos um dos seguintes aspectos	a) atraso ou ausência total de desenvolvimento da linguagem falada (sem tentativas de compensar através de gestos ou mímica).
	b) em indivíduos com fala adequada, observa-se acentuado comprometimento na capacidade de iniciar ou manter uma conversação.
	c) uso estereotipado e repetitivo da linguagem ou linguagem idiossincrática.
	d) ausência de jogos ou brincadeiras de imitação social, variados e espontâneos apropriados ao nível de desenvolvimento.
(3) Padrões restritos e	a) preocupação persistente com um ou mais padrões estereotipados e restritos de interesse, anormais em intensidade ou foco.

repetitivos de comportamento, de interesses e de atividades, manifestados por pelo menos um dos seguintes aspectos	b) adesão aparentemente inflexível às rotinas, ou rituais específicos e não-funcionais
	c) maneirismos motores estereotipados e repetitivos (por ex., agitar ou torcer mãos ou dedos, ou movimentos complexos de todo o corpo).
	d) preocupação persistente com partes de objetos.

B- Atrasos ou funcionamento anormal em pelo menos uma das seguintes áreas, com início antes dos 3 anos de idade
(1) interação social
(2) linguagem para fins de comunicação social ou
(3) jogos imaginativos ou simbólicos

C – A Perturbação não é mais bem explicada por Transtorno de Rett ou Transtorno Desintegrativo da Infância

Segundo Saemundsen et al., 2003, os instrumentos de diagnóstico para os TIDs consideram duas fontes principais de informação: i) as descrições dos pais sobre o curso de desenvolvimento e padrões de comportamentos atuais do indivíduo; ii) as informações da observação direta do comportamento do indivíduo.

Os instrumentos de diagnóstico mais utilizados no período 1993 a 1997, além do preenchimento dos critérios diagnósticos do DSM – IV e CID-10, foram as observações diretas, as entrevistas estruturadas e os questionários, respectivamente (WALLER et al.,

1999). Dentre os instrumentos de diagnóstico mais utilizados estão: *Childhood Autism Rating Scale, CARS*, (SCHOPLER, REICHLER, & RENNER, 1988); *Autism Behavior Checklist, ABC*, (KRUG, ARICK, & ALMOND, 1980), *Autism Diagnostic Interview, ADI*, (LE COUTEUR et al., 1989), *Autism Diagnostic Observation Schedule, ADOS*, (LORD et al., 1989).

Além dos critérios diagnósticos e caracterizações clínicas, estudos epidemiológicos trazem um melhor conhecimento e direcionamento para o conhecimento da síndrome.

Segundo informações do “Autism Information Center” dos “Centers of Disease Control – CDC” dos EUA, esta condição afeta indivíduos de todos os extratos raciais e níveis sócio-econômico.

Dependendo dos critérios de inclusão, a prevalência dos TIDs tem variado de 40 a 130 por 100.000 (FOMBONNE, 2002), ocupando o terceiro lugar entre os distúrbios do desenvolvimento, na frente das malformações congênitas e da síndrome de Down.

Porém, estudos recentes sugerem que a prevalência dos TIDs possam ser de dois a cinco casos por 1.000 (WING & POTTER, 2002), e embora alguns autores defendam que a prevalência dos TIDs esteja aumentado, é provável que este incremento se deva a um maior reconhecimento desses transtornos em crianças menos gravemente afetadas e a diferenças nos critérios diagnósticos entre o DSM-III e o DSM-IV-R (KURTZKE, 1991)

A prevalência é quatro vezes maior em meninos do que em meninas (RUTTER, 1983; WING, 1984; MULHE, 2004) e há alguma evidência de que as meninas tendem a ser mais severamente afetadas (WING, 2002). Entretanto, os homens são acometidos com maior frequência, mas em graus mais leves, sugerindo que haja carga genética distinta em relação ao gênero.

4.1.2 Classificação dos TIDs

O DSM-IV foi publicado nos Estados Unidos em 1995 e acrescenta novos transtornos ao bloco dos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento, dentre as quais o Transtorno de Asperger e o Transtorno de Rett. Os Transtornos do Desenvolvimento no DSM-IV, estão assim estruturados:

(299.00) Transtorno Autista;

(299.80) Transtorno de Rett;

(299.10) Transtorno Desintegrativo da Infância;

(299.80) Transtorno de Asperger;

(299.80) Transtorno Invasivo do Desenvolvimento, Sem Outra Especificação que inclui autismo Atípico.

Embora, com os critérios do DSM-IV, tenha ficado mais fácil entender cada um dos TIDs, questões como a de se o autismo e a síndrome de Asperger representam entidades clínicas distintas ou se são variantes de um mesmo distúrbio, e também se transtorno do desenvolvimento sem outra especificação é uma entidade diagnóstica válida, ainda não foram resolvidas (KLIN & MERCADANTE, 2006). Além disso, a inclusão da síndrome de Rett dentro da categoria geral de TID deve ser interpretada apenas como refletindo a observação de que crianças com essa síndrome apresentam comportamentos semelhantes aos de autistas. Deve-se enfatizar que a principal intenção dos critérios propostos para diagnosticar o autismo e distúrbios relacionados deve ser a de reduzir as divergências entre pesquisadores e clínicos a

respeito da delimitação desses distúrbios em um nível comportamental (tipologia) ou biológico (etiologia).

Na CID-10 o número de transtornos agrupados neste bloco difere do DSM-IV, além disso, o termo infantil é mantido ao conceito de autista. O grupo é designado como Transtornos Globais do Desenvolvimento (TGD).

Os TGDs (F84) estão inseridos no bloco dos Transtornos do Desenvolvimento Psicológico (F80-89), sendo assim caracterizados:

(F84.0) Autismo infantil;

(F84.1) Autismo atípico;

(F84.2) Síndrome de Rett;

(F84.3) Outro transtorno desintegrativo da infância;

(F84.4) Transtorno de hiperatividade associado ao retardo mental e movimentos estereotipados;

(F84.5) Síndrome de Asperger;

(F84.8) Outros transtornos do desenvolvimento;

(F84.9) Transtorno do desenvolvimento, sem outra especificação.

4.2 Síndromes Associadas

As causas dos TIDs não são conhecidas, mas diversas doenças neurológicas e/ou genéticas foram descritas com sintomas dos TIDs.

O quadro 1 apresenta uma série de condições nas quais os pacientes podem demonstrar sintomas de Transtornos Invasivos do Desenvolvimento.

-
- *Infecções pré-natais* - rubéola congênita, sífilis congênita, toxoplasmose, citomegaloviroses;
 - *Hipóxia neo-natal* (deficiência de oxigênio no cérebro durante o parto);
 - *Infecções pós-natais* - herpes simplex;
 - *Déficits sensoriais* - dificuldade visual (degeneração de retina) ou diminuição da audição (hipoacusia) intensa;
 - *Espasmos infantis* - Síndrome de West;
 - *Doenças degenerativas* - Doença de Tay-Sachs;
 - *Doenças gênicas* - Síndrome do X frágil (a mais importante das doenças genéticas associadas ao TIDs), fenilcetonúria, esclerose tuberosa, neurofibromatose, síndrome de Cornélia de Lange, Williams, Moebius, Mucopolissacaridoses, Zúrich;
 - *Alterações cromossômicas* - Síndrome de Down; bem como alterações estruturais expressas por deleções, translocações, cromossomas em anel e outras;
 - *Intoxicações diversas.*
-

Quadro1: Condições Clínicas associadas com os TIDs

Nas duas últimas décadas foram reconhecidos problemas cromossômicos, gênicos, metabólicos e mesmo doenças transmitidas/adquiridas durante a gestação, durante ou após o parto associadas aos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (BAILEY, et al., 1996; FOLSTEIN & ROSEN-SHEIDLEY, 2001; VOLKMAR & PAULS, 2003; MUHLE, TRENTACOSTE & RAPIN, 2004).

As várias patologias associadas com os TIDs suportam a hipótese de que as manifestações comportamentais que definem este complexo de sintomas podem ser secundárias a uma grande variedade de insultos ao cérebro. A heterogeneidade desses distúrbios pode ser devida a etiologias distintas ou a uma combinação de fatores, tais como etiologia, predisposição genética e fatores ambientais.

4.3 Genética dos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (TID)

Diversos estudos de revisão apontam que a etiologia dos TIDs ainda é desconhecida (CARVALHEIRA et al., 2004). Centenas de estudos têm tentado desvendar os fatores genéticos associados à doença. Inúmeros trabalhos investigam pacientes e famílias com metodologia genético-clínica, citogenética e biologia molecular. Os resultados destes trabalhos apontam para um modelo multiloci com interação epistática associado à etiologia do TIDs.

4.3.1 Evidências Neurobiológicas

Há causas neurobiológicas, associadas aos TIDs, tais como convulsões; deficiência mental; diminuição de neurônios e sinapses na amígdala, hipocampo e cerebelo; tamanho aumentado do encéfalo (KEMPER et al. 1998) e concentração aumentada de serotonina circulante que sugerem forte componente genético.

A investigação sobre os aspectos estruturais do cérebro de indivíduos com TIDs é impressionante, variando desde estudos clínicos de acompanhamento da evolução do

perímetro cefálico, passando por estudos de neuro-imagem até estudos anatomopatológicos pós-mortem. Em resumo, diversos autores, produziram os seguintes conhecimentos: a) o perímetro cefálico, acurado indicador do tamanho do cérebro em crianças, eleva-se do valor normal ou abaixo da média nos primeiros meses de vida pós-natal até o percentil 84 em torno do primeiro ano de vida; em torno do segundo ano de vida este crescimento exagerado cessa; observa-se que quanto maior for o perímetro cefálico mais grave é o quadro clínico e mais anormalidades cerebrais estruturais serão observadas; b) em torno dos 2 a 4 anos de idade há aumento da substância branca e cinzenta nas regiões frontais e temporais, redução da atividade metabólica, hipodesenvolvimento das camadas corticais e ativação funcional reduzida durante exposição a tarefas sócio-emocionais, cognitivas e de atenção; c) as anormalidades cerebelares incluem: volume anormal, diminuição em número e tamanho das células de Purkinje no corpo e hemisférios e redução da ativação funcional nas regiões posteriores (COURCHESNE, REDCAY & KENNEDY, 2004; REDCAY & COURCHESNE, 2005; COURCHESNE & PIERCE, 2005).

Outras evidências da participação gênica no desenvolvimento de estruturas cerebrais possivelmente envolvidas com os TIDs dizem respeito aos genes responsáveis pela especificação dos neurônios serotoninérgicos. De fato o desenvolvimento anormal dos neurônios e sinapses deste neurotransmissor, devido a mutações em diversos genes do desenvolvimento como Sonic Hedgehog, Phox OXT2, GATA-2 e GATA-3, entre outros, pode ser a base de uma disfunção no sistema serotoninérgico, responsável por comportamentos autísticos (SCOTT & DENERIS, 2005).

Técnicas de imagem aliadas a investigações genéticas para explorar a relação entre mutações gênicas e funções cerebrais, com relação ao transportador de serotonina (5-HTT), observaram que um polimorfismo em uma região promotora de expressão do gene 5HTTLPR tem sido relacionado a alterações transcricionais deste último. Indivíduos homozigotos para o

alelo longo possuem uma maior concentração de transportadores de serotonina, ao contrário do que ocorre com a variante curta. Pesquisas comportamentais sugerem uma relação entre a menor eficiência do alelo curto e o nível anormal de ansiedade, medo e aumento da incidência de distúrbios afetivos. Estudos de imagem com indivíduos portadores do alelo curto, por sua vez, demonstraram uma exagerada resposta da amígdala a estímulos de medo. O resultado sugere que o medo e a ansiedade podem estar associados à presença do alelo curto e, conseqüentemente, à hiper-responsividade da amígdala a estímulos ambientais (MATTAY & GOLDBERG, 2004).

Outro enfoque muito interessante que certamente abrirá novo paradigma de investigação refere-se à dissecação molecular como no trabalho de Zirlenger & Anderson (2003). Os autores realizaram microdissecação por laser dos núcleos central, lateral e medial da amígdala de cérebros de roedores e conseguiram identificar a expressão de uma série de genes pela técnica de *microarray*. A aplicação deste método em tecido humano ou o isolamento de ortólogos humanos dos genes expressados poderá evidenciar marcadores moleculares interessantes a serem pesquisados nos indivíduos portadores de TID.

4.3.2 Estudos de gêmeos e Estudos de famílias

O método de estudo de gêmeos consiste em comparar o número de pares de gêmeos monozigóticos (MZ) nos quais os dois indivíduos são afetados pela mesma doença com o número de pares de gêmeos dizigóticos (DZ) em que os dois indivíduos são afetados. O material genético dos gêmeos MZ é idêntico, portanto diferenças entre os indivíduos são devidas a mutações genéticas ou a diferentes influências ambientais ou de desenvolvimento. Gêmeos DZ têm a mesma proximidade genética apresentada por irmãos nascidos em épocas

diferentes. As diferenças entre esses indivíduos são atribuídas tanto a fatores genéticos quanto a fatores ambientais.

Folstein e Rutter (1977) estudando 11 pares de gêmeos monozigóticos (MZ) e 10 dizigóticos (DZ) onde ao menos um era autista, encontraram 36% de concordância nos MZ e zero nos DZ. Os autores consideraram também que 2 a 3% dos irmãos serão afetados e que há um risco 50 vezes maior nestes casos que na população em geral. Outros autores encontraram alta concordância em MZ e concentração familiar.

O Quadro 2 apresenta os principais trabalhos de estudos de gêmeos com TIDs.

Autores, Ano	N - pares	Mesmo Sexo	Concordância	Concordância	Presença de stress peri-natal	Concordância nos Transtornos
			MZ	DZ		Cognitivos-Sociais
Folstein e Rutter 1977	21	Sim	36%	Zero	77% nos DZ	82% nos MZ 10% nos DZ
Bailey 1995	47	Sim	60%	—	nos DZ	92% nos MZ 10% nos DZ
Steffenburg 1989	21	Sim	91%	Zero	nos DZ	91% nos MZ 30% nos DZ
Ritvo 1985	21	—	96%	23,5%	—	—

Quadro 2. Resultado dos estudos obtidos com gêmeos

Steffenburg et al. (1989) também estudando gêmeos, 11 MZ, 10 DZ do mesmo sexo, além de trigêmeos MZ, obtiveram em seu trabalho, nível de concordância para autismo de 91% para os MZ e zero para os DZ. Resultados semelhantes foram relatados por Bailey et al. (1995) que em seus estudos com 27 gêmeos MZ e 20 DZ do mesmo sexo encontraram 60% de concordância para autismo entre os MZ e 92% de concordância para transtornos cognitivos e sociais comparados a 10% nos DZ.

Estudos de análise de segregação em famílias de pacientes com uma determinada síndrome ou doença, são realizados para se entender como ocorre a transmissão de uma geração para outra. Ritvo et al. (1989) pesquisaram 207 famílias (187 foram de casos

esporádicos e 20 com recorrência) . Descartaram a transmissão mendeliana e encontraram taxa de recorrência de 7% se já houver um menino afetado e de 14,5% se houver uma menina portadora e de 35% se houver duas crianças afetadas. Assim o risco de recorrência é em tona de 215 vezes maior ao da ocorrência. Ou seja, embora o risco de recorrência para os TIDs seja baixo (2-8%), o risco relativo é de 50-200 vezes maior que a prevalência da doença na população geral (MUHLE, 2004; BAILEY, 1996).

A alta concordância entre gêmeos MZ e a concentração familiar indica a grande importância de um componente genético na gênese dos TIDs, enquanto a baixa concordância em gêmeos DZ sugere um modelo de herança oligogênico ou multifatorial para a doença.

4.3.3 Estudos Cromossômicos e de Ligação

Ainda não se sabe a identidade e o número de genes envolvidos com os TIDs. Um estudo realizado por Pickles et al. (1995), indicou que pelo menos 3 a 10 genes devam estar relacionados ao aparecimento do transtorno, enquanto outros autores sugerem um número maior de genes responsáveis pelo estabelecimento dos TIDs (RISCH et al., 1999).

Genes candidatos são aqueles associados com um transtorno a partir da indicação de estudos de ligação ou que codificam produtos que têm algo em comum, médica ou biologicamente, com o transtorno que se está estudando.

Genes e regiões cromossômicas candidatas a estarem associadas aos TIDs têm sido identificadas principalmente através dos estudos de ligação, buscando probabilidades elevadas de segregação conjunta dos marcadores polimórficos de uma determinada região cromossômica com os indivíduos afetados.

Em 1998 a International Genetic Study of Autism Consortium (IMGSAC), publicou os primeiros dados associando determinadas regiões cromossômicas aos TIDs. Os resultados que mais se destacaram em um grupo de 56 pares de irmãos estudados no Reino Unido, foi a ligação dos marcadores D7S530 e D7S684 na região 7q com valor multiponto máximo de LOD de 3,55.

Uma série de outros estudos de ligação (VEENSTRA- VANDERWEWLE, CHRISTIAN & COOK, JR., 2004) mostraram ligações possíveis com as regiões 2q, 3q, 1p, 1q, 5p, 6q, 8q, 15q, 19p, e Xq.

A não identificação de algum gene principal nestas regiões, consistentemente associado com os TIDs tem sido frustrante. No presente tenta-se identificar sub-grupos para efetuar estudos de ligação. Assim, por exemplo, considerar nas genealogias, além dos indivíduos que têm TIDs, os que apresentam retardo na aquisição da fala. Ou considerar os pais como afetados ou não, baseados nessa alteração.

O gene SPCH1 que está associado a um transtorno específico do desenvolvimento da fala e linguagem e que afeta a linguagem expressiva foi identificado na posição 7q31 (FISHER et al., 1998; LAI et al., 2000 e ASHLEY-KOCH et al. 1999), porém o gene SPCH1 foi clonado e caracterizado por Lai et al. (2001) e não parece estar associado com os TIDs (NEWBURY et al., 2002).

Petek et al. (2001) encontraram uma duplicação em 7q31 em um menino de treze anos com Síndrome de Tourette e com atraso no desenvolvimento da linguagem. Esta concordância de observações relacionadas com transtorno da linguagem, embora ainda não tenha sido confirmada, sugere que um locus no cromossomo 7, denominado AUTS1, contém um gene que contribui ao menos em um aspecto fenotípico dos TIDs.

Outros genes do cromossomo 7 considerados são: FOXP2, WNT2 e RELN. O gene FOXP2 é o primeiro gene associado com um transtorno da fala e da linguagem e foi

identificado recentemente. Descrito por Lai e colaboradores em 2001 está associado com um transtorno de rara ocorrência em pessoas com dispraxia verbal do desenvolvimento (dificuldade para realizar os movimentos faciais necessários para a articulação verbal) e problemas com o processamento da linguagem e com as habilidades gramaticais. Como as pessoas com TIDs também têm problemas com o desenvolvimento da fala e da linguagem, este gene é considerado como um candidato para os TIDs.

Wassink et al. (2001) analisou o gene WNT2 e encontrou duas trocas nas seqüências de nucleotídeos em indivíduos com TIDs de duas famílias distintas. Obtiveram resultados que indicam uma tendência à transmissão de um alelo preferencial em um grupo de irmãos com PSD (Phrase Speech Delay), quando tipificaram SNPs (nucleotídeos polimórficos únicos) em regiões reguladoras. No entanto, McCoy et al. (2002) não encontraram associação entre mutações no gene WNT2 e os TIDs.

Na região 7q22, o gene RELN, que codifica uma glicoproteína da matriz extracelular (Reelina), foi implicado pela sua função na plasticidade sináptica e ampla secreção na migração neuronal (FATEMI, 2002) e pode apresentar alterações que afetam o desenvolvimento cortical cerebelar. Estudos iniciais em pacientes com TIDs relatou a transmissão preferencial de alelos longos no polimorfismo de repetição 5' (PÉRSICO et al., 2001) Outros dois estudos também demonstraram associação (ZHANG et al., 2002; BONORA et al., 2003) mas outros três não conseguiram replicar os resultados (KREBS et al., 2002; DEVLIN et al., 2004; LI et al., 2004). Anormalidades na expressão da proteína correspondente estão sendo investigados em estudos pós-morte do cérebro de pacientes com TIDs.

Bonora et al. (2002), analisaram os genes PEF1/MEST, COPG2, CPA1 e CPA5 na região 7q32 e não encontraram resultados significativos.

Investigações atuais (OWENS & KRIEGSTEIN 2002, MUHLE et al., 2004) sugerem uma associação com 15q11-q13 em um grande grupo de indivíduos com TIDs e polimorfismo genético envolvendo o cromossomo 15, com um marcador numa subunidade do gene receptor do ácido amino-butírico (GABA), incluindo os três genes de suas subunidades: GABRB3, GABRA5 e GABRG3. A investigação sugere que os genes GABRB3 e GABRG3 podem estar associados com este transtorno. Cook et al. (1998) investigaram o locus GABA_Aβ3 utilizando 9 marcadores em 140 famílias com um membro com TIDs, encontrando associação com um único marcador (GABRB3 155CA-2). Esse resultado foi replicado por Buxbaum et al. (2002), que utilizaram o mesmo marcador em 80 famílias, obtendo resultados similares, porém Salmon et al. (1999), não encontraram resultados positivos de associação entre os TIDs e este locus. Um marcador de microsatélite, GABRB3, que é 3' ao gene GABRB3, foi implicado também em um estudo de associação (MARTIN et al., 2000), mas os resultados de ligação nesta região foram inconsistentes. O achado mais promissor foi uma modesta evidência para a ligação em D15S511, 5' de GABRB3, com um acréscimo em um subgrupo de pares de irmãos que tiveram uma diminuição relativa a uma área de função cognitiva em relação a outras áreas (NURMI et al., 2003). Evidência limitada para a ligação foi detectada também nesta região sem um subgrupo de sujeitos (PHILIPPE et al., 1999 & SHAO et al., 2002).

Também na região 15q11-13 um gene chamado UBE3A, que apresenta expressão predominante no cérebro humano (HERZING et al. 2002) foi identificado como um gene candidato para os TIDs por sua posição nesta região e por sua conhecida associação com a síndrome de Angelman. Porém Veenstra-VanderWeele et al. (1999) não encontraram em seus estudos, mutações deste gene em pacientes com TIDs.

Como a maioria dos indivíduos com alterações cromossômicas nesta região não possuem TIDs, acredita-se que esses genes não são suficientes para o desenvolvimento da

doença. Esse fato reforça a hipótese do sinergismo e/ou epistasia entre múltiplos genes para originar os TIDs.

A região 3p25-p26 e 6q21 apresentaram-se também altamente ligadas aos TIDs com LOD scores para 3p25-p26 de 2.88 (AURAREN et al., 2002) e 6q21 de 2.233 (PHILIPPE et al., 1999). Estas regiões cromossômicas contém genes relacionados aos sistemas cerebral. O cromossomo 3p25-p26 contém o gene do receptor da oxitocina (OT) e o cromossomo 6q21 contém o gene receptor do glutamato (GluR6). O sistema de OT foi envolvido nos prejuízos relacionados ao comportamento social apresentados nos TIDs. Estudos com animais mostraram que os níveis de OT afetam o comportamento social nos ratos. As crianças com TIDs apresentam níveis baixos de OT no plasma, e a relação do precursor inativo de OT (OT-X) ao peptídeo ativo de OT parecem ser significativamente mais elevadas nas crianças com TIDs (MUHLE, 2004). O sistema do glutamato pode ter um papel importante na fisiopatologia dos TIDs.

