



Exames genéticos como ferramentas auxiliares para o diagnóstico do Transtorno do Espectro Autista

Natália Mestre Braz^a*, Eliane Papa Ambrosio-Albuquerque^b

^a Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

^b Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia celular, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

Histórico do Artigo:

Recebido em 08/12/2021

Aceito em 21/04/2022

Palavras-chave:

Transtorno autístico;
técnicas de diagnóstico
molecular; técnicas
genéticas; aconselhamento
genético

Keywords:

Autistic disorder;
molecular diagnostic
techniques; genetic
techniques; genetic
counseling.

RESUMO

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) 7,6 milhões de crianças nascem com alguma desordem genética a cada ano, dentre essas desordens destaca-se o Transtorno do Espectro Autista (TEA). Essa condição é definida como um conjunto de disfunções do neurodesenvolvimento que compromete as habilidades sociais, de comunicação e comportamentos, apresenta diferentes graus de comprometimento e pode estar associada a outros distúrbios. Estudos epidemiológicos demonstram que a prevalência do TEA cresce a cada ano, sendo mais comum no sexo masculino. É ainda considerado como um espectro multifatorial e heterogêneo, o que dificulta a identificação de sua etiologia em cada paciente em particular. Este cenário tem mudado substancialmente nas últimas décadas, devido ao desenvolvimento do conhecimento sobre os aspectos genéticos e moleculares do autismo, bem como o aperfeiçoamento de ferramentas biotecnológicas para o diagnóstico. Atualmente, alguns exames genéticos podem ser realizados para triagem da condição, como: PCR, cariótipo, *CGH-arrays* e sequenciamento, que juntamente com a história clínica do paciente contribuem para o desfecho do diagnóstico. Desta forma, este artigo traz um levantamento dos principais testes disponíveis para auxiliar no diagnóstico de crianças com suspeita de TEA, incluindo vantagens, desvantagens e sua influência na conduta terapêutica e aconselhamento genético, baseado em uma revisão da literatura.

Genetic tests as auxiliary tools for the diagnosis of Autistic Spectrum Disorder

ABSTRACT

According to data from the World Health Organization (WHO) 7.6 million children are born with some genetic disorder each year, among these disorders stands out Autistic Spectrum Disorder (ASD). This condition is defined as a set of neurodevelopmental disorders that compromise social, communication and behavioral skills, present different degrees of impairment and maybe associated with other disorders. Epidemiological studies show that the prevalence of ASD increase every year, being more common in males. It is also considered as a multifactorial and heterogeneous spectrum, which makes it difficult to identify its etiology in each patient. This scenario has changed substantially in recent decades, due to the development of knowledge about the genetic and molecular aspects of autism, as well as the improvement of biotechnological tools for diagnosis. Currently, some genetic tests can be performed to screen for the condition, such as: PCR, karyotype, *CGH-arrays* and sequencing, which together with the patient's clinical history contribute to the outcome of the diagnosis. Thus, this article provides a survey of the main tests available to assist in the diagnosis of children with suspected ASD, including advantages, disadvantages and their influence on therapeutic conduct and genetic counseling, based on a literature review.

1. Introdução

Após a consolidação do Projeto Genoma Humano, o interesse na área de genética foi intensificado. Em adição, com o desenvolvimento de tecnologias moleculares, os estudos realizados nesta área possibilitaram um avanço considerável no diagnóstico molecular e

* Autor correspondente: mestrenatalia24@gmail.com (Braz N.M.)

clínico de doenças genéticas (1). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), a cada ano 8 milhões de crianças nascem com alguma desordem genética (2).

