

A utilização do sequenciamento do exoma para diagnóstico do Transtorno do Espectro Autista (TEA) não síndrômico: uma revisão bibliográfica

The use of exome sequencing for the diagnosis of non-syndromic Autism Spectrum Disorder (ASD): a literature review

Larissa Dourado de Almeida^a, Tamires Vieira Albuquerque Lira^a, Victor Hugo Gomes Almeida Vieira^a,
Messias Oliveira Pacheco^b

a. Graduando do Curso de Biomedicina do Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU, Brasil

b. Biomédico, Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU, Brasil

RESUMO

Com o avanço de pesquisas foi ampliado o entendimento e a relação da genética com o transtorno do espectro autista (TEA), que é compreendido clinicamente como um conjunto de condições que são representadas pelo comprometimento do comportamento social. Atualmente o cenário clínico para diagnósticos ainda é considerado um desafio pois não existe um teste definitivo. Apesar do TEA ter causas multifatoriais que é o principal obstáculo para o seu diagnóstico, a genética é um potencial agente influenciador, com centenas de genes candidatos. Genes estes que frequentemente são responsáveis por ações no sistema nervoso, sendo que a ocorrência de uma variante genética pode influenciar em seu funcionamento a partir de vias de sinalização sinápticas específicas. Visto isso, este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica do uso do sequenciamento completo do exoma para diagnóstico de casos de TEA com foco no quadro não síndrômico, debatendo seus benefícios bem como limitações e perspectivas. Foi realizada uma revisão bibliográfica de artigos científicos com as palavras-chave: TEA, sequenciamento completo do exoma e sequenciamento de nova geração, TEA não síndrômico. As pesquisas aqui reunidas elaboram e reforçam a importância do uso de sequenciamento do DNA para pesquisa e diagnóstico do autismo ou outras condições que possam ser afetadas por tal.

Descritores: autismo, transtorno do espectro autista, sequenciamento do exoma, sequenciamento de nova geração

ABSTRACT

With the advancement of research, the understanding and relationship between genetics and autism spectrum disorder (ASD) has been expanded, which is clinically understood as a set of conditions that are represented by the impairment of social behavior. Currently, the clinical scenario for diagnoses is still considered a challenge because there is no definitive test. Although ASD has multifactorial causes, which is the main obstacle to its diagnosis, genetics is a potential influencing agent, with hundreds of candidate genes. These genes are often responsible for actions in the nervous system, and the occurrence of a genetic variant can influence its functioning. Given this, this work aims to carry out a literature review of the use of whole exome sequencing for the diagnosis of ASD cases with a focus on non-syndromic conditions, debating its benefits as well as limitations and perspectives. A bibliographic review of scientific articles was performed with the keywords: ASD, whole exome sequencing and next generation sequencing, non-syndromic ASD. The research gathered here elaborates and reinforces the importance of

using DNA sequencing for research and diagnosis of autism or other conditions that may be affected by it.

Descriptors: autismo, autism spectrum disorder, exome sequencing, next generation sequencing

INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é definido como a ocorrência de comprometimento social e comportamentos ou interesses restritos e repetitivos¹. Esses sintomas são frequentemente relatados de forma que haja comorbilidade com outros sintomas neuropsiquiátricos, incluindo deficiência intelectual, atraso no desenvolvimento, convulsões e transtorno de déficit de atenção¹.

O TEA é classificado com base em uma distinção exclusiva de critérios clínicos, portanto, pode ser síndrômico e não síndrômico². O termo “síndrômico” refere-se a condições nas quais o TEA ocorre em conjunto com fenótipos adicionais e/ou características dismórficas e na maioria dos casos a etiologia genética é conhecida como, por exemplo, síndrome do X-frágil, síndrome de Rett, esclerose tuberosa, entre outras².

Em contrapartida, a definição de TEA “não síndrômico” se refere ao “autismo clássico”, conforme descrito por Kanner, no qual nenhum sintoma adicional está presente³. Nestes casos, fatores ambientais e genéticos são considerados como fatores etiológicos importantes do TEA não síndrômico, ou seja, existem desafios em considerar apenas um único gene⁴.