Wu et al, (2005), estudando um grupo de TIDs na China, ao genotiparem quatro SNPs situados no gene de OXTR encontraram associação genética significativa entre o TIDs e dois SNPs testados (rs2254298 A: $Z = 2.287$, $p = 0,222$; rs53576 A: $Z = 2.573$, $p = 0,101$). Haplótipos construídos com todos os marcadores mostraram uma transmissão adicional significativa para as análises específicas e globais dos haplótipos ($p = 0,020$ e $0,289$, respectivamente), sugerindo o envolvimento da OXTR na suscetibilidade para os TIDs e advertindo para a necessidade de estudos de replicação. (YLISAUKKO-OJA et al., 2006)

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório no cérebro e é envolvido diretamente em funções cognitivas, tais como a memória e a aprendizagem. O gene GluR6 localizado no cromossomo 6q21 foi associado com os TIDs pelo desequilíbrio de ligação e pela análise ligação em uma população autística examinada que possuía uma única substituição do aminoácido em GluR6 (M867I) em um domínio altamente conservado da

proteína. Em estudos de ligação realizados em pacientes com TIDs e esquizofrênicos (BAH et al., 2004; SHUANG et al., 2004) ambos os resultados demonstraram contraste na transmissão do alelo maternal em relação ao paternal, onde o primeiro parece estar em desequilíbrio na transmissão. Esta mutação foi encontrada em 8% dos sujeitos com TIDs e em 4% de controles. (JAMAIN et al., 2002).

Aberrações estruturais na região 17p11.2, crítica para a síndrome de Smith-Magenis, também foram relatadas em pacientes com TIDs (PATOCKI, 2000).

Pelo menos três grupos diferentes de investigação descreveram uma ligação genética entre uma região do cromossomo 2 e os TIDs. O cromossomo 2 contém alguns genes associados com a função gastrointestinal. Dois grupos diferentes de investigação (BUXBAUM et al., 2001, e SHAO et al., 2002) encontraram que a ligação do cromossomo 2 com os TIDs era maior quando estudaram um subgrupo de indivíduos com TIDs e atraso na linguagem.

Bauxbaum et al. (2001) apresentaram resultados que associam a ligação dos TIDs com o cromossomo 2q utilizando os marcadores D2S364 e D2S335. Ao restringir a análise a um grupo de 49 pessoas com dois ou mais indivíduos da família com diagnóstico de TIDs, obtiveram um valor de LOD mais alto. Ramoz et al., 2004, mapearam o locus de suscetibilidade para os TIDs na região 2q23-q33 e encontraram uma forte associação dos TIDs com um SNPs no gene SLC25A12. No entanto não existem evidências de mutações patogênicas em algum gene desta região.

Os estudos genéticos realizados em pacientes com TIDs e a análise da ligação genética expressada em Logaritmo de Chances (LOD score) pode ser observado no quadro 3.

Cromossomo	Marcador	LOD	Referência Bibliográfica
1p13.2	D1S1675	2,63	Auranen et. al, 2002
1p13.2	D1S1675	2,15	Risch et al, 1999
1p21.3	D1S498	2,32	Auranen et. al, 2002
1q22	D1S2721	2,88	Ylisaukko-oja et al, 2004
1q23.3	D1S484	3,58	Ylisaukko-oja et al, 2004
1q42.2	D1S1656	3,06	Buxbaum et al, 2004
2q31.1	D2S2188	4,80	IMGSAC, 2001
2q31.1	D2S335	3,32	Buxbaum et al, 2001
2q33.1	D2S116	2,86	Shao et al, 2002
3q24.1	D3S2432	3,32	Ylisaukko-oja et al, 2004
3p25.3	D3S3691	2,22	McCauley et al, 2005
3q22.1	D3S3045-D3S1763	3,10	Alarcon et al, 2005
3q26.32	D3S3715, D3S3037	4,81	Auranen et. al, 2002
4q23	D4S1647	2,87	Buxbaum et al, 2004
4q27	D4S3250	2,73	Buxbaum et al, 2004
4q32.3	D4S2368	2,82	Ylisaukko-oja et al, 2004
5p13.1	D5S2494	2,55	Liu et al, 2001
5p13.1	D5S2494	2,54	Yonan et al, 2003
6q14.3	D6S1270	2,61	Buxbaum et al, 2004
6q16.3	D6S283	2,23	Philippe et al, 1999
7q21.2	D7S1813	2,2	Barrett et al, 2001
7q21.2	D7S1813	2,17	Bradford et al, 2001
7q22.1	D7S477	3,55	IMGSAC, 2001
7q32.1-34	D7S530-D7S684	3,55	IMGSAC, 1998
7q33	D7S640	2,01	Ashley-Koch et al, 1999
7q34-36.2	D7S1824-D7S3058	2,98	Alarcon et al, 2002
7q36.1	D7S483	3,7	Molloy et al, 2005
9p22.2	D9S157	3,11	IMGSAC, 2001
9q34.3	D9S1826	3,59	IMGSAC, 2001
11p11.2-13	D11S1392-D11S1993	2,24	Yonan et al, 2003
13q12.3	D13S217-D13S1229	2,3	Barrett et al, 2001
13q22.1	D13S800	3,0	Barrett et al, 2001
13q22.1	D13S800	2,54	Bradford et al, 2001
13q32.1-32.3	D13S793-1271	2,86	Ylisaukko-oja et al, 2004
15q12	GABRB3	4,71	Shao et al, 2003
15q21.2	CYP19	2,21	IMGSAC, 2001
16p13.13	D16S3102	2,93	IMGSAC, 2001
16p13.2	D16S407	2,22	IMGSAC, 2001
17p11.2	D17S1298-D17S1299	2,22	Alarcon et al, 2005
17q11.2	D17S1800-D17S1294	8,0	Sutcliffe et al, 2005
17q11.2	D17S1294-D17S798	4,3	Stone et.al,2004
17q11.2	D17S1294	2,85	McCauley et al, 2005
17q11.2	D17S1800	2,83	Yonan et al, 2003
17q11.2	HTTINT2	2,34	IMGSAC, 2001
17q21.2	D17S1299	2,26	McCauley et al, 2005
17q21.32	D17S2180	4,1	Cantor et al,2005
17q24.3	D17S1290-D17S1301	2,84	Alarcon et al, 2005
19p13.11	D19S930	2,77	McCauley et al, 2005
19p13.12	D19S714	2,53	Liu et al, 2001
19p13.12	D19S714	2,31	Buxbaum et al, 2004
21q21.1	D21S1437	3,4	Molloy et al, 2005
Xq21.33	DXS6789	2,54	Shao et al, 2002
Xq25	DXS1047	2,67	Liu et al, 2001
Xq28	F8C	2,1	Vincent et al, 2005

Quadro 3 : Estudos Genéticos nos TIDs

No cromossomo X, uma região importante é a Xq22-q23, onde está mapeado o gene AGTR2. Os estudos neste gene têm corroborado dados anteriores sobre deleção desta região em indivíduos com TIDs e a alta frequência de deficiência mental nesses pacientes (FOMBONNE 2002, VERVOORT et al., 2002, THOMAS et al., 1999). No entanto, a região mais significativa é a Xq13-q21 que contém um dos genes da família das neuroliginas. As neuroliginas constituem uma família de proteínas que atuam como mediadoras da interação celular (moléculas de adesão) entre neurônios que possuem receptores do tipo neuroxinas (ICHTCHENKO et al., 1996; SONG et al., 1999) e devem ser fatores essenciais para o bom funcionamento das sinapses (SCHEIFFELE et al., 2000). Na realidade, cinco genes codificadores de neuroliginas foram identificados no genoma humano: NLGN1 em 3q26, NLGN2 em 17p13, NLGN3 em Xq13, NLGN4 em Xp22.3 e NLGN4Y em Yq11.2 (JAMAIN et al., 2003). Mutações nos genes NLGN3 e NLGN4 foram encontradas em duas famílias com membros afetados por Autismo e Síndrome de Asperger, sugerindo um comprometimento funcional da sinapse (CARVALHEIRA, VERGANI & BRUNONI, 2004). No entanto a investigação de mutações nestes em 196 pacientes com TIDs não revelou mutações que pudessem alterar a região codificadora destes genes (VINCENT et.al., 2004).

Vários estudos têm descrito uma possível associação entre os TIDs e duplicações citogenéticas do braço proximal do cromossoma 15. A região 15q11-13, crítica para a síndrome de Prader Willi/Angelman, apresenta alteração em 1 a 4% dos pacientes TIDss (COOK et al., 1998). Durante mais de 12 anos, observou-se que alguns indivíduos apresentam cópias extras (duplicação) da região 15q11-13. Encontrou-se pequenos segmentos de DNA (marcadores) no cromossomo 15, os quais se observam com maior frequência em indivíduos com TIDs (em quem a análise de cromossomos demonstrou que não têm uma anomalia aparente do cromossomo 15) do que em indivíduos da população normal. Esta descoberta sugere participação do gene dessa região no desenvolvimento dos TIDs. Nessa mesma região

encontram-se as deleções responsáveis pelas síndromes de Prader-Willi e de Angelman. Foi relatada uma alta associação entre pacientes com TIDs e síndrome de Angelman, no entanto, nenhuma das crianças com TIDs com duplicação inversa de 15q11-q13 tinham características clínicas de síndrome de Angelman ou Prader-Willi.

Autor(es), ano	Tipo de Estudo	Região Cromossômica	Gene Candidato
Bauxbaum, 2001	* estudo de ligação	2q23-q33	DLX1/DLX2, SLC25A12
Shao, 2002	* análise citogenética		
Muhle, 2004	* estudo de ligação	3p25-p26	OT
Risch, 1999			
IMGSAC, 2001	* proximidade com o locus	7q22 - q33	AUTS1, FOXP2, NPTX2, IMMP2L, WNT2, RAY1/ST7, SLC25A12, RELN e HOXA1
Bauxbaum, 2001	da fibromatose fetal		
Aurarem, 2002	* translocações 7q31-q33		
Wassink, 2001	* análise citogenética		
Lai, 2001	* triagem genômica		
Liu, 2001			
Hong, 2001			
Jamain et al., 2002	*desequilíbrio e análise ligação	6q21	GluR6
Veenstra- VanderWeele, 2002	*receptor de serotonina	13q14.2	HTR2A
Owens e Kriegstein, 2000	* associação com região	15q11 - q13	GABA: GABRB3, GABRA5, GABRG3 e UBE3A
Muhle, 2004	crítica para Síndrome de		
IMGSAC, 2001	Prader-Willi/Angelman		
Shao, 2002	* análise citogenética		
	* triagem genômica		
Kim, 2002	*transporte de serotonina	17q11.2	SLC6A4
Frombonne, 2002			
Vervoot, 2002	* deleção da região em autistas	Xq22 - q33	AGTR2
Thomas, 1999			
Jamain, 2003	* relação com neuroilgúinas	Xq13 - q21	NGLN3
CooK, 1997	* proteínas participantes do sistema serotoninérgico		5-HTT, 5-HTR2A

Quadro 4- Principais estudos, regiões cromossômicas e genes candidatos associados aos TIDs.

A neuroquímica do cérebro também foi extensivamente estudada nos TIDs, em especial com os neurotransmissores como a serotonina (PIVEN et al.1991; WHITAKER-AZMATIA, 2001), GABA (DHOSSCHE et al., 2002), e secretina (KAMISNSKA et al., 2000).

Algumas investigações demonstraram que certas pessoas com TIDs têm níveis sanguíneos de serotonina mais elevados do que a média da população (ANDERSON et al., 1987; PIVEN et al., 1991). Além disso, o tratamento com inibidores da reabsorção de serotonina mostrou atenuar parte da sintomatologia dos TIDs em indivíduos afetados (BRODKIN et al., 1997; FATEMI, 2002). Esses resultados despertaram o interesse no conhecimento da biologia molecular dos genes e proteínas envolvidos no sistema transportador/receptor da serotonina.

4.4 Sistema Serotoninérgico

4.4.1 Neurotransmissores

Os neurotransmissores são substâncias que medeiam processos cerebrais. Entre eles encontram-se a serotonina, responsável pelas atitudes ligadas ao impulso, a noradrenalina ou epinefrina, responsável pelo interesse que os estímulos despertam no indivíduo e a dopamina envolvida no mecanismo de tomada de decisões.

Alteração nesses neurotransmissores provoca quadros de ansiedade, irritabilidade, humor instável e emoções comprometidas.

4.4.2 Evolução

A serotonina como um neurotransmissor apareceu muito cedo na evolução e foi conservada nos animais superiores, incluindo os humanos o que a coloca como desempenhadora de um importante papel do Sistema Nervoso (SN).

Evolutivamente, existiu nas plantas, mesmo antes dos animais. A serotonina pode ser relacionada à evolução da própria vida, particularmente com o papel da sua molécula precursora, o triptofano que é um aminoácido essencial, original em suas propriedades absorvedoras de luz. Nas plantas, os compostos de triptofanos capturam a energia clara para o uso no metabolismo da glicose e na geração do oxigênio e de cofatores reduzidos. O triptofano, o oxigênio, e os cofatores reduzidos combinam para formar a serotonina. (WHIRAKER-AZMITIA, 2001)

A serotonina também é encontrada no sistema nervoso da lesma marinha (*Aplysia*), desempenhando um papel na memória do animal: ela facilita a retração das gúelras da criatura em resposta a um evento que tenha sido associado anteriormente a um estímulo nocivo.

Os neurônios de serotonina influenciam a capacidade da sanguessuga de nadar e colar-se a um corpo morno (SOUBRIE, 1986).

A serotonina é implicada em mais comportamentos, mecanismos psicológicos, e processos da doença do que outros neurotransmissores cerebrais.

Os neurônios serotoninérgicos são um dos primeiros neurônios a emergir durante o desenvolvimento adiantado do cérebro e cordão espinal, aproximadamente pela sexta semana da gestação nos seres humanos.

4.4.3 Histórico

A descoberta da serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) ocorreu na década de 50 quase simultaneamente em centros na Itália e nos Estados Unidos, realizando trabalhos independentes. Fisiologistas do século passado já sabiam da existência de uma substância vasoconstritora no sangue que, ao passar pelos pulmões, perdia suas propriedades hipertensivas. Rapport, em Cleveland, estudando fatores hipertensores humorais do tipo da angiotensina, conseguiu isolar essa substância numa forma cristalina, chamando-a de serotonina (5-HT) (KAPLAN & HAMMER, 2003).

Com estudos iniciados na década de 30, Erspamer estabeleceu que a 5-HT tinha uma ampla distribuição na natureza e ocorria em outros tecidos, afora o sangue. Esse grupo italiano propunha-se a extrair e caracterizar uma substância que impunha propriedades histoquímicas peculiares às células enterocromafínicas da mucosa gastrointestinal. Em 1942, Erspamer e Asero caracterizaram uma substância em células enterocromafínicas da mucosa gastrointestinal de vertebrados, chamada pelo grupo de enteramina. No final da década de 40, o corpo de evidências levantado por essa equipe permitia aferir que a substância em questão era uma indol-alquilamina que se distribuía amplamente pelo corpo. Apesar disso, o primeiro cientista a deduzir o componente ativo dessa substância foi Rapport, mantendo o nome de serotonina (KAPLAN & HAMMER, 2003).

Em 1951, Hamlin e Fischer conseguiram sintetizar a molécula proposta por Rapport e verificaram que seu composto tinha todas as propriedades atribuídas à serotonina. (YAMAWAKI & HAYAKAWA, 1992).

Embora a 5-HT tenha sido identificada em tecidos cerebrais no início da década de 50 por Gaddum, que verificou que a dietilamida do ácido lisérgico (LSD) bloqueava o efeito periférico da 5-HT, sugerindo que o LSD provocaria seus efeitos alucinógenos por

antagonizar o efeito fisiológico da serotonina no cérebro, apenas na década seguinte a utilização da técnica de fluorescência histoquímica de Flack-Hillarp permitiu uma identificação mais detalhada de corpos celulares no sistema nervoso central contendo serotonina (NICHOLS, 2004).

Então, na época em que a serotonina foi isolada, já havia um respeitável volume de estudos demonstrando que ela se distribuía amplamente na natureza e tinha uma variedade de propriedades farmacológicas.

4.4.4 – Vias Serotoninérgicas

Vários estudos apontam a importância do sistema serotoninérgico no controle de várias funções orgânicas, como a regulação cardiovascular, apetite, sono, função sexual, humor, sensibilidade.

Neurônios contendo 5-HT são encontrados no mesencéfalo, ponte e bulbo e estão essencialmente confinados às zonas mediana e paramediana nos chamados núcleo de rafe (figura 1).

Cada núcleo de rafe envia projeções para várias regiões do encéfalo. Aqueles mais rostrais, na ponte e no mesencéfalo, inervam a maior parte do encéfalo, de forma difusa (BEAR et al., 2001). Aqueles mais caudais, no bulbo, inervam a medula espinhal, onde modulam sinais sensoriais relativos à dor.

Muitas investigações abordando a origem mesencefálica dos axônios serotoninérgicos demonstraram que os núcleos dorsal e mediano da rafe seriam as principais fontes de inervação serotoninérgica ascendente (BOBILLIER et al., 1975; MOLLIVER, 1987; HARING, 1991). As vias serotoninérgicas ascendentes seguem um estreito paralelismo com

as vias noradrenérgicas e dopaminérgicas. Podem ser distinguidas duas vias serotoninérgicas ascendentes: a dorsal e a ventral.

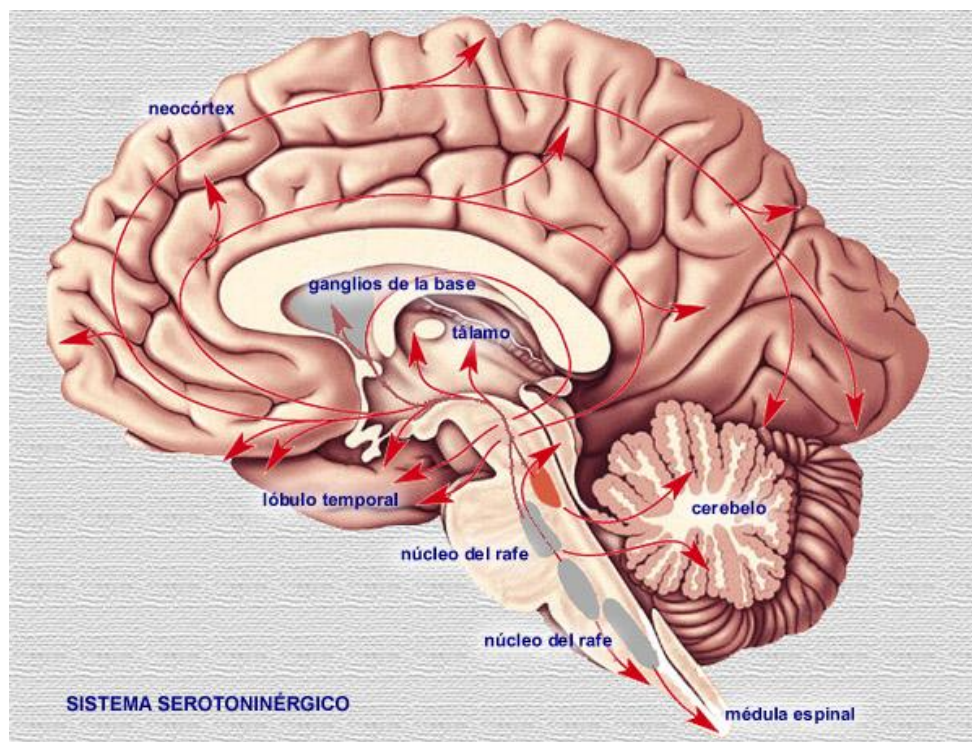


Figura 1- Projeções do Sistema Serotoninérgico a partir dos núcleos de rafe.

A dorsal procede pelo feixe frontocerebral mediano, mas antes de fazê-lo inerva os neurônios que contêm dopamina do SNC influenciando, assim, a descarga do sistema dopamina. Ela origina-se principalmente no Núcleo Dorsal de Ráfe (NDR) e distribui-se para a matéria cinzenta periaquedutal (MCP), colículos superior e inferior e hipotálamo, onde se junta à via serotoninérgica ventral. A partir daí suas vias procedem separadamente pela estria terminal e pelo fórnix e projetam-se para a amígdala e neocórtex, respectivamente (AZMITIA, 1991).

A via serotoninérgica ascendente ventral se origina dos núcleos medianos e dorsal de rafe, com predomínio do mediano, percorre o tegmento ventral e penetra no feixe prosencefálico medial, projetando-se no hipotálamo posterior e corpos mamilares. Ao longo

de seu caminho ascendente, envia fibras para o núcleo interpeduncular, substância negra e tálamo. Um outro contingente de fibras atravessa o fórnix em direção ao septo e hipocampo.

As vias serotoninérgicas descendentes se originam dos núcleos das rafe bulbares, entre os quais está o núcleo magno da rafe, do qual partem vias que se projetam no corno dorsal da medula. Estas vias constituem um importante sistema descendente de controle da dor (COIMBRA et al., 2006).

Outras regiões cerebrais como a linha média do tálamo e o núcleo supraquiasmático do hipotálamo recebem fibras serotoninérgicas de ambos os núcleos da rafe (AZMITIA, 1991).

ORIGEM	PROJEÇÕES	IMPLICAÇÕES FISIOLÓGICAS E CLÍNICAS
Núcleo Mediano de Rafe	Formação reticular, tálamo e áreas inervadas pelo feixe prosencefálico medial (por exemplo, hipocampo)	Regulação do fluxo sanguíneo cerebral, sono e enxaqueca, tolerância ao estresse persistente, inibição comportamental, agressividade.
Núcleo Dorsal de Rafe	Colículos, matéria cinzenta periaquedutal, amígdala, gânglios da base, neocórtex, hipocampo	Estimulado por eventos aversivos, regulação do comportamento defensivo, ansiedade.
Núcleo Magno de Rafe	Medula Espinhal	Vias descendentes inibitórias

Quadro 5: principais vias serotoninérgicas, suas projeções e implicações fisiológicas e clínicas.

4.4.5 Triptofano

O triptofano é um aminoácido aromático, essencial, misto (glicogênico e cetogênico). Forma dois produtos principais: a melatonina, produzida pela glândula pineal e relacionada com o ciclo circadiano (sofre interferência da luz); e a serotonina, encontrada nos mastócitos, basófilos, plaquetas, células enterocromafins do intestino e no cérebro, relacionada com o sistema de proteção (vasoconstrição), é um neurotransmissor do sistema límbico. Além disto,

o triptofano é precursor da vitamina B3 (niacina) e é um dos aminoácidos que estimula a secreção de insulina e hormônio do crescimento (CUQ et al., 1978).

