

Identificação de alterações genéticas relacionadas à síndrome do X frágil e ao transtorno de espectro do autismo por meio de ferramentas de bioinformática

Identification of genetic changes related to fragile x syndrome and autism spectrum disorder by bioinformatic tools

Sara Costa Santos¹, Lucas de Sousa Pontes², Maria Elisabete Amaral de Moraes³, Caroline de Fátima Aquino Moreira-Nunes^{4*}

¹Biomédica, Centro Universitário Christus-Unichristus; ²Biomédico, Centro Universitário Christus-Unichristus; ³Professora Titular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; Laboratório de Farmacogenética, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM); ⁴Doutora em Genética e Biologia Molecular; Laboratório de Farmacogenética, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Universidade Federal do Ceará.

Resumo

Introdução: a Síndrome do X Frágil (FXS) é a forma mais prevalente de deficiência intelectual herdável, e é a principal causa monogênica para o desenvolvimento de Transtorno de Espectro do Autismo (TEA). **Objetivo:** o objetivo do presente estudo é identificar RNAm associados às possíveis vias neurocomportamentais na SFX como no TEA, através de ferramentas de bioinformática. **Metodologia:** para identificação de possíveis vias alteradas entre a SFX e pacientes com TEA, utilizamos os bancos de dados GSE65106 e GSE21348 para anotação, visualização e descoberta integrada (DAVID 6.8). O valor de $p < 0,05$ e *fold change* maior que 2 vezes ($FC > 2$) definidos como os limiares para a identificação de genes diferencialmente expressos (DE-RNAm). **Resultados:** foi possível identificar cerca de 32 DE-RNAm com funções em vias de *spliceossomo*, apoptose, transcrição, e em vias neurológicas comportamentais expressos exclusivamente na SFX. Os genes *CAPNS1*, *HNRNPK*, *HNRPM*, foram identificados como hipoexpressos em indivíduos com síndrome do X Frágil. Estes genes tem importante função moduladora nas respostas do potencial de longo prazo (LTP), plasticidade neural, e em transportadores de serotonina (SERT) alterando respostas que englobam humor, cognição e comportamentos, além de interferirem no receptor de dopamina (D2R) alterando as funções motoras e circuitos de recompensa. **Conclusão:** os genes *CAPNS1*, *HNRNPK*, *HNRNPM* foram identificados como marcadores genéticos neurocomportamentais importantes para a síndrome do X-frágil com expressão diminuída na doença, indicando uma possível modulação desses genes em aspectos fenotípicos marcantes da doença. **Palavras-Chaves:** Síndrome do X-Frágil. Autismo. Expressão Gênica Diferencial. Neurocomportamental.

Abstract

Introduction: fragile X Syndrome (FXS) is the most prevalent form of inheritable intellectual disability, and is the leading monogenic cause for the development of Autism Spectrum Disorder (ASD). **Objective:** the aim of this study is to identify mRNA associated with possible neurobehavioral pathways in SFX as in ASD, using bioinformatics tools. **Methodology:** to identify possible altered pathways between SFX and ASD patients, we used the GSE65106 and GSE21348 databases for annotation, visualization and integrated discovery (DAVID 6.8). The p value < 0.05 and fold change greater than 2 times ($HR > 2$) are defined as the thresholds for the identification of differentially expressed genes (DE-mRNA). **Results:** it was possible to identify about 32 DE-mRNA with functions in spliceosome, apoptosis, transcription, and behavioral neurological pathways expressed exclusively in SFX. *CAPNS1*, *HNRNPK*, *HNRPM* genes were identified as hypoexpressed in individuals with fragile X syndrome. These genes play an important modulating role in long-term potential (LTP), neural plasticity, and serotonin transporters (SERT) responses by altering mood, cognition, and behavioral responses, and by interfering with dopamine receptor (D2R) by motor functions and reward circuits. **Conclusion:** the *CAPNS1*, *HNRNPK*, *HNRNPM* genes have been identified as important neurobehavioral genetic markers for impaired X-syndrome, indicating a possible modulation of these genes into marked phenotypic aspects of the disease.

Keywords: Fragile X Syndrome. Autism. Differential Gene Expression. Neurobehavioral.

