

## Autismo: testes genéticos valem a pena?

**Texto preparado por: Ana Cristina Girardi, Angela May Suzuki, Claudia Costa, Eduarda Morgana Montenegro, Elisa Varela Branco, Debora Bertola, Maria Rita Passos-Bueno. Centro de Pesquisas sobre o Genoma Humano e Células-Tronco (CEGH-CEL), Instituto de Biociências, USP.**

Pais de filhos com Transtorno do Espectro Autista (TEA) nos perguntam com frequência: "por que os médicos não pedem testes genéticos para crianças com autismo?".

A pergunta faz todo sentido porque o TEA está fortemente ligado à genética. Não há dúvidas de que o DNA – o material genético herdado dos pais e que está em cada uma das células dos filhos – pode ter alterações que causam o autismo.

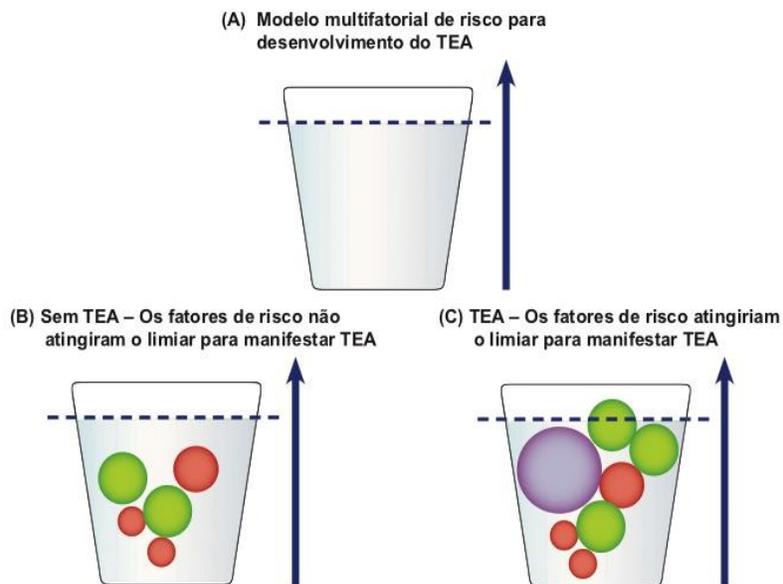
Essas alterações podem vir de um ou dos dois pais, ainda que sejam saudáveis ou que apresentem apenas sinais muito discretos de TEA. Em outros casos, surgem na formação do óvulo ou do espermatozoide e, portanto, estão apenas na criança. São mutações novas, chamadas de variantes "de novo", e têm maior chance de serem a causa do autismo. As mutações, ou alterações, também podem ser chamadas de variantes genéticas.

Quando os testes genéticos mostram as causas do autismo, os pais relatam que foi importante saber a origem do transtorno dos filhos. Mas, infelizmente, só uma em cada 10 pessoas terá uma resposta tão clara a partir dos exames. Isso acontece nos casos que envolvem mutações em apenas um gene, chamadas de monogênicas (mono = 1; monogênico = de um gene), ou *Mendelianas*. Como por exemplo o gene *SHANK3*, que contém a informação para o corpo produzir uma proteína envolvida no contato entre os neurônios. Alterações no gene *SHANK3* podem levar ao mau funcionamento dessa proteína.

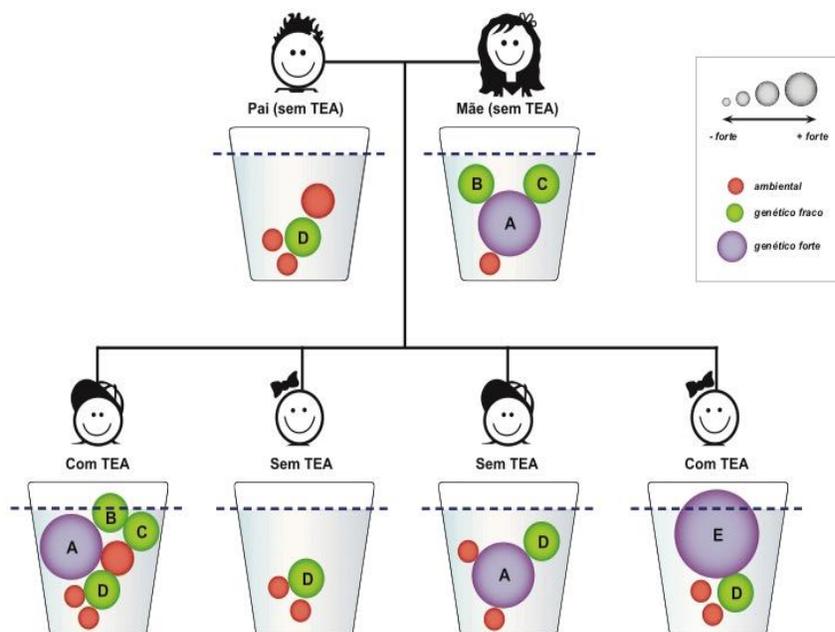
Na grande maioria das vezes, porém, a origem do TEA é muito variada. Há casos que dependem de mais de uma mutação – e indivíduos diferentes podem ter mutações diferentes, tal modelo é chamado de oligogênico (oligo = alguns, poucos; oligogênico = de alguns genes)