O triptofano, não podendo ser produzido pelo organismo, é obtido da degradação das proteínas cerebrais ou da circulação plasmática (pool aminoacídico), sendo este fornecido através da ingestão dietética normal ou degradação protéica corporal (WURTMAN, 2005). É o precursor da serotonina no cérebro, e também o único aminoácido que circula ligado à albumina pela corrente sangüínea 50mM (90%) (BAILEY, DAVIS & AHLBORN, 1993; CHAOULOFF, 1989; FERNSTROM, 1994), embora também haja uma pequena proporção 5mM (10%), que circule na forma livre (JAKEMAN, 1998; SALTER, KNOWLES & POGSON, 1989; SOARES, NAFFAH-MAZZACORATTI & CAVALHEIRO, 1994).

A conversão de triptofano em serotonina é influenciada pela proporção de carboidratos na dieta (WURTMAN, 2005). A quantidade de triptofano disponível no cérebro para conversão em serotonina depende não somente da quantidade de triptofano no plasma, mas também da razão entre triptofano plasmático e outros cinco aminoácidos: tirosina, fenilalanina, leucina, isoleucina e valina. Todos esses seis aminoácidos são comparativamente grandes moléculas e fisiologicamente a maioria deles é eletricamente neutra (cargas + e -). Isto dificulta a difusão de moléculas hidrossolúveis dos capilares do cérebro a ter acesso para os neurônios e outras células do cérebro. Sua passagem entre o sangue e o cérebro é facilitada pelo carreador de moléculas presentes nas células endoteliais dos capilares cerebrais. Uma única espécie de carreador molecular transporta todos os seis aminoácidos neutros através da barreira hemato-encefálica. Portanto, na barreira hematoencefálica, o triptofano livre (TRPL) compete com os outros cinco aminoácidos (aminoácidos neutros: AN) para seu transporte e conseqüente síntese de serotonina cerebral (PARDRIDGE, 1998). (figura 2)

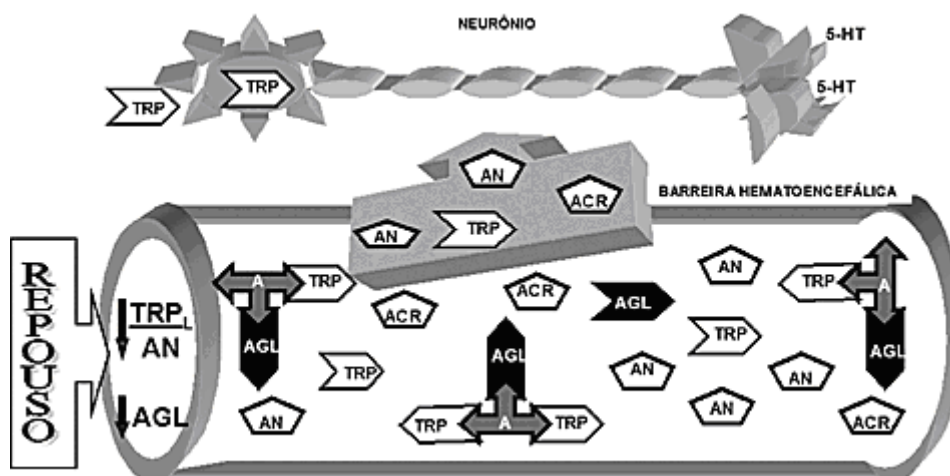


Figura 2: Captação do triptofano e metabolismo da serotonina em repouso (TRP/AN)

Os aminoácidos competem um com os outros por adesão ao carreador e desta forma, da corrente sanguínea para o cérebro. Isto leva à diminuição de triptofano em relação aos outros aminoácidos: tirosina, fenilalanina, leucina, isoleucina ou valina. Entre os cinco aminoácidos competidores, o que possui a menor concentração plasmática é o triptofano (50μM). É estimado que a razão entre TRP:AN seja de 1:100 (JAKEMAN, 1998).

Uma abordagem utilizada na investigação da captação cerebral de triptofano é a proporção plasmática entre TRP e a soma dos aminoácidos neutros (AN): $(TRP / \sum AN)$. Os mecanismos que aumentam a concentração de TRP, sobre a soma de seus competidores, são prováveis de aumentar a síntese de serotonina cerebral (FERNSTROM, 1994). Outro aspecto da competição pela barreira hematoencefálica é o aumento da concentração da parcela livre do triptofano. A albumina também transporta ácidos graxos livres, quanto maior sua concentração plasmática mais triptofano livre é deslocado, melhorando sua captação cerebral (DAVIS, 1995). É aceito que a taxa de síntese de serotonina é dependente da disponibilidade do substrato (triptofano livre) no plasma, uma vez que a enzima limitante do processo no

sistema nervoso central (triptofano hidroxilase) (CHAOULOFF, 1993, 1997) está cerca de 50% saturada.

A síntese de serotonina cerebral pode ser modulada por três fatores: quantidade de triptofano total no plasma (proporção entre a parcela livre e a ligada à albumina); transporte de triptofano livre pela barreira hematoencefálica contra seus competidores (TRP/<AN) e a atividade da enzima triptofano hidroxilase. Os dois primeiros mecanismos possuem possibilidade de manipulação dietética.

Uma refeição hiperproteica, desta forma, reduz a razão do triptofano plasmático para competir com os outros aminoácidos. Pouco triptofano é carregado através da barreira e ocorre então pouca reação nos neurônios. Dieta com mais carboidratos tem efeito oposto, porque a secreção de insulina em resposta a ingestão de carboidratos, reduz os níveis plasmáticos dos aminoácidos competidores, mas não os de triptofano. Assim, os outros aminoácidos circulam como moléculas livres, mas o triptofano é transportado pelo plasma ligado a albumina (PARDRIDGE, 1998; BOURRE, 2004).

O triptofano é essencialmente imune aos efeitos da insulina. O resultado disso é que após uma ingestão de carboidrato, os níveis plasmáticos de triptofano aumentam em relação aos competidores oferecendo mais triptofano para reagir com os neurônios (WURTMAN, 2005)

4.4.6 – *Formação química da serotonina*

A transformação de triptofano em 5-HT ocorre dentro dos corpos dos neurônios serotoninérgicos, principalmente aqueles localizados no núcleo da rafe (GALLAGHER et al., 2003). O processo envolve duas enzimas:

A primeira, a triptofano hidroxilase, é a enzima limitante da síntese de 5-HT. Encontra-se somente 50% saturada nos sítios do SNC, onde a 5-HT é produzida (YOUNG & GALTHIER, 1981), e converte o triptofano em 5-hidroxitriptofano. Esse composto intermediário é encontrado em pequena quantidade, pois sua conversão a 5-HT é rápida. A enzima responsável por essa eficiente transformação, a decarboxilase dos aminoácidos aromáticos, é amplamente distribuída e age sobre um grande espectro de substratos, tendo reservas capazes de responder a cargas de 5-hidroxitriptofano, muitas vezes superiores ao normal.

Uma vez produzida, a 5-HT é armazenada em vesículas pré-sinápticas localizadas nos terminais axônicos. Estudos em ratos demonstraram que a atividade de liberação das vesículas obedece a um padrão rítmico lento (GALLAGHER et al., 2003) e que a liberação é dependente da atividade neuronal. Esse padrão parece ser uma variação fisiológica, visto que em gatos essa atividade diminui durante o sono (PUIZILLOUT et. al., 1981).

Após a liberação da serotonina na fenda sináptica para a ação como neurotransmissor, ela pode ser recaptada para o terminal axônico pelos receptores pré-sinápticos ou, então, ser degradada na sinapse.

O metabolismo da 5-HT envolve outra enzima encontrada em quantidade abundante e com propriedades sobre vários substratos. A monoaminoxidase (MAO) é que inicia o processo de degradação da 5-HT a ácido Hidroxi-indolacético (5-HIAA). Como na síntese, o metabolismo de 5-HT envolve uma rota de dois passos. A MAO oferece à enzima aldeído desidrogenase o primeiro metabólito da 5-HT, 5-hidroxiindol acetaldeído, e essa o converte em 5-HIAA. O último é um metabólito facilmente medido e considerado um marcador da função serotoninérgica. Seus níveis estão elevados quando há um aumento na produção de 5-HT (VEENTRA-VANDERWEELE et al., 2002). (figura 3)

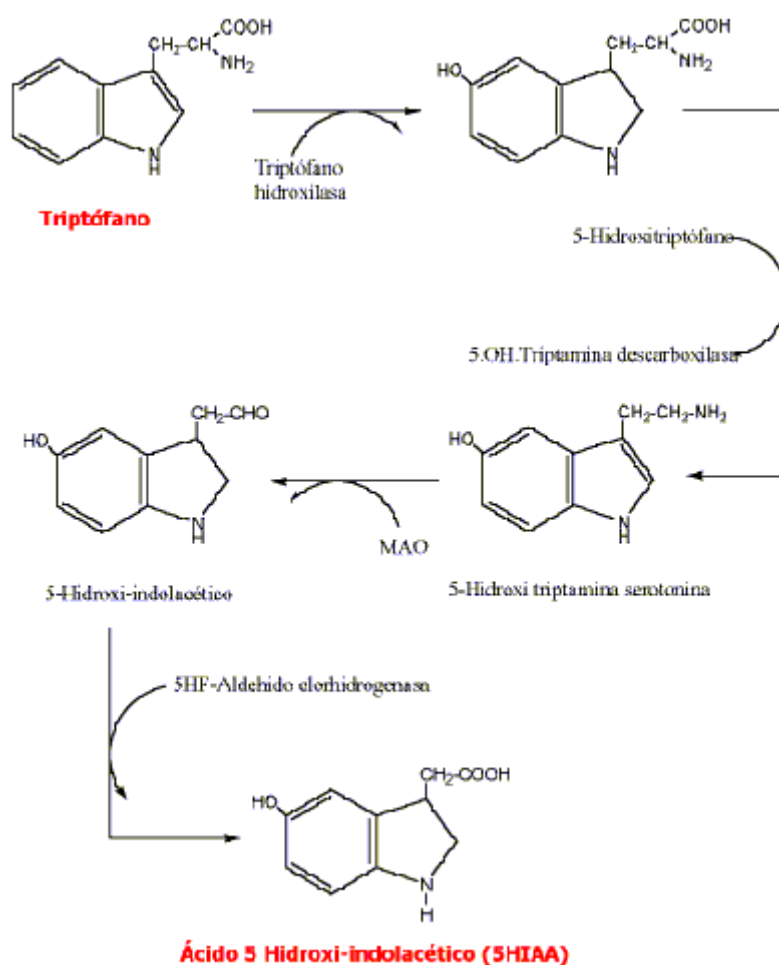


Figura 3 – Síntese e degradação da serotonina

4.4.7 – Sinapse serotoninérgica

A serotonina é produzida em nível central nos núcleos localizados na ponte e parte superior do tronco encefálico e em nível periférico nas células enterocromoafins intestinais.

Como em outros transmissores, a 5-HT é liberada na junção sináptica e exerce seu efeito nos receptores específicos da membrana pós-sináptica. Alguns receptores de serotonina

são pré-sinápticos e outros pós-sinápticos. Os neurônios que secretam 5-HT são denominados serotoninérgicos.

O precursor primário do L-triptofano (Trp) é obtido através de dieta que por meio de um aminoácido transportador ingressa no neurônio, onde ocorre uma hidroxilação (TpH) e uma carboxilação convertendo-o em serotonina (5-HT), que é transportada até serem armazenadas em vesículas pré-sinápticas através do transportador vesicular tipo 2 da monoamina (VMAT2), para liberação posterior na fenda sináptica (VEENSTRA VANDERWEELE, et al. 2002).

A 5-HT captada pelas vesículas sinápticas, quando se dá o impulso nervoso, é liberada por processo de exocitose. Pós-sinápticamente pode atuar em receptores chamados de 5-HT1(A,B,D ou E), 5-HT2(A,B ou C), 5-HT3, 5-HT4, 5-HT5(A ou B), 5-HT6 ou 5-HT7.

O principal mecanismo de retirada da 5-HT da fenda sináptica é a recaptação pelo terminal nervoso. A serotonina é removida das sinapses após sua liberação, por um processo de recaptação pelo neurônio pré-sináptico, os de tipo 5-HT1A, nos corpos celulares, e os tipos 5-HT1B ou 1D (dependendo da espécie), nos terminais nervosos dos neurônios serotoninérgicos. Todos esses receptores, à exceção dos 5-HT3, ligados a canais iônicos, estão relacionados a proteína G.

Após recaptação, são degradadas dentro do neurônio, pela enzima monoamonoxidase (MAO) e convertida no ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), ou são "re-embaladas" em vesículas, para serem liberadas na fenda sináptica novamente, como observado na figura 4 (MILLS, 1998).

Portanto, sua degradação intracelular ocorre pela enzima monoaminoxidase (MAO), sendo um de seus principais metabólitos o ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA).

Verificou-se que os inibidores da monoaminoxidase (IMAOs) bloqueiam a enzima MAO, que destrói as monoaminas, e os tricíclicos inibem a recaptação das monoaminas.

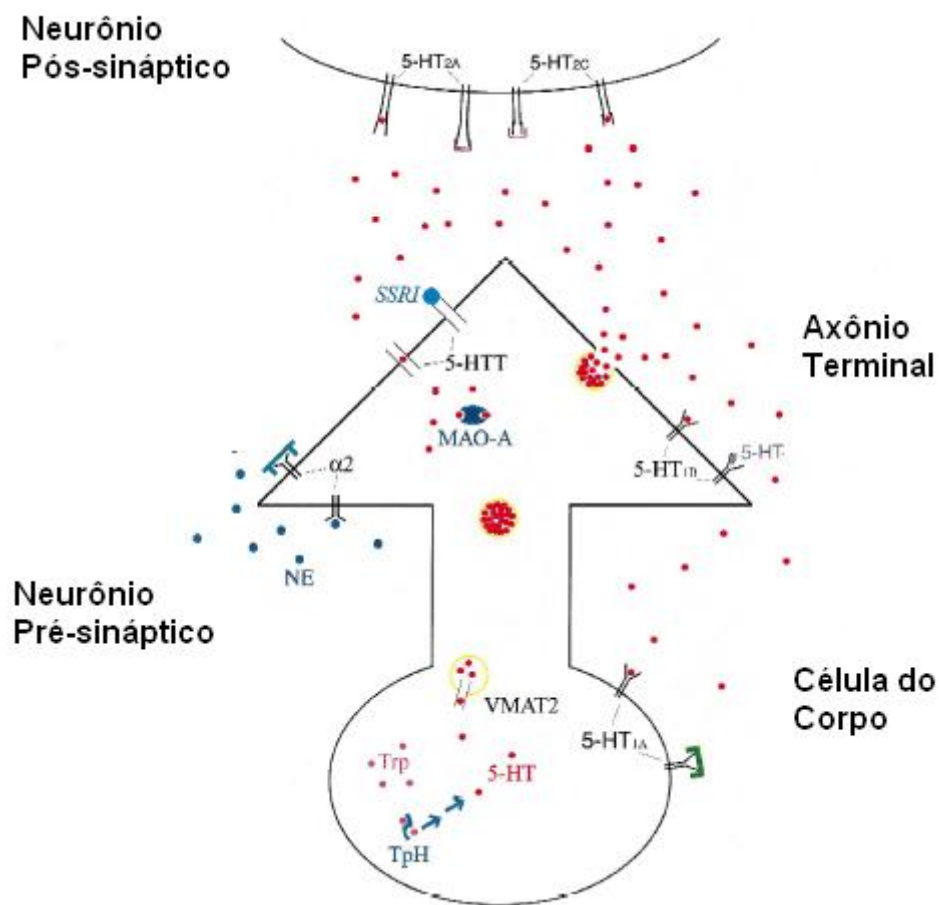


Figura 4: Modelo de sinapse serotoninérgica (VEENSTRA VANDERWEELE, et al. 2000.)

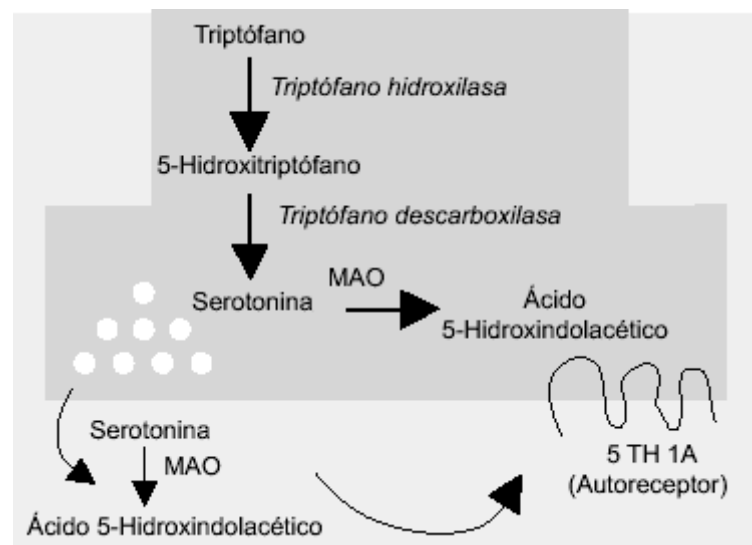


Figura 5: Fisiologia normal da liberação sináptica da serotonina

4.4.8 Causas do Aumento do Nível de Serotonina

A estimulação excessiva dos receptores pós-sinápticos 5HT1A e 5HT2 devido ao aumento da disponibilidade de serotonina, tanto em nível central como em periférico pode resultar em uma fisiopatologia conhecida como síndrome serotoninérgica (BIRMES et al., 2003). Os níveis de serotonina podem aumentar segundo: 1) aumento da síntese do L-triptofano, 2) aumento da liberação através de anfetaminas, cocaína, fenfluramina, reserpina, 3) diminuição na recaptação através de inibidores seletivos de recaptação de serotonina como anti-depressivos tricíclicos, trazone, venlafaxina, meperidina, 4) pela diminuição do metabolismo através de inibidores da MAO, 5) por estimulação direta dos receptores pós-sinápticos como buspirona, L-dopa, lítio, ácido lisérgico e trazodone (MASON et al., 2000).

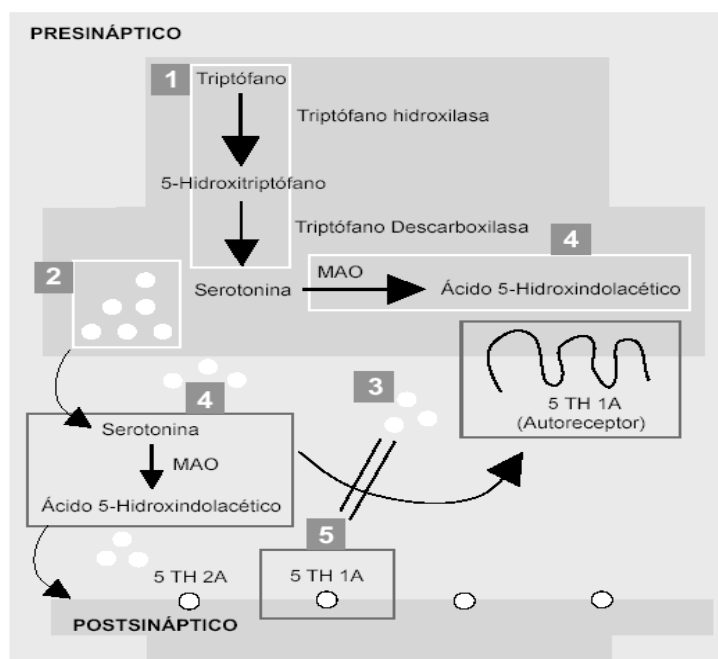


Figura 6: Fisiologia do aumento do nível de serotonina

4.4.9 Evidências do aumento do Nível de Serotonina em pacientes com TIDs

Em 1961, Shain e Freedman identificaram pela primeira vez um aumento da serotonina em 30% de pacientes com autismo infantil, o que veio a ser confirmado por muitos outros autores (COOK, 1990).

Abramson et al. (1989) relataram elevado nível de serotonina no sangue em probandos autistas e em seus parentes de primeiro-grau. Piven et al. (1989, 1991) encontraram que os níveis da serotonina eram significativamente mais elevados em indivíduos autistas com um irmão com autismo ou TID do que naqueles sem um irmão com esta doença, e que os pacientes com TIDs sem um irmão afetado os níveis de serotonina são significativamente mais elevados do que controles.

Alguns autores supõem que um aumento consistente da serotonina nos membros de uma família indica uma associação com fatores genéticos ou uma predisposição para os TIDs (ABRAMSON et al., 1989).

Os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela hiperserotonemia nos TIDs não são ainda conhecidos. Como hipóteses temos o aumento da recaptação e/ou a diminuição da liberação da 5-HT. Parece haver portanto, um grupo heterogêneo de causas (ANDERSON, 2002).

Observou-se que depleção de serotonina muito precocemente em fetos de ratos leva a uma redução permanente no número de neurônios em ratos adultos (WHITAKER-AZMITIA, 2001).

Por outro lado, níveis persistentemente elevados de serotonina poderiam indicar um déficit na eliminação de sinapses em cérebros de pacientes com TIDs e poderiam contribuir para um aumento no número de minicolunas corticais (KELLER & PERSICO, 2003).

Chugani et al. (1999), reportaram uma série de trabalhos utilizando PET scan com o

marcador alfa-metil-triptofânico. Um estudo mostrou síntese alterada de serotonina nos tratos dentato-tálamo-corticais em pacientes com TIDs do sexo masculino. Além disso, o período de síntese elevada de serotonina cerebral que ocorre em crianças típicas até os 5 anos de idade (capacidade de síntese 200% maior do que em adultos) não parece ocorrer em crianças com TIDs. Nestas, a capacidade de síntese de serotonina aumenta gradualmente dos 2 aos 11 anos de idade, alcançando valores 1,5 vezes maiores do que aqueles observados em adultos típicos (MULLER et al., 1998. & CHUGANI et al., 1997).

A mais alta concentração de 5HT (90%) é encontrada nas células enterocromafins do trato gastrointestinal. A maioria do restante do 5HT corporal é encontrada nas plaquetas e no SNC.

4.4.10 *Barreira hemato encefálica e TIDs*

Segundo Janusonis (2005), diferentes grupos evidenciaram anormalidades anatômicas em cérebros de paciente com TIDs, tais como números reduzidos de células de Purkinje no cerebelo (KERN, 2003); crescimento raramente rápido do volume e da circunferência cortical cerebral da cabeça durante os primeiros anos após o nascimento (CARPER & COURCHESNE, 2000); minicolunas cortical anormais (CASANOVA, 2004); anormalidades do sistema límbico (SCHUMANN et al., 2004); anormalidades cerebrais (RODIER, 2000); e outras alterações do cérebro (COURCHESNE et al., 2004) e, considerando a complexidade do desenvolvimento do cérebro e de sua natureza altamente dinâmica, estas anormalidades podem ser o resultado de uma corrente de eventos longa e complexa. A anormalidade original que os causou pode ocorrer cedo no desenvolvimento (CHUGANI, 2004) mas pode não ser tão óbvia pelo tempo no qual os TIDs é diagnosticado.