INTRODUÇÃO

A Síndrome do X Frágil (FXS) é a forma mais prevalente de deficiência intelectual herdável, e a principal causa monogênica para o desenvolvimento do Transtorno de Espectro do Autismo (TEA), onde 60% dos casos de

pacientes portadores de FXS com mutação completa do gene, apresentam comportamentos autistas. (HAGERMAN *et al.*, 2009). A FXS afeta 1 a cada 4.000 meninos e 1 a cada 8.000 meninas, a etiologia de FXS decorre da supressão do gene *Fragile Mental Retardation 1 (FMR1)* e por conseguinte sua resultante proteica, *Fragile Mental Retardation Protein (FMRP)* (LIU *et al.*, 2018).

Em ambos os níveis comportamentais e neurológicos, FXS e TEA são caracterizados por trajetória de desenvolvimentos atípicos, e quando comparados apresentam

Correspondente/Corresponding: *Caroline de Fátima Aquino Moreira-Nunes – End: Laboratório de Farmacogenética, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Universidade Federal do Ceará. Coronel Nunes de Melo n 1000, Rodolfo Teófilo, CEP: 60430-275, Fortaleza, CE. – E-mail: carolfam@gmail.com

consistente sobreposição nos sinais clínicos centrais de: dificuldade de verbalização, dificuldade de interação social, movimentos estereotipados, contato visual ausente (TALKOWSKI *et al.*, 2014; THURMAN *et al.*, 2015).

O conceito mais amplamente associado às alterações e falhas de conexões sinápticas dentro da Síndrome do X Frágil está na ausência de FMRP, pois a mesma é fundamental para a regulação transcricional de receptores de conexões sinápticas dependente de glutamato, que é fundamental na construção de plasticidade neural e memória (ZAFARULLAH; TASSONE, 2019)

A transmissão sináptica dependente de ácido gama amino-butírico (GABA) principal neurotransmissor de inibição do sistema nervoso central, também é uma via alterada na SFX e no TEA. A disfunção neste neurotransmissor está associada ao comprometimento da integridade e/ou ausência de glutamato, uma vez que a ausência da proteína FMRP, leva a disfunção de GABA que é responsável por duas reações principais nos transtornos, hiperexcitabilidade e hipersensibilidade (RAIS; MAHAM, 2018).

A reprogramação de células somáticas para células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) é uma técnica que possibilitou o estudo de células que abrigam mutações específicas, assim como também é uma ferramenta importante para modelar doenças genéticas humanas e esclarecer fisiopatologias (SCHWARTZENTRUBER; JEREMY, 2018).

Dessa forma, as iPSC's podem ser usadas para analisar causa e efeito de mutações específicas semelhantes às mutações encontradas na FXS e no TEA, e em processos iniciais de desenvolvimento que de outra forma seriam inacessíveis para pesquisa. Neste modelo de estudo de transtornos neurocomportamentais, informações de expressão gênica a partir de bancos públicos de informação genética de iPSC's derivadas de fibroblastos com alterações de que remontam as alterações genéticas das doenças alvos do estudo (WAINGER *et al.*, 2018).

Portanto o objetivo do presente estudo é identificar alterações de expressão de genes que estejam associados a possíveis vias neurocomportamentais, presentes tanto na FXS como no TEA, através do uso ferramentas de bioinformática.

METODOLOGIA

Coleta de dados em bancos públicos de informações genômicas

Para a busca das informações genômicas utilizamos informações contidas apenas no banco de dados *Gene Expression Omnibus* (GEO) do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). /www.ncbi.nlm.nih.gov/geo.

Para este projeto, foram selecionados dois conjuntos de dados públicos de expressão gênica (Expression profile by array) de fibroblastos de pele de duas populações: (1) pacientes com TEA e grupo controle – GSE65106; (2) grupo de pacientes com FXS e um grupo controle GSE21348. Nestes conjuntos de dados estão incluídos informações das amostras de células-tronco pluripotentes induzidas

(iPSC's) por derivação de fibroblastos de pele dos dois grupos citados (LIU *et al.*, 2017).