As tecnologias de sequenciamento de DNA têm desempenhado papéis importantes na biologia molecular na área de pesquisa e nos testes diagnósticos na aplicação clínica⁵. A plataforma de primeira geração, sequenciamento de Sanger, foi desenvolvida por Fred Sanger em 1977, e tem sido usada por décadas em pesquisa e genética clínica⁵. Três décadas depois, o sequenciamento de nova geração (NGS) ou sequenciamento massivo paralelo, um método de sequenciamento simultâneo de milhões de fragmentos de DNA (ou DNA complementar), foi rapidamente adotado no laboratório clínico devido à sua capacidade de analisar simultaneamente vários genes ou regiões gênicas com um teste único em comparação com os métodos tradicionais⁶.

Apesar de não existir um único gene responsável pelo TEA não síndrômico, diversos trabalhos destacaram o potencial do sequenciamento exoma para identificar variantes atraso no

desenvolvimento ou TEA ⁷. Portanto, este trabalho visa realizar uma revisão de literatura acerca do uso do sequenciamento do exoma na pesquisa do TEA não síndrômico.

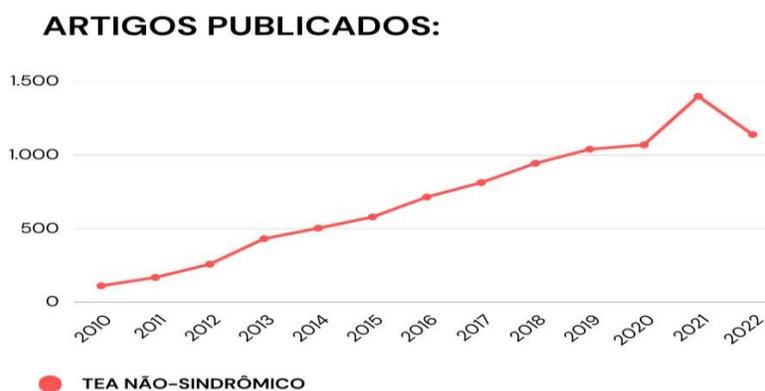
METODOLOGIA

O presente estudo trata-se de um artigo de revisão bibliográfica em relação a aplicação do sequenciamento do exoma na pesquisa de pacientes com TEA não síndrômico e foi realizado mediante busca de artigos no banco de dados eletrônicas PUBMED (*National Library of Medicine and The National Institute of Health*). Foram selecionados os trabalhos em línguas inglesa e portuguesa, publicados no período de 2000 a 2021. Os artigos selecionados contemplavam pelo menos duas das palavras-chaves utilizadas. TEA não síndrômico; sequenciamento completo do exoma; sequenciamento de nova geração; diagnóstico genético; variantes genéticas. Não foram utilizados trabalhos que abordassem a pesquisa em TEA síndrômico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca realizada nas bases de dados resultou em mais de 10 mil artigos com o tema TEA e TEA não síndrômico. É notável uma crescente em relação ao tema como mostra o gráfico 1. Na imagem podemos ver que dos anos 2010 a 2022, houve um aumento considerável de publicações e pesquisas publicadas em relação ao tema, sendo o ano de 2021 com o maior número de trabalhos, demonstrando que a pesquisa acompanhou o progresso dentro da tecnologia aplicada à genética médica. Em relação ao TEA não síndrômico que é o foco deste artigo, durante o levantamento bibliográfico foi localizado cerca de 9.635 trabalhos publicados.

Gráfico 1, onde é possível observar a porcentagem de artigos científicos sobre TEA não síndrômico publicados entre 2010 - 2022



O exoma é composto por aproximadamente 1-2% do genoma humano, mas contém cerca de 85% das variantes patogênicas conhecidas⁴. Por isso, essa metodologia é uma ferramenta muito robusta para auxílio no diagnóstico molecular de muitas condições clínicas⁴.

O sequenciamento do exoma é realizado por meio do NGS podendo ser utilizada uma amostra biológica do paciente, como sangue ou saliva, líquido amniótico, entre outras para o isolamento de DNA com kits comerciais específicos, purificação do DNA genômico e captura dos éxons para o sequenciamento⁸. As sequências geradas serão alinhadas de acordo com um genoma referência para que as alterações sejam identificadas e filtradas a partir de técnicas de bioinformática, com pesquisas e relações entre os resultados de bancos de dados genômicos para correlação genótipo e fenótipo, a depender da suspeita⁸.

A tecnologia do NGS foi desenvolvida por diferentes empresas comerciais⁹. Em geral, os fluxos de trabalho das diferentes tecnologias de sequenciamento incluem as etapas: preparação do template incluindo extração de ácido nucleico, preparação de biblioteca incluindo amplificação clonal e sequenciamento e alinhamento de leituras curtas, com análise e interpretação de variantes/alterações⁹.