Segundo Chugani, é improvável que as evidências de hiperserotonemia no sangue encontradas em pacientes com TIDs, esteja sendo induzida pelo cérebro. Segundo a mesma, em um estudo estatístico realizado com genes candidatos relacionados aos TIDs, a barreira hemato-encefálica humana (BHE) - barreira semi-permeável, entreposta entre o sangue e o Fluido do Cérebro-Espinal (CSF) pelas células endoteliais dos capilares de plexus coróide - desenvolve-se ao redor de um ano após o nascimento, se não antes (VIRGINTINO et al., 2004), e é virtualmente impenetrável a 5-HT. Este dispositivo protetor (BHE) tem muitos elementos, estendendo-se de junções entre células endoteliais nos capilares do cérebro, restringindo a permeabilidade de moléculas maiores à neurógliia.

Tem como função: 1) Proteger o cérebro de "substâncias estranhas" que possam estar presente no sangue e danificar o cérebro. 2) Proteger o cérebro contra hormônios e neurotransmissores que possam estar circulando pelo corpo. 3) Mantém um ambiente químico protegido e constante para o bom funcionamento do cérebro. Porém, no cérebro, as células endoteliais são posicionadas de uma maneira que apenas as menores substâncias possam entrar no Sistema Nervoso Central (SNC)

O triptofano, precursor da 5-HT, pode cruzar a BHE, mas os níveis do triptofano não parecem ser alterados nos indivíduos com TIDs (MINDERAA et al., 1987, 1989). (figura 7)

Ao contrário da anatomia do cérebro maduro, os níveis de 5-HT no sangue, devem ativamente ser mantidos, porque a meia-vida do sangue é de somente alguns dias. Isto sugere que o fator que causa o hiperserotonemia sanguínea continua a ser anos funcionalmente ativos após o nascimento.

O fator biológico que causa os TIDs (em vermelho) pode ter uma função dupla. Pode ser expressado (1) no CNS, onde realiza um papel no desenvolvimento adiantado do cérebro, e (2) parte externa do CNS, onde participa dos processos que determinam os níveis 5-HT no sangue. O sistema "central" e "periféricos" da 5-HT são separados pela barreira hemato-

encefálica (BHE) que amadurece após o nascimento, mas que geralmente, não se encontra formada até a idade 2 ou 3 se o cérebro é de TIDs (caixa preta). Devido a esse maior tempo, o fator alterou numerosos processos desenvolvimentais no cérebro e pode não mais por muito tempo ser óbvio. Este mesmo fator continua a operar anos após o nascimento fora do CNS, onde mantém os níveis 5-HT mais altos do que o normal no sangue. Em contraste ao cérebro, o sangue possuem vida-curta e continuam a ser produzidos durante toda a vida (JANUSONIS, 2005).

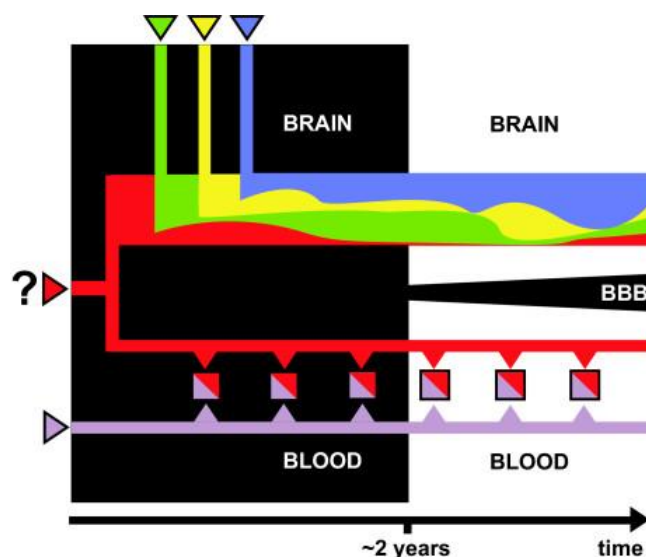


Figura 7 – Representação esquemática da barreira hemato-encefálica (BBB).

4.4.11 Transportadores de Serotonina

O gene que codifica a proteína do transportador da 5HT (5HTT) é candidato à investigação molecular nos TIDs, uma vez que o 5HTT tem um papel importante na mediação do processo de recaptura de 5HT na terminação neural pré-sináptica. Uma alteração na estrutura do gene do 5HTT poderia explicar uma suscetibilidade aos TIDs.

A 5HT é careada ativamente da fenda sináptica pelo SLC6A4. Esta proteína é um transportador localizado na membrana neuronal pré-sináptica.

O gene que o codifica está localizado em 17q11.1-q12, tem 31 kb e 14 éxons (LESCH et. al., 1994). Foi detectado um polimorfismo localizado aproximadamente 1 kb a montante do sítio iniciador da transcrição do SLC6A4, composto por 16 elementos repetidos. O polimorfismo consiste numa inserção (alelo longo) ou deleção (alelo curto) de 44 pares de bases envolvendo os elementos repetidos 6 a 8. Este polimorfismo foi designado como 5-HTTLPR por Lesch (1996).

Além deste, outros polimorfismos de número variável de repetições em tandem (VNTR) ou SNP foram detectados neste gene .

A presunção óbvia pela qual variantes alélicas poderiam redundar em proteínas funcionalmente diferentes levaram a inúmeros experimentos na esperança de estabelecer associações positivas com um ou outro alelo em uma série de afecções psiquiátricas.

Os TIDs não fugiu deste alvo. Os resultados são discrepantes com associações positivas e negativas.

4.4.12 Receptores de Serotonina

A função da serotonina é exercida através de sua interação com receptores específicos. Vários receptores de serotonina foram clonados e identificados como 5HT1, 5HT2, 5HT3, 5HT4, 5HT5, 5HT6, e 5HT7.

Dentro do grupo 5HT1 existem os subtipos 5HT1A, 5HT1B, 5HT1D, 5HT1E e 5HT1F. Existem três subtipos 5HT2, o 5HT2A, o 5HT2B, e 5HT2C assim como dois subtipos 5HT5, o 5HT5A e o 5HT5B.

A maioria dos receptores 5HT_{1A} no neocórtex localiza-se em neurônios piramidais glutamatérgicos. Esses receptores possuem ação inibitória, o que reduziria a ação glutamatérgica excitatória.

Os receptores 5HT_{1A} possuem especificidade para antagonistas e podem ser pré ou pós-sináptico de acordo com os subtipos:

5 HT1A

Receptor pré-sináptico

Presente na substância nigra, córtex e hipocampo

Em algumas espécies também é pós-sináptico

Atua na síntese e no "firing" de 5-HT

5-HT1B

Receptor pré-sináptico

Presente nos rins e substância nigra

Atua na liberação e síntese de 5-HT

5-HT1C

Receptor pós-sináptico

Presente no plexo coróide

Local de ação de alguns antipsicóticos atípicos

Atua na ansiogênese e na anorexia

5-HT1D

Auto-receptor pré-sináptico

Atua na liberação e síntese de 5-HT

5-HT1E

Receptor pós-sináptico, estruturalmente de transição entre o 5-HT1 e 2

Quadro 6 – Subtipos de receptores 5HT1 e suas funções

Os receptores 5HT₂ estão localizados em nível pós-sináptico, sendo o tipo A o mais estudado. Os receptores 5HT_{2A} são mediadores da agregação plaquetária e da contração dos músculos lisos. Supõe-se que os receptores 5HT_{2C} estejam envolvidos no controle alimentar, dado que camundongos desprovidos desse gene tornam-se obesos pela ingestão de alimentos e são também sujeitos a ataques fatais. Os receptores 5HT₃ estão presentes no trato intestinal e estão relacionados a vomitação. Também presentes no trato gastrointestinal estão os

receptores 5HT₄, onde funcionam na secreção e nos movimentos peristálticos. Os receptores 5HT₆ e 5HT₇ estão distribuídos por todo o sistema límbico cerebral e os receptores 5HT₆ apresentam uma alta afinidade por drogas antidepressivas (TURKEL et al., 2001).

Em relação aos genes 5-HTRs, nenhuma associação foi observada para os receptores 5-HTR_{2B} e 5-HTR₇, (LASSIG et al., 1999) mas a presença de um polimorfismo no gene do receptor 5-HTR_{2A}, em pacientes com TIDs e controles, mostrou associação significativa nos indivíduos afetados.

Receptor	Sinalizador	Informações	Cromossomos
5- HT1A	Adenil Ciclase	Receptor pré-sináptico. Presente na substância nigra, córtex e hipocampo. Possue ação inibitória Em algumas espécies também é pós-sináptico.	5q11.2-13
5- HT1B	Adenil Ciclase	Receptor pré-sináptico Presente nos rins e substância nigra Atua na liberação e síntese de 5-HT	6q13
5- HT1D	Adenil Ciclase	Auto-receptor pré-sináptico Atua na liberação e síntese de 5-HT	1p34.3-36.3
5- HT1E	Adenil Ciclase	Receptor pós-sináptico	6q14-15
5- HT1F	Adenil Ciclase	Receptor pré-sináptico.	3p11-12
5- HT2A	Fosfolipase C	Receptor pós sináptico ligado a proteína G que ativa a hidrólise fosfolipídica. Apresenta uma possível ligação com transtornos psicóticos e alucinações.	13q14-21
5- HT2B	Fosfolipase C	Envolvidos no controle alimentar	2q36.3-37.1
5- HT2C	Fosfolipase, GC	Envolvidos no controle alimentar.	Xq24
5- HT3A	Canais de Na ⁺ /Ca ⁺	Encontran-se presentes no trato intestinal e estão relacionados com a vomitação.	11q23.1-23-2
5- HT3B	Canais de Na ⁺ /Ca ⁺	Encontran-se presentes no trato intestinal e estão relacionados com a vomitação.	11q23.1-23-2
5- HT4	Adenil Ciclase	Presentes no trato gastrointestinal, onde apresentam funções na secreção e nos movimentos peristálticos.	5q31-33
5- HT5A	Adenil Ciclase	Acoplada a proteínas G que afetam a atividade da adenilase ciclase ou da fosfolipase C g.	7q34-36
5- HT5B	Adenil Ciclase	No cérebro do ratos adultos, a expressão desse gene ocorre predominantemente nas células CA1 do hipocampo. Pouca expressão é vista durante o desenvolvimento embrionário.	2q11-13
5- HT6	Adenil Ciclase	Alta afinidade por drogas antidepressivas. Distribuído por todo o sistema límbico do cérebro	1p35-36
5- HT7	Adenil Ciclase	Distribuído por todo o sistema límbico do cérebro	10q23.3-24.3

Quadro 7 : Receptores de serotonina

4.5 Receptor 5HTR2A

4.5.1 Localização

Chen et al. (1992) demonstraram que o gene HTR2 consiste em 3 éxons separados por 2 íntrons e comprimento de mais de 20 kb.

Kato et al. (1995) apresentaram evidências de impressão genômica no gene HTR2 e demonstraram que o gene HTR2 esteve expresso somente no alelo materno.

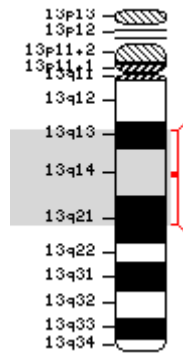


Figura 8: Cromossomo 13 (gene 5HTR2A na região 13q14-21)



Figura 9: Estrutura de HTR2A e de região circunvizinha

Sparkes et al. (1991) usaram um clone do cDNA de rato para HTR2, que tinha sido mostrado em hidridização cruzada com DNA de humano e do rato, para mapear o gene no rato e no homem pelo híbrido da célula somática e em estudos de hibridização *in situ*. Eles concluíram que o gene está localizado em 13q14-q21 no homem e no cromossomo 14 em rato.

Hsieh et al. (1990) confirmaram a atribuição do locus HTR2 ao cromossomo humano 13 e ao cromossomo 14 do rato pela análise células somáticas híbridas. Além disso, um estudo de ligação, usando um polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP) detectado com a ponta de prova HTR2, mostraram estreita ligação entre HTR2 e o locus para o esterase D. Concluíram então que HTR2 está provavelmente entre ESD e RB 1, o gene retinoblastoma -1.

4.5.2 *Estudos Genéticos e Moleculares*

Segundo Bartlett et al., (2002), a região 13q14-q21 é a de maior suscetibilidade para os TIDs.

Harvey et al. (2003) investigaram se a serotonina agonista e a loxapine e o clozapina antagonistas têm um potencial alterado para 4 variantes alélicas (T25N, I197V, A447V, e H452Y) do receptor 5HT2A humano quando comparados com um alelo selvagem (wildtype). Encontraram que o alelo de I197V requereu uma concentração 2 vezes mais elevada do clozapina para inibir a estimulação de serotonina, comparado ao receptor do selvagem (wildtype) ($P = 0.036$). A mutação de I197V não afetou a inibição do estimulador de serotonina pelo loxapine nem ele alterou a ativação do receptor pela serotonina. As outras 3 mutações não alteraram

significativamente a resposta do receptor ao agonista serotonina ou aos antagonistas loxapine e clozapina.

Quervain et al. (2003) apresentaram evidências que os indivíduos com o polimorfismo H452Y executaram de forma mais pobre os testes de recordação da memória do que indivíduos com um genótipo normal, sugerindo um papel para o receptor de HTR2A na memória de funcionamento.

Diversos autores realizaram estudos moleculares com o receptor 2A da serotonina relacionando os polimorfismos encontrados com alguns transtornos e comparando a frequência destes polimorfismos encontrados em pacientes com um grupo controle.

O quadro 8 trás um resumo dos dois principais polimorfismos estudados e os transtornos relacionados, envolvendo-os.

A relação entre os receptores 5HT2A e a cognição tem sido estudada. Sabe-se que as variações nas atividades deste receptor contribui para alterações cognitivas importantes (HARVEY, 2003). Neste sentido, um estudo recente de Kugaya et al. (2003) demonstra que a administração de estrógenos, não só aumenta a atividade destes receptores em regiões pré-frontais, mas também possuem um efeito na cognição, que se concreta em um menor rendimento em provas de fluência verbal e seqüenciação.

Orabona et al. (2004), realizaram um estudo de associação com o gene que codifica o receptor de serotonina 2C (HTR_{2C}), localizado em Xq24. Este gene possui uma variante funcional Cys23Ser (G>C) que promove variações interindividuais no comportamento. Através da genotipagem desse polimorfismo por SNPE (*Single nucleotide polymorphism extension*) e análises estatísticas, encontraram nos estudos preliminares evidência significativa de associação entre o alelo G e meninos com TIDs ($p \leq 0,05$).

Localização	Gene	Desordens descritas, envolvidas com este gene	Polimorfismos Implicados nos Transtornos
13q14-q21	HTR2A 5-hidroxitriptamina (serotonina) e receptor 2A	• Suscetibilidade para dependência de álcool (NAKAMURA et al., 1999)	
		• Suscetibilidade para Anorexia Nervosa (COLLIER et al., 1997; HINNEY et al., 1997; CAMPBELL et al., 1998)	
		• Suscetibilidade para Esquizofrenia (WILLIAMS et al., 1996; WILLIAMS et al. 1997; ARRANZ et al., 1998)	• T102C • -1438G-A
		• Suscetibilidade para Transtorno Obsessivo-Compulsivo (ENOCH et al., 1998; WALITZA et al., 2002; PARSONS et al., 2004)	
		• Suscetibilidade para Transtorno do Comportamento Afetivo (ENOCH et al., 1999)	

Quadro 8: Principais estudos que evidenciaram o envolvimento de polimorfismos do receptor 2A da serotonina com transtornos neurológicos

4.5.3 Polimorfismo T102C

O gene receptor 5HT2A está localizado no cromossomo 13 (13q14-21) e possui 3009pb

Para cada gene humano, pode-se reconhecer diferenças em suas seqüências de nucleotídeos, chamadas polimorfismos. Assim, a seqüência do gene receptor da serotonina do tipo 2A (5HTR2A), no exón 1, nucleotídeo 102, pode ser T ou C.

Existe, assim, cromossomos 102T e 102C e, sabendo que todos temos dois cromossomos de cada par, podemos ser TT, TC ou CC (os três genótipos do polimorfismo T102C do gene 5HT2A).

Variantes polimórficas de T102C do gene receptor de 5HT2A, através de primers que flanqueiam o local na posição 102 (Senso(PF)(5'→3'): 5' - TCT GCT ACA AGT TCT GGC TT -3'. Anti-senso (PR) (3'→ 5'): 5' - CTG CAG CTT TTT CTC TAG GG - 3') geram fragmentos de 342 pares de bases (102T). Porém, o alelo T102C consiste em dois fragmentos de 216 e 126pb.

Ocorre, portanto, um polimorfismo do códon da proteína (T102C) que não implica em uma troca de aminoácido, mas poderia afetar a expressão da proteína. Estudos recentes encontraram sujeitos normais com genótipo T102C/C102 para este polimorfismo, com cerca de 20% menos de expressão do alelo T na área 21 de Brodmann (POLESSKAYA & SOKOLOV, 2002)



Figura 10: Gel de agarose mostrando os três genótipos do polimorfismo T102C

O genótipo que se associava com uma maior expressão da proteína nesta área temporal era o T/T, enquanto que os portadores do alelo C apresentavam uma menor expressão.

Sabemos que o distúrbio bipolar, a esquizofrenia, o transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) e outros transtornos neurológicos, compartilham com os TIDs alguns sinais e sintomas aparentes, e também algumas peculiaridades moleculares.

Lohmueller et al. (2003) executou um metanálise de 301 publicações de estudos de associação genética que cobrem 25 diferentes associações relacionadas. Para 8 das associações, a análise do grupo de estudos de continuação rendeu uma replicação estatística significativa do primeiro relatório, com modestos efeitos genéticos estimados. Uma destas associações era aquela da esquizofrenia com o alelo C do 102T/C SNP no gene de HTR2A, como relatado primeiramente por Inayama et al. (1996).

Holmes et al. (1998) publicaram um estudo de associação entre um polimorfismo do receptor de serotonina 2A (T102C) e do receptor 2C (Cys23Ser) e sintomas psicóticos em pacientes portadores de Alzheimer. Foi encontrada associação entre o alelo C102 e alucinações visuais e auditivas e entre o alelo Ser 23 e alucinações visuais (HOLMES et al., 1998).

Li et al., (2002), estudando a ocorrência do polimorfismo T102C em crianças com déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) e crianças controles, observaram uma frequência significativamente menor do genótipo TT e uma frequência maior do genótipo CC em indivíduos afetados (TT: 22.35% em pacientes e 33.50% em controles . OR=0.569 (0,344-0,943), p=0,028; CC: 64,00% em casos e 47,30% em controles. OR=1,987 (1,264-3,1240, p=0,003).

Correa et al., (2002), em um estudo preliminar com 95 esquizofrênicos, com uma história de tentativa de suicídio, 78 deprimidos também com história de tentativa de suicídio e 52 controles sadios, mostrou que o polimorfismo 102T/C do gene 5HT2A pode estar

envolvido na susceptibilidade genética para o comportamento suicida ao encontrar que pacientes com uma história de tentativa severa de suicídio [letalidade > 3; (n = 32)] e pacientes sem história de tentativa de suicídio (n= 107) apresentaram frequências genotípicas significativamente diferentes ($p < 0.01$), TT [12 (37.5%), 30 (28%)], TC [17 (53%), 55 (51.4%)], CC [3 (9.4%), 22 (20.5%)].

Outros estudos buscaram estudar a ocorrência do polimorfismo T102C em pacientes com alguma sintomatologia de TIDs (MARTINEZ-BARRONDO et al., 2005; ZALSMAN et al., 2005; LAM, et al., 2004; ERTUGRUL et al., 2004; ARANGO et al., 2003) porém os resultados são contraditórios e inconclusivos, de maneira que outros estudos devem continuar sendo realizados para melhor esclarecer o seu papel, inclusive em populações distintas.

5 CASUÍSTICA E MÉTODO

5.1 Sujeitos

5.1.1 Amostra da população

O Centro de Genética Médica da Universidade Federal de São Paulo tem realizado uma série de pesquisas sobre polimorfismos dos genes que codificam enzimas envolvidas no metabolismo do ácido fólico. Para isso constituíram um amplo banco de DNA com indivíduos controles, representativos da população atendida no Hospital São Paulo, na APAE-SP e na AACD-SP. Deste banco de dados escolhemos aleatoriamente um número adequado de amostras de DNA pertencentes a indivíduos do sexo masculino, do sexo feminino, com antecedentes raciais branco e com antecedentes raciais não-branco. O antecedente racial foi

determinado pelas características morfológicas do indivíduo e pela informação da família sobre o país de nascimento dos 4 avós do sujeito do qual era obtido uma amostra de DNA. Foi considerado como sendo de antecedente racial branco os indivíduos sem evidência de antecedente negro e/ou indígena e/ou oriental e como não-branco os indivíduos que apresentassem evidência de qualquer um destes antecedentes raciais (VERGANI, 2002; PEREZ et al., 2003; DA SILVA et al., 2005).

5.1.2 Amostra de afetados

A disponibilidade fornecida pela Clínica de Transtornos Invasivos do Desenvolvimento da Universidade Presbiteriana Mackenzie permitiu investigar alguns sujeitos que cumpriram os critérios diagnósticos dos TIDs e os respectivos pais biológicos desses sujeitos.

5.1.3 Tamanho da Amostra

O presente trabalho analisou amostras de sangue periférico de 206 indivíduos da população geral, sendo deste total, 52 mulheres brancas, 54 mulheres não brancas, 50 homens brancos, 50 homens não brancos.

Foram investigados também 9 pacientes que cumpriram os critérios diagnósticos dos TIDs e os respectivos pais biológicos desses sujeitos, com exceção do pai de um dos sujeitos que é falecido.

A análise foi, portanto, realizada em um total de 232 indivíduos da amostra global, incluindo o grupo dos pacientes e pais, e população geral.

5.2 Instrumentos

5.2.1 Fatores Genéticos em Estudo

Polimorfismo T102C do gene receptor de serotonina 5HTR2A:

Senso(5'→3'): 5' - TCT GCT ACA AGT TCT GGC TT – 3'

Anti-senso (3'→ 5'): 5'- CTG CAG CTT TTT CTC TAG GG – 3'

5.2.2 Delineamento

A análise estatística para testar a distribuição dos genótipos entre os indivíduos foi feita com o teste do qui-quadrado com nível de significância de 5% assim como a verificação das distribuições gênicas e genóticas para testar se as proporções estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Os genótipos detectados nos afetados e respectivos pais biológicos foram descritos.

A execução do trabalho foi aprovada perante o Comitê de Ética em Pesquisa da UPM

5.3 Procedimentos

5.431 *Extração de DNA*

Para o estudo genético foi realizado a extração do DNA genômico, e amplificação do DNA pela técnica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). O produto da PCR foi submetido à eletroforese e os resultados analisados através do teste do quiquadrado.