Dentre as desordens genéticas, o Transtorno do Espectro Autista (TEA) vem crescendo continuamente na população mundial. Esse novo termo foi definido pela DSM-V (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – fifth edition*) para os diversos tipos de autismo. Ele é caracterizado como um conjunto de distúrbios do neurodesenvolvimento que compromete as habilidades sociais, de comunicação, de linguagem e padrões restritivos e repetitivos de comportamentos, interesses ou atividades (3). Pode estar associado com outros distúrbios como epilepsia, depressão, deficiência intelectual, ansiedade e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH). Apresenta diferentes graus de comprometimento, devido à instabilidade do funcionamento mental do autista. As condições podem ser observadas na infância a partir dos 3 e/ou 5 anos de idade e perdurar na vida adulta (4).

Estudos epidemiológicos estimam a prevalência de 1 caso de TEA para cada 54 crianças nos Estados Unidos da América (EUA), segundo a agência de saúde *Center of Disease Control and Prevention* (CDC) em março de 2020, sendo mais prevalente no sexo masculino (4 meninos para cada menina) (5). No Brasil, estima-se de que existam 2 milhões de pessoas autistas e a taxa de prevalência é de aproximadamente, 1 caso a cada 160 crianças (6).

Dentre os serviços ofertados no país pelo Sistema Único de Saúde (SUS), os Centros de Atenção Psicossocial (CAPS) são responsáveis por oferecerem atenção diária, intensiva e promotora de vida aos pacientes com transtornos intelectuais pautados nos princípios de integralidade, universalidade e equidade. Apesar de diretrizes e protocolos desenvolvidos pelo Ministério da Saúde que marcaram o progresso do SUS, ainda se encontram dificuldades que podem comprometer essa assistência (3).

Assim como outros transtornos multifatoriais, o TEA é caracterizado como heterogêneo e complexo. Considerando sua arquitetura genética, diversas pesquisas apontam que para esse espectro existem diferentes padrões de herança, associação com fatores ambientais e uma combinação entre variantes genéticas. Por isso, deve-se realizar uma análise minuciosa dos aspectos epidemiológicos e evolutivos que contribuam na elucidação de sua etiopatogenia (7).

O diagnóstico do TEA é eminentemente clínico, através da observação do comportamento da criança que prioritariamente deve ser testemunhada pelos pais ou responsáveis. Contudo, muitas famílias não têm essa percepção e alguns casos passam despercebidos por anos. As alterações comportamentais são específicas de cada autista, dificultando a avaliação clínica dos profissionais de saúde que relatam limitações para o diagnóstico. Desta forma, vale ressaltar que uma criança suspeita ou confirmada com TEA deve ser acompanhada por uma equipe multiprofissional preparada que investigue cada conduta dela (8).

Como o transtorno é considerado particular do autista, suas causas também são. As alterações genéticas podem ser transmitidas por um ou pelos dois pais e pode ser determinante para o grau de expressão fenotípica no afetado. Mutações novas denominadas “*de novo*” podem ocorrer durante o desenvolvimento embrionário, bem como influências ambientais como exposição a agentes tóxicos, infecções na gestação e medicamentos. Outros fatores de risco também são apontados, dentre eles: idade avançada dos pais, histórico familiar de TEA, baixo peso do recém-nascido e prematuridade (7).

Os avanços na biotecnologia e bioinformática forneceram ferramentas como o sequenciamento do genoma humano que podem, junto a história clínica, contribuir no

diagnóstico de doenças raras. Atualmente, alguns exames podem ser realizados para triagem do espectro e identificação as variantes envolvidas, porém, limita-se quanto a interpretação dos dados gerados, uma vez que nem todas as variantes foram associadas ao fenótipo patológico. (9). Desta forma, o objetivo do presente artigo é realizar um levantamento dos principais testes genéticos oferecidos como auxílio diagnóstico para TEA, baseado em uma revisão de literatura. Além de elencar suas vantagens, desvantagens e discutir sua influência na conduta terapêutica e aconselhamento genético.

2. Material e Métodos

Trata-se de uma revisão integrativa de literatura, onde as seguintes etapas foram desenvolvidas:

1. Identificação do tema para a revisão;
2. Seleção de critérios de inclusão e exclusão de estudos;
3. Pesquisa em plataformas digitais e seleção dos artigos;
4. Triagem conforme os critérios de seleção;
5. Interpretação dos resultados e síntese da revisão;
6. Apresentação do tema como uma análise crítica dos dados.

