



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Faculdade de Ciências da Saúde

Autismo Fisiopatologia e biomarcadores

Sara Weisz Sampaio Estrela Rego

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Professor Doutor Francisco José Álvarez Pérez
Covilhã, Maio de 2012

Dedicatória

Este trabalho é dedicado ao meu avô José, que esteve sempre presente, apesar de longe.

“Desconfia sempre, procura saber mais.”

Agradecimentos

Os meus agradecimentos ao Professor Doutor Francisco Alvarez, pela sua ajuda e dedicação.

A toda a minha família, um grande obrigado por tudo. Aos meus pais, por toda a força e confiança que me transmitiram nesta fase.

Resumo

Perturbações do espectro autista é o termo usado para identificar um grupo de alterações invasivas do desenvolvimento caracterizadas por défices na socialização e comunicação e por comportamentos bizarros e repetitivos. Esta classificação inclui o Autismo, o Síndrome de Asperger e a Perturbação Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação [1]. Leo Kanner em 1943 e Hans Asperger em 1944 foram possivelmente os primeiros a descrever o tipo de distúrbios englobados nesta categoria, destacando a especificidade do défice de interação social que tem sido, desde então, considerado o sintoma principal do autismo [2].

A prevalência do autismo situa-se entre 10 e 20 casos por cada 10000 crianças e tem vindo a aumentar significativamente desde a década de 1960 sendo este aumento justificado pelo maior reconhecimento desta doença como problema de saúde pública e ainda pelas constantes mudanças na prática dos mesmos. Os sintomas clínicos estão usualmente presentes aos três anos, contudo o défice no desenvolvimento da linguagem atrasa a sua identificação [2,3].

As Perturbações do Espectro Autista são fortemente genéticas e multifatoriais, havendo interação entre muitos fatores de risco [3]. Há uma incessante procura de marcadores biológicos para o Autismo, ou seja, indicadores mensuráveis em simples amostras biológicas que podem ser utilizados como fatores de risco, indicadores diagnósticos e podem ainda ajudar na elaboração do plano de tratamento mais adequado [1].

O objetivo deste trabalho passa por fazer uma revisão e sistematização sobre o autismo e os seus biomarcadores, estudando os benefícios clínicos e diagnósticos de cada um. Através da evolução destes estudos pretende-se ainda perspetivar o futuro desta patologia.

A pesquisa bibliográfica foi realizada através das bases de dados: Medline/PubMed, Medscape, E-medicine assim como vários livros de referência sobre a especialidade. Esta pesquisa foi realizada em português e inglês.

Após uma pesquisa detalhada foi possível concluir que as Perturbações do Espectro Autista apresentam inúmeros fatores causais, sendo ainda uma área de investigação com muitos desafios a enfrentar. O perfil genético e metabólico, o perímetro cefálico, a estrutura e fisiologia cerebral, entre muitos outros, são exemplos de biomarcadores propostos para o autismo. Apesar da grande evolução das técnicas e metodologias de estudo do autismo e da melhoria na sua compreensão científica, pouco se tem conseguido no que toca a traduzir os biomarcadores em evidências clínicas.

Palavras-chave

Autismo, Perturbações do Espectro Autista, fisiopatologia, etiologia, biomarcador.

Abstract

Autism spectrum disorder is used for a diverse group of developmental conditions characterized by impairments in social skills and communication and repetitive or unusual behaviors. This classification includes Autism, Asperger's syndrome and Pervasive Developmental Disorder not otherwise specified [1]. Leo Kanner (1943) and Hans Asperger (1944) were possibly the first ones to describe the type of empathy disorders encompassed in this category, highlighting the specificity of the social interaction deficit which has, ever since, been regarded as the core symptom of Autism [2].

Autistic disorder's prevalence is between 10 and 20 per 10 000 children and apparently has greatly increased since 1960's. This is justified by its recognition as a public health problem and also by changes made in policy and practice. Clinical signs are usually present at the age of 3 years, but impairments in language development might delay identification of these symptoms [2,3].

Autism spectrum disorders are highly genetic and multifactorial, with many risk factors acting together [3]. There is constant search for Autism's biological markers, which are defined as measurable indicators in simple biological samples. They can be used as risk factors, diagnostic indicators and even help planning the most appropriate treatment [1].

The aim of this work is to review and systematize Autism and its biomarkers, studying both the clinical and diagnostic benefits of each one of them. Through the evolution of these studies, we also intend to look at the future of this pathology.

The literature search was performed using the following databases: Medline/PubMed, Medscape, E-medicine as well as several reference books on the specialty. This research was conducted both in Portuguese and English.

After a detailed research a conclusion was made that Autism Spectrum Disorders have several causal factors and it is an area of investigation with many challenges. The genetic and metabolic profile, head circumference, brain structure and many others, are possible biomarkers for autism. Despite great development and understanding of the techniques and methodologies, little has been achieved with regard to translate biomarkers on clinical evidence.

Keywords

Autism, Autism Spectrum Disorders, pathophysiology, etiology, biomarker.

Índice

Lista de figuras	xv
Lista de tabelas	xvii
Lista de acrónimos	xix
1. Introdução	1
2. Metodologia	2
3. Perturbações do Espectro Autista	3
3.1 Contextualização histórica	3
3.2 Epidemiologia	4
3.3 Fisiopatologia.....	6
3.4 Manifestações clínicas.....	7
3.4.1 Défices na socialização	8
3.4.2 Défices na comunicação	9
3.4.3 Padrões de comportamento.....	9
3.5 Co-morbilidades.....	10
3.6 Diagnóstico.....	15
3.7 Escalas de Avaliação Diagnóstica	18
3.8 Tratamento	19
4 Biomarcadores	21
4.1 Genética.....	22
4.2 Neuroquímica.....	29
4.3 Neuropatologia	33
4.4 Imagiologia.....	37
4.5 Neurofisiologia	38
5 Conclusões e perspectivas futuras	39
6 Bibliografia	42

Lista de figuras

Figura i. Fatores de risco do autismo [1]	21
Figura ii. Regiões encefálicas implicadas nos sintomas nucleares do autismo [77]	34
Figura iii. Neuroanatomia da amígdala humana [77]	37

Lista de tabelas

Tabela I. Sinais precoces de autismo (“Red Flags”) [8]	16
Tabela II. Diagnóstico diferencial das Perturbações do Espectro Autista segundo o DSM-IV	17
Tabela III. Síndromes Genéticas [1]	26

Lista de acrónimos

AAP	<i>American Academy of Pediatrics</i>
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADOS	<i>Autism Diagnostic Observation Shedule</i>
CNV	<i>Copy-number variants</i>
DSM-IV	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
EEG	Eletroencefalograma
GABA	Ácido Gama Aminobutírico
ITC	<i>Infant Toddler Checklist</i>
NT	Neurotransmissor
PEA	Perturbações do Espectro Autista
PGDSOE	Perturbação Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação
RMN	Ressonância Magnética
SNP	<i>Single nucleotide polymorphisms</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
TAC	Tomografia Axial Computorizada
5-HT	5-hirdoxitriptamina

1. Introdução

O autismo é uma perturbação neurobiológica global do desenvolvimento que se inicia normalmente antes dos três anos de idade e causa défices marcados na socialização, na linguagem e no comportamento. Dado que se pode manifestar com várias características e sintomas diferentes, a perturbação autística é inserida num espectro de doenças designado de Perturbações do Espectro Autista (PEA), que inclui ainda o Síndrome de Asperger e a Perturbação Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação (PGDSOE) [5]. Estudos epidemiológicos recentes indicam que pelo menos uma pessoa em cada cem apresenta alguma forma de autismo, sendo o sexo masculino cerca de três a quatro vezes mais afetado que o sexo feminino [1].

A etiologia do autismo é complexa e na maior parte dos casos o mecanismo patológico subjacente é desconhecido. É um distúrbio heterogéneo, diagnosticado subjetivamente na base de um grande número de critérios. Muitos estudos indicam que uma grande variedade de fatores genéticos está na base do autismo. Para além destes, condições ambientais, neurobiológicas, neuroanatômicas, metabólicas e imunológicas encontram-se em estudo [4].

Dada a complexidade deste distúrbio, têm vindo a ser estudados exaustivamente uma diversidade de biomarcadores, com a esperança de que venham a revelar as suas causas e garantir o diagnóstico e tratamento precoces para alcançar uma abordagem terapêutica mais eficaz nestes doentes.

Assim sendo, os objetivos deste trabalho passam por fazer uma revisão bibliográfica das Perturbações do Espectro Autista, nomeadamente a nível da sua etiologia, epidemiologia, fisiopatologia, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento, sendo o objetivo principal a sistematização dos seus biomarcadores e a perspetivação da sua utilidade no futuro.

2. Metodologia

A metodologia deste trabalho baseou-se numa pesquisa bibliográfica dos últimos vinte anos nas bases de dados Medline/Pubmed, Medscape, e-medicine, tal como alguns livros da especialidade. Esta pesquisa foi realizada em português e inglês, sendo as palavras-chave: “Autism”, “Autism Spectrum Disorders” “pathophysiology”, “etiology”, “biomarker”.

3. Perturbações do Espectro Autista

3.1 Contextualização histórica

Existem, referenciados na literatura, casos há centenas de anos atrás que apresentavam os critérios que atualmente se consideram como característicos de autismo. No entanto, na altura, a maioria era inserida no grupo dos atrasos do desenvolvimento mental [2].

O pedopsiquiatra Leo Kanner nascido na Ucrânia em 1894, estudou em Berlim e emigrou depois para os E.U.A onde, em 1943, publicou um estudo em que identificou onze casos que designou de “autismo infantil” [2]. Estas crianças apresentavam uma grande dificuldade em expressar-se desde o início da vida, demonstrando maneirismos motores estereotipados e grande resistência à mudança, tal como uma comunicação idiossincrática. Kanner acreditava que esta condição não se associava ao atraso mental visto que as crianças pareciam inteligentes e relatavam bom desempenho em alguns testes de quociente de inteligência [18].

Entretanto, Hans Asperger, pediatra austríaco, relatou em 1944 o comportamento de quatro crianças que, apesar de manterem as habilidades intelectuais intactas, demonstraram uma escassez da comunicação não-verbal (gestos e tom de voz afetiva), fraca empatia e elevada tendência para intelectualizar as emoções, com grande dificuldade na integração social. Apresentavam interesses restritos envolvendo tópicos pouco usuais e ainda um défice marcado na coordenação motora. A esta condição designou de “Psicopatia autística” [18].

Estes foram provavelmente os primeiros estudos a descrever os distúrbios de empatia agrupados no “Autistic continuum”, enfatizando a especificidade do défice de interação social que vem, desde então a ser apontado como um dos principais sintomas do autismo [2].

Ainda assim, Lorna Wing (1989) demonstrou que uma série de síndromes de atraso mental e dano cerebral eram acompanhados da tríade sintomática descrita por Leo Kanner (défices

sociais, comunicativos e distúrbios comportamentais), pondo em questão o diagnóstico “puro” do autismo de Kanner, que não considerava o déficit mental.

Atualmente, todas as definições de autismo incluem três critérios básicos necessários ao diagnóstico: distúrbio de interação social recíproca, distúrbio da comunicação (incluindo compreensão e produção da linguagem) e ainda alterações no comportamento e nas atividades imaginativas, conduzindo a uma restrição extrema do repertório de atividades.

3.2 Epidemiologia

A prevalência das Perturbações do Espectro Autista aumentou consideravelmente desde a década de 1960 quando apenas as taxas do autismo eram incluídas no diagnóstico. Nos vinte anos que se seguiram, esta taxa aumentou de 5 para 72 casos por cada 10 000 crianças, tanto nos E.U.A como na Europa, encontrando-se atualmente em cerca de 60 casos para as PEA e 10 casos para o autismo em cada 10000 crianças. Parte deste aumento da prevalência resulta de uma melhoria na educação dos sintomas, associada a uma maior vigilância e a um diagnóstico mais preciso da doença [3,6,7].