Os conjuntos de dados GSE65106 e GSE21348 foram gerados através da plataforma *Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array – Thermo Fisher Scientific*. Os títulos e resumos desses conjuntos de dados foram selecionados e as informações completas dos conjuntos de dados de interesse foram analisadas.

Análises de dados

Os dados foram normalizados usando a função *normalizeBetweenArrays* do pacote R 'LIMMA' do projeto biocondutor (SMYTH *et al.*, 2005). A análise de expressão diferencial de RNAm foi conduzida usando o pacote de software LIMMA no pacote de análise Biocondutor (<http://www.biocondutor.org/>).

Os códigos relacionados foram colocados no pacote R, e os RNAm diferencialmente expressos (DE-RNAm) nas amostras dos pacientes com de Síndrome do X Frágil em comparação com as amostras de pacientes com Espectro do Autismo.

Para a definição de DE-RNAm, foi definida a métrica matemática de expressão maior que duas vezes, chamado de *fold change* ($FC > 2$) e valor de $p < 0,05$.

Análise de vias funcionais

Para a identificação de possíveis vias genéticas alteradas entre a FXS e pacientes com TEA, foi utilizado o banco de dados para Anotação, Visualização e Descoberta Integrada (DAVID) versão 6.8, (<http://david-d.ncicrf.gov/>). Para a análise de enriquecimento de anotação funcional e de vias para os alvos preditos de DE-RNAm com maior expressão, incluindo a análise da similaridade genética (*Gene Ontology*) e a via de interação metabólica denominada Enciclopédia de Genes e Genoma de Kyoto (KEGG).

As vias de interesse para essa análise foram as de comprometimento e funções neurocomportamentais, de acordo com a apresentação fenotípica das doenças deste estudo.

RESULTADOS

Identificação de vias funcionais dos genes alvos diferencialmente expressos

Após a análise de expressão diferencial comparativa dos dois bancos de dados, foram identificados um total de 32 DE-RNAm, estatisticamente significativos ($p < 0,05$) na Síndrome do X Frágil comparado com Transtorno de Espectro do Autismo.

Destes 32 genes, 20 apresentaram padrão de hiperexpressão (*upregulated*), e subsequente a esta identificação, estes genes foram submetidos a plataforma KEGG para avaliar as vias funcionais onde estes 20 genes hiperexpressos possuíam participação. Os 20 genes, suas vias funcionais e funções moleculares estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Identificação de vias funcionais dos genes hiperexpressos na Síndrome do X Frágil

GENES HIPEREXPRESSOS	NOME	FUNÇÃO MOLECULAR	VIA FUNCIONAL
ANAPC5	<i>Anaphase Promoting Complex Subunit 5</i>	Ligase de proteína ubiquitina	Meiose de oócitos
C6ORF132	<i>Chromosome 6 Open Reading Frame</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
F8A1	<i>Coagulation Factor VIII Associated 1</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
F8A2	<i>Coagulation Factor VIII Associated 2</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
F8A3	<i>Coagulation Factor VIII Associated 3</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
HSPA8	<i>Heat Shock Protein Family A (Hsp70) Member 8</i>	Atividade de ATPase, receptor da proteína de choque térmico	<i>Spliceossomo</i>
NPIPB11	<i>Nuclear Pore Complex Interacting Protein Family Member B11</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
NPIPB13	<i>Nuclear Pore Complex Interacting Protein Family</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
NPIPB3	<i>Nuclear Pore Complex Interacting Protein Family Member B3</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
NPIPB4	<i>Nuclear Pore Complex Interacting Protein Family Member B4</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
NPIPB5	<i>Nuclear Pore Complex Interacting Protein Family Member B5</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
OLFM2	<i>Olfactomedin 2</i>	Estrutura molecular	Não caracterizado
POLR2J	<i>RNA Polymerase II Subunit J</i>	Atividade de polimerase II	Transcrição
POLR2J2	<i>RNA Polymerase II Subunit J2</i>	Atividade de RNA polimerase II	Transcrição
POLR2J3	<i>Subunidade II rpb11-b2 dirigida por DNA polimerase RNA</i>	Subunidade II rpb11-b2 dirigida por DNA polimerase RNA	Transcrição
RFX7	<i>Regulatory Factor X7</i>	Fator de transcrição de ligação ao DNA	Não caracterizado
RPL27A	<i>Ribosomal Protein L27a</i>	Constituinte da estrutura do ribossomo	Ribossomo
RPL41	<i>Ribosomal Protein L41</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
TNPO2	<i>Transportin 2</i>	Atividade transportadora de proteínas de ligação a sequência de localização nuclear	Transcrição
ZC3H10	<i>Zinc Finger CCCH-Type Containing 10</i>	Ligação de RNA	Não caracterizado