Primeiramente, estabeleceu-se o problema e realizou-se uma busca de bibliografias delimitadas por palavras-chave como: “transtorno do espectro autista”, “transtorno autístico”, “testes genéticos”, “biotecnologia” e “técnicas de diagnóstico molecular” com o boleano “E”, combinando os termos aos pares e trios. A partir disso, foi realizada uma triagem dos artigos que possivelmente responderiam a problemática: atualmente, quais exames genéticos estão disponíveis para auxiliar no diagnóstico de pacientes com transtorno do espectro autista?

Artigos científicos completos e reportagens, disponíveis *online*, de domínio público, idioma em português ou inglês, publicados a partir dos anos 2000 e que se enquadrem na temática do estudo, foram utilizados como critério de inclusão. Por outro lado, artigos duplicados, de editorial e relato de caso, assim como estudos indisponíveis ou de outros idiomas foram excluídos.

A busca dos artigos foram efetuadas nas plataformas digitais: Google Acadêmico (<https://scholar.google.com.br/>); Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>); Lilacs (<https://lilacs.bvsalud.org/>); Biblioteca Virtual em Saúde (<http://brasil.bvs.br/>) e Scielo (<https://scielo.org/>). Assim como, algumas reportagens e informações adicionais foram encontradas nos endereços eletrônicos: TISMOO (<https://tismoo.us/>) e GENOMIKA (<https://www.genomika.com.br/>). A pesquisa dos periódicos aconteceu durante os meses de março a junho de 2020.

3. Resultados e Discussão

Como resultado da pesquisa, foram selecionados 53 artigos e 12 reportagens. Após uma triagem dos mesmos, 27 artigos e 5 reportagens apresentavam características que melhor respondiam à questão norteadora do estudo e ao mesmo tempo abrangiam as considerações dos critérios de inclusão. Em seguida realizou-se a síntese da revisão fundamentado na problemática e posteriormente a redação deste manuscrito.

Toda anomalia funcional ou estrutural identificada no feto antes ou após o nascimento, aparente ou não, provocada por alterações genéticas, ambientais ou desconhecidas é definida como defeito congênito. Esses defeitos são responsáveis pelo elevado número de morbi-mortalidade infantil no Brasil. Dentre as anomalias, as doenças que possuem o

fator genético preponderante são: doenças monogênicas (alterações causadas em um único gene) que acometem cerca de 2% da população geral, as cromossômicas presentes em 0,7% dos nascidos vivos e as multifatoriais responsáveis pela maioria das malformações congênitas e anomalias comuns que surgem na vida adulta (1).

Um importante transtorno multifatorial que vem crescendo na população mundial é o TEA definido como um déficit de comunicação social e comportamental que possui diferentes níveis de expressões fenotípicas. Seu diagnóstico é majoritariamente clínico e minucioso, visto que o autismo pode fazer parte da sintomatologia de outros transtornos monogênicos e metabólicos. Desta forma, é essencial que os pais saibam que os testes moleculares só irão fornecer um diagnóstico assertivo em uma minoria dos casos (10).

Com o desenvolvimento da biotecnologia e bioinformática, técnicas moleculares foram aperfeiçoadas para diagnosticar e caracterizar esses defeitos. Para doenças monogênicas e cromossômicas existem inúmeros testes genéticos que auxiliam sua investigação, tornando a identificação da anomalia relativamente mais simples quando comparada às doenças multifatoriais. Essas por sua vez, influenciada por diversos fatores, exigem um diagnóstico bastante trabalhoso.