Estudos atuais demonstraram que o autismo ocorre igualmente em diferentes grupos raciais, étnicos e sociais, mas existem três grupos distintos que apresentam um risco mais elevado de ocorrência de PEA: o sexo masculino, sendo cerca de quatro vezes mais afetado que o sexo feminino, os irmãos de crianças com PEA, sendo que as famílias com uma criança autista apresentam uma taxa recorrência 2 a 8%, e ainda as pessoas com outros distúrbios do desenvolvimento como sejam o atraso mental, a Esclerose Tuberosa e o Síndrome do X Frágil [5].

Existe um elevado interesse na identificação precoce das crianças com risco aumentado de PEA porque tem-se vindo a demonstrar que se acompanha de melhorias a longo prazo para a criança e para a família, principalmente a nível de planeamento [9,10,11]. Muitos estudos

foram realizados para compreender os mecanismos que elevam o risco de PEA no sexo masculino e nos irmãos de portadores destes distúrbios.

O grande avanço nas tecnologias do estudo do ADN permitiu nas últimas décadas a realização de estudos genéticos para o autismo. É possível estudar os designados polimorfismos de nucleótidos únicos, “Single Nucleotide Polymorphisms” (SNP), que representam variações na sequência de ADN que afetam apenas uma base (adenina, timina, citosina, guanina) ou ainda as deleções ou duplicações em pequenos segmentos de ADN, conhecidas como “Copy-number Variants” (CNV). Estas variações são estudadas com o intuito de encontrar a causa dos sintomas. Contudo, esta não se demonstrou uma tarefa fácil. As mutações conhecidas como causadoras de autismo representam menos de 20% de todos os casos de PEA. Se a mutação for herdada de um progenitor, os futuros irmãos apresentarão um risco superior de sofrer de um PEA. Contudo, na maior parte das vezes, as mutações associadas ao autismo são formadas *de novo* no indivíduo autista, ou seja, são mutações espontâneas. [11]. O objetivo passa então por identificar SNP's e CNV's que, em conjunto, possam aumentar a probabilidade de uma criança vir a sofrer da doença.

Num estudo retrospectivo que rastreou genomas autistas e não autistas, 50% dos rapazes e 25% das raparigas identificadas com elevado risco genético devido à presença de vários SNP identificados, tinham de facto a doença [11]. Um outro estudo realizado em 2011 com uma amostra exploratória de 480 famílias, identificou em irmãos de crianças autistas SNP género-específicos suscetíveis de se relacionarem com autismo. Explorou-os posteriormente em duas amostras, uma de 351 irmãos afetados pela doença e outra de 90 irmãos não afetados, em famílias com pelo menos um filho autista. Os resultados demonstraram três SNP de risco com elevada taxa de reprodutibilidade para o sexo masculino, dois para o sexo feminino e três para ambos os sexos. Concluiu-se que os rapazes são mais suscetíveis e que os SNP estudados permitem identificar subgrupos de crianças irmãs de autistas que terão maior risco de sofrer de autismo [12].

3.3 Fisiopatologia

Durante algumas décadas, após a descrição de Leo Kanner, acreditou-se que o autismo constituía uma entidade psicogénica. Contudo, o reconhecimento da sua associação ao atraso mental e à epilepsia iniciou a suspeição de uma base orgânica. Influências genéticas foram posteriormente descritas, tendo-se documentado uma maior incidência de autismo em irmãos de crianças afetadas por esta perturbação, nomeadamente em gémeos monozigóticos. Desde então tornou-se globalmente aceite a etiologia biológica do autismo [4,39].

Complicações pré, peri e neonatais foram descritas em crianças autistas, podendo, juntamente com a predisposição genética, conduzir ao desenvolvimento desta síndrome. Teorias imunológicas também emergiram, sugerindo que podem existir anticorpos maternos produzidos no útero que reagem contra os antigénios fetais [18].

Entretanto, modelos neuroanatômicos, neurobiológicos e endócrinos foram propostos numa tentativa de explicar a sintomatologia do autismo.

A etiologia dos PEA é então bastante complexa, tendo-se sugerido que, em vez de um único fenómeno, existam inúmeros processos patológicos distintos que contribuem para o desenvolvimento de muitos “autismos” com fenótipos distintos.

Sendo o principal objetivo deste trabalho sistematizar os marcadores biológicos do autismo, estes mecanismos fisiopatológicos propostos encontram-se detalhados na secção 4 relativa aos Biomarcadores.

3.4 Manifestações clínicas

As PEA compreendem um grupo heterogéneo de doenças que partilham défices na socialização, na linguagem e na comunicação. Apresentam ainda comportamentos repetitivos e estereotipados [13].

Perturbações Globais do Desenvolvimento (DSM-IV):

- Autismo
- Síndrome de Asperger
- Síndrome de Rett
- Perturbação Desintegrativa da Segunda Infância
- Perturbação Global do Desenvolvimento Sem outra Especificação (PGDSOE)

Na maioria das crianças com autismo, os sintomas desenvolvem-se progressivamente. Contudo, 30% dos casos apresentam um curso regressivo que se nota geralmente entre os 18 e 24 meses de idade com comportamentos de distanciamento social e perda das capacidades comunicativas já adquiridas [13,14].

Cerca de 25% das crianças autistas que se enquadram nos critérios diagnósticos para PEA aos 2 ou 3 anos, iniciam a fala e a comunicação por volta dos 6 ou 7 anos. Os restantes 75% apresentam deficiência cognitiva ao longo de toda a vida, que exige suporte parental, escolar e social [13].

Apesar do diagnóstico de autismo ser realizado normalmente por volta dos 3 anos de idade, o desenvolvimento dos sintomas inicia-se anteriormente. No primeiro ano de vida, tipicamente, as crianças demonstram indiferença na ligação à mãe e ausência de contacto tónico com a mesma, apresentando-se extremamente sossegados, por vezes com choro excessivo e ausência de atitude antecipatória. Padrões alterados de sono e alimentação podem também surgir no primeiro ano [13].

Apesar destes primeiros sinais, estas crianças geralmente não suscitam a atenção médica até ao segundo ano de vida, altura em que os atrasos da linguagem se tornam óbvios, sendo a preocupação mais frequentemente apresentada pelos pais. Assim, a ausência de linguagem e o comportamento social incomum entre os 18 e 30 meses, constituem muitas vezes os primeiros sinais de anormalidade [17,18].

A criança começa a recusar o contacto visual com o meio e apresenta frequentemente um défice atípico na audição, em que não responde a ordens verbais ou quando solicitada pelo seu nome, apesar de ouvir bem e manter-se atenta aos sons ambientais. Frequentemente suspeita-se do diagnóstico de surdez, mas os testes de audição não revelam alterações. Défices na atenção estão também entre os sinais precoces de autismo, emergindo entre os 6 aos 14 meses [17]. Os movimentos repetitivos podem desenvolver-se imediatamente ou apenas quando a criança atinge o terceiro ou quarto ano de vida [13].

3.4.1 Défices na socialização

Os défices na interação social distinguem facilmente os indivíduos autistas dos que os rodeiam. Eles são incapazes de os entender, ignorando-os e evitando o contacto. Apresentam tipicamente fraca interação com os colegas e irmãos, não demonstrando interesses partilhados, nem procurando conforto neles. Na escola, tendem a observar os outros à distância. Normalmente usam os pais como instrumentos para conseguirem os objetos que desejam. Podem demonstrar interesse apenas por partes do corpo do adulto. Em casa, preferem estar sozinhos concentrados em si próprios e nas suas atividades. A ausência do jogo simbólico é muito frequente. A criança utiliza os objetos de forma parcial e bizarra sendo típico alinhar e ordenar os brinquedos, não os utilizando para jogos imaginativos ou para imitação do dia-a-dia [13].

3.4.2 Défices na comunicação

As crianças com autismo apresentam um atraso na comunicação, tanto a nível linguístico como gestual e expressivo [13].

O défice da linguagem nas PEA apresenta um amplo espectro de gravidade. Num extremo encontra-se a ausência total de linguagem funcional e no extremo oposto a capacidade para desenvolver uma linguagem fluida com bastante vocabulário, existindo entre estes uma grande variedade de transtornos da linguagem [15].

Frequentemente, as crianças autistas não apontam quando desejam alguma coisa. Apresentam défices das habilidades pragmáticas e, quando desenvolvem linguagem, esta é estereotipada, repetitiva ou idiossincrática, envolvendo a ecolalia e a inversão pronominal e não é utilizada como meio de comunicação. Ao contrário do que acontece na criança com atraso mental ou com distúrbios do desenvolvimento da linguagem, a criança autista demonstra défices marcados na receção da linguagem [3,13].

Apesar de ainda não estarem decifradas as bases neurológicas do fracasso do desenvolvimento linguístico dos autistas, estudos de neuro-imagem permitiram identificar algumas alterações em regiões relacionadas com a linguagem que podem ser causas possíveis deste fenótipo. Entre estas estão diferenças morfométricas da área de Broca e de Wernicke, assim como padrões de lateralização reduzida ou invertida no córtex temporal e frontal [15].

3.4.3 Padrões de comportamento

A criança autista apresenta um padrão característico de comportamentos restritos, estereotipados e repetitivos [3].

Apresentam frequentemente maneirismos motores e comportamentos de autoestimulação com movimentos repetitivos. Demonstram uma preocupação ou fascinação com partes de objetos, acompanhada frequentemente de uma exploração visual anormal. Manipulam indefinidamente os objetos da mesma maneira [13]. Estas crianças têm uma tendência para as rotinas diárias e apresentam comportamentos rígidos [13].

As alterações motoras apresentam-se melhor detalhadas na secção 3.5 referente às Comorbilidades.

O Síndrome de Asperger é caracterizado, tal como o autismo por défices na interação social, nos interesses e nos comportamentos. Contudo, contrariamente ao autismo, o seu desenvolvimento é marcado por padrões normais na produção e receção da linguagem, no desenvolvimento cognitivo, nas habilidades de cuidado pessoal e na curiosidade sobre o ambiente. Estes indivíduos expressam interesse em conhecer pessoas e fazer amizades, contudo utilizam formas inapropriadas e excêntricas de as abordar, sendo incapazes de compreender os seus sentimentos. Isto conduz ao insucesso nas relações interpessoais e a frustrações consequentes. No que toca à etiologia, esta ainda permanece incerta, apesar de se saber que existe uma forte componente genética [18].

O Síndrome de Rett por sua vez é uma condição progressiva que ocorre no sexo feminino e se manifesta após alguns meses de desenvolvimento aparentemente normal. O perímetro cefálico à nascença apresenta-se com valores normais mas entre os 6 e os 12 meses o crescimento da cabeça desacelera, iniciando-se por esta altura alterações comportamentais, linguísticas e sociais que sugerem o diagnóstico de autismo. Atualmente sabe-se que esta patologia se encontra particularmente ligada ao gene “*methyl-CpG-binding protein 2*” (*MeCP2*) no cromossoma Xq28 [18,46].

A Perturbação Desintegrativa da Segunda Infância é uma condição rara caracterizada por uma regressão gradual ou abrupta em diversas áreas do desenvolvimento após 2 a 10 anos de

desenvolvimento normal. A fase de regressão pode durar algumas semanas, apresentando-se a criança agitada e assustada. É uma doença mais comum no sexo masculino [18].

Por último, a Perturbação Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação, ou autismo atípico, é usada para incluir um grande e heterogêneo grupo de crianças com critérios pouco definidos, que exibem um padrão de desenvolvimento e comportamentos semelhante ao observado no autismo (pelo menos 2 dos três défices típicos do autismo). É considerado um diagnóstico não definido [18].

3.5 Co-morbilidades

As co-morbilidades são muito comuns nas crianças e nas famílias das crianças com PEA e podem mesmo exercer um efeito mais significativo do que os sintomas nucleares. Por vezes torna-se dúbia a distinção entre co-morbilidade ou sintomatologia própria do quadro clínico de autismo. Nesta secção serão expostas as patologias mais associadas ao autismo.

Muito frequentemente os pais das crianças autistas apresentam-se com elevados níveis de *stress* e sofrem de doenças psiquiátricas como a ansiedade e depressão, provavelmente relacionadas com os comportamentos dos seus filhos [3].