A extração de DNA genômico foi realizada através de punção venosa de 5ml a 10ml de sangue periférico, segundo a técnica descrita por Miller et al. (1988), seguindo as etapas abaixo:

1. Iniciar a extração a partir de 2 a 10 ml de sangue coletado em tubo contendo 0,4 ml de EDTA 5%. Inverter o tubo várias vezes para obter uma solução homogênea;
2. Diluir o sangue em *bloodlysis* 1X em tubo tipo Falcon® até completar 45mL;
3. Deixar no gelo durante 30 minutos para a obtenção da lise das hemácias;
4. Centrifugar por 25 minutos a 2000 rpm;
5. Descartar o sobrenadante;
6. Lavar cuidadosamente o tubo e o precipitado com *bloodlysis* 1X até completar 10mL de solução e misturar em vórtex;
7. Centrifugar por 10 minutos a 2000 rpm;
8. Descartar o sobrenadante;
9. Repetir etapas 6 e 7 e 8;
10. Ressuspender o precipitado em 3 mL de *nucleolysis* 1X e misturá-lo em vórtex;

11. Adicionar 300 µL de SDS 10% (Dodecil Sulfato de Sódio) e 70 µL de proteinase K (200 U/mL) e misturar cuidadosamente;
12. Incubar a solução a 37°C durante a noite, ou a 65°C por uma hora. A solução ficará clara e viscosa;
13. Após a incubação adicionar 1 mL de NaCl saturado 6 M e misturar vigorosamente durante 15 segundos;
14. Centrifugar a solução durante 30 minutos a 3000 rpm;
15. Transferir o sobrenadante para um tubo tipo Falcon® limpo. Misturar vigorosamente durante 10 segundos;
16. Centrifugar a solução durante 20 minutos a 3000 rpm;
17. Precipitar o DNA adicionando 2 vezes o volume de etanol absoluto e coletar com um bastão de vidro (tubo capilar com a extremidade soldada);
18. Passar o DNA em uma solução de álcool 70%;
19. Diluir o DNA em 400-1000 µL de TE⁻⁴ em um tubo Eppendorf®;
20. Incubar a 65°C durante 30 minutos.

Para os casos em que no momento da coleta de material de algum paciente, houve dificuldades, o DNA foi extraído por kit comercial (GFX genomic – Amershan Biociences) a partir de pequenas quantidades (100µl) de sangue periférico.

5.3.2 Soluções para extração de DNA

As soluções de *Bloodlysis* 1X e *Nucleolysis* 1 X serão obtidas através de diluição das soluções de *Bloodlysis* 10X e *Nucleolysis* 10X, respectivamente.

- *Bloodlysis* 10X:

155 mM NH₄Cl;

100 mM KHCO₃;

10 mM EDTA pH 7,4;

- *Nucleolysis* 10X:

100 mM Tris-HCl pH 8,0;

4 M NaCl;

20 mM EDTA pH 8,2;

- TE⁻⁴:

10 mM Tris pH 8,0;

0,1 mM EDTA pH 7,4.

5.3.3 PCR

Após a extração do DNA, foi realizada sua amplificação pela técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) a partir dos seguintes oligonucleotídeos (WARREN et al., 1993)

Senso(5'→3'): 5' - TCT GCT ACA AGT TCT GGC TT – 3'

Anti-senso (3'→5'): 5' - CTG CAG CTT TTT CTC TAG GG – 3'

Foram utilizados:

150ng de DNA genômico
2,5µL de tampão comercial da enzima
200µM de cada dNTP
0,4µM de cada *primer*
2,0mM de MgCl₂
1,0U/µL de enzima *taq polimerase*
Volume final 25,0µL de solução

O programa PCR consistiu de:

35 ciclos de desnaturação por 50 segundos a 94°C
45 segundos de pareamento a 59°C
50 segundos de extensão a 72°C
10 minutos de extensão final a 72°C
24 horas de resfriamento a 4°C
(Levitan et al, 2002)

5.3.4 Digestão do Produto de PCR

O produto da amplificação resultou em fragmentos de 342pb, que foram submetidos à digestão pela enzima de restrição *Msp I*.

Foram utilizados para digestão:

8,0µL do produto da PCR
2,0µL de tampão comercial da enzima

15,0 U de enzima de restrição *Msp I*

Volume final: 20,0µL

O produto foi digerido em Banho Maria a 37°C *overnight*.

Os fragmentos amplificados a partir do alelo mutado (C) foram clivados em fragmentos de 216pb e 126pb. Na presença do alelo normal (T), um sítio de restrição é abolido e os fragmentos amplificados permanecem com 342pb (CHOI et al., 2005; INADA et al., 2003). O produto digerido foi submetido à eletroforese.

5.3.5 Eletroforese

O produto da PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 2% a 100V, corado com brometo de etídio e visualizado em transluminador U.V. para verificar se houve a amplificação do fragmento.

Os fragmentos constatados amplificados foram digeridos e seu produto submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida 8% a 250V, corado também com brometo de etídio e visualizado em transluminador U.V.

5.3.6 Preparação dos géis para eletroforese

Gel de agarose 2%

5,0g de agarose (Gibco BRL®)

25mL de TBE 10X

Volume final: 250mL

Solução:

- 10XTBE:

54g Tris

27,4g Ácido bórico

25mL EDTA

Volume final: 500mL

Gel de poliacrilamida 8%

Inicialmente a poliacrilamida foi preparada na concentração 30% na proporção 29:1 (29g de acrilamida (Gibco BRL®), 1 g de bisacrilamida (Merck®), volume final 100mL).

Esta solução foi então diluída para a concentração desejada acrescentando-se água destilada e TBE 10X de forma que a concentração de TBE na solução final fosse a mesma usada na solução tampão da cuba de eletroforese (1X).

Para que haja polimerização da acrilamida é acrescentada à solução final, persulfato de amônia 10% e TEMED (Gibco BRL®).

- Poliacrilamida 30%

29,0 g de acrilamida (Gibco BRL®)

1,0 g de bisacrilamida (Merck®)

Volume final: 100,0 mL

- Poliacrilamida 8%

67,5 mL de poliacrilamida 30%

25,0 mL TBE 10X

Volume final: 250,0 mL

5.3.7 - Tampão de corrida para eletroforese

0,025g Xilenocianol (Sigma ®)

0,025g Bromofenol blue (Sigma ®)

3mL Glicerol

Volume final: 10mL

Adicionar-se 4uL de tampão de corrida em cada amostra antes de aplicá-la no gel.

5.3.8 – Padronização dos Métodos Utilizados na Determinação do Genótipo T102C do gene *HTR2A*

A reação de PCR foi testada e otimizada, bem como a reação de digestão do produto amplificado e o procedimento de eletroforese.

A reação de digestão foi realizada juntamente com um controle de digestão conhecido (onde ambos os alelos eram cortados pela enzima de restrição) de forma a assegurar a qualidade da mesma. O controle era colocado no gel de eletroforese juntamente com as amostras para que as bandas observadas fossem comparadas com o padrão de corrida e eficácia da digestão.

Caso houvesse dúvida na interpretação do resultado, a PCR e/ou digestão eram repetidas com a intenção de manter o controle de qualidade.

6 RESULTADO E DISCUSSÃO

6.1. Amostra de Indivíduos Normais

Foram determinados os genótipos de 206 indivíduos classificados quanto ao sexo e antecedentes raciais de acordo com as tabelas 2 e 3.

Tabela 2 – Distribuição dos genótipos observados para o polimorfismo T102C do gene HTR2A, nos sexos masculino e feminino

	TT -/-		TC +/-		CC +/+		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Mulheres	25	12,14%	51	24,76%	30	14,56%	106	51,46%
Homens	23	11,17%	51	24,76%	26	12,62%	100	48,54%
Total	48	23,30%	102	49,51%	56	27,18%	206	100%

-/- homozigoto selvagem, +/- heterozigoto, +/+ homozigoto mutado

A distribuição das frequências entre homens e mulheres não mostra diferenças nas 3 classes (qui-quadrado = χ^2 ; grau de liberdade = GL; p = probabilidade)($\chi^2=0,19$; 2GL; p=0,907). A frequência do genótipo que seria considerado de risco (CC) no sexo vulnerável (homens) é de 12,62% menor do que das mulheres.

Yu et al., (2004), ao estudar o polimorfismo T102C na população Chinesa, encontrou para controles saudáveis (0.393; $\chi^2= 1.922$; p = 0.166) sendo a frequência do alelo C de 0,343 e não observou diferença entre a distribuição sexual. Vaquero et al. (2006) achou uma frequência aumentada do alelo C na população saudável. Já Khait et al., (2004) ao estudarem o polimorfismo em sujeitos normais caucasianos, encontraram uma prevalência do genótipo TT em controles (F=7.56, df=2,60, p=0.001), e TC em pacientes.

Os estudos da literatura mostram variação da distribuição dos genótipos em diferentes populações. Gürsoy et. al., (2001) encontraram em 56 indivíduos saudáveis a seguinte distribuição genotípica: TT = 22,4%; TC = 53,4%; CC=24,1%. Valores estes que se aproximam dos dados encontrados neste trabalho.

Quanto aos antecedentes raciais a distribuição dos genótipos está evidenciada na tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição dos genótipos observados para o polimorfismo T102C do gene HTR2A segundo os antecedentes raciais

	TT -/-		TC +/-		CC +/+		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Branços	26	12,62%	49	23,79%	27	13,11%	102	49,51%
Não Brancos	22	10,68%	53	25,73%	29	14,08%	104	50,49%
Total	48	23,30%	102	49,51%	56	27,18%	206	100,00%

-/- homozigoto selvagem, +/- heterozigoto, ++ homozigoto mutado

A distribuição dos genótipos por raça não mostrou diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=0,54$; 2GL; $p=0,762$).

Há que se considerar a dificuldade de classificação dos indivíduos de nossa população em raças distintas, já que nossa população é caracterizada por tão intensa miscigenação. Dessa maneira, não descartamos a possibilidade de tal mistura racial poder ter dificultado a estratificação da amostra de acordo com a etnia.

Os estudos sobre a distribuição dos genótipos em diferentes grupos raciais mostra também resultados contraditórios. Andreenkov et al., (2004), por exemplo, ao estudar o polimorfismo de HTR2A em diferentes grupos étnicos na Rússia, não encontrou nenhuma diferença estatística significativa entre os grupos. Haider & Zaid (2002), analisaram o polimorfismo T102C em 164 sujeitos árabes saudáveis e não encontraram diferença

significativa entre estes e outros estudos semelhantes realizados com populações Japonesas e Caucasianas. No entanto, diferentes autores, observam diferenças de distribuição de genótipos em grupos raciais diferentes (ABDOLMALEKY et al., 2004; YU et al., 2004;). Choi et al., (2005), por exemplo, em um estudo onde relacionaram o polimorfismo T102C com o nível de colesterol HDL em sujeitos da população coreana, observaram que os coreanos, quando comparados aos caucasianos, têm uma frequência mais baixa do alelo C do polimorfismo T102C de HRT2A, o que segundo os autores, demonstra a variação da frequência entre grupos étnicos diferentes.

As distribuições gênicas e genóticas foram calculadas e se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg nesta amostra ($p = 0,48$; $q = 0,52$)($\chi^2 = 0,022$; 1GL; $p = 0,52$).

6.2 Amostra de Indivíduos com TID

Tivemos a oportunidade de realizar a análise do DNA no sangue de 9 pacientes do sexo masculino e seus pais. Os resultados obtidos por família podem ser observados na tabela 4.

Tabela 4 – Distribuição dos genótipos nos grupos familiares dos pacientes analisados para o polimorfismo T102C do gene HTR2A

	Famílias								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
paciente	TC	TT	TC	TT	TC	TC	TT	TC	TC
Pai	CC	TC	TC	TT	falecido	TC	TT	TC	TT
Mãe	TT	TT	TT	TC	TT	TC	TT	TT	TC

A idade dos pacientes estudados variou de 6 a 20 anos, sendo 100% dos pacientes analisados do gênero masculino. A frequência dos genótipos TT nos pacientes foi de 33,33%; do genótipo TC foi de 66,67% e do genótipo CC foi de 0% (N=9). Assim, o genótipo CC, considerado vulnerável não foi encontrado entre os pacientes. De qualquer maneira a chance deste evento ocorrer nesta série de casos era mínima (1/9) já que somente a família 6 teria chance de ter um filho CC.

A prevalência do sexo masculino nos pacientes com TIDs é relatada por diversos autores (RUTTER, 1983; WING, 1984; MULHE, 2004), sendo a proporção de quatro meninos afetados para uma menina. Para explicar a maior incidência do transtorno em pacientes do sexo masculino WING (2002), propõe que os homens são acometidos com maior frequência, mas em graus mais leves, sugerindo que haja carga genética distinta em relação ao gênero, sendo que as meninas tendem a ser mais severamente afetadas.

Não existem trabalhos na literatura que apontam associação positiva de algum dos genótipos estudados no presente trabalho com os Transtornos Invasivos do Desenvolvimento. Porém sabemos que o distúrbio bipolar, a esquizofrenia, o transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) e outros transtornos neurológicos, nos quais mostrou-se associação com este polimorfismo, compartilham com os TIDs alguns sinais e sintomas aparentes, e também algumas peculiaridades moleculares. Talvez se deva procurar um fenótipo mais específico entre os TIDs (um endofenótipo) realizar investigação do tipo caso-controle.

Estudos buscaram estudar a ocorrência do polimorfismo T102C em pacientes com alguma sintomatologia dos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento, como por exemplo Martinez-Barrondo et al. (2005), ao investigarem uma possível associação entre o polimorfismo T102C e pacientes com Desordens de Pânico, na Áustria. Comparando os resultados obtidos com o grupo controle, não encontraram nenhuma diferença estatística significativa entre pacientes e controle nesta população e nem diferença entre os sexos.

Zalsman et al. (2005) examinaram a associação do polimorfismo T102C em pacientes com comportamento suicida e controles também puderam verificar que nenhuma diferença foi encontrada na distribuição dos alelos transmitidos e não-transmitidos. Não encontraram associação significativa do genótipo com o transtorno estudado, sugerindo que o polimorfismo T102C de 5-HT2A é improvável ser associado com o comportamento suicida.

Outros autores, (LAM, et al., 2004; ERTUGRUL et al., 2004; ARANGO et al., 2003) em seus estudos que apresentam transtornos que dividam algumas sintomatologias com os dos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento também encontraram resultados contraditórios e inconclusivos.

Diversos outros autores realizaram estudos moleculares com o receptor 2A da serotonina relacionando os polimorfismos encontrados com alguns transtornos e comparando a frequência destes polimorfismos encontrados em pacientes com um grupo controle (NAKAMURA et al., 1999; COLLIER et al., 1997; HINNEY et al., 1997; CAMPBELL et al., 1998; WILLIAMS et al., 1996; WILLIAMS et al. 1997; ARRANZ et al., 1998; ENOCH et al., 1998; ENOCH et al., 1999; WALITZA et al., 2002; PARSONS et al., 2004). No entanto, apesar do crescente tamanho da amostra e da considerável sofisticação metodológica, tem havido uma incômoda ausência de acordo entre os estudos (GUPTA & STATE, 2006).

Em um estudo realizado na China, foi investigado em pacientes hipertensos o polimorfismo de T102C . O estudo foi conduzido em 198 pacientes hipertensos e em 164 controles saudáveis. A frequência do alelo de C foi de 0.343 em pacientes hipertensos, que não era significativamente diferente daquele nos controles saudáveis (0.393; qui-quadrado = 1.922; $P = 0.166$). Além disso, nenhuma diferença entre os sexos foi observada (YU et al, 2004).

Holmes et publicaram um estudo de associação entre um polimorfismo do receptor de serotonina 2A (T102C) e do receptor 2C (Cys23Ser) e sintomas psicóticos em pacientes

portadores de Doença de Alzheimer (DA). Foi encontrada associação entre o alelo C102 e alucinações visuais e auditivas e entre o alelo Ser 23 e alucinações visuais (HOLMES et al., 1998).

Já um estudo realizado em pacientes espanhóis esquizofrênicos e um grupo de sujeitos controles, mostraram uma associação entre o polimorfismo T102C do gene receptor da 5HT2A e a esquizofrenia. Foi observado diferenças significativas na distribuição dos três genótipos (TT, TC, CC) e nas frequências dos alelos nos controles e nos esquizofrênicos. O alelo de C era mais freqüente em pacientes com esquizofrenia do que em controles saudáveis (VAQUERO et al, 2006).

Abdolmaleky et al, (2004) realizaram uma meta-análise de 31 estudos de associação caso-controle e encontram uma associação significativa entre o alelo C do polimorfismo T102C e a esquizofrenia. A associação foi mais pronunciada em amostras européias do que no total da amostra, formada também por asiáticos. Encontraram diferença significativa nos genótipos heterozigotos (C contra T) e na análise dos homozigotos (CC contra TT). Em países do leste da Ásia, não havia uma associação significativa com o alelo C ou CC, indicando fortes diferenças genética e incompatibilidade dos dados entre o grupo de europeus e populações do leste asiático. A frequência do alelo T era muito mais elevada em pacientes do leste asiático e em controles (59.5% e 57.5%, respectivamente) do que em pacientes europeus e em controles (40% e 43.5%, respectivamente). Efeitos de outros genes, efeitos ambientais na metilação do DNA ou métodos diferentes na classificação dos afetados podem ser explicar a heterogeneidade observada.

Pela revisão da literatura pudemos constatar o vastíssimo número de trabalhos de investigação sobre a genética dos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento. Destes trabalhos tem emergido um modelo multifatorial com componente poligênico e ambiental ainda não claramente entendido. Estudos similares em nossa população são necessários e o

presente estudo é uma primeira contribuição em uma linha de investigação que deve continuar.

7 CONCLUSÃO

O TID é uma patologia que ocorre em todo lugar do mundo, independente de raça, etnia, classe social ou inserção cultural. A proporção é de 04 homens para 01 mulher, onde mulheres são mais seriamente afetadas que os homens, estes acometidos com maior frequência, mas em graus mais leves (WING, 1984; MULHE, 2004). Afeta a maneira como a pessoa se comunica e interage com os que estão à sua volta e com o ambiente. Cerca de 90 em cada 100 mil pessoas sofrem desta condição (FROMBONNE, 2002).

Os sintomas dos TIDs geralmente persistem ao longo de toda a vida e muitos especialistas acreditam que o prognóstico depende do quanto antes ocorrer intervenções pedagógicas e terapêuticas, associadas ao uso de medicamentos quando necessário. Para a prática clínica, testes diagnósticos específicos através de exames laboratoriais ainda não são disponíveis, dificultando seu processo de reconhecimento, retardando o diagnóstico e angustiando os familiares.

Para um diagnóstico preciso, têm-se utilizado o CID-10, DSM-IV, escala CARS, observação comportamental e anamnese específica. O diagnóstico de TID deverá resultar de minucioso histórico evolutivo do paciente e inquérito familiar a respeito das habilidades cognitivas e comportamentais do mesmo (CARVALHEIRA et al., 2004).

A investigação clínica confirmará ou não se o TID está associado à outras alterações genéticas como a síndrome do X Frágil e a esclerose tuberosa, entre outras.

Cada caso é particular e individual, portanto, deve-se analisar cuidadosamente as intervenções necessárias para o tratamento específico.

Acidentes pré ou perinatais; infecções; casos ligados a outras causas neurológicas, dentre as quais a associação com convulsões; deficiência mental; concentração aumentada de serotonina circulante (PIVEN et al., 1991); diminuição de neurônios e sinapses em algumas áreas como amígdala, hipocampo e cerebelo; tamanho aumentado do encéfalo, têm sido associados aos TIDs (KEMPER et al., 1998). Outros inúmeros trabalhos têm se dedicado em desvendar fatores genéticos associados à etiologia dos TIDs (BAILEY, 1996; RISCH et al., 1999; MULHE, 2004;). Estudos com gêmeos e famílias têm mostrado influências genéticas importantes (FOLSTEIN E RUTTER, 1977; RITVO et al., 1985; STEFFENBURG et al., 1989; BAILEY et al., 1995;). Também são discutidos possíveis mecanismos genéticos envolvidos, tais como herança autossômica recessiva, herança multifatorial e herança poligênica.

Os avanços na Genética Molecular têm auxiliado as investigações na área através da tentativa de identificar, no DNA, genes responsáveis por características comportamentais. No entanto, o fato do fenótipo em questão ser psiquiátrico, nem sempre consistentemente classificável e, a possibilidade cada vez mais plausível de os TDIs não seguirem padrões clássicos de herança mendeliana e apresentarem uma heterogeneidade etiológica importante explica, em parte, as dificuldades em se estabelecer relações consistentes nos estudos de genética molecular.

Entretanto, resultados de pesquisas têm permitido encontrar associação entre genes específicos e psicopatologias, mesmo que, em muitos casos, os resultados obtidos em um determinado grupo de pessoas não tenham sido repetidos em outros grupos de indivíduos, dificultando a generalização dos mesmos.

Apesar de todas as discordâncias em relação aos genes candidatos para o TID, existem ainda boas razões para se acreditar que, uma vez conhecidos os genes envolvidos, novos agentes terapêuticos poderão atuar em alvos moleculares específicos. Na busca desses genes, a identificação de fenótipos quantitativos múltiplos é fundamental na seleção de algumas regiões. A detecção de tais genes, torna-se possível à medida que aumenta a disponibilidade de técnicas rápidas e automatizadas de rastreamento de todo o genoma (CARVALHEIRA, 2004)

Assim, trabalhos multidisciplinares ou estudos em consórcios são a grande esperança para o melhor entendimento dos TIDs.

Um número crescente de trabalhos tem relatado a ocorrência de anomalias cromossômicas em pacientes com TID, incluindo cromossomos extranumerários derivados do cromossomo 15, envolvendo a região 15q11-q13 e o cromossomo 7. Na região 15q11-q13 encontram-se genes cujo produtos atuam no sistema nervoso central e que são subunidades de receptores de neurotransmissores ou de canais de íons (UBE3A, GABRA5, GABRG3, CHRNA7, I ITO) (VEENTRA-VANDERWEELE et al, 1999; MARTIN et al., 2000; HERZING et al., 2002; NURMI et al., 2003). No cromossomo 7 os genes RELN e HOXA (PERSICO et al., 2001; ZHANG et al., 2002; BONORA et al., 2003) surgiram como fortes candidatos para a associação com o fenótipo do TID. Nos últimos anos, foi identificada uma mutação genética específica no gene NLGN4, no cromossomo 17q (JAMAIN et al., 2003), como sendo responsável por casos de retardo mental e/ou comprometimentos gerais do desenvolvimento. Também tem sido associada à região 2q em outras populações com dificuldade de linguagem (RAMOZ et al., 2004).

Embora os estudos etiológicos indiquem que os TIDs são um transtorno com forte suscetibilidade genética, os genes responsáveis por esta doença complexa não foram definidos ainda. Os resultados encontrados são inconsistentes, necessitando novos estudos e replicações

dos já realizados. Evidências acumuladas têm sugerido desequilíbrios em vários sistemas neuroquímicos, primariamente o dopaminérgico e o serotoninérgico, como sendo relevantes para a fisiopatologia deste transtorno (PIVEN et al., 1991; WHITAKER-AZMATIA, 2001).

Entre os possíveis genes, aqueles envolvidos com a diferenciação embriológica e funcionamento dos neurônios produtores da serotonina, estão merecendo destaque atual (YE et al., 1998; HYNES et al., 1997; BRODSKI et al., 2003; PATTYN et al., 2003; CRAVEN et al., 2004; VON DOORNINCK et al., 1999; HENDRICKS et al., 2003; CHENG et al., 2003). A existência de múltiplos polimorfismos nestes genes torna atraente o estudo deles em nossa população.