Fonte: Dados da Pesquisa.

Os genes apresentados na tabela 1, com padrão de expressão gênica aumentada (*up-regulated*), são componentes envolvidos com processos biológicos importantes na espécie humana tais como processos de transcrição, organização ribossomal e da maquinaria de organização de expressão gênica que fazem parte do complexo de spliceossomo. Dentro desse aspecto onde ocorrem alterações que afetam o mecanismo de *splicing* alternativo pode estar ligada a diversas patologias sendo o ponto de origem de doenças, como podem também modificar a gravidade fenotípica de uma determinada patologia, além de criar características particulares de expressão gênica (BERGSMA *et al.*, 2018).

Destes genes apresentados, *ANAPC5*, *HSPA8*, *POLR2J*, *POLR2J2*, *POLR2J3*, são integrantes que atuam, direta

ou indiretamente no processo de Transcrição de DNA, de onde provém a sustentabilidade de proteínas, moléculas e/ou biomoléculas, que compõem estruturas celulares, receptores, tecidos, sinalização, metabolismo, fatores de crescimento, etc. A hiperexpressão ou a produção excessiva de determinados substratos, enzimas e proteínas, incorrem em citotoxicidade em células neurais que produzem tremores e ataxia na FXS (CHO *et al.*, 2018).

Na análise diferencial, foi também possível identificar 12 genes com padrão de hipossupressão (*downregulated*) na FXS quando comparado com pacientes com TEA, avaliados nos bancos de dados. Os 12 genes, suas vias funcionais e funções moleculares estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Identificação de vias funcionais dos genes Hiporexpressos na Síndrome do X Frágil

GENES HIPOEXPRESSIONADOS	NOME DO TRANSCRITO	FUNÇÃO MOLECULAR	VIA FUNCIONAL
ABCD3	<i>ATP Binding Cassette Subfamily D Member 3</i>	Transportador transmembranar	Não caracterizado
ATL2	<i>Atlantin GTPase 2</i>	Ligação às proteínas da atividade de GTPase	Apoptose
CAPNS1*	<i>Calpain Small Subunit 1</i>	Transdução de sinal	Proliferação apoptose adesão autofagia
HNRNPK*	<i>Heterogeneous Nuclear Ribonucleo-protein K</i>	Atividade catalítica mRNA de ligação à proteína	Spliceosomo
HNRPM*	<i>Heterogeneous Nuclear Ribonucleo-protein M</i>	ligação de mRNA	Spliceosomo
IK	<i>IK Cytokine</i>	Atividade de citocinas	Spliceosomo
MIR7-1	<i>Microrna 7-1</i>	Não caracterizado	Não caracterizado
PDCD4	<i>Programmed Cell Death 4</i>	Não caracterizado	Supressor tumoral
PTGR1	<i>Prostaglandina redutase 1</i>	Atividade oxidoredutase	Não caracterizado
SART1	<i>Spliceosome Associated Factor 1, Recruiter Of U4/U6.U5 Tri-SnRNP</i>	Não caracterizado	Spliceosomo
SART3	<i>Spliceosome Associated Factor 3, U4/U6 Recycling Protein</i>	Não caracterizado	Spliceosomo
USP12	<i>Ubiquitin Specific Peptidase 12</i>	Atividade de endopeptidase do tipo cisteína	Não caracterizado

* Destacamos tais genes devido ao caráter clínico associados aos comportamentos desenvolvidos na FXS e no TEA.

Fonte: Dados da Pesquisa.