As variantes também podem estar fora dos genes e influenciar o funcionamento deles, trazendo consequências para o autismo. Além disso, o transtorno do espectro autista pode vir da soma dos fatores genéticos com os ambientais, em um modelo chamado multifatorial (multi = muitos; multifatorial = de muitos fatores). As figuras adiante ajudam a entender.

Nas situações que dependem de vários genes ou fatores, pouco se sabe sobre quais e quantas mutações por pessoa são necessárias para causar o TEA. Suspeita-se de que haja variantes de efeito menor e outras de efeito maior. Por causa de tanta complexidade, o conhecimento sobre as causas genéticas do autismo tem exigido muito trabalho, altos custos e evoluído lentamente.



**Fig1.** Modelo de copo para o TEA. A) Cada indivíduo possui um copo representando o risco de apresentar o TEA, em que as bolas são os fatores de risco que contribuem para o TEA com diferentes níveis de impacto. B) Copo de risco com o limiar do TEA não alcançado – apresenta alguns fatores de risco, porém não atinge o limiar para desenvolver TEA. C) Copo de risco com o limiar de TEA alcançado – possui fatores de risco suficientes para o desenvolvimento do TEA. *Figura adaptada a partir de Hoang et al. 2017 <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcc.2017.07.029> por Regina Bueno.*



**Fig2.** Modelo de copo ilustrando a penetrância reduzida e a heterogeneidade genética de uma família com TEA. Na Criança 1, o limite de fatores de risco para o TEA é alcançado como resultado de um conjunto de variantes genéticas de risco (fortes e fracas, ambas herdadas e de novo\*) e fatores de risco ambientais. As crianças 2 e 3 apresentam fatores de risco insuficientes para o desenvolvimento do TEA. Na Criança 4 há um fator genético forte, uma variante de novo\* (letra E), o qual é o principal fator que está contribuindo para o quadro de TEA. \*Variantes de novo são variantes novas que não foram herdadas dos pais, mas que surgiram pela primeira vez na criança.

## Vantagens e desvantagens dos testes genéticos

O diagnóstico de TEA é essencialmente clínico, feito por médicos no próprio consultório. Quanto mais cedo for detectado o transtorno, maiores os benefícios para essas crianças, em particular nas áreas de linguagem e socialização.

Mesmo o diagnóstico sendo clínico, alguns testes genéticos podem ser recomendados. Quando os resultados são conclusivos, os testes costumam ter um impacto bastante positivo sobre a família. Eles permitem:

- a) estabelecer um diagnóstico mais preciso;
- b) fazer o planejamento familiar, se o casal quiser mais filhos. Com a origem do TEA conhecida, passa a ser possível estimar o risco de ocorrer outro caso na família. A partir daí é oferecido o aconselhamento genético e, em caso de fertilização *in vitro*, pode ser feito o diagnóstico antes da implantação do embrião no útero da mãe;
- c) fornecer informações para que cientistas pesquisem e desenvolvam medicamentos que, no futuro, compensem o problema causado pela mutação genética do autismo.
- d) tomar conhecimento de condições médicas relacionadas a síndromes que têm o comportamento autista como uma das características.

Porém é necessário lembrar que, na maioria dos casos, os resultados não serão conclusivos e podem ser motivo de frustração para a família. Principalmente porque alguns exames são muito caros. Por isso, é importante que todos saibam quais informações cada teste pode oferecer, para quem é recomendado e quais suas limitações.

## O que é cada teste, quanto custa e o que informa

Diante do conhecimento atual, as recomendações para testes genéticos em indivíduos com TEA são as seguintes:

### 1) Teste para a síndrome do X-frágil

O padrão internacional recomenda o teste para a síndrome do X-frágil a todo menino com TEA e com atraso do neurodesenvolvimento. Um dos primeiros sinais do atraso é percebido por volta dos dois anos, se a criança tem dificuldades de desenvolver a fala.

O autismo é um dos sintomas da síndrome do X-frágil, uma doença genética causada por mutações no gene FMR1 que podem provocar deficiência intelectual. Ela não tem tratamento e afeta cerca de 1 a cada 4 mil homens e 1 a cada 7 mil mulheres.