A 5-HT é formada pela hidroxilação e descarboxilação do triptofano. Polimorfismos envolvendo o gene produtor da triptofano-hidroxilase são quase todos não funcionais e pouco estudados nos TID.

O maior número de estudos referem-se aos polimorfismos dos alelos longo e curto da região promotora do gene transportador da serotonina. Pelo menos 13 estudos foram realizados com o teste do desequilíbrio de transmissão sendo encontradas associações preferenciais com um ou outro ou ausência de associações (COOK et al., 1997; PERSICO et al., 2000; BETANCUR et al., 2002; MC CAULEY et al., 2004; MULDER et al., 2005).

Os inibidores da recaptação da serotonina (IRSs), são um grupo de compostos não relacionados quimicamente que inibem fortemente a recaptação da serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) no sítio do transportador pré-sináptico. Ainda que sejam utilizados comumente na prática clínica, os IRSs foram pouco estudados nos TIDs.

As pesquisas futuras devem, provavelmente, incluir ensaios adicionais de antipsicóticos em indivíduos com TID. A avaliação da segurança e da eficácia no longo prazo é necessária com todos os agentes terapêuticos. (NIKOLOV, et al., 2006).

Segundo Bartlett et al., (2002) a região 13q14-21 é a de maior suscetibilidade para os TIDs. Nesta região os polimorfismos T102C e -1438G-A foram estudados para diversos transtornos que dividem algumas características com os TIDs (NAKAMURA et al., 1999; CAMPBELL et al., 1998; ARRANZ et al., 1998; PARSONS et al., 2004; ENOCH et al., 1999), mas não haviam ainda sido estudados em pacientes com TID e em sujeitos normais de nossa população (brasileira).

Devido ao fato das populações apresentarem origens étnicas diferentes, existem frequências alélicas distintas entre os diversos polimorfismos genéticos. As frequências alélicas podem variar entre indivíduos do sexo masculino e feminino, assim como entre diferentes faixas etárias. Quando controles não são bem pareados por etnia e sexo, há uma grande chance de a evidência de uma associação genética ser um falso-positivo.

Neste trabalho, o polimorfismo T102C estudado em sujeitos normais da população brasileira, não demonstrou, no entanto, diferenças significativas entre os distintos grupos raciais e nem entre os sexos.

Contudo, devido ao fluxo migratório que ocorreu por todo o Brasil, a definição de um grupo étnico preciso torna-se cada vez mais difícil.

A identificação de alelos de risco ou mutações de causas raras é somente um importante passo para desvendar a biologia dos TIDs. Estudos similares em nossa população são necessários e o presente estudo é uma primeira contribuição em uma linha de investigação que deve continuar.

Pesquisadores buscam um conhecimento mais específico sobre os subgrupos de TIDs, o que provavelmente permitirá melhores intervenções. Ainda que o objetivo final de alavancar uma compreensão da fisiopatologia para desenvolver novos tratamentos e para revelar estratégias de prevenção esteja distante, sabemos hoje que começamos a nos direcionar em busca.

8 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABDOLMALEKY, H.M.; Faraone, S.V.; Glatt, S.J.; Tsuang, M.T.. Meta-analysis of association between the T102C polymorphism of the 5HT2a receptor gene and schizophrenia. *Schizophr Res.* 1;67(1):53-62.; Mar 2004.
- ABRAMSON, R.K.; Wright, H.H.; Carpenter, R.; Brennan, W.; Lumpuy, O.; Cole E.; Young, S. R. . Elevated blood serotonin in autistic probands and their first-degree relatives. *J. Autism Dev. Disord.* 19: 397-407, 1989.
- ALARCON, M.; Cantor, R.M.; Liu, J.; Gilliam, T.C.; Geschwind, D.H.. Evidence for a language quantitative trait locus on chromosome 7q in multiplex autism families. *Am J Hum Genet.* 70(1):60-71; 2002.
- ALARCON, M.; Yonan, A.L.; Gilliam, T.C.; Cantor, R.M.; Geschwind, D.H.. Quantitative genome scan and Ordered-Subsets Analysis of autism endophenotypes support language QTLs. *Mol Psychiatry.* 10(8):747-57; 2005.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION - APA. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV. 4th ed. Washington: APA; 1994.
- ANDERSON, G. Genetics of childhood disorders: XLV. Autism, part 4: serotonin in autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 41(12):1513-6, Dec 2002
- ANDERSON, G.M.; Freedman, D.X.; Cohen, D.J.; Volkmar, F.R.; Hoder, E.L.; McPhedran, P.; Minderaa, R.B.; Hansen, C.R.; Young, J.G.. Whole blood serotonin in autistic and normal subjects. *J Child Psychol Psychiatry.* 28(6):885-900, Nov 1987
- ANDREENKOV, O. V.; Osipova, L. P.; Kulikov, A. V.; Popova, N. K.. Polymorphism of the Serotonin System Genes in Some Finno-Ugric Populations. *Russian Journal of Genetics.* 40(6):284-687, June 2004.
- ARANGO, V.; Huang Y.Y.; Underwood M.D.; Mann J.J. Genetics of the serotonergic system in suicidal behavior. Review. *J Psychiatr Res.* 37(5):375-86, Sep-Oct 2003.
- ARAÚJO, C.A.. *O processo de individuação no TIDs.* São Paulo: Memnon, 2000
- ARRANZ, M.J.; Munro, J.; Sham, .P.; Kirov, G.; Murray, R.M.; Collier, D.A.; Kerwin, R.W.. Meta-analysis of studies on genetic variation in 5-HT2A receptors and clozapine response. *Schizophr Res.* 27;32(2):93-9, Jul 1998.
- ASHLEY-KOCH, A.; Wolpert, C.M.; Menold, M.M.; Zaeem, L.; Basu, S.; Donnelly, S.L.; Ravan, S.A.; Powell, C.M.; Qumsiyeh, M.B.; Aylsworth, A.S.; Vance, J.M.; Gilbert, J.R.; Wright, H.H.; Abramson, R.K.; DeLong, G.R.; Cuccaro, M.L.; Pericak-Vance, M.A.. Genetic studies of autistic disorder and chromosome 7. *Genomics.* 61:227-36;1999.
- ASSUMPÇÃO, Jr. F.B.; PIMENTEL, A.C.M.. TIDs Infantil. *Revista Brasileira de Psiquiatria.* 22 (I):37-39, 2000.

- AURANEN, M.; Vanhala, R.; Varilo, T.; Ayers, K.; Kempas, E.; Ylisaukko-Oja, T.; Sinsheimer, J.S.; Peltonen, L.; Jarvela, I.. A genomewide screen for autismspectrum disorders; evidence for a major susceptibility locus on chromosome 3q25-27. *Am J Hum Genet.* 71(4):777-90; 2002.
- AZMITIA, E.C.; Whitaker-Azmitia, P.M.. Awakening the sleeping giant: anatomy and plasticity of the brain serotonergic system. *J Clin Psychiatry.* Review. 52 Suppl:4-16;Dec 1991.
- BAH, J.; Quach, H.; Ebstein, R.P.; Segman, R.H.; Melke, J.; Jamain, S.; Rietschel, M.; Modai, I.; Kanas, K.; Karni, O.; Lerer, B.; Gourion, D.; Krebs, M.O.; Etain, B.; Schurhoff, F.; Szoke, A.; Leboyer, M.; Bourgeron, T.. Maternal transmission disequilibrium of the glutamate receptor GRIK2 in schizophrenia. *Neuroreport.* 26;15(12):1987-91, Aug 2004
- BAILEY, A.; Le Couetur, A.; Gottesman, I.; Bolton, P.; Simonoff, E.; Yuzda, E.; Rutter, M.. Autism as strongly genetic disorder: evidence a British twin study. *Psych Med.* 25:63-77, 1995
- BAILEY, A.; Phillips, W.; Rutter, M.. Autism: towards na integration of clinical, genetic, neuropsychological and neurobiological perspectives, *J Child Psychol Psychiatry* 37:89-126, 1996.
- BAILEY, S.P.; Davis, J.M.; Ahlborn, E.N.. Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. *J Appl Physiol.* 74(6):3006-12; Jun 1993.
- BARRET, S.; Beck, J.C.; Bernier, R.; Bisson, E.; Braun, T.A.; Casavant, T.L.; Childress, D.; Folstein, S.E.; Garcia, M.; Gardiner, M.B.; Gilman, S.; Haines, J.L.; Hopkins, K.; Landa R.; Meyer, N.H.; Mullane, J.A.; Nishimura, D.Y.; Palmer, P.; Piven, J.; Purdy, J.; Santangelo, S.L.; Searby, C.; Sheffield, V.; Singleton, J.; Slager, S.. An autosomal genomic screen for autism. Collaborative linkage study of autism. *Am J Med Genet.* 1999;88(6):609-15. Erratum in: *Am J Med Genet.* 2001;105(8):805. Corrected and republished in: *Am J Med Genet.* 105(8):609-15; 2001.
- BARTLETT, C.W; Flax, J. F.; Logue, M. W.; Vieland, V. J.; Basset, A. S; Tallal, P. and Brzustowicz, M.. A Majos Suscetibility Locus for Specific Language Impairment is Located on 13q21 . *Am. J. Hum. Genet.* 71:45-55, 2002.
- BEAR, J.E.; Krause, M.; Gertler, F.B.. Regulating cellular actin assembly. *Curr Opin Cell Biol.* Review.13(2):158-66; Apr 2001.
- BERUMENT, S.K.; Rutter, M.; Lord, C.; Pickles, A.; Bailey, A. Autism screening questionnaire: Diagnostic validity. *Brit.J.Psychiat.* 175:444-451, 1999.
- BIRMES, P.; Coppin, D.; Schmitt, L.; Lauque, D.. Serotonin syndrome: a brief review. *CMAJ.* 27;168(11):1439-42, May 2003.
- BOBILLIER, P.; Pettijean, F.; Salvart, D.; Ligier, M.; Seguin, S.. Differential projections of the nucleus raphe dorsalis and nucleus raphe centralis as revealed by autoradiography. *Brain Res.* 85(2):205-10; Feb 28, 1975.

- BONORA, E.; Bacchelli, E.; Levy, E.R.; Blasi, F.; Marlow, A.; Monaco, A.P.; Maestrini, E.. Mutation screening and imprinting analysis of four candidate genes for autism in the 7q32 region. *Mol Psychiatry*.;7(3):289-301, 2002.
- BONORA, E.; Beyer, K.S.; Lamb, J.A.; Parr, J.R.; Klauck, S.M.; Benner, A.; Paolucci, M.; Abbott, A.; Ragoussis, I.; Poustka, A.; Bailey, A.J.; Monaco, A.P.. International Molecular Genetic Study of Autism (IMGSAC). Analysis of reelin as a candidate gene for autism. *Mol Psychiatry*.;8(10):885-92, Oct 2003.
- BOURRE, J.M.. The role of nutritional factors on the structure and function of the brain: an update on dietary requirements. *Rev Neurol. Review*. 160(8-9):767-92; Sep 2004.
- BRADFORD, Y.; Haines, J.; Hutcheson, H.; Gardiner, M.; Braun, T.; Sheffield, V.; Cassavant, T.; Huang, W.; Wang, K.; Vieland, V.; Folstein, S.; Santangelo, S.; Piven, J.. Incorporating language phenotypes strengthens evidence of linkage to autism. *Am J Med Genet*.105:539-47; 2001.
- BRODKIN, E.S.; McDougle, C.J.; Naylor, S.T.; Cohen, D.J.; Price, L.H.. Clomipramine in adults with pervasive developmental disorders: a prospective open-label investigation. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. Summer; 7(2):109-21, 1997.
- BUXBAUM, J.D.; Silverman, J.M.; Smith, C.J.; Kilifarski, M.; Reichert, J.; Hollander, E.; Lawlor, B.A.; Fitzgerald, M.; Greenberg, D.A.; Davis, K.L.. Evidence for a susceptibility gene for autism on chromosome 2 and for genetic heterogeneity. *Am J Hum Genet*.; 68:1514-1520, 2001.
- BUXBAUM J.D., Silverman J.M., Smith C.J., Greenberg D.A., Kilifarski M., Reichert J., Cook E.H. Jr., Fang Y., Song C.Y., Vitale R. Association between a GABRB3 polymorphism and autism. *Mol Psychiatry*. 7(3):311-6, 2002.
- BUXBAUM, J.D.; Silverman, J.; Keddache, M.; Smith, C.J.; Hollander, E.; Ramoz, N.; Reichert, J.G.. Linkage analysis for autism in a subset families with obsessive-compulsive behaviors: evidence for an autism susceptibility gene on chromosome 1 and further support for susceptibility genes on chromosome 6 and 19. *Mol Psychiatry*. 9(2):144-50; 2004.
- CAMPBELL, D.A.; Sundaramurthy, D.; Markham, A.F.; Pieri, L.F.. Lack of association between 5-HT2A gene promoter polymorphism and susceptibility to anorexia nervosa. *Lancet*. 14;351(9101):499; Feb 1998.
- CANTOR, R.M.; Kono, N.; Duvall, J.A.; Alvarez-Retuerto, A.; Stone, J.L.; Alarcon, M.; Nelson, S.F.; Geschwind, D.H.. Replication of autism linkage: finemapping peak at 17q21. *Am J Hum Genet*.76(6):1050-6; 2005.
- CARPER, R.A.; Courchesne, E.. Inverse correlation between frontal lobe and cerebellum sizes in children with autism. *Brain*. 123(Pt 4):836-44; Apr 2000.
- CARVALHEIRA, G.; Vergani, N.; Brunoni, D. Genetics of autism. *Rev. Bras. Psiquiatr*. 26(4):270-272, Dec 2004.

- CASANOVA, M.F.. White matter volume increase and minicolumns in autism. *Ann Neurol.* 56(3):453; Sep 2004.
- CASTERMANS, D.; Wilquet, V.; Steyaert, J.; Van de Ven, W.; Fryns, J.P.; Devriendt, K.. Chromosomal anomalies in individuals with autism: a strategy towards the identification of genes involved in autism. *SAGE Publications and The National Autistic Society* Vol 8(2):141-161, 2004.
- CHAOULOFF, F.. Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiol Scand.* 137(1):1-13; Sep 1989
- CHAOULOFF, F.. Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems. *Brain Res Brain Res Rev.* Review.18(1):1-32; Jan-Apr 1993.
- CHAOULOFF, F.. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Med Sci Sports Exerc.* Review. 29(1):58-62; Jan 1997.
- CHEN, K.; Yang, W.; Grimsby, J.; Shih, J.C.. The human 5-HT₂ receptor is encoded by a multiple intron-exon gene. *Brain Res Mol Brain Res.* 14(1-2):20-6, Jun 1992.
- CHOI, J. H.; Zhang, S. Y., Park, K.W.; Cho, Y.S.; Oh, B.H.; Lee, M. M.; Park, Y. B.; Kim, H. S. The Association between the T102C Polymorphism of the HTR_{2A} Serotonin Receptor Gene and HDL Cholesterol Level in Koreans. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology.* 38(2): 238-242; mar, 2005.
- CHUGANI, D.C.; Muzik, O.; Rothermel, R.; Behen, M.; Chakraborty, P.; Mangner, T.. Altered serotonin synthesis in the dentatohalamocortical pathway in autistic boys. *Ann Neurol.* 42:666-9; 1997.
- CHUGANI, D.C.; Muzik, O.; Behen, M.; Rothermel, R.; Janisse, J.J.; Lee, J.. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Ann Neurol.* 45:287-95, 1999.
- CHUGANI, D.C.. Serotonin in autism and pediatric epilepsies. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 10(2):112-6; 2004.
- CID-10 - *Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde.* 10^o Revisão; p. 361-362. OMS/OPAS. EDUSP – 2000.
- COIMBRA, N.C.; De Oliveira, R.; Freitas, R.L.; Ribeiro, S.J.; Borelli, K.G.; Pacagnella, R.C.; Moreira, J.E.; da Silva, L.A.; Melo, L.L.; Lunardi, L.O.; Brandão, M.L.. Neuroanatomical approaches of the tectum-reticular pathways and immunohistochemical evidence for serotonin-positive perikarya on neuronal substrates of the superior colliculus and periaqueductal gray matter involved in the elaboration of the defensive behavior and fear-induced analgesia. *Exp Neurol.* 197(1):93-112; Jan 2006.
- COLLIER, D.A.; Arranz, M.J.; Li, T.; Mupita, D.; Brown, N.; Treasure, J.. Association between 5-HT_{2A} gene promoter polymorphism and anorexia nervosa. *Lancet.* Aug 9;350(9075):412, 1997.

- COOK, E.H. Jr.. Autism : reviews of neurochemical investigation. *Synapse* 6(3):292-308, 1990.
- COOK, E. H. Jr.; Courchesne, R.; Lord, C.; Cox, N. J.; Yan, S.; Lincoln, A.; Haas, R.; Courchesne, E.; Leventhal, B. L. : Evidence of linkage between the serotonin transporter and autistic disorder. *Molec. Psychiat.* 2: 247-250, 1997.
- COOK, E. H. Jr.; Lindgren, V.; Leventhal, B. L.; Courchesne, R.; Lincoln, A.; Shulman, C.; Lord, C.; Courchesne, E. : Autism or atypical autism in maternally but not paternally derived proximal 15q duplication. *Am. J. Hum. Genet.* 60: 928-934, 1997.
- COOK, E.H. Jr.; Courchesne, R.Y.; Cox, N.J; Lord, C.; Gonen, D.; Guter, S.J.; Lincoln, A.; Nix, K.; Haas, R.; Leventhal, B.L.; Courchesne, E.. Linkage-disequilibrium mapping of autistic disorder, with 15q11–13 markers. *Am J Hum Gen.* 62(5):1077-83, May 1998.
- CORREA, H.; Silva, M.A.; Bóson, W.; Machado, M.; Lima, V.; Juarez, O. C. M.. Estudo de associação entre o polimorfismo T102C do gene 5-HT2A e tentativas severas de suicídio em pacientes psiquiátricos. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 24 (2):44-62, Oct. 2002
- COURCHESNE, E.; Redcay, E.; Kennedy, D.P.. The autistic brain: birth through adulthood. Review. *Curr Opin Neurol* 17(4):489-96, Aug 2004.
- COURCHESNE, E.; Pierce, K.. Brain overgrowth in autism during a critical time in development: implications for frontal pyramidal neuron and interneuron development and connectivity. Review. *Int J Dev Neurosci.* 23(2-3):153-70, Apr-May 2005.
- CUQ, J.L.; Aymard, C.; Besancon, P.; Cheftel, C.. Use of small peptides to study the loss of available methionine, lysine and tryptophan during technological processing. *Ann Nutr Aliment.*32(2-3):307-24; 1978.
- DA SILVA, L.R.; Vergani, N.; Galdieri, L.; Porto, M.P.R.; Longhitano, S.B.; Brunoni, D.; D`Almeida V.; Perez, A.B.A.. Relationship between polymorphisms in genes involved in homocysteine metabolism and maternal risk for Down syndrome in Brazil. *Am.J.Med.Genet.* 135:263-7; 2005.
- DAVIS, J.M.. Carbohydrates, branched-chain amino acids, and endurance: the central fatigue hypothesis. *Int J Sport Nutr.* Review. 5 Suppl:S29-38; Jun 1995.
- DE QUERVAIN, D.J.; Henke, K.; Aerni, A.; Coluccia, D.; Wollmer, M.A.; Hock, C.; Nitsch R.M.; Papassotiropoulos, A.. Functional genetic variation of the 5-HT2a receptor affects human memory. *Nat Neurosci.* 6(11):1141-2, Nov 2003.
- DEVLIN, B.; Bennett, P.; Dawson, G.; Figlewicz, D.A.; Grigorenko, E.L.; McMahon, W.; Minshew, N.; Pauls, D.; Smith, M.; Spence, M.A.; Rodier, P.M.; Stodgell, C.; Schellenberg, G.D.. Alleles of a reelin CGG repeat do not convey liability to autism in a sample from the CPEA network. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 126(1):46-50, Apr 1 2004.
- DHOSSCHE, D.; Applegate, H.; Abraham, A.; Maertens, P.; Bland, L.; Bencsath, A.; Martinez, J.. Elevated plasma gamma-aminobutyric acid (GABA) levels in autistic

- youngsters: stimulus for a GABA hypothesis of autism. *Med Sci Monit.* 8(8):PR1-6, Aug 2002.
- DSM-IV- Critérios Diagnósticos. Traduzido por Batista, D. Porto Alegre: Artes Médicas. 2000. Disponível em <http://www.psiqweb.med.br/dsm/dsm.html>. Acesso em 15 fev 2005
- ENOCH, M.A.; Goldman, D.; Barnett, R.; Sher, L.; Mazzanti, C.M.; Rosenthal, N.E.. Association between seasonal affective disorder and the 5-HT2A promoter polymorphism, -1438G/A. *Mol Psychiatry.* 4: 89-92; 1998.
- ENOCH, M.A.; Kaye, W.H.; Rotondo, A.; Greenberg, B.D.; Murphy, D.L.; Goldman, D.. 5-HT2A promoter polymorphism -1438G/A, anorexia nervosa, and obsessive-compulsive disorder. *Lancet.* 13;351(9118):1785-6, Jun 1998.
- ENOCH, M.A.; Goldman, D.; Barnett, R.; Sher, L.; Mazzanti, C.M.; Rosenthal, N.E.. Association between seasonal affective disorder and the 5-HT2A promoter polymorphism, -1438G/A. *Mol Psychiatry.* 4(1):89-92, Jan 1999.
- ERTUGRUL, A.; Kennedy, J.L.; Masellis, M.; Basile, V.S.; Jayathilake, K.; Meltzer, H.Y.. No association of the T102C polymorphism of the serotonin 2A receptor gene (HTR2A) with suicidality in schizophrenia. *Schizophr Res* 1;69(2-3):301-5, Aug 2004.
- FATEMI, S.H.. The role of Reelin in pathology of autism. Review. *Mol Psychiatry.* 7(9):919-20; 2002.
- FERNSTROM, J.D.. Dietary amino acids and brain function. *J Am Diet Assoc. Review,* 94(1):71-7; Jan 1994.
- FISHER, S.E.; Vargha-Khadem, F.; Watkins, K.E.; Monaco, A.P.; Pembrey, M.E.. Localisation of a gene implicated in a severe speech and language disorder. *Nature Genetics.* 18:168-170, 1998.
- FOLSTEIN, E.S.; Rutter, M.. Infantile Autism: A Genetic Study of 21 Twin Pairs. *Journal of Child Psychology and Psychiatry.* 18(4):297-321, 1977.
- FOLSTEIN, E.S.; Rutter, M.. Genetic influences and infantile autism. *Nature,* 265:726-728, 1997.
- FOLSTEIN, E.S.; Rosen-Sheidley, B.. Genetics of Autism: Complex aetiology for a heterogeneous disorder. Review. *Nature Reviews Genetics.* 2: 943-955, 2001.
- FOMBONNE, E.. Epidemiological trends in rates of autism. *Mol Psychiatry.* 7 Suppl 2:S4-6, 2002.
- GADIA, C. A.; TUCHMAN, R. ; ROTTA N. T.. Autism and pervasive developmental disorders. *J. Pediatr. (Rio de J.)*;80(2):.83-94, Apr 2004.
- GALLAGHER, P.; Massey, A.E.; Young, A.H.; McAllister-Williams, R.H.. Effects of acute tryptophan depletion on executive function in healthy male volunteers. *BMC Psychiatry.* 4;3:10; Aug 2003 .

