

Estruturas Nervosas Comprometidas no Autismo: Um Enfoque Neurogenético

*Nelson F. Annunziato **

Cada vez mais, cresce a aceitação de que o autismo infantil é uma doença de causa orgânica, cuja origem está em desordens do desenvolvimento do sistema nervoso (SN). Essas podem culminar, por sua vez, em déficits sensitivos, cognitivos e sociais.

Estudos histopatológicos de autópsias têm demonstrado uma diminuição do número de neurônios em algumas áreas do SN de pacientes autistas. As áreas mais afetadas, foram o verme e os hemisférios cerebelares, com um número diminuído de células de Purkinje e de células granulares (ARIN e col., 1991; BAUMAN, 1991; BAUMAN & KEMPER, 1985; RITVO e col., 1986; WILLIAMS e col., 1980).

Ainda que alterações neurohistopatológicas do tronco encefálico (TE) não sejam freqüentemente relatadas em exames de autópsia de pacientes autistas, investigações fisiológicas como, por exemplo, potenciais auditivos evocados de TE ou potenciais somatosensoriais evocados de curta latência, revelaram, também, alterações específicas (HASHIMOTO e col., 1986; ORNITZ, 1985, 1987, 1988; THIVIERGE e col., 1990).

Interessante, entretanto, é o fato de que, mesmo apesar da descrição ocasional de anormalidades histopatológicas no TE, vários estudos neurorradiológicos relataram uma hipoplasia cerebelar, freqüentemente acompanhada de uma hipoplasia de TE (mesencéfalo, ponte e bulbo) (CIESIELSKI e col., 1990; COURCHESNE e col., 1994a; COURCHESNE e col., 1994b; HASHIMOTO e col. 1992a; HASHIMOTO e col., 1993a; HASHIMOTO e col., 1993b; HASHIMOTO e col. 1992b; KLEIMAN e col., 1992; PIVEN e col., 1992).

Talvez possamos compreender melhor o porquê de não se descrever freqüentemente alterações histopatológicas no TE, quando nos lembramos de que o mesmo é uma estrutura nervosa altamente complexa. O TE alberga dez dos doze núcleos de nervos encefálicos, como o núcleo oculomotor (III), troclear (IV), complexo trigeminal (V) com seus núcleos sensitivos (mesencefálico, sensitivo principal e núcleo do trato espinal) e núcleo motor (V), núcleo abducente (VI), núcleo motor do facial (VII), vestibulo-coclear (VIII), núcleo do trato solitário (sensitivo do VII, IX e X), núcleo ambíguo (núcleo motor do IX, X e XI), núcleo motor dorsal do vago (X), acessório (XI), hipoglosso (XII), além do núcleo rubro, substância negra, substância cinzenta peri-aquedutal, "locus ceruleus", núcleos pontinos, complexo olivar, núcleos salivatórios rostral e caudal, além, é claro, da importante formação reticular, complexo nuclear da rafe, centro cárdio-vascular bulbar,

RESUMO

O autor faz uma revisão de alguns estudos histoneuropatológicos, investigações neurofisiológicas e neurofarmacológicas, e imagens neuroradiográficas de pacientes autistas, onde os resultados mostram comprometimentos de estruturas nervosas como cerebelo, tronco encefálico, hipocampo, corpo caloso e lobo parietal. Após uma breve abordagem anátomo-funcional dessas estruturas nervosas, o autor discorre sobre mutações neurogenéticas que afetam as mesmas áreas nervosas comprometidas no autismo. Levanta-se, através desse dados, a hipótese de que os comprometimentos de estruturas nervosas em pacientes autistas já poderiam estar determinados por desordens genéticas.

UNITERMOS

Autismo, Distúrbios genéticos, Mutação genética.

* Doutor em Ciências pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP e pela "Medizinische Universität zu Lübeck" (Alemanha).

complexo pontino-bulbar respiratório. Além dessas estruturas, algumas fibras terminam no TE, como, p.ex., fibras espino-reticulares, córtico-reticulares, córtico-nucleares, córtico-pontinas. Outras fibras se originam em estruturas do TE, como, p.ex., fibras tecto-espinais, rubro-espinais, vestibulo-espinais, vestibulo-cerebelares, olivo-cerebelares, olivo-espinais, retículo-espinais, retículo-talâmicas, leminisco medial, leminisco lateral, leminisco trigeminal, fascículo longitudinal medial, projeções nigro-estriatais, sistema ativador reticular ascendente (SARA), fibras ponto-cerebelares. Completando o quadro de complexidade dessa estrutura nervosa, vemos, ainda, a existência de fibras de passagem, como fibras espino-cerebelares, fibras córtico-espinais.

Evidentemente, todo e qualquer exame histopatológico dessa área deverá ser extremamente metucioso e, mesmo assim, contar com extrema dificuldade e margem de erro, principalmente quando se compara o número de células nervosas dessa complexa estrutura. Essa dificuldade, no entanto, é menor em relação ao cerebelo, devido à sua simplicidade organizacional. O córtex cerebelar é, citoarquitectonicamente, dividido em três camadas que possuem um número relativamente pequeno de tipos celulares.

Por ser o cerebelo uma das estruturas comprometidas no autismo, faremos aqui uma breve revisão sobre o desenvolvimento cerebelar, tipos de células e principais conexões para, em seguida, abordarmos algumas mutações genéticas que afetam o desenvolvimento embrionário e ou pós-natal de algumas estruturas nervosas também comprometidas no autismo.

Há muitas vantagens em se utilizar o cerebelo como um modelo para o estudo dos fatores que afetam o crescimento e desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC). Talvez, o

Tabela 1 Conexões aferentes e eferentes do cerebelo		
Origem	Tipo de fibra/trato	Destino
Pedúnculo Cerebelar Rostral		
Aferente		
Medula espinal	Fibra musgosa Trato espinocerebelar ventral (1/3)	Córtex do lóbulo anterior
Eferente		
N. fastigial	cruzado	NN. vestibulares e Formação reticular
N. interpósito	cruzado / ped. cerebelar rostral	N. rubro e núcleos ventral anterior (VA) e ventral lateral (VL) do Tálamo
N. Denteado	cruzado / ped. cerebelar rostral	N. VA e VL do Tálamo
Pedúnculo Cerebelar Médio		
Aferente		
Núcleos pontinos	Fibra musgosa (cruzado) Trato ponto-cerebelar	Córtex (todo, com excessão do lóbulo floculonodular)
Pedúnculo Cerebelar Caudal		
Aferente		
Medula espinal [N. cuneiforme acessório e N. torácico (Clark)]	Fibra musgosa/Trato espinocerebelar ventral e dorsal	Lóbulo anterior e parte do lóbulo posterior (Piramide e Uvula)
Complexo Olivar (córtex cerebral, N. caudado, Globo Pálido e medula espinal)	Fibra trepadeira (cruzado)	Córtex (todo)
Formação reticular	Fibra musgosa	Córtex (todo)
N. reticular lateral (córtex cerebelar e medula espinal)	Fibra musgosa	Córtex (todo)
Gânglios vestibulares	Fibra musgosa/Corpo justarestiforme	N. fastigial, Córtex do lóbulo floculonodular
Núcleos vestibulares	Fibra musgosa/Corpo justarestiforme	N. fastigial, Córtex do lóbulo floculonodular
Eferente		
Células de Purkinje do lóbulo floculonodular	Corpo justarestiforme	Núcleos vestibulares

que nos salta aos olhos, à primeira vista, seja a relativa simplicidade organizacional e a uniformidade estrutural que o córtex cerebelar possui, quando comparado com outras regiões do SNC, como, por exemplo, com o TE.

A origem, curso e conectividades das projeções aferentes do cerebelo tornaram-se muito bem conhecidas nas décadas de 60 e 70 (ECCLES e col., 1967; PALAY & CHAN-PALAY, 1974). A ontogênese cerebelar, por sua vez, foi muito bem documentada e descrita, com conhecimento preciso do período em que as células são geradas, assim como o tempo em que os aferentes estabelecem conexões, a cronologia das sinaptogêneses e o tempo do crescimento dendrítico. A aparente simplicidade do córtex cerebelar deve-se, em parte, ao pequeno número de tipos neuronais que o compõem. Cinco tipos de células nervosas são, basicamente, descritos: células de Purkinje, células granulares, células em cesto, células estreladas e células de Golgi. As três primeiras são notadamente homogêneas, ao passo que as duas últimas incluem um grande número de subtipos.

Mesmo que o córtex cerebelar apresente esse número pequeno de tipos neuronais, ele inclui exemplares das menores (granulares) e das maiores células (Purkinje), assim como dos tipos mais complexos e mais simples de neurônios existentes no SN.

Faremos aqui, de maneira sucinta, uma revisão da anatomia e da ontogênese cerebelar, a fim de que possamos correlacionar melhor os dados neuropatológicos e neuroradiográficos com os sinais exibidos pelos pacientes autistas.

Anatomia do Cerebelo

Vejamos, inicialmente, as conexões extrínsecas e intrínsecas do cerebelo (tabela 1).