Nos resultados da tabela 02, foi possível observar os genes *ATL2*, *CAPNS1*, *HNRNPK*, *HNRPM*, *IK*, *PDCD4*, *SART1*, *SART3*, *USP12* que compõem participação com as funções que incluem spliceosomo, proliferação, apoptose, adesão celular e supressão tumoral. Além dos citados anteriormente, *ABCD3*, *MIR7-1*, *PTGR1* também foram analisados porém nas fontes usadas como bases de dados eles não foram caracterizados ainda.

DISCUSSÃO

A Síndrome do X Frágil resulta da supressão transcricional de gene *FMR1* levando a falha de produção da proteína do retardo mental FMRP. No cérebro a perda de FMRP impede a plasticidade neural através da desregulação da tradução de RNAs alvos (RICHTER *et al.*, 2015; SANTINI; EMANUELA, 2017). O fenótipo comportamental inclui dificuldade de integrar-se socialmente, ansiedade, comprometimento verbal, comportamentos estereotipados ou autolesivos, déficits de atenção e hipersensibilidade a estímulos sensoriais. Tais aspectos fenotípicos caracterizam o compartilhamento de limites diagnóstico com o Transtorno de Espectro do Autismo, onde os achados clínicos em um transtorno é compartilhado no outro (SWANSON; MEGHAN, 2018). Porém, nenhum destes trabalhos anteriores exemplifica, como o presente trabalho, quais são os genes alvos alterados, suas funções, e vias funcionais relacionadas a estes.

Para melhor compreensão e exploração das alterações de expressão gênica, de mutações pontuais, e atividade em neurônios de indivíduos com FXS e TEA, as Células-tronco Pluripotentes Induzidas (iPSC) são tomadas atualmente como uma das melhores técnicas biomoleculares para investigação de doenças neurológicas, por sua capacidade de recapitular estágios até a fase embrionária, como também induzi-las a diferenciar-se em outros tipos de tecidos celulares, preservando mutações genéticas, epigenéticas e a atividade desse neurônios vivos dando oportunidade de intervenções e tratamentos farmacológicos, em genes pontuais, de caráter neurológicos como *CAPNS1*, *HNRNPK*, *HNRPM*, que configuram-se DE-RNAm na FXS (GUIMARÃES *et al.*, 2018).

O gene da Calpaína 1 (*CAPNS1*) é uma protease de cisteína dependente de cálcio, é amplamente disseminada nos tecidos de mamíferos, com maior intensidade no cérebro, especificamente expressa em espinhos dendríticos e em densidades pós-sinápticas. A Calpaína está intimamente ligada na plasticidade sináptica na indução do Potencial de Longo Prazo (LTP). E a inibição por manipulação gênica de Calpaína 1 é fator prejudicial da LTP e formas de aprendizado dependente de receptores metabotrópicos de glutamato mGluR (BRIZ; BAUDRY 2017; ZHU *et al.*, 2015). Este gene fora descrito em outras doenças neurodegenerativas, tendo como exemplo, Doença de Huntington, Doença de Alzheimer, Esclerose Lateral Amiotrófica, Tremor Epizoótico (VOSLER *et al.*, 2008)

Os sinais mencionados nos estudos anteriores são todos fatores contributivos na fisiopatologia dentro da Síndrome do X Frágil e em comportamentos autistas, onde a disfunção de FMRP conduz a interrupção da síntese de proteínas para o desenvolvimento das sinapses, consequentemente essenciais na manutenção da plasticidade normal (LIU et al., 2018). Em experimentos com modelos animais *knockout* para o gene *CAPNS1*, para avaliar quais elementos eram afetados, mostrou inibição de LTP, e prejuízo a memória dos animais quando submetidos ao reconhecimento de objetos (BAUDRY, 2013).

O gene *HNRNPK* ou ribonucleoproteína heterogênea nuclear K, tem múltiplas funções nucleares e citosólicas, dentre as quais se inclui a regulação da transcrição, *splicing* alternativo, silenciamento e da estabilidade do RNA mensageiro (RNAm). Este gene se destaca das outras ribonucleoproteínas heterogêneas nuclear por sua multifuncionalidade, em razão de uma região estrutural, nomeada de região K (FAN et al., 2015).