Distúrbios do comportamento e do desenvolvimento são frequentemente associadas ao autismo. Tal como referido anteriormente, incluem alterações cognitivas e intelectuais (40 a 80% dos casos), défices linguísticos (50 a 63%) e motores (9 a 19%) e ainda problemas relacionados com a atenção, impulsividade e hiperatividade (59%). A nível psiquiátrico estas crianças demonstram elevadas taxas de ansiedade, tal como de distúrbios obsessivo-compulsivos. A percentagem de casos com depressão subjacente encontra-se entre 2% a 30%. Afetivamente é frequente manifestarem crises de angústia espontâneas ou provocadas por frustrações mínimas que podem acompanhar-se de agitação e manifestações de

agressividade. Distúrbios sensoriais como hiper ou hiposensibilidade aos sons ou ao toque foram também relatados [3].

As co-morbilidades médicas gastrointestinais associadas às PEA passam pela seletividade dos alimentos e refluxo gastroesofágico e necessitam normalmente de terapia comportamental e investigação etiológica, respetivamente [3].

Os distúrbios neurológicos como a deficiência motora, as perturbações do sono e a epilepsia não são apenas comuns, como também associados a fenótipos mais severos [19]. Um amplo espectro de atrasos e défices motores foi descrito para as PEA, contudo apenas os comportamentos repetitivos estão incluídos nos critérios diagnósticos. Estão documentados atrasos nos domínios motores fino e grosso, tal como défices na praxia, planeamento motor, marcha, coordenação e controlo postural. Estes défices são facilmente quantificáveis, podendo ajudar na identificação de endofenótipos clínicos dentro do espectro destas doenças e na definição dos circuitos neuronais aberrantes adjacentes. Estes sintomas podem associar-se a outros atrasos específicos da doença, como a linguagem, a aprendizagem e a interação social, o que também auxilia o diagnóstico [19].

Um estudo recente revelou que estes défices não melhoram ao longo da primeira infância, tendo-se também constatado que 90% dos síndromes genéticos associados ao autismo apresentam um défice motor significativo [20,21,22]. No que toca aos comportamentos repetitivos ou estereotipados (frequentemente mãos, dedos e balanceamento do corpo), apesar de tradicionalmente vistos como comportamentos de autoestimulação que tendem a acalmar a criança, tem-se vindo a sugerir que sejam movimentos involuntários. Sugeriu-se que estes défices sejam são a manifestação de circuitos cerebelares e fronto-estriatais aberrantes [23].

No que envolve a praxia, é sabido que se relaciona com défices sociais, comportamentais e comunicativos, estando na base dos atrasos no desenvolvimento da representação espacial e da execução motora.

As alterações da marcha foram extensamente documentadas em crianças autistas, incluindo o andar apoiado nos dedos dos pés, ataxia, dificuldade em dar passos grandes, descoordenação e anomalias posturais da cabeça e tronco. Foi ainda relatada uma diminuição da flexão plantar e um aumento da dorsi-flexão [21].

A maioria das hipóteses propostas sobre os circuitos cerebelares e fronto-estriatais foi baseada em factos clínicos relacionados com a localização dos mesmos [25]. Recentemente, vários estudos neuro-imagiológicos têm investigado diretamente a base anatómica destes défices. Num estudo com crianças com PEA entre os 8 e os 12 anos, constatou-se que o aumento do volume do córtex motor esquerdo e da substância branca do córtex pré-motor são preditivos de uma fraca performance motora nos sinais do exame físico e neurológico [26]. Este mesmo grupo de crianças foi submetido a uma investigação através de Ressonância Magnética (RM), concluindo-se que apresentam uma redução da atividade em várias regiões cerebelares, tal como uma fraca conectividade funcional com outras regiões corticais [27,28].

A fisiopatologia e a relação entre os défices motores e cognitivos constituem um ponto fulcral da investigação das PEA. No futuro, é espectável um empenho na investigação da função motora em situações de risco e em crianças no momento do diagnóstico, para que se analisem os dados a longo prazo. É também necessária a existência de escalas neurobiológicas específicas, de forma a isolar os atrasos e défices de uma forma standardizada.

Em relação aos distúrbios do sono, encontram-se em cerca de 44 a 83% dos casos de PEA, sendo a insónia o distúrbio primário. Alguns estudos objetivos documentaram nesta espectro um tempo total de sono diminuído com despertares noturnos frequentes, associados a padrões eletroencefalográficos de ondas lentas e ainda a uma diminuição de sono REM (*Rapid Eye Movement*) [29,30]. Mecanismos comportamentais e biológicos foram descritos como causa destes distúrbios do sono. Uma higiene do sono inadequada é muitas vezes documentada, sendo para os pais difícil controlar estas rotinas [19]. A base biológica assenta em ritmos circadianos aberrantes, sendo que dois artigos recentes propuseram que alguns

genes que controlam o ritmo circadiano estejam implicados na secreção de melatonina e com a integridade da transmissão sináptica nas PEA [31]. Estas alterações do sono revelam-se importantes na medida em que se associam a outras entidades clínicas como a hiperatividade, a epilepsia e ainda a comportamentos restritos e repetitivos [32]. O tratamento destes distúrbios passa então pela terapia comportamental, com educação dos pais e terapia farmacológica com melatonina que se tem vindo a demonstrar bastante eficaz na melhoria do sono [19]. Futuramente será proveitoso examinar o impacto dos distúrbios do sono nos domínios cognitivos específicos como a memória e aprendizagem.

Por último, a presença de epilepsia ou atividade paroxística epileptiforme nestas patologias já é conhecida desde 1943, quando Leo Kanner reportou os primeiros casos de autismo [33]. A prevalência da epilepsia nas PEA ronda os 30%. Não existe um tipo de convulsões ou paroxismos semiologicamente específicos do espectro autístico. Um estudo com 345 pacientes com PEA constatou que 44% das anomalias paroxísticas eram focais, 12% generalizadas e 42% mistas [34]. Não existe nenhuma evidência de que as descargas epileptiformes causem um determinado fenótipo de PEA, logo não está provado que os antiepiléticos sejam eficazes para o tratamento ou prevenção destas perturbações. A fisiopatologia reflete ausência de integridade sináptica que é suportada por estudos genéticos que identificaram CNV em 8% a 10% dos indivíduos com epilepsia idiopática, mais frequentemente genes implicados nas sinapses e assim, nos distúrbios do neuro-desenvolvimento. Estes CNV incluem a “*contactine associated protein-like 2 (CNTNAP2)* e as regiões 15q11.2, 15q13.3 e o 16p13.11 [35], entre outros. Do ponto de vista neuroanatômico, tanto a epilepsia como as PEA refletem uma conectividade anómala, contudo ainda é obscura a verdadeira repercussão da epilepsia na trajetória do desenvolvimento destas perturbações [19].

3.6 Diagnóstico

O autismo não é uma doença específica, mas sim, um distúrbio do desenvolvimento que apresenta uma forte base genética. Dada a sua heterogeneidade e grande variabilidade de sintomas, o autismo é inserido num espectro de doenças.

O DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) incluiu no diagnóstico de Perturbações Globais do Desenvolvimento, o Autismo, o Síndrome de Asperger, o Síndrome de Rett, a Perturbação Desintegrativa da Segunda Infância e ainda a Perturbação Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação. Entretanto, a descoberta de uma associação genética para o Síndrome de Rett e a dificuldade de caracterização da Perturbação Desintegrativa da Segunda Infância, levou à génese do diagnóstico de Perturbações do Especto Autista, onde se incluem atualmente o Autismo, o Síndrome de Asperger e a PGDSOE [16,51].

Para além do DSM-IV, a classificação ICD-10 (*International Classification of Diseases*) também pode ser utilizada, sendo que ambas enfocam atraso ou funcionamento anormal antes do 3 anos em pelo menos uma das seguintes áreas: interação social, comunicação e padrões de comportamento.

O pediatra é encarado com a difícil tarefa de suspeitar do diagnóstico de PEA tão cedo quanto possível para implementar a intervenção mais apropriada [16]. Deve confiar nos relatos dos pais, ter um bom julgamento clínico e habilidade para reconhecer os critérios base de comportamentos que definem os PEA. A *American Academy of Pediatrics* (AAP) recomenda a educação dos médicos e das famílias para os inúmeros sintomas de alerta das PEA que são definidos como “*red flags*” e encontram-se detalhados na tabela I [3]. A AAP recomenda ainda que todas as crianças entre os 18 e 24 meses sejam rastreadas para este espectro [16].

Tabela I. Sinais precoces de autismo (“Red Flags”) [8]

Comunicação	Olhar vago e ausente, difícil de fixar Afeto alterado ou diminuído Ausência de sorriso social Sem interesse social e prazer compartilhado (negação de contacto físico) Ausência de resposta ao nome Ausência ou déficit do apontar proto-declarativo Coordenação dos diferentes modos de comunicação alterados ou deficitários
Brincadeiras	Ausência de jogo simbólico Manipulação gestual e visual excessiva dos brinquedos Objetos indefinidamente manipulados da mesma forma
Linguagem e cognição	Desenvolvimento cognitivo diminuído Emissão de ruídos bizarros Produção e compreensão da linguagem diminuídas Tonalidade da voz alterada
Défice/inexistência de reciprocidade social ou emocional	Incapacidade de relacionamento
Défices sensoriais e motores	Fixação do olhar; inspeção obsessiva dos objetos Diminuição ou aumento da reatividade ao som ou outros estímulos sensoriais (por exemplo a dor) Diminuição do nível de atividade e das habilidades motoras Maneirismos motores estereotipados e repetitivos
Alterações nas funções relacionadas com o sono, atenção e alimentação	

Relativamente ao diagnóstico diferencial destas três entidades do espectro do autismo, a tabela II diferencia estas três entidades, de acordo com os critérios do DSM- IV, considerado método o mais adequado para o estabelecer o diagnóstico

Tabela II. Diagnóstico diferencial das Perturbações do Espectro Autista segundo o DSM-IV.

	Autismo	Síndrome de Asperger	PGDSOE
Idade de diagnóstico	0-3 Anos	> 3 Anos	Variável
Regressão	Cerca de 25%	Não	Variável
Incidência sexo (masculino:feminino)	2:1	4:1	Masculino> Feminino
Socialização	Fraca;> 2 critérios DMS-IV	Fraca	Variável
Comunicação	Atraso; distúrbio não verbal	Sem atraso no início; dificuldades pragmáticas mais tardias	Variável
Comportamento	Maior comprometimento do que Síndrome Asperger e PGDSOE	Variável (interesses restritos)	Variável
Déficit intelectual	> 60%	Moderado a inexistente	Moderado a severo
Causa	Mais propenso a estabelecer causas genéticas ou outras	Variável	Variável
Convulsões	25%	10%	10%
Prognóstico	Mau a razoável	Razoável a bom	Razoável a bom

Quando se suspeita do diagnóstico de PEA com base em sinais e sintomas clínicos e nos testes e escalas de rastreio, uma avaliação clínica com uma equipa multidisciplinar deve ser feita,

de modo a definir o diagnóstico definitivo e procurar a sua etiologia. Infelizmente, a identificação de um distúrbio etiológico ocorre apenas em menos de 25% dos casos. A maioria das crianças tem uma aparência normal, exceto os que apresentam macrocefalia que representam cerca de 25% dos casos. Assim, o exame físico com uma avaliação neurológica minuciosa pode ser útil para descartar condições médicas associadas. As características dismórficas das condições etiológicas comuns são a face longa, orelhas e testículos grandes no Síndrome do X Frágil e angiofibromas faciais, convulsões e áreas de hipopigmentação da pele associadas à Esclerose Tuberosa [16].

Para além do diagnóstico clínico, o médico depara-se com a difícil tarefa de decidir quais os métodos complementares de diagnóstico a utilizar e ainda com a incerteza de quais os sintomas são específicos da doença ou apenas co-morbilidades. Sendo assim, realiza-se frequentemente análise do ADN para despistar Síndrome do X Frágil e também a análise cromossómica de alta resolução. Em crianças com regressão do desenvolvimento ou com convulsões associadas, preconiza-se a realização de EEG. A Tomografia Axial Computorizada (TAC) ou RMN não são rotineiramente realizadas [16].