É importante diferenciar os dois diagnósticos, porque as mães de meninos com síndrome do X-frágil têm grande chance (até 50% quando é menino) de ter outra criança com a condição. Para esses casos, o aconselhamento genético pode ser muito importante.

O custo do teste para a síndrome do X-frágil varia entre R\$ 960,00 e R\$ 1.860,00 e pode ser coberto por convênios médicos.

Para mais informações sobre a genética da síndrome do X-frágil, acesse os links:

<http://www.xfragil.org.br/page.php?tipo=10> ; e <http://genoma.ib.usp.br/pt-br/servicos/consultas-e-testes-geneticos/doencas-atendidas/sindrome-do-cromossomo-x-fragil>

## 2) Cariótipo e *microarray* genômico

O exame do cariótipo e o *microarray* genômico (também chamado array-CGH) são exames que pesquisam variações no material genético (DNA). A matéria-prima que forma o DNA são as bases nitrogenadas - compostos químicos essenciais para a vida.

As variações são mutações nessas bases nitrogenadas. Ocorrem basicamente três situações: uma base nitrogenada é substituída por outra; o DNA perde bases (deleções); ou o DNA ganha bases (duplicações). Quando envolvem a deleção ou a duplicação de um bloco de bases (de pelo menos 1000 bases), recebem o nome de "variações de número de cópias" dessas bases ou, em inglês, *copy number variations* - **CNVs**.

Dois testes analisam o DNA por blocos e detectam as CNVs:

2.1) O **cariótipo**, também chamado de análise citogenética, identifica modificações grandes, em blocos maiores que 5 a 10 Mb - 1 Mb representa 1 milhão de bases. Essas variações grandes são encontradas em cerca de 3% dos casos de TEA. O custo para realizar o cariótipo varia de R\$ 500,00 a R\$ 1.500,00.

2.2) O ***microarray* genômico** é pelo menos 10 vezes mais preciso, ou seja, identifica também modificações menores, que envolvem menos bases.

Os resultados revelam 3 categorias de CNVs:

a) CNVs patogênicas: aquelas com alta probabilidade de contribuir para o autismo, as quais estão em aproximadamente 10% das pessoas com TEA testadas;

b) CNVs de significado clínico incerto (no inglês, *Variant of Unknown Significance* – VUS): quando não se tem conhecimento suficiente para dizer se a alteração contribui ou não para o autismo. São identificadas também em cerca de 10% dos indivíduos com TEA testados;

c) nenhuma CNV relevante é identificada.

A interpretação destes resultados é difícil e deve ser realizada por geneticistas ou profissionais com treinamento na área de genética.

Recomenda-se o *microarray* genômico nos casos em que o teste para a síndrome do X-frágil for negativo. O custo médio para a realização desse teste varia de R\$ 4.000,00 a R\$ 6.500,00. No Brasil, os convênios não cobrem o *microarray* genômico antes de um resultado normal tanto do cariótipo, quanto para a síndrome do X-frágil, segundo determina a ANS (Agência Nacional de Saúde Suplementar) no rol de procedimentos e eventos em saúde de 2016.

### 3) Sequenciamento de DNA

As técnicas de sequenciamento do DNA são ainda mais exatas. Elas mostram erros genéticos pequenos, como troca de uma ou poucas bases no DNA, pequenas deleções ou inserções. Podem ser de dois tipos.

#### 3.1) **Sequenciamento Completo de Exoma (SCE)**

O exoma é a parte do DNA que abriga os genes, ou seja, que contém as informações para produzir as proteínas do organismo. Representa cerca de 2% de todo o material genético.

O Sequenciamento Completo de Exoma (SCE) é recomendado para diagnosticar uma doença que tenha uma das três características:

- a) seja causada por apenas um gene (monogênica);
- b) heterogênea, isto é, genes provocam o distúrbio e o quadro clínico não diferente entre os diferentes subtipos.;
- c) não tenha os mecanismos genéticos muito esclarecidos.

Alguns casos de autismo se encontram dentro desses requisitos, principalmente quando a pessoa tem também atraso de desenvolvimento neuropsicomotor, ou deficiência intelectual ou quando o TEA está associado a outras doenças, como epilepsia. Mas a chance de haver um esclarecimento da origem do TEA a partir do SCE é pequena, de cerca de 10%.

Aqui vale uma ressalva: quando se conhecem bem os mecanismos genéticos envolvidos na doença, como nas displasias esqueléticas ou nas doenças neuromusculares, o recomendado é usar **painéis de genes**, porque eles contêm apenas os genes associados a esses distúrbios e são mais baratos. Não é o caso do autismo.