Exames moleculares utilizados na investigação de crianças com TEA

Citogenética convencional (cariótipo com Bandeamento G)

O cariótipo tem por objetivo a identificação e análise de anormalidades cromossômicas estruturais e numéricas através de variações no padrão de bandejamento. Esse teste é considerado o principal exame de triagem genética cromossômica, fazendo parte da rotina de diferentes áreas e especialidades médicas. Indicado para malformações congênitas, atraso do crescimento e desenvolvimento mental, abortos de repetição, suspeita de síndromes, infertilidade, entre outros (11).

Os cromossomos são analisados em sua fase metafásica com resolução de 400 a 550 bandas. Entretanto, limita-se em não excluir mosaicismos de baixo percentual, alterações submicroscópicas, mutações moleculares e alterações menores que 5Mb. Todavia, para algumas desordens como a Síndrome de Down é conceituado como um exame padrão-ouro (12).

Para a identificação de condições multifatoriais e poligênicas como o TEA, ele descarta hipóteses de anomalias cromossômicas e síndrome do X-frágil, além de direcionar a conduta médica para exames mais complexos. No entanto, para esses casos em especial, não é mais recomendado por apresentar baixa sensibilidade e especificidade (13).

*Reação em cadeia da polimerase (PCR) para análise do gene *FRM1**

Esse teste é usualmente utilizado para todo menino que apresente características de TEA com o propósito de investigar a síndrome do X-frágil, que pode ocorrer isolada ou como comorbidade. A síndrome é causada por uma mutação no gene *FRM1* (*Fragile X Mental Retardation 1*), localizada na extremidade do braço longo do cromossomo X, que impede a expressão em níveis adequados da proteína FMRP (*Fragile X Mental Retardation Protein*), essencial para o desenvolvimento das conexões entre os neurônios e suas sinapses.

A PCR é uma técnica rotineira utilizada em laboratórios de biotecnologia como ponto de partida para outros testes moleculares, pois amplifica o material genético do paciente com o intuito de detectar a repetição instável do segmento CGG. Na população normal essa repetição varia de 6 a 50, enquanto que, em indivíduos afetados aparecem mais de 200 repetições (14). É importante detectar a quantidade de repetições pois em meninos

que apresentem o TEA associado ao X-frágil, pois o risco de recorrência é maior nestes casos e o aconselhamento genético adequado deve ser realizado (8).

Hibridização genômica comparativa (CGH-arrays)

A técnica de hibridização genômica comparativa mais conhecida como *CGH-arrays* ou *aCGH*, permite investigar simultaneamente milhares de sequências genômicas dispostas em uma lâmina a fim de detectar variações no número de cópias (*copy number variations* - *CNVs*), assim como ganhos e perdas gênicos. As *CNVs* são uma fonte de diversidade genética em humanos caracterizada por duplicações ou deleções de genes que implicam em manifestações clínicas relevantes dependendo da região envolvida. São classificadas como benignas, mais frequente no genoma humano (6%), incertas ou patogênicas (15,16).

O *CGH-arrays* é recomendado mundialmente como um teste de diagnóstico clínico de primeira linha na investigação de pacientes com TEA e outros transtornos do neurodesenvolvimento, no qual já foram descartadas síndromes monogênicas (17). Possui alta sensibilidade e uma taxa de resolução muito maior que a citogenética convencional. Detecta alterações muito menores e maior número de genes, identificam rearranjos submicroscópicos, microdeleções, microduplicações de DNA e perdas de heterozigose (18).

A análise dos segmentos de DNA é comparada com um genoma de referência (controle) para melhor interpretação dos resultados. Eles, por sua vez, refletem o conhecimento científico disponível na literatura atual, porém esse segmento pode mudar conforme novas informações e avanços da pesquisa na área (19,20). Essa técnica pode ainda auxiliar na identificação de possíveis genes oncológicos, no diagnóstico pré-implantacional e como importante alternativa no diagnóstico de anomalias no pré-natal (18).

Assim como todo teste, o *CGH-arrays* também possui limitações como a não detecção de alterações no DNA mitocondrial, mutações de ponto, pequenas inserções, translocações, inversões e deleções de base (*indels*), rearranjos gênicos complexos, mosaicismos baixo em 30% das células e quaisquer alterações na heterocromatina (21,22).