3.7 Escalas de Avaliação Diagnóstica

Escalas de avaliação alternativas foram desenvolvidas para auxiliar o rastreio destas doenças em crianças. Estes são instrumentos de avaliação relativamente recentes e bastante promissores. O *CHAT (Checklist for Autism in Toddlers)* foi desenvolvido na Inglaterra para ser usado em crianças aos 18 meses e possui uma elevada especificidade, mas uma reduzida sensibilidade. Os seus critérios baseiam-se nas manifestações clínicas como o olhar fixo, o apontar protodeclarativo e as brincadeiras, sendo medidas pelos relatos dos responsáveis e por observação direta das crianças. Uma versão modificada do CHAT, o *Modified-CHAT* foi desenvolvida para abranger um maior espectro de doentes no que toca à idade (16 a 30 meses) e às manifestações clínicas. A sensibilidade do *M-CHAT* é cerca de 85% [8,16].

O *Infant Toddler Checklist (ITC)* foi desenvolvido para o rastreio dos atrasos na comunicação. Num estudo recente com uma amostra de 5385 crianças entre os 9 e os 24 meses rastreadas através do *ITC*, foi possível identificar mais de 90% dos casos de PEA, sendo necessária uma avaliação posterior para distinguir estas perturbações dos restantes atrasos da comunicação [38]. Uma outra classificação interativa designada *Screening Tool for Autism in Two-Year-Olds (STAT)* identifica os sinais de PEA aos dois anos e em crianças de risco.

No que respeita à avaliação do desenvolvimento social e comunicativo, instrumentos estandardizados como o *ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule)* são bastante informativos e podem ajudar significativamente na decisão mais adequada para cada caso.

Existem ainda escalas para avaliação do desenvolvimento cognitivo que determinam se a criança está a seguir o desenvolvimento esperado. Para além disso possibilitam a interpretação os comportamentos associados [8].

Outros instrumentos úteis à avaliação destas perturbações são o *CARS (Childhood Autism Rate Scale)* que classifica o autismo em leve, moderado e grave, o Perfil Psicoeducacional Revisado (PEP-R) que avalia a idade de desenvolvimento em crianças com autismo ou alterações da comunicação. Identifica padrões de aprendizagem irregulares e idiossincráticos e destina-se a crianças desde o primeiro ano de vida até aos doze anos.

Diversos estudos estão em desenvolvimento para garantir que no futuro o diagnóstico seja baseado na evidência e acompanhado de medidas de intervenção mais adequadas para estas crianças [8].

3.8 Tratamento

Ao contrário da maioria das doenças para as quais existe um tratamento específico definido, não existem diretrizes de tratamento protocoladas para as PEA [16].

As estratégias adotadas visam melhorar o *status* funcional da criança, envolvendo-a num programa de intervenção integrado que promova a comunicação, a socialização e as habilidades comportamentais, adaptativas e académicas e que reduza os comportamentos indesejados, como são os comportamentos agressivos e estereotipados.

Assim sendo, as estratégias incluem a educação e suporte parental, sendo fulcral a informação adequada dos pais. Uma intervenção precoce, através de métodos comportamentais, de comunicação, terapias físicas e ocupacionais e também intervenções sociais organizadas deve ser levada a cabo pelas equipas. A educação especial nas escolas para as crianças com mais de 3 anos também deve ser adotada para facilitar a aprendizagem. Terapias comportamentais psicológicas mostraram-se efetivas na adaptação das crianças e na redução dos comportamentos atípicos.

Por último, o tratamento médico pode trazer benefício em algumas co-morbilidades. Sendo as PEA condições crónicas para as quais não existe uma cura médica, há uma incessante procura por terapias alternativas e não-convencionais. [16].

No que toca ao prognóstico das perturbações autísticas, o autismo representa a entidade com pior evolução. Alguns estudos demonstraram que menos de 5% das crianças autistas têm uma recuperação total, contudo este número pode estar inflacionado pelas alterações classificativas que inserem outras patologias nestas estatísticas [36]. Um estudo de acompanhamento durante 20 anos com autistas entre os 22 e 46 anos e habilidades cognitivas médias concluiu que metade dos indivíduos funcionava bem e eram empregados remunerados. No entanto apenas 12% viviam de forma independente, sendo que 56% viviam com os pais [37].

4 Biomarcadores

Tal como referido anteriormente, o diagnóstico das PEA é clínico e baseia-se na observação comportamental e na entrevista clínica. Este tipo de diagnóstico é vantajoso porque engloba diversas variantes do espectro do autismo, colocando a etiologia noutra plano. O défice de biomarcadores existentes é explicado pela complexidade e heterogeneidade da condição, sendo as PEA conhecidas pelas múltiplas causas e co-morbilidades, variando muito no tipo e na severidade dos sintomas.

Ao longo da última década, a investigação na área da anatomia e biologia do Sistema Nervoso tornou evidente a existência de uma série de biomarcadores das Perturbações do Espectro Autista, a maioria deles focados no encéfalo [40].O ideal seria que estes marcadores revelassem a causa do autismo e fossem clinicamente úteis para complementar e melhorar o diagnóstico comportamental e ainda ajudar na deteção precoce destes distúrbios [1].

Nesta secção serão descritos os principais biomarcadores genéticos, neuroquímicos, imagiológicos, neuropatológicos e eletrofisiológicos atualmente em estudo.

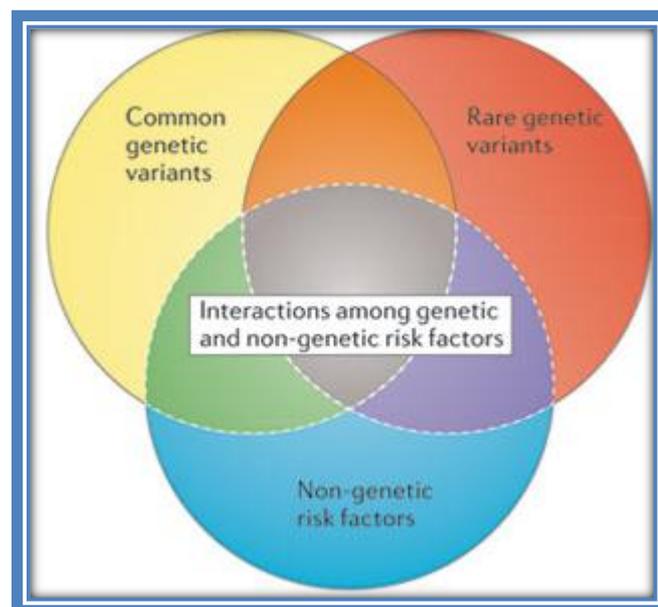


Figura i Fatores de risco do Autismo [1]

4.1 Genética

Existe um grande número de alterações genéticas associadas às PEA e acredita-se que a interação múltipla desses fatores contribua fortemente para a determinação do espectro. Apesar de terem sido encontradas anomalias citogenéticas na maioria dos cromossomas dos autistas, a sua relação com a expressão e a severidade da doença ainda requer muita investigação. Assim, apenas algumas alterações são comuns o suficiente para serem consideradas loci dos genes do autismo, sendo que a maioria são identificados como loci de suscetibilidade.

A maior incidência da doença nos irmãos de crianças diagnosticadas com autismo evidenciou, como já explicado, a base genética desta patologia. Contudo, sabe-se que a maioria destas anomalias cromossômicas acontece de forma espontânea, ou seja, surge *de novo* no indivíduo autista. Isto significa que a mutação ocorre pela primeira vez na família como resultado de uma alteração do ADN na célula germinativa ou no óvulo fertilizado. Contudo, ainda é incerta a sua significância funcional [39,41,42].

O objetivo dos investigadores passa então por encontrar genes candidatos, isto é, genes envolvidos em vias biológicas fisiopatologicamente relevantes ou em regiões cromossômicas de suscetibilidade, que foram anteriormente associadas ao Autismo. A relevância genes é determinada através de métodos experimentais que avaliam a atividade biológica, expressão e associação alélica entre as populações autistas e suas famílias [46]. Existem então várias abordagens para identificar loci genéticos suscetíveis e/ou genes candidatos:

- 1) **Cariótipo e estudos citogenéticos:** identificam anomalias cromossômicas herdadas ou adquiridas de novo relacionadas com o Autismo. As metodologias baseadas em *arrays*, como a CGC (*Comparative Genomic Hybridization*) ou o método FISH (*Fluorescent In Situ Hybridization*) permitem identificar alterações estruturais como deleções e duplicações genéticas do ADN, que podem envolver um ou mais genes. - “Copy-number variants”

- 2) **Rastreamento genómico:** permite encontrar ligações entre marcadores genéticos (SNP) e o Autismo, comparando-os com uma população controlo - estudos de associação.

As técnicas de sequenciação de todo o genoma são extremamente dispendiosas e trabalhosas. Uma abordagem mais adequada, designada rastreio exómico passa pela sequenciação apenas das partes do genoma que codificam proteínas, designados exões, sendo estes rastreados e identificados SNP suscetíveis. Um SNP é, tal como já referido, uma variação na sequência de ADN que ocorre apenas numa base (A,C,G,T) [42].

Variações genéticas associadas ao Autismo

No que toca às PEA, a região cromossómica 15q11-q13 encontra-se fortemente implicada e o elevado número de autistas com anomalias genéticas deste locus torna-o um marcador de suscetibilidade genética do espectro. Assim, muitos genes desta região podem ser considerados genes candidatos [39,47]. O Síndrome de Prader-Willi/Angelman, caracterizado por uma deleção de 15q11-q13 tem sido alvo de muitos estudos. Acredita-se que esta região esteja sujeita a fenómeno de *imprinting* genómico. Contudo, a correlação genótipo-fenótipo entre as anomalias estruturais do cromossoma 15 e as PEA continua bastante incerta [39,43].

Indivíduos com microdeleções de 15q13.3 apresentam risco aumentado de uma vasta lista de manifestações como défices intelectuais, malformações cardíacas, convulsões, autismo e esquizofrenia. Contudo, podem até não apresentar qualquer alteração clínica. Alterações comportamentais são comuns e conduzem a défices de atenção, hiperatividade e comportamentos agressivos. Esta deleção é herdada em 75% dos casos, através de um padrão autossómico dominante. Nos restantes casos a mutação ocorre *de novo* [69].

Microdeleções ou microduplicações do locus 16p11.2 também se associam a PEA. As deleções desta região aparecem frequentemente *de novo* apesar de poderem ser herdadas pelo pai de

forma autossômica dominante. Caracterizam-se por atrasos no desenvolvimento, défices intelectuais e/ou PEA. Apresentam maior risco de obesidade e convulsões. Já as duplicações associam-se maioritariamente a esquizofrenia e têm fraca associação com o autismo [70].

No que toca ao cromossoma 22, deleções ou duplicações da região q11.2 podem também acontecer, sendo as duplicações mais associadas a distúrbios de aprendizagem ou atraso mental e psicomotor, enquanto as deleções relacionam-se com malformações congénitas principalmente do coração, existindo fenótipos associados a convulsões e dificuldades de aprendizagem [71].

Um estudo recente analisou o cromossoma 7 e encontrou mutações nos genes FOXP2, TCAG_4133353 e NPTX2 (*neuronal pentraxin 2*). Este último encontra-se envolvido na sinatogénese excitatória e está no loci 7q22.1 enquanto os outros dois estão mutados em pacientes com distúrbios da linguagem e localizam-se na região 7q31-q33, que é por isso designada de locus da linguagem e do discurso [58,59].

Na década de 1990, estudos de ligação familiares e o rastreio de ADN conduziram à suspeita de genes únicos como causadores de distúrbios intelectuais associados ao Autismo. A maioria destes estudos centrou-se em genes do cromossoma X. A tabela IV esquematiza estes síndromes.

O exemplo mais bem estudado é o Síndrome do X Frágil que é por causado por uma expansão do codão CGG (trinucleótido) do gene FMR1 (*Fragile Mental Retardation*), inibindo a expressão da proteína FMR1, o que resulta numa constrição e fragilidade do cromossoma X nesse ponto (Xq27.3). Esta doença, para além do défice mental, caracteriza-se por alterações na linguagem, hiperatividade, comportamentos típicos de autismo e convulsões. Cerca 30% dos indivíduos com Síndrome do X Frágil estão no espectro do autismo [44].