Um dos recursos importantes que apoia e mostra a característica neurocomportamental, onde *HNRNPK* interage com várias vias de tradução de sinal por ligação direta, é ressaltada pelo estudo do Transportador de Serotonina (SERT) (GYAWALI, 2010). O SERT (*SLC6A4*) desempenha exercício central como transportador a receptores serotoninérgicos. A forma alélica de SERT curta está relacionada ao desenvolvimento de distúrbios neuropsiquiátricos, e essa variação é modulada por *HNPNNK* (SAKAKIBARA et al., 2014). Este gene foi identificado na Síndrome de Au-Kline, e na Síndrome de Okamoto, caracterizadas por atraso do desenvolvimento, deficiência intelectual de leve a grave, traços faciais típicos que incluem fissura palpebrais, ptose, órbitas rasas, língua grande e boca virada para baixo (OKAMOTO, 2019).

Yoon e colaboradores (2013), em um experimento para avaliar como a sequência de poliadenilação distal de SERT modulava comportamentos relacionados à ansiedade, observaram o comportamento de proteínas que tinham atividade e se ligavam a sondas de RNA de SERT, e identificaram a presença do gene *HNPNNK* em lisados de células de cérebro de ratos. Alterações do sistema serotoninérgico causada por inativação genética de SERT poder ter diferentes influências nos comportamentos e de ansiedades e maturação alterada dos sistemas serotoninérgicos a comportamento autolesivos (YOON et al., 2013).

Logo é possível destacar que a desregulação de *HNPNNK* interfere na atividade normal de SERT, que, por conseguinte implica em uma atividade não eficiente da Serotonina, que atua como neurotransmissor executando funções críticas como, humor, cognição e uma série de ações comportamentais (JENKINS et al., 2016). A informação anterior apoia e sugere que na SFX a depleção e a hipossíntese de *HNPNNK* emergem a fisiopatologia visualizada nos comportamento desses indivíduos.

O gene *HNRNPM* é uma ribonucleoproteína heterogênea nuclear abundante com maior evidência no núcleo celular, onde atua como co-participantes com complexo do spliceossomo, descrita e relatada pela primeira vez como reguladora de *splicing* para receptores do fator de crescimento de fibroblastos 2 (GEUENS et al., 2016). Park e colaboradores (2011), realizaram um estudo experimental para avaliar os papéis reguladores da ribonucleoproteína M heterogênea nuclear, sobre receptores mediados por dopamina, e constataram que a *HNRNPM* regula o processo de *splicing* alternativo de receptor mediado por dopamina (D2R), produzindo duas isoforma partir do mesmo gene.

O DR2 é um receptor mediado por dopamina, amplamente estudado para intervenções farmacológicas, para tratamento de doenças neurológicas. O receptor DR2 tem sua função fundamental como agente de manutenção íntegra para controle de funções motoras, na regulação de circuitos de recompensas e na fisiologia da hipófise (PARK, 2011).

Com a hiporregulação de *HNRNPM* ou deleção deste gene, sugere a regulação negativa de D2R, promovendo efeitos negativos sobre os circuitos de recompensa e funções motoras, os duas características citadas são fatores observados dentro da FXS.

CONCLUSÃO

Os dados deste estudo evidenciam o papel importante que os genes *CAPNS1*, *HNRNPK*, *HNRNPM*, apresentam em indivíduos com síndrome do X Frágil. A hipossíntese destes genes, devido as suas funções, modificam as respostas do potencial de longo prazo (LTP) e plasticidade neural, modificam a função do transportador de serotonina (SERT) alterando respostas que englobam humor, cognição e comportamentos. A expressão diminuída desses genes também interfere no receptor mediado por dopamina (D2R) alterando as funções motoras, circuitos de recompensa, e na fisiologia da hipófise, características estas que sobressaem em indivíduos com a Síndrome do X Frágil. O conhecimento de genes e vias funcionais envolvidas na Síndrome do X Frágil dão à classe científica, potenciais alvos e biomarcadores para diagnóstico laboratorial mais acessível, como também intervenção farmacológica, buscando uma melhor qualidade de vida desses indivíduos.