Voltando ao SCE, de forma semelhante ao *microarray* genômico, os resultados do SCE de um indivíduo com TEA podem revelar:

- a) variantes provavelmente patogênicas: aquelas que estão muito provavelmente associadas ao transtorno;
- b) variantes de significado clínico incerto (VUS): quando não se tem conhecimento suficiente para dizer se a variante contribui ou não para o autismo.
- c) nenhuma variante relevante: em alguns casos nenhuma variante relevante é identificada.

A análise do SCE é muito trabalhosa. A partir dos milhões de dados gerados sobre cerca de 20 mil genes daquela pessoa, os geneticistas procuram mutações em 100 genes que já se sabe que são causadoras do TEA. Além disso, precisam comparar os dados do paciente com os de indivíduos sem o transtorno, em busca de diferenças. Diante da quantidade de informação, da

complexidade genética do autismo e do ainda limitado conhecimento dos cientistas, na maioria das vezes o SCE não leva a nenhuma conclusão.

Com o investimento mundial em pesquisas na área de genética em TEA, o conhecimento acerca de quais tipos de mutações e quais genes são clinicamente relevantes deve crescer rapidamente nos próximos 5 a 10 anos.

Não há ainda um consenso internacional sobre a recomendação de fazer o SCE em pessoas com autismo, uma vez que o teste tem alto custo e é pouco conclusivo. Recomenda-se, contudo, *informar* as famílias da existência do teste, dos custos e benefícios. O custo do Sequenciamento Completo de Exoma no Brasil varia de R\$ 8.900,00 a R\$10.800,00.

### 3.2) Sequenciamento completo do genoma

O sequenciamento completo do genoma envolve a análise de todo o material genético, tanto do exoma que possui a informação sobre as proteínas, quanto da porção que não possui as informações das proteínas.

Esta porção não codificante de proteína corresponde a cerca de 98% de todo o material genético e foi por muitos anos chamada de “DNA lixo”. Com o avanço do conhecimento, ficou claro que o DNA não codificante tem um papel importante para regular os genes e, conseqüente, influência a produção de proteínas.

Para os casos de TEA, porém, esse teste não é recomendado atualmente. Ainda conhecemos pouco sobre o impacto das mutações nas regiões não codificantes sobre o autismo. Por isso, na maior parte das vezes, o sequenciamento completo do genoma não traz um resultado mais informativo do que o sequenciamento completo do exoma.

Hoje, o sequenciamento do genoma é utilizado principalmente para a pesquisa. Há quem argumente que o resultado desse teste é para toda a vida. De fato, isso pode ser verdade. Porém, espera-se que, em breve, o custo do exame diminua bastante e testes mais eficientes surjam.

Hoje, o sequenciamento completo do genoma é um dos exames genéticos mais caros. É realizado por pouquíssimos laboratórios no Brasil e custa cerca de R\$30.000,00.

### Considerações finais muito importantes

Os resultados dos testes genéticos em geral não mudam as formas de tratamento para o indivíduo com TEA. O benefício principal é no aconselhamento genético para o planejamento familiar e no esclarecimento da origem do autismo.

Dentre os testes genéticos apresentados acima, há um consenso internacional quanto à realização do teste para a síndrome do X-frágil em meninos com TEA e atraso de

desenvolvimento neuropsicomotor. Também é recomendado o *microarray* genômico em crianças com TEA e que tiveram resultado negativo no teste para a síndrome do X-frágil.

As famílias devem sempre ser informadas quanto à existência dos testes genéticos e das possíveis vantagens e desvantagens envolvidas em cada um deles. A realização de testes mais complexos, como o SCE, deve ser amplamente discutida com a família para que esta tome uma decisão consciente.

Por fim, é importante ressaltar que a ausência de um resultado conclusivo não significa que o indivíduo não se enquadre no espectro de TEA. Dada a complexidade do modelo genético do autismo e o limite do conhecimento atual, é importante que o aconselhamento genético à família seja efetuado antes e *depois* dos exames, também para ajudar a interpretar dos resultados.

Este texto usou como principais fontes bibliográficas os seguintes artigos: • Bourgeron T. Nat Rev Neurosci. 2015 Sep;16(9):551-63. doi: 10.1038/nrn3992. Review. • Hoang N et al. Patient Educ Couns. 2017 Jul 29. pii: S0738-3991(17)30468-8. doi: 10.1016/j.pec.2017.07.029. • Reiff et al. J Autism Dev Disord (2015) 45:3262–3275. • Yuen et al. Nat Neurosci. 2017 Apr;20(4):602-611. doi: 10.1038/nn.4524.