O Síndrome de Rett já mencionado anteriormente, é causado na maioria das vezes por mutações no gene MeCP2 e também encontra-se como distúrbio causado por uma mutação de um gene específico [42].

Por sua vez, a Esclerose Tuberosa, uma doença multissistêmica causadora de hamartomas em vários órgãos, associa-se a distúrbios neurológicos, nomeadamente a epilepsia e ainda a perturbações do espectro do autismo. Os genes afetados são supressores tumorais, Tsc1 no cromossoma 9 e Tsc2 no cromossoma 16, que codificam as proteínas hamartina e tuberina respetivamente. Estas por sua vez regulam a proliferação, diferenciação, crescimento e migração celular [42,46].

A Neurofibromatose tipo 1 é uma doença autossômica dominante com manifestações neurológicas e cutâneas. Caracteriza-se por uma mutação do gene NF1 do cromossoma 17 (locus 17q11.2) que codifica a proteína neurofibromina1, a qual ativa a enzima *Ras-GPTase*, implicada na proliferação e diferenciação celular. Estas mutações conduzem a anomalias encefálicas estruturais e funcionais que levam a défices cognitivos marcados [50,52].

A Síndrome de Timothy é uma doença autossômica dominante causada por uma mutação no gene CACNA1C (*Calcium channel, voltage-dependent-L type*) dos canais de cálcio tipo L que se acredita que regula a diferenciação dos neurónios corticais. Encontra-se associada frequentemente a défices mentais e autismo [53].

A Síndrome de Smith-Lemli-Opitz é uma doença com padrão de heritabilidade autossômico recessivo causada por uma deficiência na síntese de colesterol que resulta num espectro fenotípico que inclui múltiplas malformações e défices cognitivos.

Um gene relevante na região 15q11-q13 é o gene materno UBE3A que codifica a ubiquitina-ligase e está relacionado com a Síndrome de Angelman e as PEA. Este gene expressa-se maioritariamente no encéfalo e, apesar de ainda não estar explicada a forma exata da sua

ação no sistema nervoso, acredita-se que esteja envolvido com o desenvolvimento das sinapses excitatórias [54].

Mutações no gene SHANK3 foram também identificadas, estando ainda em investigação. Este gene codifica uma proteína que ajuda a estabilizar as sinapses entre os neurónios. Num estudo realizado com ratos, constatou-se que a deleção deste gene produzia os sintomas nucleares típicos do autismo [49].

Por ultimo, mutações no gene PTEN (*Phosphatase and tensin homolog*) foram associadas a autismo e macrocefalia. Este gene possui um importante papel no desenvolvimento encefálico, nomeadamente na sobrevivência dos neurónios e na plasticidade sinática [55]

Tabela III. Síndromes Genéticas [1]

Condição genética	Gene	Frequência no Autismo
Associações estabelecidas		
Síndrome do X frágil	FMR1	1-2%
Esclerose Tuberosa	Tsc1 e Tsc2	~1%
Síndrome de Rett	MeCP2	~0.5%
Associações em estudo		
Neurofibromatose tipo 1	NF1	Raro
Síndrome de Timothy	CACNA1C	Raro
Síndrome Smith-Lemli-Optiz	DHCR7	Raro
Síndrome Prader-Willi/Angelman	UBE3A (e outros)	Raro

Polimorfismos genéticos associados a alterações neurobiológicas

Existem atualmente fortes evidências de que alterações neurobiológicas determinadas geneticamente possam estar na base da etiologia das PEA, nomeadamente a nível da maturação sináptica e conectividade entre neurónios. Os investigadores podem constatar uma melhoria sintomática com determinadas intervenções farmacológicas e procurar então as diferenças nos genes que regulam esses metabólitos e depois compará-los com sujeitos

controle. Este modelo causal é apoiado pelas técnicas de neuroimagem e tem a vantagem de constituir uma oportunidade para medidas profiláticas nos primeiros meses de vida [46].

Assim sendo, constatou-se, que os sistemas controladores da serotonina, do GABA_A (ácido gama aminobutírico), das catecolaminas e ainda o sistema do glutamato e da acetilcolina podem encontrar-se alterados nas PEA. Desta forma, os genes que codificam estes NT e os seus recetores são alvos de estudo.

A serotonina ou 5-HT (5-hidroxitriptamina) constitui uma hormona crucial ao desenvolvimento cerebral e, se alterada pode conduzir a anomalias estruturais do encéfalo e produzir os sintomas comportamentais característicos do autismo. Foram também demonstradas alterações nos genes que regulam a expressão dos recetores e transportadores de 5-HT [60,61].

Alterações citogenéticas do locus 15q11-q13 relacionam-se também com o conjunto de genes dos recetores do GABA. Estes recetores contêm 3 subunidades: GABRB3, GABRA5 e GABRG3 e estão fortemente implicados na patogenia do autismo. O GABA constitui o principal neurotransmissor inibidor do SNC, controlando a excitabilidade cerebral no ser humano. [39,46]. A subunidade β_3 do recetor GABA é de particular interesse sendo que se expressa cedo no desenvolvimento e constatou-se que a perda do gene GABRB3 em ratos é suficiente para produzir alterações encefalográficas, convulsões e padrões fenotípicos do espectro [48].

As neuroglinas por sua vez são moléculas de adesão também envolvidas na sinatogénese dos sistemas GABAérgico e Glutamatérgico e acredita-se que mutações nos cinco genes das neuroglinas, NLG1 a NLG5 envolvam a defeitos na estrutura e formação das conexões sinápticas e a desequilíbrios na excitação cerebral [45,46].

A Relina (RLN) é uma glicoproteína sinalizadora expressada pelos neurónios GABAérgicos, envolvida na migração neuronal durante o desenvolvimento. Localiza-se geneticamente num

local de translocação na região 7q22. Alterações nesta proteína afetam o desenvolvimento cortical e cerebelar, exibindo alterações características de PEA [56,57].

Existem evidências de aumento das catecolaminas no sangue, urina e líquido cefaloraquidiano dos indivíduos autistas. O gene da dopamina β -hidroxilase (DBH) que se encontra no locus 9q34 codifica a proteína que catalisa a conversão da dopamina em norepinefrina, um importante passo no desenvolvimento neural do embrião. Num estudo de várias famílias com mais de um elemento autista, descobriu-se que reduções no nível materno de DBH aumentam significativamente o risco de autismo nos seus filhos [63].

Descobertas recentes sugerem uma associação da acetilcolina ao autismo. Estudos químicos e histoquímicos demonstraram uma redução no número de recetores nicotínicos α_4 no córtex parietal e cerebelo *postmortem* de autistas. Este recetor está envolvido com o locus 20q13.2-13.3 que está associado a síndromes epiléticas e a esquizofrenia [46,64].

Recentemente iniciou-se a investigação da contribuição do sistema glutamatérgico na patogénese do autismo. O aumento da expressão do gene transportador deste NT foi encontrado em estudos *postmortem* do tecido cerebral de indivíduos autistas, tendo sido destacada a importância do gene do recetor 6 (GluR6) no cromossoma 6q21 através de estudos de ligação [65,66].

A oxitocina é um péptido que afeta o parto e a lactação. Os seus níveis plasmáticos encontram-se significativamente mais baixos em crianças autistas quando comparados com sujeitos controlo da mesma idade. Revelou-se uma ligação do autismo ao locus 3p25-p26 que contém o recetor desta hormona. [46,68]

Apesar do diagnóstico precoce ser crucial no tratamento apropriado das perturbações autísticas, é importante enfatizar que os testes genéticos para a maioria das condições associadas ao autismo são dispendiosos e muito stressantes para as famílias. Para além disso,

têm um benefício limitado, principalmente nos casos em que não existe história familiar e clínica sugestiva nem associação a défices mentais ou características dismórficas que sugiram o diagnóstico [46].

Mesmo quando uma forte ligação genética ao autismo é identificada, a sua significância permanece incerta até que as funções do produto do gene estejam definidas, tal como a sua influência no desenvolvimento encefálico e na fisiopatologia. Para além disso, uma alteração genética pode determinar a suscetibilidade de um indivíduo, mas condicionantes ambientais podem alterar o seu padrão fenotípico.

Assim, os testes genéticos podem ser úteis para o aconselhamento, mas raramente levam a alterações significativas na intervenção clínica destes doentes.

Atualmente, todas as condições médicas diagnosticadas, as anomalias citogenéticas e os distúrbios genéticos únicos aportam menos de 10% dos casos de autismo diagnosticados [46].

4.2 Neuroquímica

Serotonina

A evidência mais bem documentada a nível de alterações neuroquímicas das PEA é o aumento da serotonina nas plaquetas. A maioria dos estudos demonstrou aumentos de 25% a 50% no nível de 5-HT plaquetário dos autistas. Isto condiciona uma menor ligação da 5-HT aos recetores 5-HT₂ e assim diminuição das funções desta hormona no SNC [4].

A serotonina é produzida através do triptofano obtido na dieta e age como fator de crescimento e regulador do desenvolvimento neuronal, para além de ser crucial nos fenómenos de neurogênese, morfogênese e sinatogênese do desenvolvimento cerebral [60].

Esta hormona possui um papel fundamental em diversos padrões comportamentais e processos como a marcha, o apetite, o sono, o humor e a socialização. Estudos de ligação genéticos e anomalias neuroendócrinas e ainda o benefício terapêutico demonstrado com alguns fármacos ajudaram a compreender o papel da serotonina no desenvolvimento do autismo [60].

Os inibidores da recaptação de serotonina (ISRS) fluoxetina, sertralina, paroxetina e fluvoxamina e a clomipramina (antidepressivo tricíclico) são os fármacos mais utilizados para melhoria dos sintomas comportamentais dos autistas. Estes agentes bloqueiam o transportador de membrana da serotonina (5-HTT) o que aumenta os seus níveis extracelulares e sináticos, aumentando assim a estimulação pós-sináptica. Por sua vez, a risperidona também revelou benefícios na sintomatologia comportamental mas com um início de ação mais rápido. Este fármaco, para além de inibir os transportadores de 5-HT também antagoniza os recetores 5-HT₂, 5-HT₇ da serotonina e ainda D₂ e D₄ da dopamina. [72].

Os défices de socialização característicos do autismo focaram os estudos no sistema límbico, que é extensamente inervado por projeções serotoninérgicas e regula as emoções e o comportamento social. O cerebelo foi também alvo de estudo na medida em que regula a atenção e o controlo motor [60].

Assim, uma diminuição da função da serotonina leva a alterações do sono, humor depressivo, padrões de agressividade e impulsividade, níveis de excitação aumentados e ainda défices nas relações interpessoais [60].

É importante reter que a hiperserotonémia não é específica do autismo, ocorrendo também em outros distúrbios neuropsiquiátricos como a esquizofrenia e o atraso mental severo [4].

GABA e Glutamato

Tal como já mencionado, sistema GABAérgico apresenta um papel fundamental na construção e organização das atividades neuronais. Alterações nos seus circuitos podem estar

relacionadas com distúrbios do neuro-desenvolvimento, tendo-se evidenciado uma diminuição dos níveis pós-sinápticos de GABA nos indivíduos autistas [45].

A nível de desenvolvimento embrionário, o GABA regula a migração, diferenciação e morte celular e ainda a formação das sinapses. Na vida adulta, esta hormona representa o maior estímulo inibitório no SNC, que juntamente com a função excitatória do glutamato regulam o balanço excitação/inibição nos níveis desejados. Esta é uma função crucial para o funcionamento das atividades cerebrais, nomeadamente no processamento de informações sensoriais e nos processos cognitivos [45].

Para ser efetiva, a transmissão sinática requer as funções de uma proteína de ligação chamada *gefrina* que estabiliza os neurotransmissores na membrana pós-sináptica, e de moléculas de adesão da família das *neuroglinas-neurexinas*. Estas estão localizadas na fenda sináptica e regulam a atividade e a organização das sinapses tanto GABAérgicas como glutamatérgicas [45]. Tal como mencionado no capítulo da genética, as mutações destas moléculas necessárias à integridade da sinalização sináptica, conduzem a défices típicos do comportamento dos autistas.