Estudos demonstram a utilidade clínica do *CGH-arrays* em termos de mudança na assistência médica e no aconselhamento familiar possibilitando às famílias economia de tempo, custos e esforços pessoais e de diagnósticos adicionais, uma vez que é um exame de triagem e de larga escala (23). Porém, ele é apenas mais uma ferramenta que nem sempre leva a conclusão concreta do diagnóstico, mas pode direcioná-lo. Apesar de ser mais barato do que executar diversos exames separados, seu custo ainda não é acessível a todos, desta forma alguns profissionais deixam os familiares cientes da existência do exame, mas optam por não o prescrever (24,25).

Sequenciamento de DNA

O DNA pode ser sequenciado de duas formas: por completo denominado Sequenciamento Completo do Genoma (SCG) ou somente regiões codificantes de proteínas denominadas de éxons - Sequenciamento Completo do Exoma (SCE). Ambas as formas consistem em descrever a sequência de nucleotídeos do DNA do organismo de estudo e identificar regiões polimórficas, mutantes, deletadas, duplicadas e relacionadas a virulência ou resistência. O sequenciamento é indicado para casos inconclusivos. Logo, quanto mais completa as informações clínicas do paciente e histórico familiar for relatado aos profissionais responsáveis pelo teste, mais sensível e direcionada será a análise (20).

O SCG corresponde a uma análise do genoma completo, incluindo regiões codificantes e não codificantes, identificando as alterações genéticas que podem estar associadas ao

TEA ou a outras desordens. Porém a interpretação é bastante complexa e exaustiva, uma vez que serão detectadas alterações relacionadas ou não ao fenótipo patológico individual. Já o SCE analisará as regiões gênicas, especificamente os éxons, que representam apenas 2% do DNA. São analisados aproximadamente 22.000 genes neste exame, dos quais 85% quando alterados, irão expressar uma desordem (26,27). A tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS) permite que esse teste seja realizado de forma mais rápida e acessível do que há algumas décadas atrás.

O sequenciamento é considerado uma técnica em larga escala, pela quantidade de dados que são analisados, contudo estudos sugerem que por ser uma desordem multifatorial muitas alterações em determinados genes são de extrema relevância ao desenvolvimento e prognóstico do transtorno. O conhecimento da mutação genética específica de um indivíduo autista pode interferir completamente na terapêutica do mesmo, permitindo que se sigam outros caminhos que anteriormente não se havia pensado. Além dos benefícios para o indivíduo, o sequenciamento de exomas pode ser a única maneira de os cientistas descobrirem a lista completa de mutações relacionadas ao autismo. Em uma reunião anual da *International Society for Autism Research* de 2018 na Holanda, pesquisadores apresentaram resultados de uma análise sobre o número de genes envolvidos diretamente com o autismo. A pesquisa baseada na técnica de SCE constatou um aumento significativo nos números dos principais genes, de 65 para 102. Esses genes são altamente expressos no desenvolvimento neuronal e cerca da metade deles associados ao atraso intelectual (28).

Aplicabilidades dos exames genéticos

A conduta diagnóstica depende de cada criança avaliada. A avaliação clínica irá sugerir quais exames serão necessários para confirmar uma hipótese. O cariótipo aparece como uma triagem cromossômica, limitada à resolução da técnica, porém muitas vezes necessita de confirmação molecular, uma vez que em uma região cromossômica podem haver genes distintos e nem todos estarem relacionados à patologia. Os testes de triagem molecular como o *CGH-arrays* e o sequenciamento podem ser mais informativos, considerando o aspecto multifatorial do TEA.