O cerebelo é uma estrutura de origem rombencefálica, está alojado na fossa posterior do crânio, abaixo da tenda do cerebelo e está conectado ao tronco encefálico através de três pedúnculos: **pedúnculo cerebelar caudal**, **pedúnculo cerebelar médio** e **pedúnculo cerebelar rostral**. Esses pedúnculos são, em realidade, três pares maciços de feixes de fibras aferentes e eferentes do cerebelo. Em geral, as fibras que trazem impulsos ao cerebelo entram através dos pedúnculos cerebelares caudal e médio, enquanto as fibras que o abandonam, fazem-no através do pedúnculo cerebelar rostral.

Existem, entretanto, exceções como, por exemplo, certas fibras espinocerebelares que carregam impulsos da medula espinal ao cerebelo através do pedúnculo cerebelar rostral e certas fibras do lóbulo floculonodular e núcleo fastigial (estruturas cerebelares vinculadas com os núcleos vestibulares) que saem do cerebelo através do pedúnculo caudal.

Em geral, as fibras ascendentes da medula espinal (espino-cerebelares), formação reticular (retículo-cerebelares) e núcleos vestibulares (vestíbulo-cerebelares) são homolaterais, enquanto as fibras

provenientes do núcleo olivar inferior e núcleos pontinos são contralaterais. De maneira semelhante, as vias eferentes que se dirigem para centros mais rostrais como, por exemplo, para o núcleo rubro e núcleos talâmicos, cruzam para o lado oposto, enquanto fibras descendentes para os núcleos vestibulares e formação reticular permanecem homolaterais. Aqui, também encontramos algumas exceções, como as fibras do fascículo uncinato que, ao deixarem o núcleo fastigial, cruzam para o lado oposto e dirigem-se para os núcleos vestibulares e formação reticular contralaterais. A tabela 2 contém um resumo das principais vias e as classifica de acordo com os pedúnculos por onde passam, bem como o tipo de trato e território-alvo.

Em contraste com um padrão relativamente complexo de vias aferentes e eferentes que o cerebelo possui, o seu córtex exibe uma estrutura surpreendentemente uniforme e simples.

O cerebelo é formado por folhas, as quais são laminadas e contém, de dentro para fora, a substância branca e três camadas, a saber: (1) **camada granular**, (2) **camada das células de Purkinje** e (3) **camada molecular**.

As fibras que adentram no cerebelo são chamadas de **fibras musgosas**, **fibras trepadeiras** e **fibras monoaminérgicas**. Essas fibras mielínicas, juntamente com os axônios mielínicos das células de Purkinje, constituem a substância branca do cerebelo e conectam importantes centros nervosos com o córtex cerebelar e vice-versa.

As **fibras trepadeiras** originam-se, predominantemente, no **núcleo olivar inferior** contralateral e possuem atividade excitatória sobre as células de Purkinje. Assim que adentram no cerebelo, essas fibras emitem colaterais para os núcleos cerebelares, situados, à semelhança dos núcleos da base, na substância branca. Elas cruzam a camada granular, onde outras colaterais fazem sinapse com as células de Golgi e com as células granulares, e ascendem, finalmente, para a camada molecular, ramificando-se amplamente em um plexo terminal, o qual, como uma planta trepadeira, estabelece contato sináptico com o seu alvo principal, as células de Purkinje, na proporção de um para um (ECCLES e col., 1967). Tendo em vista que o alvo principal dessas fibras é a célula de Purkinje, a influência das fibras trepadeiras sobre essas últimas pode ocorrer, também, de maneira indireta, ou seja, através dos contatos sinápticos com as células granulares, células de Golgi, células estreladas e células em cesto (fig. 1). No caso dessas duas últimas células, a influência é inibitória, através de um processo chamado de desfacilitação.

As **fibras musgosas**, por sua vez, provêm de um grande número de centros situados no SNC, incluindo desde as vias homolaterais da medula espinal, até as vias contralaterais oriundas do córtex cerebral. As fibras musgosas têm, também, por objetivo final influenciar as atividades das células de Purkinje,

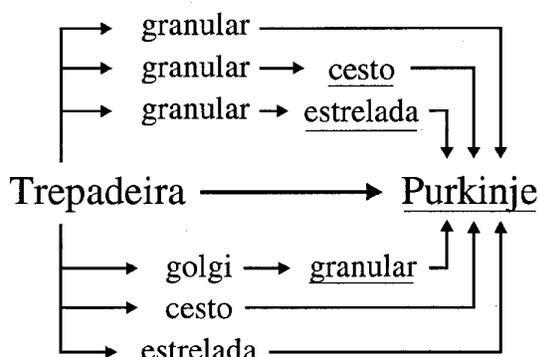


FIGURA 1

Diagrama das conexões neuronais das fibras trepadeiras. A seta maior representa as projeções maciças dessas fibras sobre as células de Purkinje. As células sublinhadas representam as células inibitórias do córtex cerebelar.

(Modificado de ANNUNCIATO, 1991)

podendo fazê-lo através das células granulares ou através das células de Golgi (fig. 2). Neste último caso, a inibição também ocorre através do processo de desfacilitação. Essas fibras ramificam-se, predominantemente, na camada granular e fazem sinapse com as células granulares e com as células de Golgi, através de uma característica morfológica peculiar e distinta, qual seja, através de uma dilatação terminal denominada de **roseta musgosa**.

Finalmente, as **fibras monoaminérgicas**, oriundas, predominantemente, do **locus ceruleus (noradrenérgicas)** e **complexo nuclear da rafe (serotoninérgicas)**, têm, de maneira semelhante às fibras trepadeiras e fibras musgosas, como alvo principal, as células de Purkinje. As fibras monoaminérgicas podem ser divididas em dois grupos: o sistema de neurônios 5 hidroxitriptaminérgicos (5HT) e o sistema noradrenérgico (NA).

O sistema 5HT é complexo devido a três tipos distintos de axônios, ou seja, fibras paralelas típicas, fibras musgosas típicas e um grupo de axônios difusos com terminações específicas, as quais se ramificam através de toda lâmina cortical.

O sistema NA possui, também, um grupo de axônios difusos, os quais se ramificam dentro das camadas granular e molecular em todas as folhas.

Todos os sistemas de fibras acima descritos fazem contatos sinápticos excitatórios.

As pequenas células nervosas situadas na camada granular, as **células granulares**, são as únicas células nervosas posicionadas no córtex cerebelar que se utilizam de mediador químico excitatório, o **glutamato**. Essas células recebem impulsos

excitatórios das fibras trepadeiras (fig. 1) e de fibras musgosas (fig. 2), e impulsos inibitórios das células de Purkinje e das células de Golgi. Seus axônios ascendem através da camada das células de Purkinje para a camada molecular, onde se dicotomizam em um "T" ou, menos freqüentemente, em um "Y", dando origem a um par de fibras finas que correm paralelamente ao seu eixo longitudinal, ou seja, paralelas a superfície cerebelar, o que lhes valeu o nome de fibras paralelas. Essas fibras estabelecem conexões com as árvores dendríticas das células de Purkinje. Além de constituírem o maior contingente da camada molecular, as fibras paralelas estabelecem conexões excitatórias também com os dendritos das células de Golgi, com os dendritos das células estreladas e das células em cesto.

As células granulares do córtex cerebelar são as menores células do corpo. Seu número é enorme e elas são densamente agrupadas no córtex cerebelar de todos os vertebrados. Elas chegam a perfazer quase 90% de todos os neurônios do córtex cerebelar. Sua densidade é estimada, no **cerebelo humano**, como sendo de 3 a 7 X 10⁶ células granulares/mm³ na camada granular (BRAITENBERG & ATWOOD, 1958) e a sua proporção para com as células de Purkinje chegou a ser estimada em 1.769 células granulares para uma célula de Purkinje (SMOLYANINOV, 1971).

Ainda, na camada granular encontramos as **células de Golgi**, cujos dendritos recebem, principalmente, contato sináptico excitatório das fibras paralelas e inibitórios das células estreladas e das células em cesto. Na camada granular, alguns dendritos recebem conexões excitatórias das fibras trepadeiras, das fibras musgosas (glomérulo cerebelar musgoso) e também das fibras paralelas. Nessa camada, os impulsos inibitórios recebidos por essas células são provenientes das células de Purkinje. As **células de Golgi** têm ação inibitória e utilizam como mediador químico o **ácido gama-amino-butírico (GABA)**.

A camada das **células de Purkinje**, como o próprio nome já diz, é formada por fileiras de células de Purkinje, cujos dendritos se arborizam na camada molecular. Seus dendritos recebem impulsos excitatórios das fibras paralelas, das fibras trepadeiras, das fibras musgosas e das fibras monoaminérgicas (NA e 5HT) e impulsos inibitórios das células em cesto, das células estreladas e dos axônios recorrentes provenientes das próprias células de Purkinje.

O axônio da célula de Purkinje segue, após a mielinização, diretamente através da camada granular, para a substância branca. **As células de Purkinje possuem ação inibitória sobre outras células do córtex cerebelar, sobre os núcleos cerebelares e núcleos vestibulares**. Esses axônios constituem a única via de eferência do córtex cerebelar e dirigem-se, predominantemente, para os núcleos cerebelares (fastigial, globoso, emboliforme e denteado). **Alguns axônios projetam-se diretamente para o núcleo vestibular lateral. Todas as sinapses estabelecidas**

pelas células de Purkinje têm efeito inibitório, uma vez que o mediador químico utilizado por essas células é o ácido gama-amino-butírico (GABA). A célula de Purkinje pode ser comparada com um neurônio motor da medula espinal, pois ela é a via final comum de todas as informações carregadas pelas fibras aferentes ao cerebelo.