No que toca ao glutamato, várias outras evidências ajudam a relacioná-lo com as PEA. Em primeiro lugar, os sintomas de défice de glutamato mimetizam os fenótipos comportamentais do autismo. Em segundo lugar, o recetor 2_A da serotonina quando estimulado causa comportamentos semelhantes ao autismo, possivelmente pela expressão nos neurónios glutamatérgicos [46,73]. Por último, sabe-se que uma diminuição do funcionamento do GABA e o aumento da excitação pelo glutamato reduzem o limiar para desenvolvimento de convulsões, comprovando a estreita relação entre PEA e epilepsia documentada no capítulo de co-morbilidades [45].

Catecolaminas

As células noradrenérgicas do *locus ceruleus* foram implicadas em processos relacionados com a atenção, filtração de estímulos, níveis de excitação, ansiedade e aprendizagem, todas

funções alteradas nos indivíduos autistas. Vários estudos independentes demonstraram aumentos dos níveis plasmáticos de epinefrina e norepinefrina em indivíduos com autismo [4].

A administração de estimulantes que aumentam a concentração de dopamina no cérebro piora os comportamentos atípicos dos distúrbios do autismo. Por outro lado, agentes bloqueadores da dopamina, nomeadamente o haloperidol, demonstraram ser os fármacos mais efetivos em reduzir os comportamentos estereotipados e a hiperatividade em muitas crianças autistas [18,62].

Opióides

A administração de agonistas da morfina em ratos provocou uma melhoria no comportamento social, enquanto o tratamento com antagonistas piorou estes sintomas [67]. Estudos imagiológicos do encéfalo de ratos demonstraram um aumento da libertação de péptidos opióides durante a socialização [46]. O estudo destes péptidos ainda carece de elevada investigação em humanos.

Oxitocina

Tal como já referido, os níveis plasmáticos desta hormona encontram-se significativamente mais baixos em crianças autistas, relacionando-se com os défices na socialização típicos do autismo [46].

Sistema colinérgico

Tal como anteriormente descrito, vários estudos evidenciaram uma diminuição de recetores nicotínicos da acetilcolina no córtex e cerebelo dos autistas.

Melatonina

Esta hormona é sintetizada pela glândula pineal, que se encontra sob controlo do “relógio” circadiano localizado no núcleo supra-quiasmático do hipotálamo. Está envolvida na indução do sono, na regulação do ciclo circadiano e na resposta imune [74]. Tal como referido no

capítulo de co-morbilidades, padrões anormais de sono encontram-se frequentemente associados a PEA, tendo-se demonstrado que o tratamento com melatonina melhora estes sintomas em autistas e pacientes com Síndrome de Asperger. Os mecanismos das alterações da melatonina como marcador de suscetibilidade de PEA ainda permanecem incertos [75].

4.3 Neuropatologia

A investigação da patologia do sistema nervoso no autismo tem-se vindo a intensificar como resultado do aumento e melhoria das técnicas neuro-estruturais e funcionais e histopatologia [4].

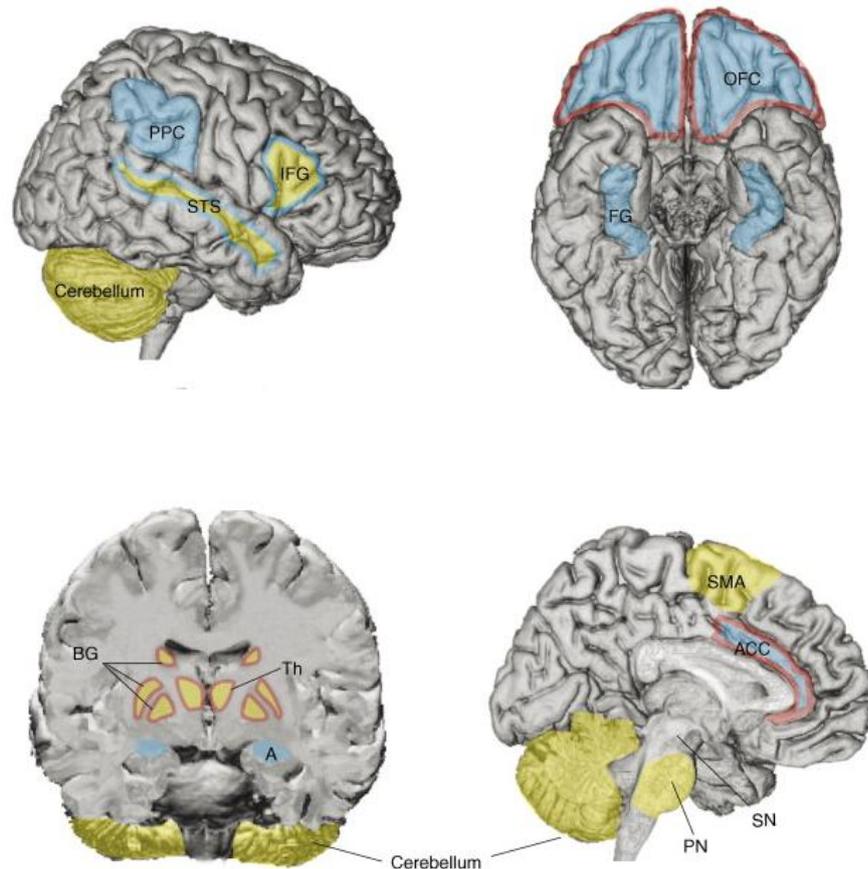
As técnicas de estudo *postmortem* do encefálo humano constituem uma importante ferramenta para entender a base neurobiológica das alterações neuroanatômicas nestes distúrbios. Ainda assim, este tipo de estudo encontra-se ainda numa fase precoce.

No que toca ao comportamento social, regiões dos lobos frontal, temporal superior, parietal e da amígdala encontram-se envolvidas [77].

A função linguística encontra-se distribuída por diversas regiões corticais e subcorticais. Sabe-se que a área de Broca, situada no giro frontal inferior e ainda algumas regiões do córtex motor encarregam-se da expressão da linguagem, enquanto a área de Wernicke é responsável pela sua receção. Por sua vez, o sulco temporal superior tem um importante papel no processamento da linguagem e na atenção social [77].

Por último, os comportamentos estereotipados e repetidos típicos dos autistas partilham com o distúrbio obsessivo-compulsivo alterações em regiões como o córtex orbito-frontal e núcleo caudado [77].

As co-morbilidades neurológicas do autismo são um mecanismo de confusão para a compreensão da neuroanatomia cerebral. A epilepsia, que se encontra fortemente associada ao autismo, pode ser representada por alterações no córtex cerebral, amígdala, cerebelo e hipocampo. Todas estas regiões também podem estar alteradas no autismo, o que torna mais difícil a sua interpretação. A figura II esquematiza as regiões dos sistemas neurais associadas ao autismo [76,77].



Social impairment	Communication deficits	Repetitive behaviors
OFC – Orbitofrontal cortex ACC – Anterior cingulate cortex FG – Fusiform gyrus STS – Superior temporal sulcus A – Amygdala mirror neuron regions IFG – Inferior frontal gyrus PPC – Posterior parietal cortex	IFG- Inferior frontal gyrus (Broca's area) STS – Superior temporal sulcus SMA – Supplementary motor area BG – Basal ganglia SN – Substantia nigra Th – Thalamus PN – Pontine nuclei cerebellum	OFC – Orbitofrontal cortex ACC – Anterior cingulate cortex BG – Basal ganglia Th – Thalamus

Figura ii Regiões encefálicas implicadas nos sintomas nucleares do autismo [77]

Atualmente uma das teorias mais proeminentes acerca da neuropatologia do autismo assenta no facto do encéfalo crescer precocemente a partir do primeiro ano de vida. Esta evidência

advém de estudos do perímetro cefálico de crianças autistas, uma medida do tamanho cerebral. Estes estudos demonstraram um perímetro normal ou diminuído à nascença, seguindo-se um aumento brusco da taxa de crescimento a partir dos 12 meses [78]. Várias evidências apontam para que seja a substância branca a principal responsável por este padrão de crescimento. Apesar das crianças autistas apresentarem, de facto um aumento do volume cerebral entre os 18 meses e os 4 anos, ainda não se provou se persiste na adolescência ou não [79].

O aumento da espessura de todo o córtex cerebral foi documentado num estudo com crianças entre os 8 e 12 anos e constatou-se que ocorre principalmente à custa dos lobos parietal e temporal [80]

Um estudo comparou qualitativamente o encéfalo de 6 autistas com atraso mental em que 4 deles apresentavam também epilepsia e comparou-os com 7 controlos. Várias alterações corticais foram documentadas, entre elas o aumento da densidade neuronal, a presença de neurónios na camada molecular e ainda padrões laminares irregulares. Substância cinzenta ectópica e aumento do número de neurónios na substância branca foram observados em 3 dos casos [81].

O córtex cerebral ou substância cinzenta é constituído pelos corpos celulares dos neurónios e da neuroglia e possui uma organização em minicolunas, dispostas verticalmente em 6 camadas. Ao longo destas camadas dispõem-se os neurónios piramidais. As minicolunas são então as unidades funcionais encefálicas. A sua formação associa-se à proliferação de células neuronais precursoras, nos estágios precoces de desenvolvimento cortical. No encéfalo dos autistas pode observar-se maior número de minicolunas, mas de menor tamanho e menos compactadas, ou seja, ocorre uma diminuição da espessura intercolunar. Esta característica é mais evidente na camada III no córtex dorso-lateral pré-frontal da Área 9 de Broadmann. Estes resultados implicam a existência de um maior número de neurónios nesta área [77].

No que toca ao cerebelo encontra-se aumentado no encéfalo dos autistas, contudo, este é um aumento proporcional ao volume cerebral total. Hipoplasia do vérmis também foi documentada mas esta evidência também está presente noutros distúrbios psiquiátricos. Encontra-se implicada no afeto, motivação, interação social, aprendizagem e processamento da informação motora. Em estudos *postmortem* de indivíduos autistas demonstrou-se ainda uma diminuição da densidade das células de Purkinje [4,77].

Quanto às estruturas límbicas, sabe-se que um aumento do tamanho da amígdala se associa a padrões mais severos de ansiedade e défices sociais e comunicativos mais proeminentes [82]. Apesar da amígdala nos autistas apresentar-se inicialmente maior que os indivíduos de controlo, esta estrutura não passa posteriormente pelo desenvolvimento típico, não existindo por isso diferenças no seu tamanho na fase da adolescência. Existem também evidências de aumento do volume do hipocampo associadas ao autismo, aumento este que não se sabe se persiste na adolescência dos indivíduos com PEA [83].

Foram ainda documentados em estudos *postmortem* de casos autistas, alterações do córtex cingulado anterior, que se apresentava espesso e pouco laminado. Sabe-se que esta estrutura apresenta influências cognitivas e emocionais [77].

Tal como já mencionado, aumento do núcleo caudado pode estar relacionado com os comportamentos estereotipados das PEA, predizendo alterações na praxia e capacidades motoras [28,77].

4.4 Imagiologia

A Ressonância Magnética é uma técnica segura para a avaliação das alterações neuroanatômicas relacionadas com o autismo. Contudo, visto que o diagnóstico só costuma ser feito por volta dos 2 a 3 anos, a informação deste exame pode ser mais indicativa dos resultados da patologia e não propriamente da causa do autismo [77].

A figura que se segue representa a amígdala humana. A alínea (a) representa uma vista lateral tridimensional de uma RM, enquanto a alínea (b) é um corte coronal de uma RM e a (c) o mesmo corte de tecido cerebral, com a amígdala evidenciada na caixa. A alínea (d) representa a amígdala por coloração de Nissl (evidencia os grânulos de Nissl da célula nervosa).