Um estudo realizado entre os anos de 2011 e 2017 na Califórnia (EUA), avaliou e comparou a utilidade do SCG, SCE e *CGH-arrays*. As técnicas de sequenciamento são tecnologias em evolução, conseqüentemente sua resolução, sensibilidade e complexidade diagnóstica são maiores que as outras. Apesar do *microarrays* ser recomendado pela Academia Americana de Genética Espectro do Autismo, como teste de primeira linha para o diagnóstico de TEA, a cada ano sua importância diagnóstica diminui gradativamente numa ordem de 14% em relação ao SCG e o SCE (20).

Guo e colaboradores (2019) evidenciam a vantagem de realizar o SCG para detecção do TEA. Os autores descrevem que esse exame possui maior uniformidade de detecção de alterações bem como de regiões CNVs. Todavia, é um método que demanda tempo, capital, concentração, equipamentos modernos, experiência profissional e conhecimento científico-biotecnológico.

Inúmeros pais de crianças com TEA referem-se aos exames moleculares como “uma luz no fim do túnel”. O que antes era desconhecido ou duvidoso, com o auxílio dos testes, torna o impacto do diagnóstico mais tolerável. Como o autismo é muito heterogêneo e particular, através da genética pais e filhos conseguem unir-se em grupos com as mesmas características e juntos adquirem conhecimentos sobre a condição. As organizações, associações e movimentos que proporcionam essa união, também possibilitam que cientistas estudem a existência de algum marcador comum entre os grupos para cada vez

mais esclarecer o espectro (3,30).

Outra viabilidade que esses exames oferecem é com o aconselhamento genético da família. Através deles, os pais juntamente com um profissional especializado e/ou uma equipe multiprofissional podem investigar quais fatores contribuíram para a condição do filho, a probabilidade de terem outra criança autista, como lidar com o preconceito, entre outras atividades que podem ser desenvolvidas para melhorar o bem-estar de toda a família (31, 32).

Segundo as Diretrizes de Atenção à Reabilitação da Pessoa com Transtornos do Espectro do Autismo desenvolvido pelo Ministério da Saúde (2014) e o Departamento de Pediatria do Desenvolvimento e Comportamento da Sociedade Brasileira de Pediatria recomendam que todo profissional de saúde que trabalha com crianças da primeira infância aplique um questionário chamado M-CHAT (*Modified Checklist for Autism in Toddlers*) para pais ou cuidadores responsáveis (33). Composto por 23 perguntas simples, este instrumento é capaz de indicar precocemente a presença de comportamentos característicos do autismo. Ao final do teste é fornecido um escore do total de pontos que define através de uma escala se a criança possui ou não sinais autístico, sempre correlacionando com os dados colhidos na anamnese e exame físico completo. Por se tratar de um questionário de triagem e não de diagnóstico, os resultados podem apontar para a existência de outros transtornos de desenvolvimento para algumas crianças, como por exemplo, atraso de linguagem (34).

4. Considerações Finais

Atualmente, não há ainda um consenso clínico sobre o diagnóstico do autismo, esse foi um dos fatores que o incluíram no grupo dos TEA, englobando vários aspectos e subdivisões. Desta forma, o aperfeiçoamento da biotecnologia tem sido útil no assessoramento aos profissionais de saúde no desfecho do diagnóstico, porém esses exames ainda não são disponibilizados pelo SUS.

Quaisquer ferramentas (testes) que possam ajudar no processo de delineamento terapêutico, seja farmacológico, seja de incentivo no progresso cognitivo proporcionando a criança maior interação social ou desenvolvimento psicomotor, sempre será um grande avanço para ela mesma, para sua família e para a ciência.

Há grande interesse mundial em pesquisas na área de genética em TEA, porém ainda são necessários mais investimentos para alavancar o conhecimento acerca de mutações e genes relacionados a este transtorno. Com a elucidação dos mecanismos envolvidos, novas terapias podem ser propostas. Pela complexidade e heterogeneidade do TEA, tratamentos individualizados com base na medicina de precisão serão o futuro dos pacientes na expectativa de uma melhor qualidade de vida.