- GILLBERG, C.. Infantile autism: diagnosis and treatment. Review. *Acta Psychiatr Scand*. 81(3):209-15, Mar 1990.
- GUPTA, A.R.; State, M.W.. Autism: genetics. *Rev Bras Psiquiatr*. Review. 28 Suppl 1:S29-382; Jun 12, 2006.
- GÜRSOY, S.; Erdal, E.; Herken, H.; Madenci, E.; Alaşehirli, B.. Association of T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. *Journal Rheumatology International*. 21(2):58-61, October, 2001
- HAIDER, M.Z.; Zahid, M.A.. No evidence for an association between the 5-hydroxytryptamine 5-HT_{2a} receptor gene and schizophrenia in Kuwaiti Arabs. *Psychiatry Clin Neurosci*. 56(4):465-7; Aug. 2002.
- HARING, J.H.. Reorganization of the area dentata serotonergic plexus after lesions of the median raphe nucleus. *J Comp Neurol*. 306(4):576-84; Apr 22; 1991.
- HARRIS, N.S.; Courchesne, E.; Townsend, J.; Carper, R.A.; Lord, C.. Neuroanatomic contributions to slowed orienting of attention in children with autism. *Brain Res Cogn*. 8:61-71, 1999.
- HARVEY, J. A.. Role of the serotonin 5-HT(2A) receptor in learning. *Learn Mem*. 10 (5):355-362, Sep-Oct 2003.
- HEIL, M.; Rosler, F.; Hennighausen, E.. Topographically distinct cortical activation in episodic long-term memory: the retrieval of spatial versus verbal information. *Mem Cognit*.;24(6):777-95, Nov 1996.
- HERZING, L.B.; Cook, E.H. Jr.; Ledbetter, D.H.. Allele-specific expression analysis by RNA-FISH demonstrates preferential maternal expression of UBE3A and imprint maintenance within 15q11- q13 duplications. *Hum Mol Genet*. 15;11(15):1707-18, Jul 2002.
- HINNEY, A.; Barth, N.; Ziegler, A.; von Prittwitz, S.; Hamann, A.; Hennighausen, K.; Pirke, K.M.; Heils, A.; Rosenkranz, K.; Roth, H.; Coners, H.; Mayer, H.; Herzog, W.; Siegfried, A.; Lehmkuhl, G.; Poustka, F.; Schmidt, M.H.; Schafer, H.; Grzeschik, K.H.; Lesch, K.P.; Lentges, K.U.; Remschmidt, H.; Hebebrand, J.. Serotonin transporter gene-linked polymorphic region: allele distributions in relationship to body weight and in anorexia nervosa. *Life Sci*. 61(21):PL 295-303, 1997.
- HOLMES, C.; Arranz, M.J.; Powell, J.F.; Collier, D.A.; Lovestone, S.. 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor polymorphisms and psychopathology in late onset Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 7: 1507-1509; 1998.
- HSIEH, C.L.; Bowcock, A.M.; Farrer, L.A.; Hebert, J.M.; Huang, K.N.; Cavalli-Sforza, L.L.; Julius, D.; Francke, U.. The serotonin receptor subtype 2 locus HTR₂ is on human chromosome 13 near genes for esterase D and retinoblastoma-1 and on mouse chromosome 14. *Somat Cell Mol Genet*. 16(6):567-74; Nov 1990.

- ICHTCHENKO, K.; Nguyen, T.; Sudhof, T.C.. Structures, alternative splicing, and neurexin binding of multiple neuroligins. *J Biol Chem.* 2;271(5):2676-82; Feb 1996.
- IMGSAC (Internacional Molecular Genetic Study of Autism Consortium). A full genome screen for autism with evidence for linkage to a region on chromosome 7q. *Human Molecular Genetics.* 7:571–578; 1998.
- IMGSAC (Internacional Molecular Genetic Study of Autism Consortium). Further characterization of the autism susceptibility locus *AUTS1* on chromosome 7q. *Hum Molec Genet.* 10(9):973:982; 2001b.
- IMGSAC (International Molecular Genetic Study of Autism Consortium). A genomewide screen for autism: strong evidence for linkage to chromosomes 2q, 7q, and 16p. *Am J Hum Genet.* 69(3):570-81; 2001.
- INADA, Y.; Yoneda, H.; Koh, J.; Sakai, J.; Himei, A.; Kinoshida, Y.; Akabame, K.; Hiraoka, Y. and Sakai, T.. Positive Association between panic disorder and polymorphism of serotonin 2A receptor gene. *Psychiatry Research.* 1;118(1):25-31; May 2003.
- INAYAMA, Y.; Yoneda, H.; Sakai, T.; Ishida, T.; Nonomura, Y.; Kono, Y.; Takahata, R.; Koh, J.; Sakai, J.; Takai, A.; Inada, Y.; Asaba, H... Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia. *Am J Med Genet.* 16;67(1):103-5; Feb 1996.
- JAKEMAN, L.B.; Wei, P.; Guan, Z.; Stokes, B.T.. Brain-derived neurotrophic factor stimulates hindlimb stepping and sprouting of cholinergic fibers after spinal cord injury. *Exp Neurol.* 154(1):170-84; Nov 1998.
- JAMAIN, S.; Betancur, C.; Quach, H.; Philippe, A.; Fellous, M.; Giros, B.; Gillberg, C.; Leboyer, M.; Bourgeron, T.. Linkage and association of the glutamate receptor 6 gene with autism. *Mol Psychiatry.* 7(3):302-10, 2002.
- JAMAIN, S.; Quach, H.; Betancur, C.; Rastam, M.; Colineaux, C.; Gilberg, C.; Soderstrom, H.; Giros, B.; Leboyer, M.; Gillberg, C.; Bourgeron, T.. Paris Autism Research International Sibpair Study. Mutations of X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nature Genetics.* 34(1):27-9; May 2003.
- JANUSONIS, S.. Serotonergic paradoxes of autism replicated in a simple mathematical model. *Med Hypotheses.* 64(4):742-50; 2005.
- JANUSONIS, S.. Statistical distribution of blood serotonin as a predictor of early autistic brain abnormalities. *Theor Biol Med Model.* 19;2:27; Jul 2005.
- KAMINSKA, M.; Harris, J.; Gijbsers, K.; Dubrovsky, B.. Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) counteracts decremental effects of corticosterone on dentate gyrus LTP. Implications for depression. *Brain Res Bull.*;52(3):229-34; Jun 2000.
- KANNER, L.. Autistic disturbance of affective contact. *Nervous Child.* 2:217-250; 1943.

- KANNER, L.; Eisenberg, L.. Review of psychiatric progress 1954; child psychiatry and mental deficiency. *Am J Psychiatry*. 111(7):520-3; Jan 1955.
- KANER, L.; Eisenberg, L.. Childhood schizophrenia; symposium, 1955. VI. Early infantile autism, 1943-55. *Am J Orthopsychiatry*. 26(3):556-66; Jul 1956.
- KAPLAN, A.; Hollander, E.. A review of pharmacologic treatments for obsessive-compulsive disorder. Review. *Psychiatr Serv*. 54(8):1111-8; Aug 2003.
- KAPLAN, G.; Hammer, J.R.. Brain circuitry and signaling in psychiatry. Washington, DC, *American Psychiatric Press*; 2003.
- KATO, M. V.; Ishizaki, K.; Shimizu, T.; Toguchida, J.; Kaneko, A.; Sasaki, M.S.. Delayed development of retinoblastoma associated with loss of a maternal allele on chromosome 13. *Int J Cancer*. 20;64(1):3-8; Feb 1995.
- KELLER, F.; Persico, A.. The neurobiological context of autism. Review. *Mol Neurobiol*. 28(1):1-22; Aug 2003.
- KEMPER, T.L.; Bauman, M.. Neuropathology of infantile autism. Review. *J Neuropathol Exp Neurol*. 57(7):645-52; 1998.
- KERN, J.K.. Purkinje cell vulnerability and autism: a possible etiological connection. *Brain Dev*. Review. 25(6):377-82; Sep 2003.
- KHAIT, V.D.; Huang, Y.Y.; Zalsman, G.; Oquendo, M.A.; Brent, D.A.; Harkavy-Friedman, J.M.; Mann, J.J.. Association of serotonin 5-HT_{2A} receptor binding and the T102C polymorphism in depressed and healthy Caucasian subjects. *Neuropsychopharmacology*. 30(1):166-72; Jan 2005.
- KIM, S.J.; Cox, N.; Courchesne, R.; Lord, C.; Corsello, C.; Akshoomoff, N.; Guter, S.; Leventhal, B.L.; Courchesne, E.; Cook, Jr. E.H. Transmission disequilibrium mapping at the serotonin transporter gene (SLC6A4) region in autistic disorder. *Molecular Psychiatry*. 7(3) 278-288; 2002.
- KLIN, A.; Mercadante, M. T.. Autism and the pervasive developmental disorders. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, São Paulo, v. 28; 2006.
- KREBS, M.O.; Betancur, C.; Leroy, S.; Bourdel, M.C.; Gillberg, C.; Leboyer, M.. Study. Absence of association between a polymorphic GGC repeat in the 5' untranslated region of the reelin gene and autism. *Mol Psychiatry*. 7(7):801-4; 2002.
- KRUG, D.A.; Arick, J.; Almond P.. Behavior checklist for identifying severely handicapped individuals with high levels of autistic behavior. *J Child Psychol Psychiatry*. 21(3):221-9; Jul 1980.
- KUGAYA, A.; Epperson, C. N.; Zoghbi, S.; Van-Dick, C. H.; Hou, Y.; Fujita, M... Increase in prefrontal cortex serotonin 2A receptors following estrogen treatment in postmenopausal women. *Am J Psychiatry*. 160 (8): 1522-1524; Aug 2003.

- KURTZKE, J.. Neuroepidemiology. In: *Bradley W, Daroff R, Fenichel G, Marsden C*, editors. *Neurology in Clinical Practice*. Stoneham: Butterworth-Heinemann. p. 545-560; 1991.
- LAI, C.S.; Fisher, S.E.; Hurst, J.A.; Levy, E.R.; Hodgson, S.; Fox, M.; Jeremiah, S.; Povey, S.; Jamison, D.C.; Green, E.D.; C.S., Fisher, S.E., Hurst, J.A., Levy, E.R., Hodgson, S., Fox, M., Jeremiah, S., Povey, S., Jamison, D.C., Green, E.D., Vargha-Khadem, F.; Monaco, A.P.. The SPCH1 region on human 7q31: genomic characterization of the critical interval and localization of translocations associated with speech and language disorder. *American Journal of Human Genetics*. 67(2):357-368; 2000.
- LAI, C.S.; Fisher, S.E.; Hurst, J.A.; Vargha-Khadem, F.; Monaco, A.P.. A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder. *Nature*. 4;413(6855):519-523; Oct 2001.
- LAM, L.C.; Tang, N.L.; Ma, S.L.; Zhang, W.; Chiu, H.F.. HT2A T102C receptor polymorphism and neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*. 19(6):523-6; Jun 2004.
- LAMB, J.A.; Moore, J.; Bailey, A.; Monaco, A.P.. Autism: recent molecular genetic advances. Review *Human Molecular Genetics*. 12;9(6):861-8; Apr 2000.
- LANDER, E.; Kruglyak, L.. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet*. 11(3):241-7; 1995.
- LASSIG, J.P.; Vachirasomtoon, K.; Hartzell, K.; Leventhal, M.; Courchesne, E.; Courchesne, R.; Lord, C.; Leventhal, B.L.; Cook, E.H. Jr.. Physical mapping of the serotonin 5-HT(7) receptor gene (HTR7) to chromosome 10 and pseudogene (HTR7P) to chromosome 12, and testing of linkage disequilibrium between HTR7 and autistic disorder. *Am J Med Genet*. 15;88(5):472-5; Oct 1999.
- LE COUTEUR, A.; Rutter, M.; Lord, C.; Rios, P.; Robertson, S.; Holdgrafer, M.; McLennan, J.. Autism diagnostic interview: a standardized investigator-based instrument. *J Autism Dev Disord*. 19(3):363-87; Sep 1989.
- LESCH, K.P.; Balling, U.; Gross, J.; Strauss, K.; Wolozin, B.L.; Murphy, D.L.; Riederer, P.. Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Transm Gen Sect*. 95(2):157-62; 1994.
- LESCH, K.P.; Bengel, D.; Heils, A.; Sabol, S.Z.; Greenberg, B.D.; Petri, S.; Benjamin, J.; Muller, C.R.; Hamer, D.H.; Murphy, D.L.. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*. 29;274(5292):1527-31; Nov 1996.
- LEVENTHAL, B.L.; Cook, E.H. Jr.; Morford, M.; Ravitz, A.; Freedman, D.X.. Relationships of whole blood serotonin and plasma norepinephrine within families. *J Autism Dev Disord*. 20(4):499-511; 1990.
- LEVITAN, R.D.; Masellis, M.; Basile, V.S.; Lam, R.W.; Jain, U.; Kaplan, A. S.; Keneddy, S.H.; Siegel, G.; Walker, M.L.; Vaccarino, F.J.; Kennedy, J. L.. Polymorphism of the

- serotonin-2A receptor gene (HTR2A) associated with childhood attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in adult women with seasonal affective disorder. *Journal of Affective Disorders*. 71:229-233; 2002.
- LI, J.; Wang, Y.; Qian, Q.; Wang, B.; Zhou, R.. Association of 5-HT(2A) receptor polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder in children] *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 10;82(17):1173-6; Sep 2002.
- LI, J.; Nguyen, L.; Gleason, C.; Lotspeich, L.; Spiker, D.; Risch, N.; Myers, R.M.. Lack of evidence for an association between WNT2 and RELN polymorphisms and autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 1;126(1):51-7; Apr 2004.
- LIPPI, J.R.S.. TIDs e Transtornos Invasivos do Desenvolvimento. Disponível em <http://www.TIDs.med.br> Acesso em 28 de março de 2005.
- LIU, J.; Nyholt, D.R.; Magnussen, P.; Parano, E.; Pavone, P.; Geschwind, D.; Lord, C.; Iversen, P.; Hoh, J.; Ott, J.; Gilliam, T.C.. A genomewide screen for autism susceptibility loci. *Am J Hum Genet*. 69(2):327-40; Aug 2001.
- LOHMUELLER, K.E.; Pearce, C.L.; Pike, M.; Lander, E.S.; Hirschhorn, J.N.. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet*. 33(2):177-82; Feb 2003.
- LORD, C.; Rutter, M.; Goode, S.; Heemsbergen, J.; Jordan, H.; Mawhood, L.; Schopler, E.. Autism diagnostic observation schedule: a standardized observation of communicative and social behavior. *J Autism Dev Disord*. 19(2):185-212, Jun 1989.
- LORD, C.; Rutter, M.; Le Couteur, A.. Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possiblsibingle pervasive developmental disorders. *J Aut Develop Disord*. 24:659-685; 1994.
- MAESTRINI, E.; Lai, C.; Marlow, A.; Matthews, N.; Wallace, S.; Bailey, A.; Cook, E. H.; Weeks, D. E.; Monaco, A. P.. Serotonin transporter (5-HTT) and gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta-3 (GABRB3) gene polymorphisms are not associated with autism in the IMGSA families. *Am. J. Med. Genet. (Neuropsychiatr. Genet.)* 88: 492-496; 1999.
- MARTELETO, M.R.F.. Validade e Confiabilidade da Escala de Comportamentos Autísticos (AMC): Estudo preliminar. Tese de Mestrado. 2003. 87pp. UNIFESP, 2003.
- MARTIN, E.R.; Menold, M.M.; Wolpert, C.M.; Bass, M.P.; Donnelly, S.L.; Ravan, S.A.. Analysis of linkage disequilibrium in γ -aminobutyric acid receptor subunit genes in autistic disorder. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 96: 43-48; 2000.
- MARTINEZ, B. S.; Saiz, P.A.; Morales, B.; Garcia, P.M.P.; Coto, E.; Alvarez, V.; Bobes, J.. Serotonin gene polymorphisms in patients with panic disorder. *Actas Esp Psiquiatr*. 33(4):210-5; Jul-Aug 2005.
- MASON, P.J.; Morris, V.A.; Balceza, K.. Serotonin syndrome. Presen-tation of two cases and review of the literature. *Medicine*. 79:201-9; 2000.

- MATTAY, V.; Goldberg, T.. *Current Opinion in Neurobiology* Abril 2004 – 14:239-247
<http://www.neurociencias.org.br/Display.php?Area=Noticias&Action=Read&ID=25>.
 Acesso em 29/de abril de 2005.
- MAZET, P.; Lebovici, S.. *TIDs e psicoses da criança*. Porto Alegre: Artes Médicas;1991.
- McCAULEY, J.L.; Li, C.; Jiang, L.; Olson, L.M.; Crockett, G.; Gainer, K.; Folstein, S.E.; Haines, J.L.; Sutcliffe, J.S.. Genome-wide and ordered-subset linkage analyses provide support for autism loci on 17q and 19p with evidence of phenotypic and interlocus genetic correlates. *BMC Med Genet.* 6:1; 2005.
- McCOY, P.A.; Shao, Y.; Wolpert, C.M.; Donnelly, S.L.; Ashley-Koch, A.; Abel, H.L.; Ravan, S.A.; Abramson, R.K.; Wright, H.H.; DeLong, G.R.; Cuccaro, M.L.; Gilbert, J.R.; Pericak-Vance, M.A.. No association between the WNT2 gene and autistic disorder. *Am J Med Genet.* 8;114(1):106-109, Jan 2002.
- MERCADANTE, M.T.; Brunoni, D.; Schwartzman, J.S.. *Clínica de Transtornos Invasivos do Desenvolvimento. Apostila de Atendimento. Programa de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento da UPM, 2005. 32pp.*
- MILLER, M.A.; Korn, D.; Wang, T.S.. The evolutionary conservation of DNA polymerase alpha. *Nucleic Acids Res.* 25;16(16):7961-73; Aug 1988.
- MILLS, K.. Serotonin syndrome. *Critical Care Clinics.* 13:763-83; 1998.
- MINDERAA, R.B.; Anderson, G.M.; Volkmar, F.R.; Akkerhuis, G.W.; Cohen, D.J.. Urinary 5-hydroxyindoleacetic acid and whole blood serotonin and tryptophan in autistic and normal subjects. *Biol Psychiatry.* 22(8):933-40; Aug 1987.
- MINDERAA, R.B.; Anderson, G.M.; Volkmar, F.R.; Harcherick, D.; Akkerhuis, G.W.; Cohen, D.J.. Whole blood serotonin and tryptophan in autism: temporal stability and the effects of medication. *J Autism Dev Disord.* 19(1):129-36; Mar 1989.
- MOLLIVER, M.E.. Serotonergic neuronal systems: what their anatomic organization tells us about function. *J Clin Psychopharmacol.* 7(6 Suppl):3S-23S; Dec1987
- MOLLOY, C.A.; Keddache, M.; Martin, L.J.. Evidence for linkage on 21q and 7q in a subset of autism characterized by developmental regression. *Mol Psychiatry.* 10(8):741-6; 2005.
- MUHLE, R.; Trentacoste, S.V.; Rapin, I.. The genetics of autism. Review. *Pediatrics.* 113(5):472-86; 2004.
- MULLER, R.A.; Chugani, D.C.; Behen, M.E.; Rothermel, R.D.; Muzik, O.; Chakraborty, P.K.. Impairment of dentato-thalamo-cortical pathway in autistic men: language activation data from positron emission tomography. *Neurosci Lett.* 245:1-4; 1998.
- NAKAMURA, T.; Matsushita, S.; Nishiguchi, N.; Kimura, M.; Yoshino, A.; Higuchi, S.. Association of a polymorphism of the 5HT2A receptor gene promoter region with alcohol dependence. *Mol Psychiatry.* 4(1):85-8; Jan 1999.

- NEWBURY, D. F.; Bonora, E.; Lamb, J. A.; Fisher, S. E.; Lai, C. S. L.; Baird, G.; Jannoun, L.; Slonims, V.; Stott, C. M.; Merricks, M. J.; Bolton, P. F.; Bailey, A. J.; Monaco, A. P.. The International Molecular Genetic Study of Autism Consortium. FOXP2 Is Not a Major Susceptibility Gene for Autism or Specific Language Impairment. *American Journal of Human Genetics*. 70(5):1318-1327; 2000.
- NICHOLS, D.E.. Hallucinogens. *Pharmacol Ther*. Review.101(2):131-81; Feb 2004.
- NICOLINI, H.; Cruz, C.; Camarena, B.; Orozco, B.; Kennedy, J.L.; King, N.. DRD2, DRD3 and 5HT2A receptor genes polymorphisms in obsessive-compulsive disorder. *Mol Psychiatry*. 1:461-5; 1996.
- NIKOLOV, R.; Jonker, J.; Scahill, L.. Autismo: tratamentos psicofarmacológicos e áreas de interesse para desenvolvimentos futuros. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, São Paulo, v. 28, 2006.
- NURMI, E.L.; Dowd, M.; Tadevosyan-Leyfer, O.; Haines, J.L.; Folstein, S.E.; Sutcliffe, J.S.. Exploratory subsetting of autism families based on savant skills improves evidence of genetic linkage to 15q11q13. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 42: 856-863, 2003.
- OMIM - Online Mendelian Inheritance in Men. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
Acesso em 10 de 2005
- ORABONA, G.M.; Moreira, E.S.; Avelar, L.O.; Vadasz, E.; Vianna-Morgante, A.M.; Passos-Bueno, M.R.. Estudo de associação entre genes de receptores de serotonina e o TIDs.. In: 50o. Congresso Brasileiro de Genética, 2004, Florianópolis. 50o. Congresso Brasileiro de Genética - CDRom. Ribeirão Preto : Sociedade Brasileira de Genética,. p. 819-819; 2004
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS. *Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde: CID-10*. 10ª revisão. São Paulo: OMS; p. 361-2, 2000.
- OWENS, D.F.; Kriegstein, A.R.. Is there more to GABA than synaptic inhibition? Review. *Nat Rev Neurosci*. 3(9):715-27; Sep 2002.
- PARDRIDGE, W.M.. Brain metabolism: a perspective from the blood-brain barrier. *Physiol Rev*. Review. 63(4):1481-535; Oct 1983.
- PARDRIDGE, W.M.. Blood-brain barrier carrier-mediated transport and brain metabolism of amino acids. *Neurochem Res*. Review. 23(5):635-44; May 1998.
- PARSONS, M.,J.; D'Souza, U.M.; Arranz, M.J.; Kerwin, R.W.; Makoff, A.J.. The -1438A/G polymorphism in the 5-hydroxytryptamine type 2A receptor gene affects promoter activity. *Biol Psychiatry*. 15;56(6):406-10, Sep 2004.
- PEREZ, A.B.A; D'Almeida, V.; Vergani, N.; Oliveira, A.; Lima, FT.; Brunoni, D.. Methylenetetrahydrofolate-reductase (MTHFR): incidence of mutations C677T and A1298C in Brazilian population and its correlation with plasma homocysteine levels in spina bífida. *Am.J.Med.Genet*. 119:20-25; 2003.