Uma única célula de Purkinje pode receber até cerca de 200.000 sinapses, constituindo-se no neurônio que mais recebe contatos sinápticos dentro do SNC (ROSS e col., 1990).

A primeira citação desta célula data de 1836 e foi feita por MUELLER. Um ano mais tarde, precisamente em setembro de 1837, por ocasião de uma assembléia de cientistas e físicos alemães, o cientista Tcheco, Juan Evangelista PURKINJE, descreveu com mais precisão "os grandes neurônios do córtex cerebelar", os quais são, até hoje, conhecidos pelo seu nome.

Estudos vinculados com a idade dos animais revelaram que há uma perda fisiológica de células de Purkinje no córtex cerebelar de camundongos (STURROCK, 1989a e STURROCK, 1990b). Essas perdas mostram-se, em animais normais, relacionadas com a morte de neurônios localizados nos núcleos olivares inferiores (CADDY & BISCHOE, 1976). A morte neuronal tem sido considerada como um mecanismo regulatório no controle do número de células nervosas no SN (COWAN, 1973); no entanto, **perdas de células de Purkinje podem resultar, também, em morte de neurônios dos núcleos olivares inferiores, por mecanismo de morte celular transneuronal retrógrada** (COWAN, 1970; SOTELO, 1974a; SOTELO, 1979; SHOJAEIAN-ZANJANI e col., 1990).



FIGURA 2

Diagrama das conexões neuronais das fibras musgosas. A seta maior representa as projeções maciças dessas fibras sobre as células de Purkinje. As células sublinhadas representam as células inibitórias do córtex cerebelar. (Modificado de ANNUNCIATO, 1991)

A célula de Purkinje é, certamente, uma das mais interessantes células nervosas conhecidas, primeiro por ter uma posição focal na arquitetura do córtex cerebelar e, segundo, por desempenhar um papel de importância crucial dentro da citologia e funcionalidade cerebelar.

Ainda, na camada molecular, além das fibras paralelas, dendritos das células de Purkinje, dendritos das células de Golgi, encontramos as células estreladas e as células em cesto. Os axônios dessas últimas envolvem o corpo e o segmento inicial dos axônios das células de Purkinje, originando um padrão de ramificação que lhes valeu o nome.

As **células estreladas** situam-se, também, na camada molecular e, assim como as células em cesto, recebem impulsos excitatórios das fibras trepadeiras e das fibras paralelas, e impulsos inibitórios das próprias células em cesto e de outras células estreladas, e utilizam o **ácido gama-amino-butírico (GABA)** como neurotransmissor. Suas projeções são, portanto, inibitórias e destinam-se às células de Golgi, células de Purkinje e às próprias células em cesto e estreladas.

Desenvolvimento do Cerebelo

Enquanto as **fibras musgosas** estabelecem suas primeiras conexões com os dendritos das células granulares na segunda semana de vida pós-natal (LARRAMENDI, 1967), as **fibras trepadeiras** adentram no cerebelo logo após o nascimento.

As **fibras noradrenérgicas** são as primeiras a invadir o cerebelo (SEIGER & OLSON, 1973; SIEVERS e col., 1980), por volta do 16º dia embrionário, segundo estudos realizados em camundongos. Por ocasião do nascimento, essas fibras invadem a camada granular e a camada das células de Purkinje.

O sistema intrínseco de axônios é estabelecido "pari passu" com o gerar progressivo de outros neurônios. A sinaptogênese dos axônios das células em cesto e das células estreladas ocorre na segunda semana pós-natal, enquanto as fibras paralelas estabelecem contatos com as espículas dendríticas das células de Purkinje somente durante a segunda e a terceira semana (DELHAYE-BOUCHAUD e col., 1978). As árvores dendríticas das células de Purkinje e das células de Golgi são elaboradas na terceira semana e desempenham importante papel no desenvolvimento normal do cerebelo (HERRUP & MULLEN, 1979b).

Formação das Conexões no Cerebelo

Enquanto os principais tractos axonais do SNC parecem estar subordinados a um **código genético**, várias evidências indicam que a **formação das conexões neurais centrais sejam definidas com menos precisão** (SIDMAN, 1968). Dessa forma, os

genes codificariam a qualidade das conexões formadas, isto é, a probabilidade de um elemento se conectar com outro, mas o atual número de conexões estabelecidas seria determinado, em primeiro lugar, através do número relativo do potencial de interação axonal e dendrítico presentes no microambiente nervoso em um dado período e, em segundo lugar, através de um processo de estabilização funcional (SOTELO; 1979), no qual haveriam uma sobreprodução de sinapses que deixam de existir quando o sistema se torna funcional. Em outras palavras, ocorreria a perda de conexões redundantes.

No cerebelo esta última hipótese é validada por observações de que as células de Purkinje são inervadas por múltiplas fibras trepadeiras do núcleo olivar inferior nos estágios iniciais do desenvolvimento (uma fibra trepadeira faz sinapse com, aproximadamente, 15 células de Purkinje)

(CREPEL&MARIANI, 1976; CREPEL e col., 1976). Com a aquisição da maturidade neuronal, essa relação passa a ser de “uma para uma” (ECCLES, e col., 1967) presente no cerebelo adulto.

A redução das sinapses das fibras trepadeiras está relacionada com as atividades das fibras paralelas, através de um **fenômeno de competição**.

Vejamos, agora, alguns fascinantes exemplos de mutações genéticas que a natureza tem ofertado, para um melhor entendimento de algumas desordens genéticas e algumas alterações encontradas no SN de pacientes autistas.

Descreveremos aqui algumas mutações que afetam estruturas cerebelares, incluindo **mutações homólogas cerebelares entre o camundongo e o homem**. Abordaremos aqui somente as mutações que afetam, principalmente, as células de Purkinje e células granulares (Tabela 2).

Tabela 2 Mutações cerebelares no camundongo				
Nome	Símbolo Genético	Cromossomo	Linhagem e Marcadores Genéticos	Características
Homólogos Diretos de Mutações Humanas				
“Brindled”	Mo ^{br}	X	C3H/HeJ-Mo ^{br-J/+}	Um dos muitos alelos do locus “Mottled”; corresponde à síndrome de Menkes humana; forma letal precoce no camundongo, afetando mais as células de Purkinje do que as células granulares; afeta também alguns neurônios talâmicos e corticais específicos. A arborização dendrítica das células de Purkinje mostra-se com forma anormal; células granulares heterotópicas.
“Beige”	bg	13	C57BL/6J-bg/+ SB/Le-A ^W /A ^W -bg sa/bg sa C57BL/6J-bg ^J C3H/HeJ-bg ^J	Homólogo à doença de Chediak-Higashi; as células de Purkinje são afetadas a partir dos cinco meses de vida pós-natal.
“Wasted”	wst	2	B6C3-a/a-wst	Similar à doença humana ataxia telangectasia; anormalidades evidentes a partir de P20, levando à morte em P30; as células de Purkinje são pequenas e reduzidas em número no estágio terminal.
“Reeler”	rl	5	C57BL/6J-rl B6C3-a/a-rl	Erro de posicionamento dos primeiros neurônios cerebelares e cerebrais que migram para o córtex; células de Purkinje atingem posições anormais; deficiência secundária de células granulares.

Tabela 2 Mutações cerebelares no camundongo (continuação)				
Nome	Símbolo Genético	Cromossomo	Linhagem e Marcadores Genéticos	Características
Homólogos Diretos de Mutações Humanas				
“Staggerer”	sg	9	C57BL-+d sc/-sg++	Déficit neonatal de células de Purkinje; insucesso no desenvolvimento das espículas dendríticas terciárias; perda secundária de células granulares.
“Lurcher”	Lc	6	B6CBA-A ^{WJ} A-Lc C57BL/6J-Lc	Perda de células de Purkinje com início na segunda semana pós-natal; perda secundária, extensiva e progressiva de células granulares; perda tardia de células do núcleo olivar inferior.
“Purkinje cell degeneration”	pcd	13	C57BL/6J-pcd C3H/HeJ-pcd B6C3-a/a-pcd	Perda de células de Purkinje com início na terceira semana pós-natal; perda lenta e progressiva de células granulares; perda de neurônios específicos da retina, bulbo olfatório e tálamo com incílios variados.
“Nervous”	nr	8	BALB/cGr-nr/+ C3HeB/FeJ-nr	Perda de células de Purkinje com início na terceira semana pós-natal, mas com progressão mais lenta e menos completa que <i>pcd</i> ou <i>Lc</i> .
Mutações que Afetam Predominantemente as Células Granulares				
“Weaver”	wr	16	C57BL/6J-wv B6CBA-A ^{WJ} /A-wvl	Incapacidade das primeiras células granulares pós-natais em gerar axônio, deslocar o corpo celular (migrar) e de sobreviver “in vitro” e “in vivo”; heterozigotos com quadro similar mas menos intenso.
“Tortured”	tor	-	C57BL/6J	Perda de células granulares com início na segunda semana pós-natal e progredindo por mais de um ano; algumas células de Purkinje mostram-se tardiamente afetadas, com sinais de regressão; há perda de várias classes de células nervosas na parte central e periférica do sistema nervoso.