O NGS pode ser aplicado como um painel que contemple genes direcionados para um fenótipo/condição, como o sequenciamento do exoma (sequenciamento dos exons de todos os genes, com suas regiões flanqueadoras), genoma completo ou sequenciamento de DNA mitocondrial¹⁰.

Estima-se que variantes em mais de 400 genes e variações do número de cópias (CNVs) (microdeleções e microduplicações) deleções e duplicações podem representar variantes de alto a moderado risco para a TEA¹².

A utilização de exames moleculares na clínica de doenças genéticas permite também a avaliação do risco de recorrência familiar e aconselhamento genético que pode auxiliar no prognóstico e perspectiva terapêutica uma vez que, além de ajudar na identificação da etiologia, consegue identificar áreas que necessitam de suporte¹². Embora um exame genético tenha todos esses benefícios, um estudo americano demonstrou que tais exames estão longe de serem recomendados pelos médicos, e apenas 17% os prescrevem aos seus pacientes¹².

Na última década, o NGS facilitou a identificação de variantes e a avaliação de variações genéticas raras de único nucleotídeo ou de baixa frequência que antes eram indetectáveis usando tecnologias baseadas em arrays⁵. O sequenciamento completo do exoma permitiu a detecção de variantes deletérias que alteram a sequência codificadora de proteínas e a identificação de

diversos genes significativamente associados ao TEA. A descoberta de genes bem-sucedidos com conjuntos de dados genômicos funcionais aumentou a compreensão da neurobiologia do TEA e, em última análise, facilitou o desenvolvimento de intervenções terapêuticas eficazes. Além disso, as variantes encontradas a partir do NGS no sequenciamento do exoma podem ser confirmadas com o sequenciamento de Sanger, principalmente quando são localizadas mutações que envolvem regiões genômicas complexas⁵.

O poder de pesquisa do número de genes descobertos que evidenciam o TEA foi potencializado pelo NGS, uma vez que alguns destes genes alteram amplamente o desenvolvimento do TEA enquanto outras mutações raras e de novo são mais específicas. Existem aproximadamente 102 genes que implicam no risco individual de desenvolvimento do TEA, porém é importante o estudo da associação entres os fenótipos e genótipos desses genes de risco¹³.

Consequentemente foram identificados vários loci que podem contribuir para o fenótipo em adição ao mapeamento desses estudos, genes candidatos funcionais e abordagens proteômicas identificaram variantes em genes específicos que afetam a suscetibilidade de desenvolvimento do TEA¹⁴.

Evidenciou-se dois principais traços ligados ao TEA: a esquizofrenia e a alteração do nível de aprendizado. Apesar disso, a comunidade médica tem levantado a influência de alterações raras em genes que possam sofrer grande impacto clínico em quadros de TEA, um desses genes, por exemplo, é o *KMT2E* que apresenta tanto risco comum como variação de risco raro individual para expressar o autismo¹⁴.

De acordo com o banco de dados Sfar Gene, o gene *KMT2E* indicado no estudo citado também foi reportado um total de 16 vezes, onde 9 delas era associado ao TEA, o banco de dados também demonstra que das variantes encontradas 78 eram variantes raras²³.

Uma classe de mutações relevantes é aquela que afeta os genes associados às vias de sinalização como fatores de iniciação da tradução, responsáveis por iniciar a síntese de proteínas nos ribossomos. Essas mutações podem levar a um desequilíbrio na produção de proteínas essenciais para o desenvolvimento e função cerebral adequados¹⁵.

A alteração nos níveis de funcionamento de proteínas sinápticas pode acarretar problemas de cognição e de desenvolvimento, com o autismo como consequência, podendo também ter causas de insuficiência de Shank3, neuroxinas ou neuroliginas¹¹.

A tradução dependente de atividade desempenha um papel crucial no desenvolvimento sináptico adequado e na plasticidade cerebral¹⁶. Durante esse processo, proteínas específicas de ligação ao mRNA, como a FMRP (Proteína do atraso cognitivo do X-frágil/ Fragile X Mental Retardation Protein), têm a capacidade de regular a tradução em neurônios, influenciando assim a síntese de proteínas necessárias para o funcionamento neuronal adequado¹⁶.