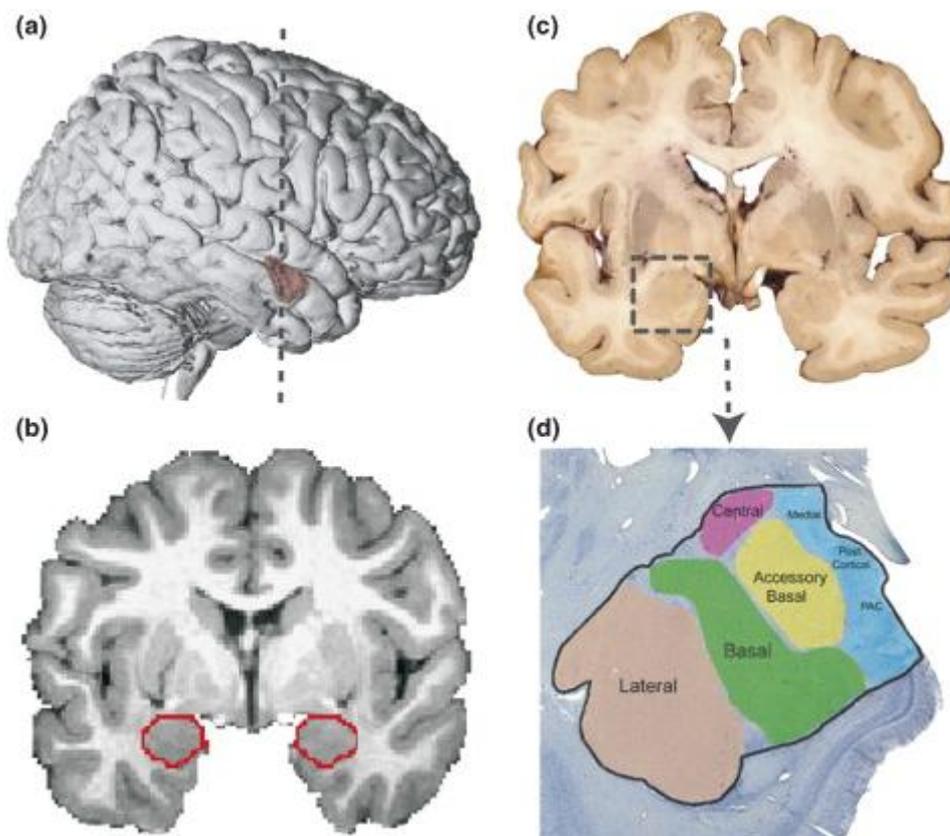


Figura iii Neuroanatomia da amígdala humana [77]

Estudos recentes têm utilizado a ressonância magnética funcional (fMRI) para demonstrar alterações nos padrões de ativação e sincronização dos circuitos corticais. Esta técnica usa o fluxo sanguíneo para quantificar a atividade neural. No encéfalo de indivíduos autistas a conectividade funcional apresentou-se diminuída no que toca à linguagem, memória, mecanismos de resolução de problemas e processamento social [3].

Normalmente, durante um exame de fMRI ocorre uma ativação do giro fusiforme (área facial fusiforme) em resposta a figuras de faces. Esta função não se encontra preservada nos autistas, que tendem a ativar outras regiões (frontais, occipitais) em vez do giro fusiforme. A hipoativação da área fusiforme facial associa-se a défices na perceção das pessoas e pode estar relacionada com as dificuldades sociais apresentadas. Essa área de pesquisa no autismo reforça a ideia de um circuito social envolvendo o giro fusiforme (reconhecimento das faces), a amígdala (atribuição de significado/processamento emocional do que é visto), os giros temporais superior e médio (diferenciação de expressões faciais), bem como o córtex pré-frontal e o hipotálamo [84,85].

4.5 Neurofisiologia

No que toca a estudos eletrofisiológicos, o EEG pode constituir um exame de grande utilidade principalmente pela elevada percentagem de indivíduos autistas com padrões encefalográficos anormais, tal como descrito no capítulo de co-morbilidades.

Os potenciais evocados são sinais elétricos gerados pelo sistema nervoso em resposta a estímulos sensoriais. O registo destes potenciais tem-se demonstrado útil na caracterização de funções cerebrais e na análise do estado do sistema nervoso, em pacientes com alterações sensoriais e motoras, sendo a sua maior aplicabilidade em doenças que afetam a substância branca. Este tipo de estudo poderá no futuro ajudar na melhor caracterização das PEA.

5 Conclusões e perspectivas futuras

O autismo é um distúrbio global do neurodesenvolvimento cuja prevalência tem vindo a aumentar nas últimas décadas e para o qual ainda não existe uma etiologia concreta. É definido clinicamente por défices nas habilidades sociais e comunicativas e por comportamentos estereotipados, restritos e repetidos. Esta sintomatologia desenvolve-se antes dos 3 anos de vida, altura em que são identificadas as primeiras manifestações e em que é feito o diagnóstico. Apesar destas características serem necessárias para assegurar o diagnóstico, inúmeros padrões de desenvolvimento podem ocorrer nestas crianças, demonstrando uma diversidade de fenótipos clínicos.

Considerando esta heterogeneidade clínica e a falta de justificação etiológica, é compreensível que o autismo seja inserido num espectro de doenças e que não seja visto como um distúrbio único e independente. Assim, no diagnóstico de Perturbações do Espectro Autista insere-se também o Síndrome de Asperger e a Perturbação Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação.

Um grande esforço tem sido feito nas últimas décadas para clarificar a génese do autismo e entender os fatores que influenciam o risco de ocorrência, os padrões de desenvolvimento, a resposta ao tratamento e as disfunções associadas, das quais se destacam a epilepsia, os défices cognitivos e intelectuais e as deficiências motoras.

Diversos resultados clínicos, imagiológicos, neuroquímicos e neuropatológicos demonstraram que as Perturbações do Espectro do Autismo acarretam distúrbios da organização neuronal e/ou cortical que causam défices no processamento da informação do sistema nervoso, variando desde alterações da organização sinática ou dendrítica até à conectividade e estrutura do encéfalo. Estas alterações alteram a trajetória do desenvolvimento social e

comunicativo que, juntamente com alterações genéticas e ambientais vão definir o fenótipo de cada paciente.

O papel da genética nas PEA é indiscutível e representa atualmente a causa mais desenvolvida e valiosa no estudo do autismo. Demonstrou-se um risco de autismo mais elevado entre irmãos de indivíduos autistas quando comparados com indivíduos de controlo. Ainda assim, está provado que a maioria das alterações genéticas ocorre *de novo* nos indivíduos autistas, sem evidências de padrões de hereditariedade mendeliana. Salienta-se a região cromossômica 15q11-13, que representa um local suscetível a duplicações genéticas e algumas associações a síndromes específicas como são o Síndrome do X frágil, a Esclerose Tuberosa e a Neurofibromatose.

Alterações neuroquímicas foram também documentadas, sendo de particular interesse o papel da serotonina no autismo. Os seus níveis plaquetários encontram-se elevados nestes indivíduos, o que conduz a um padrão alterado das suas funções nos recetores do sistema nervoso. Ainda assim, estas descobertas apresentam-se atualmente com pouca utilidade, sendo a maioria ainda apenas estudadas em animais.

No que toca a alterações neuropatológicas, vários padrões foram documentados, devendo enfatizar-se alterações estruturais e organizacionais no córtex cerebral, sistema límbico e cerebelo. Estudos encefálicos *postmortem* contribuíram fortemente para estas descobertas.

Diversos padrões de conectividade anormal foram relatados, em grande parte devido aos avanços na Ressonância Magnética Funcional, um importante exame complementar para avaliação da atividade neuronal que se tem vindo a destacar nos últimos anos.

No que toca à neurofisiologia, poderá ser uma possibilidade futura no estudo do autismo. Atualmente, existe pouca informação fidedigna acerca da sua relevância nesta patologia.

O estudo destes biomarcadores apresenta inúmeros desafios. Em primeiro lugar, porque transformar um biomarcador numa aplicação clínica é ainda muito difícil nestas doenças. Ou seja, na maioria das vezes é desconhecida a associação entre o fator etiológico, o mecanismo de ação e o fenótipo apresentado. Para além disso, a identificação destes biomarcadores é sempre algo subjetiva na medida em que a definição de autismo e os critérios de diagnóstico encontram-se em constante mudança. A progressão sintomatológica tão variada e o facto de um doente deste espectro poder apresentar-se com diferentes fenótipos ao longo da sua vida, vem ainda dificultar mais o manejo destas patologias. Realçar ainda que os biomarcadores apresentados não são universais, ou seja, possuem uma baixa sensibilidade, podendo ocorrer também noutras patologias, o que indica uma fraca especificidade. Por último, os estudos que envolvem o autismo são ainda demasiado dispendiosos e trabalhosos. É imprescindível que os membros da comunidade autista se envolvam nos processos de investigação, o que representa mais um desafio.

Apesar dos biomarcadores referidos serem bastante promissores, na maioria, a sua aplicação clínica ainda representa apenas uma visão para o futuro. Muitas questões ainda estão por clarificar antes da sua tradução na prática clínica. Ainda assim, é espectável que muitos esforços continuem a ser canalizados de forma a encontrar biomarcadores válidos e clinicamente úteis, para que a abordagem destes doentes seja realizada eficazmente e com a dignidade e respeito que merecem.

6 Bibliografia

1. Walsh P, Elsabbagh, Bolton P, Singh I. In search of biomarkers for autism: scientific, social and ethical challenges. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12:603-12.
2. Gillberg C. Autism and Autistic-like conditions. In: Aicardi J, Bax M, Gillberg C, Ogier H. *Diseases of the Nervous System in Childhood*. 2nd ed. Cambridge. Mac Keith Press; 1998.
3. Levy E S, Mandell D S, Schult R T. Autism. *The Lancet*. 2009; 374: 1627-35.
4. Trottier G, Srivastava L, Walker C. Etiology of infantile autism: a review of recent advances in genetic and neurobiological research. *J Psychiatry Neurosci* 1999; 24: 103-15.
5. Shriver E, Autism Overview: What we know [Internet]. 2005 [updated 2005 May]. Available from: http://www.nichd.nih.gov/search.cfm?search_string=AUTISM&submitbtn=
6. Sponheim E, Skjeldal O. Autism and related disorders: epidemiologic findings in a Norwegian study using ICD-10 diagnostic criteria. *J Autism Dev Disorders* 1998; 28: 217-27.
7. Kadesjo B, Gillberg C, Hagberg B. Brief report: autism and Asperger syndrome in seven-year-old children: a total population study. *J Autism Dev Disorders* 1999; 29: 327-31.
8. Zwaigenbaum L, Bryson S, Lord C, Rogers S, Carter A, Carver L, et al. Clinical Assessment and Management of Toddlers With Suspected Autism Spectrum Disorder: Insights from Studies of High-Risk Infants. *Pediatrics* 2009; 123: 1383-91.
9. Fenske E, Zalenski S, Krants P, McClannahan L. Age at intervention and treatment outcome for autistic children in a comprehensive intervention program. *Anal Interven Devel* 1985; 5: 49-58.
10. Rogers SJ: Empirically supported comprehensive treatments for young children with autism. *J Clin Child Psychol* 1998; 27: 168-79.
11. Waters H. Autism, authenticated. *Nat Med* 2011; 17: 1336-38.
12. Carayol J, Schellenberg G, Combroski B, Genin E, Rousseau F, Dawson G. Autism risk assessment in siblings of affected children using sex-specific genetic scores. *Mol Autism* 2011; 2: 1-8.
13. Miles J, McCathren R, Stichler J, Shinawi M. Autism Spectrum Disorders. In: Pagon R, Bird T, Dolan C, Stephens K, Adam M. *Gene Reviews*. University of Washington, Seattle. Copyright 2010.
14. Stefanatos G. Regression in Autistic Spectrum Disorders. *Neuropsychol Rev* 2008; 18: 305-19.
15. Palau-Baduell M, Valls-Santasusana A, Salvadó-Salvadó B. Aspectos neurolingüísticos en los trastornos del espectro autista. *Relaciones neuroanatómicas y funcionales. Rev Neurol* 2010; 50: 69-76.
16. Sandler A, Brazdziunas D, Cooley W, Pijem L, Hirsch D, Kastner T, et al. The Pediatrician's Role in the Diagnosis and Management of Autistic Spectrum Disorder in Children. *Pediatrics* 2001; 107: 1221-25.
17. Johnson C. New tool helps primary care physicians diagnose autism early. *AAP News* 2004; 24:74.
18. Volkman F, Klin A. Pervasive Developmental Disorders. In: Sadock B, Sadock V. Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry. Seventh edition. Lippincott Williams & Wilkins Publishers; 2000.
19. Jeste S. A neurologia das perturbações do espectro do autismo. *Curr Opin Neurol* 2011; 1: 329-36.