- PERSICO, A. M.; Militerni, R.; Bravaccio, C.; Schneider, C.; Melmed, R.; Conciatori, M.; Damiani, V.; Baldi, A.; Keller, F.. Lack of association between serotonin transporter gene promoter variants and autistic disorder in two ethnically distinct samples. *Am. J. Med. Genet.* 96: 123-127; 2000.
- PERSICO, A.; D'Agruma, L.; Maiorano, N.; Totaro, A.; Militerni, R.; Bravaccio, C.. Reelin gene alleles and haplotypes as a factor predisposing to autistic disorder. *Mol Psychiatry* 6: 150-159; 2001.
- PETEK, E.; Windpassinger, C.; Vincent, J.B.; Cheung, J.; Boright, A.P.; Scherer, S.W.; Kroisel, P.M.; Wagner, K.. Disruption of a novel gene (IMMP2L) by a breakpoint in 7q31 associated with Tourette syndrome. *Am J Hum Genet.* 68(4):848-58; Apr 2001.
- PHILIPPE, A.; Martinez, M.; Guilloud-Bataille, M.; Gillberg, C.; Rastam, M.; Sponheim, E.; Coleman, M.; Zappella, M.; Aschauer, H.; Van Maldergem, L.; Penet, C.; Feingold, J.; Brice, A.; Leboyer, M.. Genome-wide scan for autism susceptibility genes. Paris Autism Research International Sibpair Study. *Hum Mol Genet.* 8(5):805-12; 1999.
- PICKLES, A.; Bolton, P.; Macdonald, H.; Bailey, A.; Le Couteur, A.; Sim, C.H.; Rutter, M.. Latent-class analysis of recurrence risks for complex phenotypes with selection and measurement error: a twin and family history study of autism. *Am J Hum Genet.* 57(3):717-26; Sep 1995.
- PIVEN, J.; Tsai, G.; Nehme, E.; Coyle, J.; Chase, G.; Folstein, S.. Platelet serotonin, a possible marker for familial autism. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 45 (suppl.): A58; 1989
- PIVEN, J.; Tsai, G. C.; Nehme, E.; Coyle, J. T.; Chase, G. A.; Folstein, S. E. : Platelet serotonin, a possible marker for familial autism. *J. Autism Dev. Disord.* 21: 51-59; 1991.
- POLESSKAYA, O.O.; Sokolov, B.P.. Differential expression of the «C» and «T» alleles of the 5-HT_{2A} receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res.* 15; 67 (6): 812-822; Mar 2002.
- POTOCKI, L.; Chen, K.S.; Park, S.S.; Osterholm, D.E.; Withers, M.A.; Kimonis, V.; Summers, A.M.; Meschino, W.S.; Anyane-Yeboah, K.; Kashork, C.D.; Shaffer, L.G.; Lupski, J.R.. Molecular mechanism for duplication 17p11.2- the homologous recombination reciprocal of the Smith-Magenis microdeletion. *Nat Genet.* 24(1):84-7; 2000.
- PUIZILLOUT, J.J.; Gaudin-Chazal, G.; Sayadi, A.; Vigier, D.. Serotonergic mechanisms and sleep. *J Physiol. Review.* 77(2-3):415-24; 1981.
- RAMOZ, N.; Reichert, J.G.; Smith, C.J.; Silverman, J.M.; Beshpalova, I.N.; Davis, K.L.; Buxbaum, J.D.. Linkage and Association of the Mitochondrial Aspartate/Clutamate Carrier SLC25A12 Gene with Autism. *Am J Psychiatry.* 161:662-669; 2004.
- RAPIN, I.. Autistic children : diagnosis and clinical features. *Pediatrics* 87(Supp):751-760; 1991.

- RAPPORT, M.M.. Discussion of the possible mechanism of action of serotonin on molluscan muscle. *Adv Pharmacol.* 6(Pt B):16-7; 1968
- RED CAY, E.; Courchesne, E.. When is the brain enlarged in autism? A meta-analysis of all brain size reports. *Biol Psychiatry.* 1;58(1):1-9; Jul 2005.
- RISCH, N.; Spiker, D.; Lotspeich, L.; Nouri, N.; Hinds, D.; Hallmayer, J.; Kalaydjieva, L.; McCague, P.; Dimiceli, S.; Pitts, T.; Nguyen, L.; Yang, J.; Harper, C.; Thorpe, D.; Vermeer, S.; Young, H.; Hebert, J.; Lin, A.; Ferguson, J.; Chiotti, C.; Wiese-Slater, S.; Rogers, T.; Salmon, B.; Nicholas, P.; Petersen, P.B.; Pingree, C.; McMahon, W.; Wong, D.L.; Cavalli-Sforza, L.L.; Kraemer, H.C.; Myers, R.M.. A genomic screen of autism: evidence for a multilocus etiology. *American Journal of Human Genetics.* 65(2):493-507; Aug 1999.
- RITVO, E.R.; Spence, M.A.; Freeman, B.J.; Mason-Brothers, A.; Mo, A.; Marazita, M.L... Evidence for autosomal recessive inheritance in 46 families with multiple incidences of autism. *Am J Psychiatry.* 142(2):187-92; Feb 1985.
- RITVO, E.R.; Jorde, L.B.; Mason-Brothers, A.; Freeman, B.J.; Pingree, C.; Jones, M.B.; McMahon, W.M.; Petersen, P.B.; Jenson, W.R.; Mo, A.. The UCLA-University of Utah epidemiologic survey of autism: recurrence risk estimates and genetic counseling. *Am J Psychiatry.* 146(8):1032-6; Aug 1989.
- RODIER, P.M.. The early origins of autism. *Sci Am. Review.* 282(2):56-63; Feb 2000.
- ROSENTHAL, N.E.; Mazzanti, C.M.; Barnett, R.L.; Harding, T.A.; Turner, E.H.; Lam, G.K.. Role of serotonin transporter promoter repeat length polymorphism (5-HTTLPR) in seasonality and seasonal affective disorder. *Mol Psychiatry.* 3: 175-177; 1998.
- RUTTER, M.. Cognitive deficits in the pathogenesis of autism. *J Child Psychol. Psychiatry,* 24 (4): 513-531; 1983.
- RUTTER, M.; Schopler, E.. Classification of pervasive developmental disorders: some concepts and practical considerations. *J Autism Dev Disord.* 22:459-82; 1992.
- RUTTER, M.. Genetic influences and autism. In: Volkmar FR, Paul R, Klin A, Cohen D, editors. *Handbook of Autism and Pervasive Developmental Disorders.* 3rd ed.. Volume 1, Section 3, Chapter 16; p. 425-52, 2005.
- SAEMUNDSEN, E.; Magnusson, P.; Smari, J.; Sigurdardottir, S.. Autism Diagnostic Interview-Revised and the Childhood Autism Rating Scale: convergence and discrepancy in diagnosing autism. *J Autism Dev Disord.* 33(3):319-28; Jun 2003.
- SALMON, B.; Hallmayer, J.; Rogers, T.; Kalaydjieva, L.; Petersen, P.B.; Nicholas, P.; Pingree, C.; McMahon, W.; Spiker, D.; Lotspeich, L.; Kraemer, H.; McCague, P.; Dimiceli, S.; Nouri, N.; Pitts, T.; Yang, J.; Hinds, D.; Myers, R.M.; Risch, N.. Absence of linkage and linkage disequilibrium to chromosome 15q11-q13 markers in 139 multiplex families with autism. *Am J Med Genet.* 15;88(5):551-6; Oct 1999.

- SALTER, M.; Knowles, R.G.; Pogson, C.I.. How does displacement of albumin-bound tryptophan cause sustained increases in the free tryptophan concentration in plasma and 5-hydroxytryptamine synthesis in brain? *Biochem J.* 262(1):365-8; Aug 15, 1989.
- SCHEIFFELE, P.; Fan, J.; Choih, J.; Fetter, R.; Serafini, T.. Neuroligin expressed in nonneuronal cells triggers presynaptic development in contacting axons. *Cell.* 9;101(6):657-69; Jun 2000.
- SCHOPLER, E.; Robert, R.; Robert, J.V.; Kenneth, D.. Toward Objective Classification of Childhood Autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *Journal of Autism and Developmental Disorders.* 10(1):91-103; 1980.
- SCHUMANN, C.M.; Hamstra, J.; Goodlin-Jones, B.L.; Lotspeich, L.J.. Kwon H, Buonocore MH, Lammers CR, Reiss AL, Amaral DG. The amygdala is enlarged in children but not adolescents with autism; the hippocampus is enlarged at all ages. *J Neurosci.* 14;24(28):6392-401; Jul 2004.
- SCHWARTZMAN, J.S.. TIDs. São Paulo-SP. Disponível em: www.schwartzman.com.br
Acesso em 24 de maio de 2005
- SCOTT, M.M.; Deneris, E.S.. Making and breaking serotonin neurons and autism. Review. *Int J Dev Neurosci* 23(2-3):277-85, . Apr-May 2005.
- SHAIN, R.J.; Freedman, D.X.. Studies on 5-hydroxyindole metabolism in autistic and other mentally retarded children. *J Pediatrics.* 58:315-320, 1961.
- SHAO, Y.; Wolpert, C.M.; Raiford, K.L.; Menold, M.M.; Donnelly, S.L.; Ravan, S.A.; Bass, M.P.; McClain, C.; von Wendt, L.; Vance, J.M.; Abramson, R.H.; Wright, H.H.; Ashley-Koch, A.; Gilbert, J.R.; DeLong, R.G.; Cuccaro, M.L.; Pericak-Vance, M.A.. Genomic screen and follow-up analysis for autistic disorder. *Am J Med Genet.* 8;114(1):99-105, Jan 2002.
- SHAO, Y.; Raiford, K.L.; Wolpert, C.M.; Cope, H.A.; Ravan, S.A.; Ashley-Koch, A.A.; Abramson, R.K.; Wright, H.H.; DeLong, R.; Gilbert, J.R.; Cuccaro, M.L.; Pericak-Vance, M.A.. Phenotypic homogeneity provides increased support for linkage on chromosome 2 in autistic disorder. *Am J Hum Genet.* 70(4):1058-1061, Apr 2002.
- SHAO, Y.; Cuccaro, M.L.; Hauser, E.R.; Raiford, K.L.; Menold, M.M.; Wolpert, C.M.; Ravan, S.A.; Elston, L.; Decena, K.; Donnelly, S.L.; Abramson, R.K.; Wright, H.H.; DeLong, G.R.; Gilbert, J.R.; Pericak-Vance, M.A.. Fine mapping of autistic disorder to chromosome 15q11-q13 by use of phenotypic subtypes. *Am J Hum Genet.* 72(3):539-48, 2003.
- SHUANG, M.; Liu, J.; Jia, M.X.; Yang, J.Z.; Wu, S.P.; Gong, X.H.; Ling, Y.S.; Ruan, Y.; Yang, X.L.; Zhang, D.. Family-based association study between autism and glutamate receptor 6 gene in Chinese Han trios. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 15;131(1):48-50, Nov 2004.
- SMALLEY, S.L.. Genetic influences in childhood-onset psychiatric disorders: autism and attention-deficit/hyperactivity disorder. Review. *Am J Hum Genet.* 60(6):1276-82, 1997.

- SOARES, J.; Naffah-Mazzacoratti, M.G.; Cavaleiro, E.A.. Increased serotonin levels in physically trained men. *Braz J Med Biol Res.* 27(7):1635-8; Jul 1994.
- SONG, H.R.; Gu, A.; Schanen, N.C.. Identification of a new polymorphism in the 3'-untranslated region of the human serotonin receptor 2C (5-HT_{2C}) gene. *Mol Genet Metab.*;66(3):224-7, Mar 1999.
- SOUBRIE, P.. Serotonergic neurons and behavior. *J Pharmacol.* 17(2):107-12;1986 Apr-Jun
- SPARKES, R.S.; Lan, N.; Klisak, I.; Mohandas, T.; Diep, A.; Kojis, T.; Heinzmann, C.; Shih, J.C.. Assignment of a serotonin 5HT-2 receptor gene (HTR2) to human chromosome 13q14-q21 and mouse chromosome 14. *Genomics.* 9(3):461-5, Mar 1991.
- SPURLOCK, G.; Heols, A.; Holmans, P.; Williams, J.; D'Souza, U.M.; Cardno, A.. A family based association study of T102C polymorphism in 5-HT_{2A} and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. *Mol Psychiatry* . 3: 42-49, 1998.
- STEFFENBURG, S.; Gillberg, C.; Hellgren, L.; Andersson, L.; Gillberg, I.C.; Jakobsson, G.; Bohman, M.. A twin study of autism in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden. *J Child Psychol Psychiatry.* 30(3):405-16, May 1989.
- STONE, J.L.; Merriman, B.; Cantor, R.M.; Yonan, A.L.; Gilliam, T.C.; Geschwind, D.H.; Nelson, S.F.. Evidence for sex-specific risk alleles in autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet.* 75(6):1117-23, 2004.
- SUTCLIFFE, J.S.; Delahanty, R.J.; Prasad, H.C.; McCauley, J.L.; Han, Q.; Jiang, L.; Li, C.; Folstein, S.E.; Blakely, R.D.. Allelic heterogeneity at the serotonin transporter locus (SLC6A4) confers susceptibility to autism and rigidcompulsive behaviors. *Am J Hum Genet.* 77(2):265-79, 2005.
- THOMAS, N.S.; Sharp, A.J.; Browne, C.E.; Skuse, D.; Hardie, C.; Dennis, N.R.. Xp deletions associated with autism in three females. *Hum Genet.*;104(1):43-8, Jan 1999.
- TURKEL, S.; Nadala, L.; Wincor, M.. Possible serotonin syndrome in association with 5HT₃ antagonist agents. *Psychosomatics.* 42: 258-60, 2001.
- VAQUERO, L.C.; Baca, G.E.; Diaz, H.M.; Botillo, M.C.; Perez, R.M.M.; Fernandez, R.C.; Saiz, G.M.D.; Quintero, G.F.J.; Saiz, R.J.; Fernandez, P.J.; Gonzalez, R.J.L.; de Leon, J.. Association between the T102C polymorphism of the serotonin-2A receptor gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 30;30(6):1136-8; Aug 2006.
- VEENSTRA-VANDERWEELE, J.; Christian, S.L., Cook E.H. Jr.. Autism as a paradigmatic complex genetic disorder. Review. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 5:379-405, 2004.
- VEENSTRA-VANDERWEELE, J.; Kim, S.J.; Lord, C.; Courchesne, R.; Akshoomoff, N.; Leventhal, B.L.; Courchesne, E.; Cook, E.H.Jr.. Transmission disequilibrium studies of the serotonin 5-HT_{2A} receptor gene (HTR_{2A}) in autism. *Am J Med Genet.* 8;114(3):277-83, Apr 2002.

- VEENSTRA-VANDERWEELE, J.; Gonen, D.; Leventhal, B.L.; Cook, E.H.Jr.. Mutation screening of the UBE3A/E6-AP gene in autistic disorder. *Molecular Psychiatry*, 4(1):64-67, 1999.
- VERGANI, Naja. Análise da frequência de mutações nos genes cistationina Beta-sintase (CBS), metionina sintase (MTR) e metionina sintase redutase (MTRR) em amostra de pacientes com defeitos de fechamento do tubo neural (DFTN). 2003. 126p. Dissertação (Mestrado em Biologia Molécula) - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2003.
- VERVOORT, V.S.; Beachem, M.A.; Edwards, P.S.; Ladd, S.; Miller, K.E.; de Mollerat, X.; Clarkson, K.; DuPont, B.; Schwartz, C.E.; Stevenson, R.E.; Boyd, E.; Srivastava, A.K.. AGTR2 mutations in X-linked mental retardation. *Science*. 28;296(5577):2401-3, Jun 2002.
- VINCENT, J.B.; Kolozsvari, D.; Roberts, W.S.; Bolton, P.F.; Gurling, H.M.; Scherer, S.W.. Mutation screening of X-chromosomal neuroligin genes: no mutations in 196 autism probands. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 15;129(1):82-4, Aug 2004.
- VINCENT, J.B.; Melmer, G.; Bolton, P.F.; Hodgkinson, S.; Holmes, D.; Curtis, D.; Gurling, H.M.D.. Genetic linkage analysis of the X chromosome in autism, with emphasis on the fragile X region. *Psychiatr Genet*. 15:83-90; 2005.
- VIRGINTINO, D.; Errede, M.; Robertson, D.; Capobianco, C.; Girolamo, F.; Vimercati, A.; Bertossi, M.; Roncali, L.. Immunolocalization of tight junction proteins in the adult and developing human brain. *Histochem Cell Biol*. 122(1):51-9; Jul 2004.
- VOLKMAR, F.R.; Pauls, D.. Autism. *Lancet*. 2003 Oct 4;362(9390):1133-41. Review. Erratum in: *Lancet*. 17;363(9404):250, Jan 2004.
- WALITZA, S.; Wewetzer, C.; Warnke, A.; Gerlach, M.; Geller, F.; Gerber, G.; Gorg, T.; Herpertz-Dahlmann, B.; Schulz, E.; Remschmidt, H.; Hebebrand, J.; Hinney, A.. 5-HT2A promoter polymorphism -1438G/A in children and adolescents with obsessive-compulsive disorders. *Mol Psychiatry*. 7(10):1054-7, 2002.
- WALLER, S.A.; Armstrong, K.J.; McGrath, A.M.; Sullivan, C.L.A.. Review of the diagnostic methods reported in the Journal of Autism and Developmental Disorders. *J Autism Dev Disord*. 29(6):485-90, Dec 1999.
- WARREN, J.T. Jr.; Peacock, M.L.; Rodriguez, L.C.; Fink, J.K.. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2): detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet*. 2(3):338, Mar 1993.
- WASSINK, T.H.; Piven, J.; Vieland, V.J.; Huang, J.; Swiderski, R.E.; Pietila, J.; Braun, T.; Beck, G.; Folstein, S.E.; Haines, J.L.; Sheffield, V.C.. Evidence supporting WNT2 as an autism susceptibility gene. *Am J Med Genet*. 8;105(5):406-413, Jul 2001.
- WHITAKER-AZMITIA, P.. Serotonin and brain development: role in human developmental diseases. *Brain Res Bull*. 56:479-85, 2001.

- WILLEMSSEN-SWINKELS, S.H.; Buitelaar, J.K.. The autistic spectrum: subgroups, boundaries, and treatment. Review. *Psychiatr Clin North Am.* 25(4):811-36, Dec 2002.
- WILLIAMS, J.; Spurlock, G.; McGuffin, P.; Mallet, J.; Nothen, M.M.; Gill, M.; Aschauer, H.; Nylander, P.O.; Macciardi, F.; Owen, M.J.. Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. European Multicentre Association Study of Schizophrenia (EMASS) Group. *Lancet.* 11;347(9011):1294-6, May 1996.
- WILLIAMS, J.; McGuffin, P.; Nothen, M.M.; Owen, M.J.. Meta-analysis of association between the 5-HT_{2A} receptor T102C polymorphism and schizophrenia. EMASS Collaborative Group. European Multicentre Association Study of Schizophrenia. *Lancet.* 26;349(9060):1221, Apr 1997.
- WING, L. Some questions on sex differences. *J Autism Dev Disord.* 14(2):211-4, 1984.
- WING, L.; Potter, D.. The epidemiology of autistic spectrum disorders: is the prevalence rising? *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 8:151, 2002.
- WU, S.; Jia, M.; Ruan, Y.; Liu, J.; Guo, Y.; Shuang, M.; Gong, X.; Zhang, Y.; Yang, X. Zhang, D.. Positive association of the oxytocin receptor gene (OXTR) with autism in the Chinese Han population. *Biol Psychiatry.* 1;58(1):74-7, Jul 2005.
- WURTMAN, R.J.. Genes, stress, and depression. *Metabolism.* Review. 54(5 Suppl 1):16-9; May 2005.
- YAMAWAKI, S.; Hayakawa, H.. Recent advances in neuropsychopharmacology of the central serotonin receptor. *Yakubutsu Seishin Kodo.* Review; 12(2):43-54; Apr 1992.
- YLISAUKKO-OJA, T.; Nieminen-von, W. T.; Kempas, E.; Sarenius, S.; Varilo, T.; Peltonen, L.; Jarvela, I.. Genome-wide scan for loci of Asperger syndrome. *Mol Psychiatry.* 9(2):161-8; 2004.
- YLISAUKKO-OJA, T.; Alarcon, M.; Cantor, R.M.; Auranen, M.; Vanhala, R.; Kempas, E.; von Wendt, L.; Jarvela, I.; Geschwind, D.H.; Peltonen, L.. Search for autism loci by combined analysis of Autism Genetic Resource Exchange and Finnish families. *Ann Neurol.* 59(1):145-55, Jan 2006.
- YONAN, A.L.; Alarcon, M.; Cheng, R.; Magnusson, P.K.E.; Spence, S.J.; Palmer, A.A.; Grunn, A.; Juo, S.H.; Terwilliger, J.D.; Liu, J.; Cantor, R.M.; Geschwind, D.H.; Gilliam, T.C.. A genomewide screen of 345 families for autism susceptibility loci. *Am J Hum Genet.* 73(4):886-97; 2003.
- YOUNG, S.N.; Gauthier, S.. Effect of tryptophan administration on tryptophan, 5-hydroxyindoleacetic acid and indoleacetic acid in human lumbar and cisternal cerebrospinal fluid. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 44(4):323-8; Apr 1981.
- YU, B.N.; Wang, A.; Zhou, G.; Zhang, W.; Hu, D.L.; Li, Q.; He, Y.J.; Zhou, H.H.. T102C genetic polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor in Chinese hypertensive patients and healthy controls. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 31(12):847-9; Dec 2004.

- ZALSMAN, G.; Frisch, A.; Baruch-Movshovits, R.; Sher, L.; Michaelovsky, E.; King, R.A.; Fischel, T.; Hermesh, H.; Goldberg, P.; Gorlyn, M.; Misgav, S.; Apter, A.; Tyano, S.; Weizman, A.. Family-based association study of 5-HT(2A) receptor T102C polymorphism and suicidal behavior in Ashkenazi inpatient adolescents. *Int J Adolesc Med Health*. 17(3):231-8, Jul-Sep 2005.
- ZHANG, H.; Liu, X.; Zhang, C.; Mundo, E.; Macciardi, F.; Grayson, D.R.; Guidotti, A.R.; Holden, J.J.. Reelin gene alleles and susceptibility to autism spectrum disorders. *Mol Psychiatry*. 7(9):1012-7, 2002.
- ZHONG, N.; Ye, L.; Ju, W.; Bronw, W.T.; Tsiouris, J.; Cohen, I.. 5-HTTLPR variants not associated with autistic spectrum disorders. *Neurogenetics*. 2(2):129-31, 1999.
- ZIRLINGER, M.; Anderson, D.. Molecular dissection of the amygdala and its relevance to autism. *Genes Brain Behav*. 2(5):282-94, Oct 2003.
- ZUCKER, M.B.; Friedman, B.K.; Rapport, M.M.. Identification and quantitative determination of serotonin (5-hydroxytryptamine) in blood platelets. *Proc Soc Exp Biol Med*. 85(2):282-5; Feb 1954.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)