A FMRP, é uma proteína que desempenha um papel importante na regulação da tradução em neurônios. Deficiências na expressão ou função da FMRP foram associadas ao autismo e a defeitos cognitivos¹⁶. Essas alterações podem levar a um desequilíbrio na síntese de proteínas críticas para a formação de sinapses e para a plasticidade sináptica, que são processos essenciais para o desenvolvimento e funcionamento normal do cérebro ¹⁶.

Além disso, os *RNA-binding proteins* (RNA BPs) podem ser detectados também dentro do formato do sequenciamento de RNA a partir do NGS, ajudando a compreender melhor quais mRNAs são regulados por essas proteínas e como suas alterações podem afetar a função cerebral ¹⁷. Através da identificação desses alvos de mRNA é possível obter novos direcionamentos sobre as vias de sinalização envolvidas no desenvolvimento do autismo e defeitos cognitivos específicos que não estejam claros apenas no sequenciamento do DNA dentro dos éxons ¹⁸.

As principais vias celulares subjacentes ao TEA estão interconectadas por meio da atividade neuronal²⁰. Variantes de risco bem estabelecidas são encontradas em genes que funcionam em três vias celulares críticas: função sináptica, sinalização WNT (Sitio de Integração Relacionado ao Wntless) e tradução²⁰. Essas três vias são altamente integradas: a sinalização WNT controla os principais programas transcricionais que afetam a maturação neuronal e a formação de circuitos neurais, que também dependem da atividade sináptica durante o desenvolvimento; a tradução localizada na sinapse está subjacente à plasticidade sináptica e à cognição, enquanto a tradução sináptica é estimulada pela atividade sináptica. É importante ressaltar que as três vias respondem e são afetadas pela atividade neuronal ²⁰.

Na verdade, variantes penetrantes não codificadoras que interrompem o padrão normal de *splicing* do RNA mensageiro (mRNA), mesmo que ocorram fora dos dinucleotídeos essenciais de *splicing* GT e AG, frequentemente chamadas de variantes de *splicing* críptico, têm sido reconhecidas há muito tempo por desempenhar um papel significativo em doenças genéticas raras¹⁹. No entanto, as mutações de *splicing* críptica são frequentemente negligenciadas na prática clínica devido ao entendimento incompleto do código de *splicing* e à dificuldade resultante

em identificar com precisão variantes que afetam a *splicing* fora dos dinucleotídeos GT e AG essenciais¹⁹.

O *splicing* é um tipo de processamento de RNA no qual as sequências denominadas introns são removidas, enquanto as sequências remanescentes (exons) são unidas formando um RNA maduro, que pode ser mensageiro ou não codificante²⁰. Esta é uma forma de regulação importante, pois contribui, após o evento de transcrição, para o controle da expressão dos genes²⁰.

No processamento conhecido por *splicing* alternativo, diferentes exons de um mesmo pré RNA podem ser utilizados na produção de diferentes RNAs maduros, e assim gerar proteínas distintas a partir de um único gene, caso essas variações encontrem-se em regiões codificantes. Dessa forma, o *splicing* alternativo pode levar a um grande aumento na diversidade de proteínas. O que permite que informações específicas de um único gene se modifiquem dependendo de sinais do ambiente, gerando transcritos maduros distintos, e conferindo assim uma maior plasticidade à expressão gênica²¹.

A importância de investigar o *splicing* alternativo no TEA é dada pelo fato de que vários genes implicados em distúrbios neurológicos têm atividade de ligação ao *RNA92*²². Foi relatado em uma pesquisa que o *FMRP* interage com a proteína de ligação ao RNA *RBM14* para regular o *splicing* alternativo de pelo menos dois genes com funções neuronais importantes (*Zfyve27* e *Mapt*) em camundongos²². Esta descoberta indica que o *FMRP* poderia ter um papel mais amplo na regulação do *splicing*, embora no momento da escrita, possíveis mudanças em perfis de *splicing* alternativos ainda não tenham sido abordadas no nível transcriptômico em pacientes com síndrome do X frágil. Essas observações enfatizam a necessidade de uma análise cuidadosa dos eventos de *splicing* interrompidos no autismo²².

De acordo com Ahmet o Caglayan foi observado que as neuroliginas e neuroxinas cerebrais interagem entre si, sendo expressas em neurônios pré-sinápticos, que sofrendo alterações de causa genética possam expressar características clínicas em pacientes com TEA³. O gene Neuroxina 1 (*NRXN1*), localizado no cromossomo 2p16.3 codifica uma variante do peptídeo de sinal da Neuroxina 1, na sua funcionalidade essa proteína de superfície celular neuronal pode estar presente no reconhecimento e na adesão celular, formando junções intracelulares por meio da ligação às neuroliginas, havendo como forte fator de sinalização a investigação do gene mutado da Neuroxina em indivíduos com autismo³.