Tabela 2 Mutações cerebelares no camundongo (continuação)				
Nome	Símbolo Genético	Cromossomo	Linhagem e Marcadores Genéticos	Características
Outras Mutações que Afetam o Córtex Cerebelar				
"Meander tail"	mca	4	Não "inbred"	Alterações dos neurônios do córtex cerebelar; principal, mas não exclusivamente, no lobo anterior do cerebello.
"Swaying"	sw	15	B6C3-a/a-sw	Más formações embrionárias do quarto ventrículo e de estruturas adjacentes, com maior impacto no lobo anterior do cerebello.
"Stumbler"	stu	-	C3H/HeJ-stu/+ C3HeB/FeJLe- a/a-stu C57BL/6J-stu	Provável subprodução de células de Purkinje e células granulares; forma anormal da árvore dendrítica das células de Purkinje por volta de P7; degeneração tardia de células de Purkinje no primeiro mês pós-natal.
"Hyperspiny Purkinje cell"	hpc	-	Não "inbred"	Persistência ou desenvolvimento de espículas nos dendritos primários e no corpo das células de Purkinje.

Mutações que Afetam a Estrutura Cerebelar

Mutações cerebelares homólogas entre o homem e o camundongo.

Três desordens que afetam, provavelmente, o mesmo locus genético no homem e no camundongo já foram descritas.

"*Mottled (Mo)*", é conhecida por ser expressa através de diferentes alelos em um locus do cromossomo "X". O fenótipo "*brindled (Mo^{br})*" tem sido mais intensivamente estudado devido à sua semelhança com a síndrome humana Menkes. Camundongos afetados "*Mo^{br}/Y*" deixam de crescer por volta do 12º dia pós-natal (P12), desenvolvem um ligeiro tremor e incoordenação e, usualmente, evoluem para óbito por volta de P20. Homo e heterozigotos mostram um fino tremor, incoordenação ao andar e membros posteriores totalmente colabados quando suspensos pela cauda. As anormalidades fenotípicas são decorrentes da falha de transporte de cobre intracelular e, por conseguinte, pela redução nas atividades das células cobre-dependentes, como nos cabelos, pigmento celular, fibroplastos e tecido elástico.

Nos casos humanos, observa-se uma extensa perda de células granulares no cerebello, assim como na camada IV de algumas partes do córtex cerebral e núcleos

talâmicos. As células de Purkinje apresentam corpo celular com evaginações semelhantes a pseudópodos e espículas dendríticas que, presumivelmente, persistem após o período usual de desenvolvimento; além disso as árvores dendríticas são hipodesenvolvidas com aumento na concentração de espículas dendríticas nos dendritos primários; há aumento das extremidades de alguns braços dendríticos e braços terciários parcos. Algumas observações similares também foram descritas no "*Mo^{br}/Y*", com exceção de que as células granulares apresentam, aparentemente, uma menor perda nos casos humanos. As fêmeas heterozigotas, tanto na espécie humana quanto na espécie animal, são consideradas como normais. Camundongos machos "*Mo^{br}*" podem ser salvos e as conseqüências neurológicas minimizadas através de administração pós-natal de cloreto de cobre (NAGARA e col., 1981). Esse tratamento se mostrou inócuo quando aplicado em pacientes humanos, talvez pela sua baixa dose administrada, ou por uma desordem do desenvolvimento fetal. Em outras palavras, as células de Purkinje já exibem, durante a fase gestacional, uma forma anormal (WILLIAMS e col., 1980), o que poderia dificultar a absorção e ou metabolismo da droga administrada.

A mutação "*beige (bg)*" afeta o cromossomo 13. Essa mutação é homóloga com a **doença de Chediak-Higashi** em crianças, associada com lisossomos "em balão" em vários tipos de células, incluindo as células de Purkinje no cerebello e as células

de Schwann nos nervos periféricos. Os pacientes portadores da doença apresentam hipopigmentação, marcada suscetibilidade à infecções, linfomas, neuropatia periférica progressiva que se inicia por volta dos 5 anos de idade e, em alguns casos, variável retardo mental, apoplexia e ou ataxia cerebelar. Camundongos afetados mostram uma redução progressiva significativa das células de Purkinje, redução essa que se inicia por volta do 5º mês pós-natal.

Na mutação "*wasted (wst)*", os animais homocigotos desenvolvem um fino tremor por volta de P20, seguido por uma progressiva flacidez dos membros posteriores e óbito por volta de P28. Os efeitos produzidos pela mutação são muito semelhantes ao quadro descrito na doença humana ataxia teleangectasia (PATERSON & SMITH, 1979). Camundongos afetados não apresentam ganho de peso após P20, têm marcada hipoplasia linfóide nas áreas timo-dependentes e não timo-dependentes e leucopenia. As células de Purkinje no córtex cerebelar mostram-se atrofiadas e reduzidas em número nos animais mais idosos (SIDMAN, 1983).

Mutações que Afetam Predominantemente as Células de Purkinje

Dentre as mutações descritas que afetam os camundongos e atingem, predominantemente, as células de Purkinje, descreveremos aqui cinco delas, por serem um bom exemplo da alteração de uma expressão fenotípica. Essas mutações são: "*reeler*", "*staggerer*", "*lurcher*", "*Purkinje cell degeneration*" e "*nervous*".

Na mutação "*reeler (rl)*", as primeiras células nervosas afetadas são as que se originam e migram para o córtex cerebelar. No cerebelo o posicionamento do controle laminar radial está afetado (para revisão sobre a migração neuronal através de "fibras-guia", veja: ANNUNCIATO & DA-SILVA, 1995), entre a camada germinativa periventricular e o córtex. Mais especificamente, parece haver uma **falha na sinalização microambiental no local onde as células de Purkinje deveriam encerrar a migração**. Os padrões histológicos, assim como a regularidade e forma do cerebelo, estão profundamente perturbados, com as células de Purkinje em posições ectópicas, sendo encontradas, na sua grande maioria, albergadas na camada granular e na substância branca cerebelar. Dessa forma, a mutação "*reeler*" afeta o desenvolvimento cortical por provocar o posicionamento anormal de neurônios, incluindo tanto as células de Purkinje no cerebelo, como neurônios comprometidos em outras partes do córtex cerebral (neocórtex) e formação parahipocampal.

No que tange à mutação "*staggerer (sg)*", há uma hipoplasia cerebelar com uma **dramática redução das células granulares**. No entanto, um dos problemas mais precoces e mais importantes no desenvolvimento do

cerebelo desses animais envolve as células de Purkinje. Pois essas geram pouquíssimos dendritos terciários, o que leva à ausência quase que completa do alvo sináptico das fibras paralelas. O posicionamento celular e o tamanho das células estão muito alterados no cerebelo do camundongo mutante adulto, não permitindo uma identificação exata dessa estrutura em nível de microscopia óptica.

No mutante "*staggerer (sg)*" as células de Purkinje estão reduzidas em 25% de seu número normal. Acredita-se que o alvo direto primário do gene "*sg*", identificado no cromossomo 9, sejam as células de Purkinje, resultando em um número reduzido de células granulares, pois essas não teriam condições de estabelecer sinapses estáveis com células de Purkinje afetadas pela mutação. A perda das células de Purkinje leva, de maneira indireta, à **perda de células nervosas localizadas no núcleo olivar inferior** (SHOJAEIAN-ZANJANI e col., 1990).

"*Lurcher (Lc)*", é uma mutação que causa anormalidades citológicas que resultam em uma perda quase total das células de Purkinje e de aproximadamente 90% das células granulares entre P35 e P60 e de 80% dos neurônios do núcleo olivar inferior entre P90 e P120. Estudos indicam que o locus genético "*lurcher*" afeta direto as células de Purkinje, sendo a perda das células granulares e dos neurônios olivares, provavelmente, decorrente da perda de alvos pós-sinápticos (célula de Purkinje).

"*Purkinje cell degeneration (pcd)*" é uma mutação que afeta o cromossomo 13. Ela atinge intrinsecamente as células de Purkinje, resultando em degeneração desses neurônios. As primeiras evidências do comprometimento das células de Purkinje foram obtidas em nível de microscopia óptica por volta de P18, envolvendo cerca de 50% do total das células em P24 e quase 100% em P30. Há também a degeneração de fotorreceptores retinianos, que se inicia anteriormente à degeneração das células de Purkinje, estendendo-se por mais de um ano. Neurônios mitrais do bulbo olfatório também são atingidos pela patologia. Perdas adicionais também ocorrem em núcleos talâmicos, em particular nos núcleos geniculado medial ventral, médio dorsal, submedial, ventro-lateral e posteriores.

"*Nervous (nr)*" é uma mutação onde as células de Purkinje parecem representar o maior alvo cerebelar, ainda que não esteja claro se a ação do locus "*nervous*" (cromossomo 8), nessas células, seria intrínseca (órgão-alvo primário) ou extrínseca (secundariamente). A morte neuronal é lenta e gradativa, estendendo-se por toda a vida do animal, envolvendo 50% das células de Purkinje no verme e 90% ou mais dessas células nos hemisférios. Há, também, degeneração progressiva dos fotorreceptores retinianos. O mecanismo de perda dos fotorreceptores parece ser diferente no camundongo *pcd* e no *nr* não sendo, possivelmente, secundária em algumas vias inespecíficas que levam à degeneração das células de Purkinje, haja visto que o camundongo

“*lurcher*” apresenta perda das células de Purkinje, com preservação dos neurônios retinianos.