LISTA DE ABREVIATURAS

DE-RNAm	RNA diferencialmente Expresso
FC	<i>Fold Change</i>
<i>FMR1</i>	<i>Fragile Mental Retardation 1</i>
FMRP	<i>Fragile Mental Retardation Protein 1</i>
iPSC	<i>Inducient Pluriponten Somatic Cell</i>
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
FXS	Síndrome do X Frágil
TEA	Transtorno de Espectro do Autismo

REFERÊNCIAS

- BAUDRY, M.; BI, X. Learning and memory: an emergent property of cell motility. **Neurobiol. Learn. Mem.**, Orlando, v. 104, p. 64-72, 2013.
- BERGSMA, A. J. *et al.* Alternative splicing in genetic diseases: improved diagnosis and novel treatment options. *In: International review of cell and molecular biology*. Academic Press, 2018. p. 85-141.
- BRIZ, V.; BAUDRY, M. Calpains: master regulators of synaptic plasticity. **Neuroscientist.**, Baltimore, v. 23, n. 3, p. 221-231, 2017.
- BURATTI, E.; BARALLE, M.; BARALLE, F. E. Defective splicing, disease and therapy: searching for master checkpoints in exon definition. **Nucleic acids research**, London, v. 34, n. 12, p. 3494-3510, 2006.
- CHO, K. J. *et al.* ZMYND10 stabilizes intermediate chain proteins in the cytoplasmic pre-assembly of dynein arms. **PLoS genet.**, San Francisco, v. 14, n. 3, p. e1007316, 2018.
- FAN, X. *et al.* Cytoplasmic hnRNP interacts with GSK3 β and is essential for the osteoclast differentiation. **Scientific reports**, [s.l.], v. 5, p. 17732, 2015.
- GEUENS, T.; BOUHY, D.; TIMMERMAN, V. The hnRNP family: insights into their role in health and disease. **Human genet.**, Berlin, v. 135, n. 8, p. 851-867, 2016.
- GUIMARAES, M. Z. P. *et al.* Generation of ipsc-derived human peripheral sensory neurons releasing substance p elicited by trpv1 agonists. **Front. Mol. Neurosci.**, Lausanne, v. 11, p. 277, 2018.
- GYAWALI, S. *et al.* Association of a polyadenylation polymorphism in the serotonin transporter and panic disorder. **Biol. psychiatry**, New Yprk, v. 67, n. 4, p. 331-338, 2010.
- HAGERMAN, R. J. *et al.* Advances in the treatment of fragile X syndrome. **Pediatrics**, Rio de Janeiro, v. 123, n. 1, p. 378-390, 2009.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O. T. *et al.* Role of estradiol in the expression of genes involved in serotonin neurotransmission: Implications for female depression. **Curr. neuropharmacol.**, San Francisco, v. 17, n. 5, p. 459-471, 2019.
- JAGANATHAN, K. *et al.* Predicting splicing from primary sequence with deep learning. **Cell**, London, v. 176, n. 3, p. 535-548. e24, 2019.
- JENKINS, T. A. *et al.* Influência do triptofano e da serotonina no humor e na cognição com um possível papel do eixo intestino-cérebro. **Nutrientes**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 56, 2016.
- LIU, X. S. *et al.* Rescue of fragile X syndrome neurons by DNA methylation editing of the FMR1 gene. **Cell**, London, v. 172, n. 5, p. 979-992. e6, 2018.
- LIU, X. *et al.* Idiopathic autism: cellular and molecular phenotypes in pluripotent stem cell-derived neurons. **Mol. Neurobiol.**, New york, v. 54, n. 6, p. 4507-4523, 2017.
- MARTINS, E. A. C.; MACIEL FILHO, P. R. Mecanismos de expressão gênica em Eucariotos. **Rev. Biol.**, Lisboa, v. 4, p. 1-5, 2018.
- OKAMOTO, N. Okamoto syndrome has features overlapping with Aukline syndrome and is caused by HNRNP mutation. **Am. J. Med. Genet. A**, Estados Unidos, v. 179, n. 5, p. 822-826, 2019.