Um estudo realizado por Levinson e El-Husseini, analisou o papel da interação Neurologinas-Neuroxinas na maturação e funcionamento das sinapses, assim como através dos mecanismos dessas proteínas, quando defeituosas, podem levar ao autismo²². Além destes, outros genes mutados podem alterar a funcionalidade de proteínas responsáveis fatores de sinalizações sinápticas que possam justificar características dentro do quadro de TEA²³.

Dentro da classificação não sindrômica, autores como Cosemans, Ohashi, Rauch, Souza CB, et al., relataram genes e tipos de mutações afetadas a partir de amostras às quais os indivíduos possuíam características clínicas relevantes em sintonia aos achados genéticos, o quadro 1, aborda os principais estudos em variação com a metodologia de interesse e o número de casos reportados.

Quadro 1 – Lista de artigos que evidenciam tipos de mutações e genes afetados para casos de TEA não sindrômico.

Autor e ano	Genes afetados	Tipos de mutações	Metodologias	Classificação de estudo	Amostras
	<i>DMTN</i> ,				29.085
Cosemans et al. 2021 *	<i>EGR3</i> , <i>FGF17</i> , <i>LGI3</i> , <i>PHYHIP</i> e <i>PPP3CC</i>	Deleção 8p21.3 (de novo, VUS)	Sequenciamento de Exoma, SNP-array	TEA Não-sindrômico	indivíduos 70 casos (CNVs) 19584 controles (Coe et al.)
	<i>OPRL1</i> , <i>SCTR</i> ,	Non-synonymu	Microarray	TEA	42 indivíduos, 2
Ohashi et al. 2021 *	<i>RELN</i> , <i>BDKRBI</i> , <i>RELN</i> e <i>EHMT1</i>	s, SNVs, indels, Splice Site	CGH, Sequenciamento de todo exoma	Não-sindrômico	casos (WES), 48 indivíduos, 3 casos (CGH)
Rauch et al. 2012 *	<i>STXBP1</i> , <i>SYNGAP1</i> e <i>SCN2A</i>	LoF, Missense	Sequenciamento de Exoma	TEA Não-sindrômico	51 indivíduos, 45 casos (variantes de novo), 20 controles

Fontes BMC, Souza CB. 2022 *	<i>MET, RELN, SLC6A4, PTEN, TSC1, TSC2.</i>	De novo	Sequenciamento (NGS)	TEA Não-sindrômico	Artigo Teórico
------------------------------------	---	---------	-------------------------	-----------------------	----------------

*LoF: variantes que afetam a função de uma proteína, podem ser patogênicas ou benignas

*VUS: Variantes de significado incerto sobre as quais ainda não existem informações concretas sobre a probabilidade de serem patogênicas ou benignas a partir dos reportes de casos em bancos de dados genéticos

Dentre os genes citados, é importante ressaltar a frequência e consequência expressiva dessas mutações no paciente portador, além destes temos os genes *NLGN3* e *NLGN4*, respectivamente localizados nos *loci* cromossômicos Xq13 e Xq22.23, foram encontrados mutados em 1 a cada 100 indivíduos que apresentam o TEA, em que o fenótipo clínico da mutação do *NLG* humano é heterogêneo, sendo assim esses portadores normalmente não apresentam características dismórficas, no entanto eles podem passar por regressões no início da manifestação dessa condição, caracterizado pela perda de marcos sociais e verbais ⁴.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre as possibilidades que o sequenciamento nos traz, a comunidade científica tem levantado discussões importantes ao longo dos anos a partir de amostras e pacientes que ajudam a formar uma elucidação maior sobre a frequência de causas genéticas do TEA e a importância do sequenciamento para relação e diagnóstico clínico.

REFERÊNCIAS

1. McCombie WR, McPherson JD, Mardis ER. Next-Generation Sequencing Technologies. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2018 Nov 26;9(11):a036798
2. Cook EH, Lindgren V, Leventhal BL, Courchesne R, Lincoln A, Shulman C, Lord C, Courchesne E. 1997. Autism or atypical autism in maternally but not paternally derived proximal 15q duplication. Am J Hum Genet 60: 928–934.
3. Weiss LA., Arking DE, Daly MJ, Chakravarti A. A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. Nature 461, 802–808 (2009).
4. Caclayan AO. Genetic causes of syndromic and non-syndromic autism. Developmental Medicine, Child Neurology. 2010 Jan 5;52(2):130–8.
5. Freitas De Oliveira L. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento[Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 17].