As cinco mutações cerebelares descritas provocam o posicionamento anômalo e/ou a perda de células de Purkinje em diferentes estágios ontogenéticos, refletindo-se na população de células granulares de maneira diversa em cada caso particular. No mutante “*reeler*” a camada granular externa do cerebelo está reduzida em proporção com o déficit local das células de Purkinje, e a gênese das células granulares está, conseqüentemente diminuída, o que resulta em um cerebelo anormal no período pós-natal do animal. No mutante “*staggerer*” a camada granular externa também está reduzida em espessura, já a partir do nascimento do animal. As células granulares geradas na camada granular externa migram normalmente para a camada granular interna onde recebem impulsos qualitativamente apropriados das fibras musgosas, formando todos os tipos normais de contatos sinápticos, excetuando-se apenas as sinapses entre as fibras paralelas e as espículas dendríticas das células de Purkinje. A degeneração de quase todas as células granulares que se segue é, parece ser conseqüência da incapacidade dessas células em estabelecer contato com seus alvos sinápticos, ou seja, as células de Purkinje.

Mutações que Afetam Predominantemente as Células Granulares

“*Weaver (wv)*” é uma mutação cujo animal homozigoto, como descrito nos mutantes “*reeler*” e “*staggerer*”, possui uma hipoplasia cerebelar, em decorrência do número reduzido de células granulares. Essas células são geradas em concentrações normais na camada granular externa, mas falham em migrar para a camada granular interna, falhando, também, em originar as fibras paralelas, e morrem dentro de alguns dias após serem geradas. Descreve-se esse comportamento anormal das células granulares como sendo causado por uma falha nas fibras gliais da camada molecular, as quais apresentam arranjo radial que serve de guia para a migração celular. No entanto, foi comprovado que o alvo direto primário do gene “*weaver (wv)*” (cromossomo 16) é a célula granular, que degenera na camada granular externa levando as células de Purkinje a se desenvolverem na ausência de fibras paralelas.

“*Tortured (tor)*” é uma mutação cujos animais afetados exibem comportamento motor dramaticamente anormal, estando presente desde aproximadamente a segunda semana até o segundo ano de vida, sendo caracterizado por posturas marcadamente diferentes e rapidamente flutuantes nos quatro membros, de modo que o animal apresenta posturas tão **torturantes** a ponto de impedir os movimentos coordenados das articulações. A típica síndrome cerebelar, com ataxia, hipotonia muscular e fino tremor é observada.

As alterações patológicas do SNC e periférico (SNP) são tão dramáticas quanto as anomalias motoras: degenerações neuronais e axonais são amplamente distribuídas pelo SN do animal, com picos em diferentes épocas para diferentes populações neuronais (DA-SILVA e col., 1983).

Estudos ultra-estruturais (ANNUNCIATO, 1991) comprovaram degenerações neuronais que ocorrem nos territórios corticais cerebelares dos camundongos mutantes neurológicos “*tortured (tor)*”, o que auxilia a esclarecer os movimentos incoordenados das articulações dos animais afetados, com posturas marcadamente diferentes e rapidamente flutuantes nos quatro membros.

As anormalidades mais óbvias no cerebelo mutante, estão, no início, confinadas a algumas fibras musgosas e células granulares. A degeneração de fibras musgosas desenvolve-se rapidamente.

De P90 a P223, as células de Purkinje apresentam invaginações nucleares, dilatação de cisternas do retículo endoplasmático, dilatações de cisternas do complexo de Golgi, aumento no número de corpos multivesiculares, aumento na concentração de lisossomas, contração do corpo celular e de dendritos, desaparecimento de estruturas citoplasmáticas nos dendritos, bem como formação de vacúolos e degeneração axonal, interrompendo as projeções corticonucleares (ANNUNCIATO & DA-SILVA, 1991)

De qualquer maneira, essa mutação não resulta em degeneração total das células granulares, assim como não resulta em forte morte das células de Purkinje, mesmo nos animais mais velhos estudados (P343) (ANNUNCIATO & DA-SILVA, 1990; ANNUNCIATO e col., 1991a e b).

Análises morfológicas levam a concluir que as células granulares podem ser vistas como alvo primário do locus genético “*tor*” no córtex cerebelar dos camundongos. Ao mesmo tempo, a interpretação do quadro degenerativo que acomete os gânglios espinais e vias espinocerebelares (fibras musgosas) pode ser considerado como sendo conseqüência de outra “lesão” genética do locus no SNC desses mutantes, mostrando que, no caso “*tor*”, há um somatório de conseqüências causadas pelas outras mutações (ANNUNCIATO, 1991).

Outras Mutações que Afetam o Córtex Cerebelar

Outras mutações foram também descritas nos últimos anos. Suas características, no entanto, são menos marcantes do que as anteriores.

A mutação “*meander tail (mea)*” (cromossomo 4), causa tanto anormalidades esqueléticas como neurológicas. As alterações que ocorrem no lobo anterior do cerebelo (verme e parte medial dos hemisférios) resultam em ataxia. Essas alterações já estão presentes por ocasião do nascimento. Tanto as populações das

No caso da mutação “*swaying (sw)*” (cromossomo 15), observa-se que as desordens provocadas pelo locus genético acaba afetando, aproximadamente, as mesmas áreas do cerebelo que são afetadas por *tg^{la}* e *mea*, porém, com mecanismos diferentes. Os animais homozigotos “*swaying*” possuem uma má-formação que leva o quarto ventrículo à um recesso anormal entre a transição ponto-mesencefálica, que se estende dorsalmente entre o cerebelo e o colículo inferior da lâmina quadrigêmea. O colículo inferior encontra-se posicionado lateralmente e o cerebelo é dividido no plano sagital mediano. Observa-se, ainda, uma redução do lóbulo anterior. O tecido nervoso no interior do verme anterior encontra-se alterado dentro de ilhotas. Essa má-formação já é visível por volta do 16° dia de vida intra-uterino e assemelha-se à **má-formação humana denominada de DANDY-WALKER** (SIDMAN, 1983).

No mutante “*stumbler (stu)*”, os animais homozigotos possuem, também, uma hipoplasia cerebelar. Ainda que a concentração e distribuição das células de Purkinje e das células granulares pareça normal, o número absoluto de células está reduzido nos dois casos (SIDMAN, 1983).

A mutação “*hiperspiny Purkinje cell (hpc)*”, leva os animais afetados a serem reconhecidos por volta de P8, através de marcha atáxica. Na terceira semana pós-natal o cerebelo, como um todo, está levemente reduzido em tamanho, mas normalmente organizado. A metade externa da camada granular é vacuolizada e a substância branca contém algumas fibras em degeneração; as células de Purkinje são as que mais se mostram desviadas da normalidade. O sistema “fibras trepadeiras-células de Purkinje” pode ser o alvo celular da mutação.

As mutações descritas fornecem material experimental importante para o entendimento das relações inter-neuronais durante o estabelecimento do padrão arquetetônico do SNC. Esses mutantes permitem uma abordagem molecular de histogênese neuronal.

Em relação aos pacientes autistas, como interpretar o número reduzido de células granulares e de Purkinje no cerebelo? Uma hipótese é que a hipoplasia cerebelar seja devido a uma perda de neurônios durante a vida do paciente autista, à semelhança do que ocorre em várias mutações genéticas que comprometem homeostase interna de algumas células nervosas. Uma outra hipótese é que o número reduzido de neurônios seria resultado de uma produção e ou migração já deficitária dessas células durante o desenvolvimento embrionário, como discutido em várias mutações neurológicas murinas.

Interessados em responder essa questão, HASHIMOTO e col. (1995) levaram a cabo um estudo de imagens de ressonância magnética (RM) em 102 pacientes autistas, com idades variando de 06 meses a 20 anos. Os resultados mostraram que o TE e o cerebelo aumentam com o desenvolvimento e possuem uma correlação estatisticamente significativa com a idade.

Essas pesquisas levadas a cabo por HASHIMOTO e col. (1995) relacionando as idades dos pacientes

com determinadas áreas encefálicas, demonstraram que o tamanho das estruturas da fossa posterior (em particular, ponte, verme do lóbulo cerebelar I-V, verme do lóbulo cerebelar VI-VII) no grupo autista é, já no início, menor que o grupo controle. No entanto, o desenvolvimento dessas mesmas estruturas, no grupo autista, aumenta consideravelmente com o tempo e pode, em determinados casos (verme do lóbulo I-V), alcançar a curva de crescimento exibida pelo grupo controle. Mas, mesmo que isso aconteça, diferenças cognitivas e/ou sensoriais não diminuem com o desenvolvimento entre o grupo controle o grupo autista. De maneira interessante, observa-se que o lóbulo cerebelar que menos se desenvolveu foi o floculonodular, sabidamente envolvido com circuitos vestibulares e, conseqüentemente, equilíbrio.