5. Referências

1. Horvitz DD, Llerena JC Junior, Mattos RA. Atenção aos defeitos congênitos no Brasil: panorama atual. Cad. saúde pública. 2005; 21(1): 1055-1064.
2. OPAS - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Folha informativa - Transtorno do espectro autista [Internet]. OPAS; 2020. [citado em 2022 Mar 15]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/3-3-2020-nacidos-con-defectos-congenitos-historias-ninos-padres-profesionales-salud-que>.
3. Portolese J, Bordini D, Lowenthal R, Zachi EC, Paula CS. Mapeamento dos serviços que prestam atendimento a pessoas com transtornos do espectro autista no Brasil. Cad. Pós-Grad. Distúrb. Desenvol. 2017; 17(2): 79-91.
4. Zanolla TA, Fock RA, Perrone E, Garcia AC, Perez AB, Brunoni, D, et al. Causas genéticas, epigenéticas e ambientais do transtorno do espectro autista. Cad. Pós-Grad. Distúrb. Desenvol. 2015;

- 15(2): 29-42.
5. Maenner MJ, Shaw KA, Baio J, Washington A, Patrick M, DiRienzo M, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2016. *MMWR Surveill Summ.* 2020; 69(4): 1-12.
 6. OPAS - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Folha informativa - Transtorno do espectro autista [Internet]. OPAS; 2019. [citado em 2022 Mar 15]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/transtorno-do-espectro-autista>.
 7. Brunoni, D. Diagnóstico etiológico dos transtornos do espectro do autismo: quando e quais exames pedir? *Blucher. Med. Proceed.* 2014; 1(4): 132-141.
 8. De Oliveira Jendrieck C. Dificuldades encontradas pelos profissionais da saúde ao realizar diagnóstico precoce de autismo. *Psicol argum.* 2017; 32(483): 153.
 9. Zorzetto R. Legados do genoma [Internet]. *Revista Pesquisa Fapesp*; 2019. [citado em 2020 Abr 10]. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/2019/10/07/legados-do-genoma/>.
 10. De Lima Reis DD, Neder PR, Moraes MC, Oliveira NM. Perfil epidemiológico dos pacientes com Transtorno do Espectro Autista do Centro Especializado em Reabilitação. *Para. Res. Med. J.* 2019; 3(1): e15.
 11. Genomika. Cariótipo em sangue periférico, metodologia e limitações do exame [Internet]. Genomika; 2020. [citado em 2020 Abr 11]. Disponível em: <https://www.genomika.com.br/exames/LCBS>.
 12. Linhares ND, Svartman M, Valadares ER. Diagnóstico citogenético de pacientes com retardo mental idiopático. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2012; 48(1): 33-39.
 13. Shaffer LG. American College of Medical Genetics guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation. *Genet Med.* 2005; 7(9): 650-654.
 14. Oliveira AB, Giunco CT, Carvalho AB, Salles F, Conte AC. Investigação molecular por PCR da síndrome do cromossomo X frágil em homens com transtornos invasivos do desenvolvimento. *Arq. Ciênc. Saúde.* 2004; 11(1): 25-8.
 15. Shaikh TH, Gai X, Perin JC, Glessner JT, Xie H, Murphy K, et al. High-resolution mapping and analysis of copy number variations in the human genome: a data resource for clinical and research applications. *Genome Res.* 2009; 19(9): 1682-1690.
 16. Lins TC. Variação estrutural no número de cópias e sua implicação na expressão de microRNA em humanos [tese]. Brasília: Universidade de Brasília - Faculdade de Medicina, 2014. 106 p.
 17. Do Paço Baylão AC, Do Paço Baylão AL, Utagawa CY. Variação de número de cópias no cromossomo 4: uma possível síndrome genética? *Ver. Bras. Neurol.* 2018; 54(4): 26-29.
 18. Baretto N. Análise de CNVs e indicação clínica em indivíduos com deficiência intelectual e outros distúrbios do desenvolvimento diagnosticados por CGH Array [dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2015. 127 p.
 19. Dorfman LE, Leite JC, Giugliani R, Riegel M. Hibridização genômica comparativa baseada em microarranjos em neonatos com anomalias congênitas: detecção de desequilíbrios cromossômicos. *J. Pediatr.* 2015; 91(1): 59-67.
 20. Clark MM, Stark Z, Farnaes L, Tan TY, White SM, Dimmock D, K, et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genomic Medicine.* 2018; 3(1): 1-10.
 21. D'ambrosio V, Votino C, Cos T, Boulanger S, Dheedene A, Jani J, et al. Role of CGH array in the diagnosis of autosomal recessive disease: a case of Ellis-van Creveld syndrome. *Prenat Diagn.* 2015; 35(1): 97-99.
 22. Genomika. Microarray, metodologia e limitações do exame [Internet]. Genomika; 2020. [citado em 2020 Abr 11]. Disponível em: <https://www.genomika.com.br/exames/MICROARRAY/>.
 23. Reiff M, Giarelli E, Bernhardt BA, Easley E, Spnner NB, Sankar PL, et al. Parents' perceptions of the usefulness of chromosomal microarray analysis for children with autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord.* 2015; 45(10): 3262-3275.
 24. Schaefer GB, Mendelsohn NJ. Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders: 2013 guide line revisions. *Genet Med.* 2013; 15(5): 399-407.
 25. Shin S, Yu N, Choi JR, Jeong S, Lee K. Routine chromosomal microarray analysis is necessary in Korean patients with unexplained developmental delay/mental retardation/autism spectrum disorder. *Ann Lab Med.* 2015; 35(5): 510-518.
 26. Tammimies K, Marshal CR, Walker S, kaur G, Thiruvahindrapuram B, Lionel AC, et al. Molecular diagnostic yield of chromosomal microarray analysis and whole-exome sequencing in children with autism spectrum disorder. *JAMA Netw Open.* 2015; 3(9): 895-903.
 27. Tismoo. Tismoo, 2020. T-Exom®, informações técnicas [Internet]. 2020. [citado em 2020 Abr 10]. Disponível em: <https://tismoo.us/exames/t-exom/#toggle-id-8>.
 28. Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, De Rubeis S, Peng M, et al. Large-scale exome

- sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism. *Cell*. 2020; 180(3): 568-584.
29. Guo H, Duyzend MH, Coe BP, Baker C, Hoekzema K, Gerds J, et al. Genome sequencing identifies multiple deleterious variants in autism patients with more severe phenotypes. *Genet Med*. 2019; 21(7): 1611-1620.
 30. Junior FP. A “Segunda camada” do diagnóstico [Internet]. *Revista Autismo*; 2019. [citado em 2020 Abr 10]. Disponível em: <https://www.revistaautismo.com.br/geral/a-segunda-camada-do-diagnostico-adnp-syngap1-phelan-mcdermid/>.
 31. Hens K, Peeters H, Dierickx K. Genetic testing and counseling in the case of an autism diagnosis: A care givers perspective. *Eur J Med Genet*. 2016; 59(9): 452-458.
 32. Wright J. Why genetic tests matter for autistic people? [Internet]. *Spectrum News*. 2019; [citado em 2020 Abr 28]. Disponível em: <https://www.spectrumnews.org/features/deep-dive/genetic-tests-matter-autistic-people/>.
 33. Losapio MF, Pondé MP. Tradução para o português da escala M-CHAT para rastreamento precoce de autismo. *Rev. psiquiatri. Rio. Gd. Sul*. 2008; 30(3): 221-9.
 34. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Diretrizes de Atenção à Reabilitação da Pessoa com Transtornos do Espectro do Autismo (TEA). Brasília: Ministério da Saúde; 2014. 86 p.
 35. Sociedade Brasileira De Pediatria. Triagem precoce para Autismo/ Transtorno do Espectro Autista. Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento Científico de Pediatria do Desenvolvimento e Comportamento. São Paulo: SBP, 2017. 5 p.