6. Huang J, Liu J, Tian R, Liu K, Zhuang P, Sherman HT, Budjan C, Fong M, Jeong Min-Seo e Kong Xue-Jun. A Next Generation Sequencing-Based Protocol for Screening of Variants of Concern in Autism Spectrum Disorder (2021).
7. Yohe S, Thyagarajan B. Review of Clinical Next-Generation Sequencing. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* [Internet]. 2017 Nov;141(11):1544–57.
8. Freitas AM de, Brunoni D, Mussolini JL. Transtorno do Espectro Autista: estudo de uma série de casos com alterações genéticas. *Cadernos de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento*. 2017;17(2)
9. McCombie WR, McPherson JD, Mardis ER. Next-Generation Sequencing Technologies. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2018 Nov 26;9(11):a036798
10. Cook EH, Lindgren V, Leventhal BL, Courchesne R, Lincoln A, Shulman C, Lord C, Courchesne E. 1997. Autism or atypical autism in maternally but not paternally derived proximal 15q duplication. *Am J Hum Genet* 60: 928–934.
11. Aldahmesh MA, Mohamed JY, Alkuraya HS, Verma IC, Puri RD, Alaiya AA, Rizzo WB, Alkuraya FS. 2011. Recessive mutations in ELOVL4 cause ichthyosis, intellectual disability, and spastic quadriplegia. *Am J Hum Genet* 89: 745–750.
12. Bourgeron T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(9):551-63. Review.
13. Buxbaum JD. Multiple rare variants in the etiology of autism spectrum disorders. *Dialogues Clin Neurosci*. 2009;11(1):35-43. doi: 10.31887/DCNS.2009.11.1/jdbuxbaum. PMID: 19432386; PMCID: PMC3181906.
14. Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, De Rubeis S, An JY, et al. Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. *Cell* [Internet]. 2020 Feb;180(3):568-584.e23.
15. Kalkman, HO. A review of the evidence for the canonical Wnt pathway in autism spectrum disorders. *Molecular Autism* 3, 10 (2012). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/2040-2392-3-10>
16. Leão D. Sequenciamento de nova geração: explorando aplicações clínicas de dados de Targeted Gene Panel e Whole Exome Sequencing. *Ufrgsbr* [Internet]. 2017 [cited 2023 Jun 17];
17. Quesnel-Vallières M., Weatheritt RJ., Cordes SP. *et al.* Autism spectrum disorder: insights into convergent mechanisms from transcriptomics. *Nat Rev Genet* 20, 51–63 (2019). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0066-2>
18. Kelleher RJ 3rd, Bear MF. The autistic neuron: troubled translation? *Cell*. 2008 Oct 31;135(3):401-6. doi: 10.1016/j.cell.2008.10.017. PMID: 18984149.
19. Jaganathan K, Kyriazopoulou Panagiotopoulou S, McRae JF, et al. Predicting Splicing from Primary Sequence with Deep Learning. *Cell*. 2019;176(3):535-548.e24. doi:10.1016/j.cell.2018.12.015
20. Gebauer F., Schwarzl T., Valcárcel J. *et al.* RNA-binding proteins in human genetic disease. *Nat Rev Genet* 22, 185–198 (2021). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41576-020-00302-y>

21.Darnell JC. Defects in translational regulation contributing to human cognitive and behavioral disease. *Curr Opin Genet Dev.* 2011 Aug;21(4):465-73. doi: 10.1016/j.gde.2011.05.002. Epub 2011 Jul

19.PMID: 21764293; PMCID: PMC3166213.

22.Sci Transl Med. Manuscrito do autor; disponível no PMC 2015 em 25 de maio. Publicado na forma final editada como: *Sci Transl Med.* 13 de junho de 2012; 4(138): 138ra78.doi: 10.1126/scitranslmed.300354

23.Ronemus M, Iossifov I, Levy D, Wigler M. The role of de novo mutations in the genetics of autism spectrum disorders. *Nat Rev Genet.* 2014;15(2):133-41. Review. Disponível em: <https://gene.sfari.org/>

CONTATO

Tamires Vieira Albuquerque Lira: tamireslirabiomed@gmail.com