Investigações realizadas no início dessa década (HASHIMOTO e col., 1992b, 1993b) demonstraram que no autismo, sem retardo mental, o mesencéfalo e o bulbo eram menores que no grupo controle. Ainda que a ponte e o cerebelo tendam a ser menores no grupo autista do que no grupo controle, os resultados estatísticos variam de significantes para não significantes (HASHIMOTO e col., 1992a, 1993a, 1993b).

Como há muito tempo se sabe, através das conexões aferentes e eferentes dos núcleos vestibulares e para os núcleos vestibulares e outros territórios nervosos, o cerebelo participa do controle do equilíbrio corporal estático e dinâmico. No autismo, entretanto, esses distúrbios de equilíbrio são frequentes (KOHEN-RAZ e col., 1992). A hipoplasia do verme cerebelar dos lóbulos VIII-X poderia, parcialmente, explicar esses distúrbios do equilíbrio e pode estar relacionada com o tamanho reduzido do bulbo, principalmente porque os núcleos vestibulares se encontram no bulbo. Ainda que tanto o grupo controle como o grupo autista tenham apresentado um aumento de tamanho nas imagens radiográficas, as estruturas nervosas estudadas do grupo autista mostraram-se, desde o início, significativamente, menores do que o grupo controle.

Como o tamanho do TE e do cerebelo aumenta durante o desenvolvimento de crianças normais e de crianças autistas, pode-se sugerir que as alterações encontradas nas estruturas da fossa posterior **não ocorram** por um processo degenerativo progressivo, mas sim por uma **falha no desenvolvimento ainda embrionário**.

Dentro dessa visão, alguns autores têm focado a presente frequência de “fatores de risco” no período pré ou peri-natal de pacientes autistas (TSAI, 1987). Ainda que as causas do autismo continuem desconhecidas, alguns trabalhos têm focado fatores pré-natais como, por exemplo, anormalidades cromossômicas, infecções virais intra-uterinas e desordens metabólicas (GILLBERG & COLMAN, 1992).

Evidentemente, se um desses fatores atuar em fases iniciais do desenvolvimento embrionário do SN, o crescimento de estruturas da fossa posterior já poderá ser afetado. Como resultado, a hipoplasia do TE e do cerebelo poderão ocorrer.

Têm-se descrito, em animais, anormalidades comprometendo o SN como resultado de agentes químicos, irradiação, infecções virais, anoxia durante a gravidez e, conforme vimos acima, mutações genéticas.

Algumas investigações depõem, entretanto, contra os possíveis fatores de risco peri e pós-natais. Estudos (COURCHESNE e col., 1993; PIVEN e col., 1990) têm mostrado um volume reduzido, também, de substância cinzenta e branca cerebrais de pacientes autistas. As anormalidades responsáveis por essas desordens devem ter suas origens durante os meses de desenvolvimento gestacional. COURCHESNE e col. (1988), através de estudo de imagens de ressonância magnética, formularam a hipótese de que a hipoplasia neocerebelar, observada por eles, poderia ser o resultado da perda de células granulares e células de Purkinje no cerebelo que ocorrem, presumivelmente, entre o terceiro e quinto meses pré-natais.

Através dos dados acima de que estruturas cerebelares de pacientes autistas apresentam, no exame histopatológico, um menor número de células de Purkinje e de células granulares, conseguimos compreender a hipoplasia exibida nos estudos radiográficos. Entretanto, uma outra pergunta surge, qual seja: "Por que alguns estudos neuroradiográficos comprovam uma hipoplasia de TE, enquanto que outros estudos não revelam alterações histopatológicas dessa mesma região?"

Resultados de experimentos neurofisiológicos têm sugerido o envolvimento do TE no autismo. Potenciais somatosensoriais evocados de curta latência em pacientes autistas mostraram um aumento importante no tempo de transmissão central, sugerindo anormalidades funcionais do TE (HASHIMOTO e col., 1986). Vários estudos envolvendo respostas auditivas do TE têm sido empregados para testar a integridade das vias auditivas do TE em pacientes autistas (KLIN, 1993). Os resultados apresentados têm se mostrado contraditórios, pois, por vezes há o aumento de tempo nas latências de transmissões centrais, por vezes há a diminuição desse tempo e, por vezes, ainda, esse tempo se mostra dentro dos parâmetros normais. Assim sendo, esses estudos de resposta auditiva de TE podem sugerir, mas não ofertar suporte do envolvimento do TE no autismo (KLIN, 1993).

Outras investigações têm mostrado que outras áreas do SN também se encontram alteradas em pacientes autistas. Essas áreas são: hipocampo (SAITOH e col., 1995), corpo caloso (EGAAS e col., 1995; SAITOH e col., 1995), córtex cerebral (PIVEN e col., 1990) e lobo parietal (COURCHESNE e col. 1993).

Independente dessas correlações aventadas entre ponte e inteligência, o que nos chama mais a atenção para os processos cognitivos, é o comprometimento de estruturas hipocampais (SAITOH e col., 1995), sabidamente

envolvidas nos fenômenos de memória (mnêmicos). Em outras palavras, alguns pacientes autistas seriam portadores de distúrbios nos circuitos hipocampais que dificultariam o processo de aquisição (aprendizagem) e armazenamento de informações (memória). Já outros pacientes com comprometimentos mais brandos ou, quiçá, sem comprometimentos nesses territórios, poderiam exibir um grau maior de retenção de dados.

Diferenças ainda importantes têm sido documentadas com relação ao grau de inteligência de pacientes autistas. Por exemplo, HASHIMOTO e col. (1993b) documentaram que o mesencéfalo e o bulbo de crianças autistas com alto desempenho de funções nervosas superiores era menor do que crianças controle. De maneira interessante, porém, os autores não encontraram diferenças no tamanho da ponte. Já, em crianças autistas com retardo mental, a ponte exibiu, também, uma importante diminuição de tamanho (HASHIMOTO e col., 1993a). Em realidade, outros autores têm relacionado o tamanho do TE com o grau de inteligência. MURAKAWA e col. (1991) encontraram, utilizando também imagens de RM, um TE diminuído em crianças não autistas, mas com retardo mental. Outros trabalhos (IESHIMA e col., 1984) também acusaram alterações morfométricas nas imagens de tomografia computadorizada de pacientes portadores de Síndrome de Down, como, por exemplo, uma ponte de tamanho diminuído.

Um outro dado importante foi abordado, já na década de 80 (ORNITZ, 1985; COURCHESNE e col., 1988), e se refere aos distúrbios das funções do sistema límbico. Sabe-se que o TE e o cerebelo possuem conexões com esse sistema. Isso sugere que as anormalidades dos circuitos neuronais envolvidos no autismo são muito mais amplas. Ainda que seja uma teoria especulativa, tais anormalidades poderiam ser causadas por desenvolvimento pré-natal patológico, resultando em diminuição de tecido. Neurotransmissores como a serotonina (NAFFAH-MAZZACORATTI e col., 1993), noradrenalina e dopamina têm, também, recebido atenção especial no autismo. Esses neurotransmissores se originam, predominantemente, no TE e são transportados para estruturas corticais, límbicas corticais e subcorticais e núcleos da base (COOPER e col., 1978). Em experimentos com animais de laboratório, a interrupção do desenvolvimento desses sistemas (serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico) mostraram conseqüências severas de comportamento (GEYER e col. 1976; BRODAL, 1981), bem como comprometimentos morfológicos do SN (BRENNER e col., 1983).

Ainda é questionável até que ponto podemos transportar os dados acima relatados sobre mutações para as alterações neuroanatomofisiopatológicas encontradas em pacientes autistas. Mas, de qualquer maneira, através dos dados supra, poder-se-ia aventar a possibilidade de estarmos nos deparando com alguma espécie de mutação genética, onde a falha na produção e/ou migração, como no mutante "*weaver*", culmina em uma hipoplasia cerebelar, ocasionada pela falha migração das células granulares da camada externa para a interna. Isso levaria a uma conseqüente falha na

organização nervosa, podendo culminar nos vários sinais exibidos pelos pacientes autistas.

Evidentemente, se a suposição anterior for verdadeira, dever-se-ia, ainda, esclarecer se a diminuição no número de células de Purkinje ocorre primariamente (órgão-alvo), como na mutação “*staggerer*”, ou, secundariamente, em consequência da morte das células granulares. Nesse segundo caso, teríamos aqui o fenômeno em cascata (SOTELO & CHANGEUS, 1974), ou seja, a morte das células granulares levaria à morte das células de Purkinje que, por sua vez, culminaria na morte de neurônios localizados nos núcleos olivares e vestibulares e, finalmente, na morte de neurônios do lóbulo parietal. Se essa hipótese pudesse ser comprovada, poderíamos esclarecer que as alterações relatadas no lobo parietal (COURCHESNE e col. 1993) ocorrem, também, por efeito retrógrado. Evidente, outras hipóteses podem ser formuladas com relação ao comprometimento dos núcleos olivares e do lobo parietal. No primeiro caso, ou seja, dos núcleos olivares, poderíamos ter um fenômeno inverso, como aquele observado na mutação “*turcher*” (CADDY & BISCHOE, 1976), onde a morte das células de Purkinje é secundária e tardia à morte dos neurônios dos núcleos olivares. No segundo caso, ou seja no comprometimento do lobo parietal, como vimos acima, na mutação “*reeler*”, o desenvolvimento cortical pode ser afetado primariamente, provocando um posicionamento anormal de neurônios, incluindo tanto as células de Purkinje no cerebelo, como neurônios do córtex cerebral (neocórtex) e formação parahipocampal. Evidentemente, pode-se questionar se as alterações encontradas no corpo caloso de alguns pacientes autistas, em particular, uma diminuição de sua espessura, não poderiam ser devido a um número reduzido de fibras comissurais parietais. Ainda, em relação ao comprometimento hipocampal e, sabendo-se do envolvimento dessa estrutura em circuitos do sistema límbico, uma outra indagação que surge é até que ponto alguns distúrbios de ordem social e afetiva não poderiam estar vinculados, também, ao comprometimento parahipocampal em pacientes autistas. Ainda que essas alterações neurohistopatológicas não tenham sido relatadas na literatura consultada, não se pode descartar que, talvez, uma análise mais atenta e detalhada desses territórios hipocampais e parahipocampais venha trazer novos dados sobre esse possível comprometimento.