- PARK, E. *et al.* Regulatory roles of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M and Nova-1 protein in alternative splicing of dopamine D2 receptor pre-mRNA. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 286, n. 28, p. 25301-25308, 2011.
- PLASCHKA, C. *et al.* Prespliceosome structure provides insights into spliceosome assembly and regulation. **Nature**, New York, v. 559, n. 7714, p. 419, 2018.
- PUGIN, A. *et al.* Clinical, molecular, and pharmacological aspects of FMR1-related disorders. **Neurología (English Edition)**, [s.l.], v. 32, n. 4, p. 241-252, 2017.
- RAIS, M. *et al.* Sensory processing phenotypes in fragile X syndrome. **ASN neuro**, v. 10, p. 1759091418801092, 2018.
- RICHTER, J. D.; BASSELL, G. J.; KLANN, E. Dysregulation and restoration of translational homeostasis in fragile X syndrome. **Na. Rev. Neurosc.**, London, v. 16, n. 10, p. 595-605, 2015.
- SAKAKIBARA, Y. *et al.* Developmental alterations in anxiety and cognitive behavior in serotonin transporter mutant mice. **Psychopharmacology**, Berlin, v. 231, n. 21, p. 4119-4133, 2014.
- SANTINI, E. *et al.* Reducing eIF4E-eIF4G interactions restores the balance between protein synthesis and actin dynamics in fragile X syndrome model mice. **Sci. Signal.**, Washington, v. 10, n. 504, p. eaan0665, 2017.
- SCHWARTZENTRUBER, J. *et al.* Molecular and functional variation in iPSC-derived sensory neurons. **Nat. genet.**, New York, v. 50, n. 1, p. 54, 2018.
- SMYTH, G. K. Limma: linear models for microarray data. *In: Bioinformatics and computational biology solutions using R and Bioconductor*. New Yor: Springer, 2005. p. 397-420.
- SWANSON, M. R. *et al.* Development of white matter circuitry in infants with fragile X syndrome. **JAMA psychiatry**, Chicago, v. 75, n. 5, p. 505-513, 2018.
- TALKOWSKI, M. E.; MINIKEL, E. V.; GUSELLA, J. F. Autism spectrum disorder genetics: diverse genes with diverse clinical outcomes. **Harv. Rev. psychiatry**, St Louis, v. 22, n. 2, p. 65-75, 2014.
- TASSONE, F. Molecular Biomarkers in Fragile X Syndrome. **Brain sciences**, Cambridge, v. 9, n. 5, p. 96, 2019.
- THURMAN, A. J. *et al.* Autism symptomatology in boys with fragile X syndrome: a cross sectional developmental trajectories comparison with nonsyndromic autism spectrum disorder. **J. autism dev. Disord.**, New York, v. 45, n. 9, p. 2816-2832, 2015.
- VOSLER, P. S.; BRENNAN, C. S.; CHEN, J. Calpain-mediated signaling mechanisms in neuronal injury and neurodegeneration. **Mol. Neurobiol.**, New York, v. 38, n. 1, p. 78-100, 2008.
- WAINGER, B. J.; LAGIER-TOURENNE, C. Taking on the Elephant in the Tissue Culture Room: iPSC Modeling for Sporadic ALS. **Cell stem cell**, Estados Unidos, v. 23, n. 4, p. 466-467, 2018.
- WILKINSON, M. E. *et al.* Postcatalytic spliceosome structure reveals mechanism of 3'-splice site selection. **Science**, [s.l.], v. 358, n. 6368, p. 1283-1288, 2017.
- YOON, Y. *et al.* Anxiety-associated alternative polyadenylation of the serotonin transporter mRNA confers translational regulation by hnRNP. **Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v. 110, n. 28, p. 11624-11629, 2013.
- ZAFARULLAH, M.; TASSONE, F. Molecular Biomarkers in Fragile X Syndrome. **Brain sci.**, Cambridge, v. 9, n. 5, p. 96, 2019.
- ZHU, G. *et al.* Different patterns of electrical activity lead to long-term potentiation by activating different intracellular pathways. **J. Neurosci.**, Baltimore, v. 35, n. 2, p. 621-633, 2015.

Submetido em: 18/12/2019

Aceito em: 10/07/2020