20. Van Waelvelde H, Oosstra A, Dewitte G, et al. Stability of motor problems in young children with or at risk of autism spectrum disorders, ADHD, and or developmental coordination disorder. *Dev Med Child Neurol* 2010; 52: 174-78.
21. Geschwind H. Advances in autism. *Annu Rev Med* 2009;60: 367-80.
22. Gernsbacher A, Sauer A, Geye M, et al. Infant and toddler oral- and manual-motor skills predict later speech fluency in autism. *J Child Psychol Psychiatry* 2008; 49: 43-50.
23. Goldman S, Wang C, Salgado MW, et al. Motor stereotypes in children with autism and other developmental disorders. *Dev Med Child Neurol* 2009; 51: 30-38.
24. Weber D. "Toe-walking" in children with early childhood autism. *Acta Paedopsychiatr* 1978; 43: 73-83.
25. Rinehart N, Tonge J, Bradshaw L, et al. Gait function in high-functioning autism and Asperger's disorder: evidence for basal-ganglia and cerebellar involvement? *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2006; 15: 256-64.
26. H Mostofsky, P Burgess, Gidley Larson C. Increased motor cortex white matter volume predicts motor impairment in autism. *Brain* 2007; 130:2117-22.
27. H Mostofsky, K Powell, J Simmonds, et al. Decreased connectivity and cerebellar activity in autism during motor task performance. *Brain* 2009; 132: 2413-25.
28. Qiu A, Adler M, Crocetti D, et al. Basal ganglia shapes predict social, communication, and motor dysfunctions in boys with autism spectrum disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010; 49: 539-51.
29. Miano S, Bruni O, Elia M, et al. Sleep in children with autistic spectrum disorder: a questionnaire and polysomnographic study. *Sleep Med* 2007; 9:64-70.
30. Malow A, Marzec L, McGrew G, et al. Characterizing sleep in children with autism spectrum disorders: a multidimensional approach. *Sleep* 2006; 29: 1563-71.
31. Bourgeron T. The possible interplay of synaptic and clock genes in autism. *Neurosci Biobehav Rev* 2010; 34:755-68.
32. Liu X, Hubbard A, Fabes A, Adam B. Sleep disturbances and correlates of children with autism spectrum disorders. *Child Psychiatry Hum Dev* 2006; 37:179-91.
33. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child* 1943; 2:217-50.
34. Parmeggiani A, Barcia G, Posar A, et al. Epilepsy and EEG paroxysmal abnormalities in autism spectrum disorders. *Brain Dev* 2010; 32:783-89.
35. Kovel G, Trucks H, Helbig I, et al. Recurrent microdeletions at 15q11.2 and 16p13.11 predispose to idiopathic generalized epilepsies. *Brain* 2010; 133:23-32.
36. Billstedt E, Gillberg C, Gillberg C. Autism after Adolescence: Population-based 13- to 22-year Follow-up study of 120 Individuals with Autism Diagnosed in Childhood. *J Autism Dev Disorders* 2005. 35: 351-60.
37. Farley M, McMahon, Fombonne E, Jenson W, Miller J, Gardner M et al. Twenty-year outcome for individuals with autism and average or near-average cognitive abilities. *Autism Res* 2009; 2:109-18.
38. Wetherby A, Prizant B. *Communication and Symbolic Behavior Scales: Developmental Profile*. Baltimore, ME: Paul H. Brookes Publishing Company; 2002.
39. Lamb J, Moore J, Bailey A, Monaco A. Autism: recent molecular genetics advances. *Hum Mol Genet* 2000; 9:861-68.
40. Ecker C. Autism biomarkers for more efficacious diagnosis. *Biomark Med* 2011; 5: 193-95.
41. Miles J, McCathren R, Stichter J, Shinami M. *Autism Spectrum Disorders*. In: Pagon R, Bird T, Dolan C, Stephens K. *Gene Reviews*. University of Washington, Seattle. Copyright 1993-2012.
42. Mefford H, Batshaw M, Hoffman E. Genomics, Intellectual Disability, and Autism. *N Engl J Med* 2012; 366: 733-43.

43. Hogart A, Wu D, LaSalle M, Schanen C. The comorbidity of autism with the genomic disorders of chromosome 15q11.2-q13. *Neurobiol Dis* 2010; 38:181-91.
44. Rogers J, Wehner E, Hagerman R. The behavioral phenotype in fragile X: symptoms of autism in very young children with fragile X syndrome, idiopathic autism, and other developmental disorders. *J Dev Behav Pediatr.* 2001; 22:409-17.
45. Pizzarelli R, Cherubini E. Alterations of GABAergic Signaling in Autism Spectrum Disorders. Hindawi Publishing Corporation. *Neural Plast.* 2011: 1-12.
46. Muhle R, Trentacoste S, Rapin I. The genetics of Autism. *Pediatrics* 2004; 113: 472-86.
47. Shao Y, Cuccaro M, Hauser E, et al. Fine mapping of autistic disorder to chromosome 15q11-q13 by use of phenotypic subtypes. *Am J Hum Genet.* 2003; 72: 539-48.
48. Delorey M, Handforth A, Anagnostaras G, Homanics E, Minassian A, Asatourian A et al. Mice lacking the beta3 subunit of the GABA_A receptor have the epilepsy phenotype and many of the behavioral characteristics of Angelman syndrome. *J. Neurosci.* 1998; 18: 8505-514.
49. Williams S. New mouse models of autism highlight need for standardized tests. *Nat Med.* 2011; 17:1324.
50. Wolkenstein P, Decq P. Neurofibromatosis. *Neurochirurgie* 1998; 44:267-72
51. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.* 4th ed. Washington DC: American Psychiatric Association; 2000.
52. Stephan C, Huijbregts J, Sonnevile L. Does Cognitive Impairment Explain Behavioral and Social Problems of children with Neurofibromatosis type 1? *Behav Genet.* 2011; 41: 430-36.
53. Paşca P, Portmann T, Voineagu I, Yazawa M, Shcheglovitov A, Paşca M, et al. Using iPSC-derived neurons to uncover cellular phenotypes associated with Timothy Syndrome. *Nat Med.* 2011; 17:1657-62.
54. Greer L, Hanavama R, Bloodgood L, Mardinly R, Lipton M, Flavell W, et al. The Angelman Syndrome protein Ube3A regulates synapse development by ubiquitinating arc. *Cell.* 2010; 140: 608-10.
55. Buxbaum J, Cai Guiging, Chaste P, Nygren G, Goldsmith J, Reichert J. et al. Mutation screening of the *PTEN* gene in patients with autism spectrum disorders and macrocephaly. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2007; 4:484-91.
56. Hong E, Shugart Y, Huang T, et al. Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human *RELN* mutations. *Nat Genet.* 2000; 26: 93-96.
57. Kemper L, Bauman L. Neuropathology of infantile autism. *Mol Psychiatry.* 2002; 7:S12-13.
58. Scherer W, Cheung J, MacDonald R, et al. Human chromosome 7: DNA sequence and biology. *Science.* 2003; 300: 767-772.
59. Folstein E, Mankoski E. Chromosome 7q: where autism meets language disorder? *Am J Hum Genet.* 2000; 67: 278-81.
60. Anderson G. Genetics of childhood disorders: XLV. Autism, part 4: serotonin in autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2002; 41: 1513-16.
61. Schain J, Freedman X. Studies on 5-hydroxyindole metabolism in autistic and other mentally retarded children. *J Pediatr.* 1961; 58: 315-20.
62. McDougle J, Posey D. Genetics of childhood disorders: XLIV. Autism, part 3: psychopharmacology of autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2002; 41:1380-83.
63. Robinson D, Schutz K, Macciardi F, White N, Holden J. Genetically determined low maternal serum dopamine beta-hydroxylase levels and the etiology of autism spectrum disorders. *Am J Med Genet.* 2001; 100: 30-60.
64. Steilen O, Smigrodzki R, Lindstrom J, et al. Refinement of localization of the gene for neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit (*CHRNA4*) to human chromosome 20q13.2-q13.3. *Genomics.* 1994; 22:493-95.

65. Purcell E, Jeon H, Zimmerman W, Blue E, Pevsner J. Post-mortem brain abnormalities of the glutamate neurotransmitter system in autism. *Neurology*. 2001; 57:1618-28.
66. Jamain S, Betancur C, Quach H, et al. Linkage and association of the glutamate receptor 6 gene with autism. *Mol Psychiatry*. 2002; 7:302-10.
67. Vanderschuren J, Niesink J, Van M. The neurobiology of social play behavior in rats. *Neurosci Biobehav Rev*. 1997; 21:309-26.
68. Modhal C, Green L, Fein D, et al. Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biol Psychiatry*. 1998; 43:270-77.
69. Van Bon B, Mefford H, de Vries B. 15q13.3 microdeletion. In: Pagon R, Bird T, Dolan C, Stephens K, Adam M. *Gene Reviews*. University of Washington, Seattle. Copyright 2010.
70. Miller D, Nasir R, Sobeih M, Shen Y, Wu B, Hanson E. 16p11.2 microdeletion. In: Pagon R, Bird T, Dolan C, Stephens K, Adam M. *Gene Reviews*. University of Washington, Seattle. Copyright 2010.
71. McGinn D, Emanuel B, Zackai E. 22q11.2 deletion Syndrome. In: Pagon R, Bird T, Dolan C, Stephens K, Adam M. *Gene Reviews*. University of Washington, Seattle. Copyright 2010.
72. Cook E, Leventhal B. The serotonin system in autism. *Curr Opin Neurol*. 1996; 8:348-54.
73. Carlson L. Hypothesis: is infantile autism a hipoglutamatergic disorder? Relevance of glutamate-serotonin interactions for pharmacotherapy. *J Neural Transm*. 1998; 105: 525-35.
74. Simonneaux V, Riberlaya C. Generation of melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev*. 2003; 55:325-95.
75. Chaste P, Clements N, Mercati O, Guillaume J, Delorme R, Botros H. Identification of Pathway-Biased and Deleterious Melatonin Receptor Mutants in Autism Spectrum Disorders and in the General Population. *PLoS One* 2010; 5: 1-11.
76. Atamaca M, Yildirim H, Ozdemir H, Tezcan E, Povraz A. Volumetric MRI study of key brain regions implicated in obsessive-compulsive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007; 32: 123-42.
77. Amaral D, Schumann C, Nordahl C. Neuroanatomy of autism. *Trends Neurosci*. 2008; 31:137-45.
78. Courchesne E, Carper R, Akshoomoff N. Evidence of brain overgrowth in the first year of life in autism. *JAMA*. 2003; 290: 337-44.
79. Courchesne E, Karns C, Davis H, Ziccardi R, Carper R, Tigue Z et al. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: an MRI study. *Neurology*. 2001; 57: 245-54.
80. Hardan A, Muddasani S, Vemulapalli M, Keshavan M, Minshew N. An MRI study of increased cortical thickness in autism. *Am J Psychiatry*. 2006; 1290-92.
81. Bailey A, Luthert, Dean C, Harding B, Janota I, Montgomery M. A clinicopathological study of autism. *Brain*. 1998; 121: 889-905.
82. Munson J, Dawson J, Abbott R, Faja S, Webb S, Friedman S, Shaw D, et al. Amygdalar volume and behavioral development in autism. *Arch Gen Psychiatry*. 2006; 63: 686-93.
83. Schumann C, Hamstra J, Goodlin-Jones B, Lotspeich L, Buonocore M, Lammers C, et al. The amygdale is enlarged in children but not adolescents with autism; the hippocampus is enlarged at all ages. *J Neurosci*. 2004; 24: 6392-401.
84. Gadia C, Tuchman R, Rotta N. Autism and pervasive developmental disorders. *J Pediatr*. 2004; 80: 83-94.
85. Pierce K, Muller R, Ambrose J, Allen G, Courchesne E. Face processing occurs outside of the fusiform "face area" in autism: evidence from functional MRI. *Brain* 2001; 124:2059-73.

86. Leon V, Bosa C, Hugo C, Hutz C. Psychometric properties of the Psychoeducational Profile Revised: PEP-R. *Aval. psicol* 2004; 3: 39-52.