Poder-se-ia, assim, supor que as diversas áreas nervosas comprometidas no SN de pacientes autistas fosse devido a um somatório de consequências causadas pela mutação, à semelhança do que ocorre na mutação “*tortured*” (ANNUNCIATO, 1991).

Somente estudos neurohistopatológicos e ultra-estruturais ulteriores poderão vir a trazer mais luz sobre essas hipóteses, pois, como vimos acima, a observação das patologias neurológicas genéticas envolvendo organização e comportamento sensitivo-motor do SN fornece uma moldura necessária para o entendimento das alterações moleculares. Além disso, cada desordem pode ser o resultado de uma mutação genética simples que altera determinadas funções

neurônais, tanto em animais de laboratórios como na própria espécie humana.

SUMMARY

The author reviews some neuropathological studies, neurophysiological and neuropharmacological investigations and brain-imaging methods from autistic patients, where the results show affected nervous structures as cerebellum, brainstem, hippocampus, corpus callosum and temporal lobe. After a brief anatomical and functional review of these structures, the author discuss some neurogenetic mutations affecting the same areas affected in autism. It is hypothesized that the affected structures in autistic patients could be already determined by genetic disorders.

KEY WORDS

Autism, Genetic disorders, Genetic mutation.

Agradecimentos:

O autor gostaria de agradecer ao Prof. Dr. Ciro Ferreira Da-Silva (Prof. Associado do Dep. de Histologia e Embriologia do ICB/USP) pela revisão do texto e sugestões valiosas.

Bibliografia

- ANNUNCIATO, N.F. - Estudo ultra-estrutural do córtex cerebelar do camundongo mutante neurológico 'tortured' (tor). *Tese de Doutorado*, 145p. Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo, Brasil, 1991.
- ANNUNCIATO, N.F.; DA-SILVA, C.F. - Light and electron microscopic study on the neuronal degeneration in the 'tortured' (tor) mutant mouse. *IX th International Symposium on Morphological Sciences*, pg. 4, Nancy, France, 1990.
- ANNUNCIATO, N.F.; DA-SILVA, C.F. - Ultrastrukturelle Aspekte des Purkinje-Zellunterganges. *9^o Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft*, pg. 133, Würzburg, Germany, 1991.
- ANNUNCIATO, N.F.; DA-SILVA, C.F. - Desenvolvimento do sistema nervoso. *Temas sobre Desenvolvimento*, 24(4): 35-46, Memnon, São Paulo, 1995.
- ANNUNCIATO, N.F.; ENDLER, J.; DA-SILVA, C.F. - Ultrastructural alterations in the central nervous system of the 'tortured' (tor) mutant mice. *VII Congress de Anatomy*, pg. 53, Porto, Portugal, 1991a.
- ANNUNCIATO, N.F.; SIDMAN, R.L.; DA-SILVA, C.F. - Electron microscopic study in the cerebellar cortex of 'tor' mutant mice. *Third IBRO World Congress of Neuroscience*, pg. 296, Montreal, Canada, 1991b.
- ARIN, D.M.; BAUMAN, M.L.; KEMPER, T.L. - The distribution of Purkinje cell loss in the cerebellum in autism. *Neurology*, 4(suppl. 1): 307, 1991.
- BAUMAN, M.L. - Microscope neuroanatomic abnormalities in autism. *Pediatrics*, 87: 791-796, 1991.
- BAUMAN, M.L.; KEMPER, T.L. - Histoanatomic observations of the brain in early infantile autism. *Neurology*, 35: 866-874, 1985.

10. BRAITENBERG, V.; ATWOOD, R.P. - Morphological observations on the cerebellar cortex. *J. Comp. Neurol.*, **109**: 1-33, 1958.
11. BRENNER, E.; MIRMIRAN, M.; UYLINGS, H.B.M.; VAN DER GUGTEN, J. - Impaired growth of the central cortex of rats treated neonatally with 6-OH-DA under different environmental conditions. *Neuroscience Letter*, **42**: 13-17, 1983.
12. BRODAL, A. - A formação reticular e alguns núcleos correlatos. In: *Anatomia neurológica com correlações clínicas*. 3ª ed. pg. 317-360, Roca, São Paulo, 1981.
13. CADDY, K.W.T.; BISCHOE, T.J. - The number of Purkinje cells and olive neurons in the normal and Lurcher mutant mouse. *Brain Res.*, **111**: 396-398, 1976.
14. CIESIELSKI, K.T.; ALLEN, P.S.; SINCLAIR, B.D.; PABST, H.F.; YANOFKY, R.; LUDWIG, R. - Hypoplasia of cerebellar vermis in autism and childhood leukemia. In: *Proceeding of the joint convention of the fifth international child congress and the third asian and oceanian congress of child neurology*, Tio, Japan, november, 1990.
15. COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. - *The biochemical basis of neuropharmacology*, 3ª ed., New York, Oxford University Press, 1978.
16. COURCHESNE, E.; PRESS, G.A.; YEUNG-COURCHESNE, R. - Parietal lobe abnormalities detected with MR in patients with infantile autism. *American J. of Roentgenology*, **160**: 387-393, 1993.
17. COURCHESNE, E.; TOWNSEND, J.; SAITOH, O. - The brain in infantile autism: posterior fossa structures are abnormal. *Neurology*, **44**: 214-223, 1994a.
18. COURCHESNE, E.; YEUNG-COURCHESNE, R.; EGAAS, B. - Methodology in neuroanatomic measurement. *Neurology*, **44**: 203-208, 1994b.
19. COURCHESNE, E.; YEUNG-COURCHESNE, R.; PRESS, G.A.; HESSELINK, J.R.; JERNIGAN, T.L. - Hypoplasia of cerebellar vermal lobules VI and VII in autism. *New England J. of Med.*, **318**: 1349-1354, 1988.
20. COWAN, W.M. - Anterograde and retrograde transneuronal degeneration in the central and peripheral nervous systems. In: *Contemporary research methods in neuroanatomy*, p. 217-251. Eds. W.J.H. Nauta, S.O.E. Ebesson. New York, Spring Verlag, 1970.
21. COWAN, W.M. - Neuronal death as a regulative mechanism in the control of cell number in the nervous system. In: *Development and aging in the nervous system*, p. 19-41. Ed. M. Rockstein, New York, Academic Press, 1973.
22. CREPEL, F.; MARIANI, J. - Multiple innervation of Purkinje cells by climbing fibers in the cerebellum of the weaver mutant mouse. *J. Neurobiol.*, **7**: 579-582, 1976.
23. CREPEL, F.; DELHAYE-BOUCHAUD, N.; LEGRAND, J. - Eletrophysiological analysis of the circuitry and of the irradiated rats. *Arch. Ital. Biol.*, **114**: 49-74, 1976.
24. DA-SILVA, C.F.; COWEN, J.C.; SIDMAN, R.L. - Widespread neuronal and axonal degeneration in the 'tor' mutant mouse. *Soc. Neurosc. Absts.*, **9**: 241-244, 1983.
25. DELHAYE-BOUCHAUD, N.; MORY, G.; CREPEL, F. - Differential role of granule cells in the specification of synapses between climbing fibers and cerebellar Purkinje cells in the rat. *Neurosc. Lett.*, **9**: 51-58, 1978.
26. ECCLES, J.; ITO, M.; SZENT'AGOTHAI, J. - The cerebellum as a neuronal machine, 335p. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, N.Y., 1967.
27. EGAAS, B.; COURCHESNE, E.; SAITOH, O. - Reduced size of the corpus callosum in autism. *Archives of Neurology*, **45**: 794-801.
28. GEYER, M.A.; PUERTO, A.; MENKES, D.B.; SEGAL, D.S.; MANDL, A.J. - Behavioral studies following lesions of the mesolimbic and mesostriatal serotonergic pathways. *Brain Research*, **106**: 257-270, 1976.
29. GILLBERG, C.; COLMAN, M. - *The biology of the autistic syndromes*. 2ª ed. New York, Cambridge University Press, 1992.
30. HASHIMOTO, T.; TAYAMA, M.; MIYAO, M. - Short latency somatosensory evoked potentials in children with autism. *Brain and Development*, **8**: 428-432, 1986.
31. HASHIMOTO, T.; MURAKAWA, K.; MIYAZAKI, M.; TAYAMA, M.; KURODA, Y. - Magnetic resonance imaging of the brain structures in the posterior fossa in retarded autistic children. *Acta Paediatrica Scandinavica*, **81**: 1030-1034, 1992a.
32. HASHIMOTO, T.; TAYAMA, M.; MIYAZAKI, M.; SAKUMARA, M.; YOSHIMOTO, T.; MURAKAWA, K.; KURODA, Y. - Reduced brainstem size in children with autism. *Brain and Development*, **14**: 94-97, 1992b.
33. HASHIMOTO, T.; TAYAMA, M.; MIYAZAKI, M.; MURAKAWA, K.; KURODA, Y. - Brainstem and cerebellar vermis involvement in autistic children. *Journal of Child Neurology*, **8**: 149-153, 1993a.
34. HASHIMOTO, T.; TAYAMA, M.; MIYAZAKI, M.; MURAKAWA, K.; SHIMAKAWA, S.; YONEDA, Y.; KURODA, Y. - Brainstem involvement in high functioning autistic children. *Acta Neurologica Scandinavica*, **88**: 123-128, 1993b.
35. HASHIMOTO, T.; TAYAMA, M.; MURAKAWA, K.; YOSHIMOTO, T.; MIYAZAKI, M.; HARADA, M.; KURODA, Y. - Development of brainstem and cerebellum in autistic patients. *Journal of Autism and Develop. Disorders*, **25**: 01-18, 1995.
36. HERRUP, K.; MULLEN, R.J. - Regional variation and absence of large neurons in the cerebellum of staggerer mouse. *Brain Res.*, **172**: 1-12, 1979a.
37. HERRUP, K.; MULLEN, R.J. - Straggerer chimeras: intrinsic nature of Purkinje cell defects and implications for normal cerebellar development. *Brain Res.*, **178**: 443-457, 1979b.
38. IESHIMA, A.; KISA, T.; YOSHINO, K.; TAKASHIMA, S.; TAKESHITA, K. - A morphometric CT study of Down's syndrome showing small posterior fossa and calcification of basal ganglia. *Neuroradiology*, **26**: 493-498, 1984.
39. KLEIMAN, M.D.; NEFF, S.; ROSMAN, N.P. - The brain in infantile autism: are posterior fossa structures abnormal? *Neurology*, **42**: 753-760, 1992.
40. KLIN, A. - Auditory brainstem responses in autism: brainstem dysfunction or peripheral hearing loss? *Journal of Autism and Develop. Disorders*, **23**: 15-35, 1993.
41. KOHEN-RAZ, R.; VOLKMER, F.R.; COHEN, D.J. - Postural control in children with autism. *Journal of Autism and Develop. Disorders*, **22**: 419-432, 1992.
42. LARRAMENDI, L.M.H. - The synaptogenic period of mossy terminals in the mouse. An electron microscopic study. *Anat. Rec.*, **157**: 275-322, 1967.
43. MURAKAWA, K.; HASHIMOTO, T.; MIYAZAKI, M.; KURODA, Y. - MRI measurements of the brainstem on children with mental retardation. *No To Hattatsu*, **23**(suppl.): 218, 1991.

44. NAFFAH-MAZZACORATTI, M.G.; ROSENBERG, R.; FERNANDES, M.J.S.; DRAQUE, C.M.; SILVESTRINI, W.; CALDERAZZO, L.; CAVALHEIRO, E.A. - Serum serotonin levels of normal and autistic children. *Brazilian J. Med. Res.*, **26**: 309-317, 1993.
45. NAGARA, H.; YAJIMA, K.; SUZUKI, K. - The effect of copper supplementation on brindeld mouse. A clinico-pathological study. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **40**: 428-446, 1981.
46. ORNITZ, E.M. - Neurophysiology of infantile autism. *J. of the Amer. Acad. od Child Psychiatry*, **24**: 251-262, 1985.
47. ORNITZ, E.M. - Neurophysiologic studies of infantile autism. In: **Handbook of Autism and Pervasive Developmental Disorders**, pgs. 148-165. Eds. D.J. Cohen, A.M. Donnellan, R. Paul. New York, Wiley, 1987.
48. ORNITZ, E.M. - Autism: a disorder of directed attention. *Brain Dysfunction*, **1**: 309-322, 1988.
49. PALAY, S.L.; CHAN-PALAY, V. - Cerebellar Cortex: Cytology and organization, p. 348. Springer-Verlag, Berlin, 1974.
50. PATERSON, M.C.; SMITH, P.J. - Ataxia telangectasia. Inherited human disorder involving hypersensitivity to ionizing radiation and related DNA-damaging chemicals. *Annu. Rev. Genet.*, **13**: 291-318, 1979.
51. PIVEN, J.; BERTHIER, M.L.; STARKESTEIN, S.; NEHME, E.; PEARLSON, G.; FOLSTEIN, S. - Magnetic resonance imaging evidence for a defect of cerebral cortical development in autism. *American J. of Psychiatry*, **147**: 734-739, 1990.
52. PIVEN, J.; NEHME, E.; SIMON, J.; BARTA, P.; PEARLSON, G.; FOLSTEIN, E. - Magnetic resonance imaging in autism: measurement of the cerebellum, pons, and fourth ventricle. *Biological Psychiatry*, **31**: 491-504, 1992.
53. RITVO, E.R.; FREEMAN, B.J.; SCHEIBEL, A.B.; DUONG, T.; ROBINSON, H.; GUTHRIE, D.; RITVO, A. - Lower Purkinje cell counts in the cerebella of four autistic subjects: initial findings of the UCLA-NSAC autopsy research report. *American J. of Psychiatry*, **143**: 862-866, 1986.
54. ROSS, C.A.; BREDET, D.; SNYDER, S.H. - Messenger molecules in the cerebellum. *TINS (Trends Biochem. Sci.)*, **13**: 216-222, 1990.
55. SAITOH, O.; COURCHESNE, E.; EGAAS, B.; LICOLN, A.J.; SCHREIVBMAN, L. - Cross-sectional area of the posterior hippocampus in autistic patients with cerebellar and corpus callosum abnormalities. *Neurology*, **45**: 317-324, 1995.
56. SEIGER, A.; OLSON, L. - Late prenatal ontogeny of central monoamine neurons in the rat: fluorescence histochemical observations. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.*, **140**: 281-318, 1973.
57. SHOJAEIAN-ZANJANI, H.; MARIANI, J.; HERRUP, K. - Cell loss in the inferior olive of the staggerer mutant mouse is an indirect effect of the gene. *J. Neurogen.*, **6**: 229-241, 1990.
58. SIDMAN, R.L. - Development of interneuronal connections in brains of mutant mice. In: **Society of General Physiologists Monograph, Physiological and Biochemical Aspects of Nervous Integration**, p. 163-193. Edited by F.D. Carlson. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1968.
59. SIDMAN, R.L. - Experimental Neurogenetics. In: **Genetics of Neurological and Psychiatric Disorders**, p. 19-46. (KETY, S.; ROWLAND, L.P.; SIDMAN, R.L.; MATTHYSSE, S.W., eds.). Raven Press, N.Y., 1983.
60. SIEVERS, J.; SIEVERS, H.; KLEMM, H.P. - Beiträge zur pränatalen Entwicklung des Locus coeruleus. *Verh. Anat. Ges. Jena*, **14**: 75-91, 1980.
61. SMOLYANINOV, V.V. - Some special features of organization of the cerebellar cortex. In: **Models of the Structural-Functional Organization of Certain Biological System**, p. 250-423. Eds. V.S. Gurfinkel; S.V. Formin; M.L. Tsetin. Cambridge, MIT Press, 1971.
62. SOTELO, C. - Synaptic stabilization: comparative studies on the cerebellum of staggerer and nervous mutant mice. In: **Neural Growth and Differentiation**, p. 169-181. Eds. E. Meisami, M.A.B. Brazier. Raven Press, New York, 1979.
63. SOTELO, C.; CHANGEUS, J.P. - Transsynaptic degeneration "en cascade" in the cerebellar cortex of staggerer mutant mice. *Brain Res.*, **67**: 519-526, 1974a.
64. STURROCK, R.R. - Changes in neuron number in the cerebellar cortex of the ageing mouse. *J. Hirnforsch.* **30**, **4**: 499-503, 1989a.
65. STURROCK, R.R. - Age related changes in Purkinje cell number in the cerebellar nodulus of the mouse. *J. Hirnforsch.* **30**, **6**: 757-760, 1989b.
66. STURROCK, R.R. - A comparsion of quantitative histological changes in different regions of the ageing mouse cerebellum. *J. Hirnforsch.*, **31**: 481-486, 1990.
67. THIVIERGE, J.; BEDARD, C.; COTE, R.; MAZIADÉ, M. - Braisntem auditory evocaded response and subcortical abnormalities in autism. *American J. of Psychiatry*, **147**: 1609-1613, 1990.
68. TSAI, L.Y. - Pre-, peri-, and neonatal factors in autism. In: **Neurobiological issues in autism**, p. 179-189. Eds. E. Schopler, G.B. Mesibov. New York, Plenum Press, 1987.
69. WILLIAMS, R.S.; HAUSER, S.L.; PURPURA, D.P.; DeLONG, R.; SWISHER, C.N. - Autism and mental retardation: neuropathological studies performed in four retarded persons with autistic behavior. *Archives of Neurol.*, **37**: 749-753, 1980.