



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

***SCREENING* E ANÁLISE DE GENES ASSOCIADOS COM
ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS EM DISTÚRBIOS DO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL.**

DOUTORANDO: Rogério Neri Shinsato
ORIENTAÇÃO: Prof. Dr. Roberto Hirochi Herai

CURITIBA 2023

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

***SCREENING* E ANÁLISE DE GENES ASSOCIADOS COM ALTERAÇÕES
OFTALMOLÓGICAS EM DISTÚRBIOS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde como
requisito parcial para obtenção de título
de Doutor em Ciências da Saúde.**

**Orientador: Prof. Dr. Roberto Hirochi
Heraí.**

CURITIBA, MARÇO 2023



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola de Medicina e Ciências da Vida
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE TESE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE DOUTORADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.

Aos **17 dias do mês de março de 2023 às 13:00**, realizou-se a sessão aberta de Defesa de Tese “**SCREENING E ANÁLISE DE GENES ASSOCIADOS COM ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS EM DISTÚRBIOS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL**” apresentado por **Rogério Neri Shinsato** para obtenção do título de Doutor; Área de concentração: Pesquisa Médica Translacional.

A banca examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dr. Roberto Hirochi Herai - Presidente	
Profa. Dra. Selene Elifio Esposito (PUCPR)	
Prof. Dr. Edson Emílio Scalabrin (PUCPR)	
Profa. Dra. Janaina Sena de Souza (UCSD)	
Prof. Dr. Eduardo Del Bosco Brunetti Cunha (VitaGene)	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dr. Roberto Hirochi Herai	Conceito: Aprovado
Profa. Dra. Selene Elifio Esposito	Conceito: Aprovado
Prof. Dr. Edson Emílio Scalabrin	Conceito: Aprovado
Profa. Dra. Janaina Sena de Souza	Conceito: Aprovado
Prof. Dr. Eduardo Del Bosco Brunetti Cunha	Conceito: Aprovado

Parecer Final: **Aprovado**

Observações da Banca Examinadora: realizar todas as correções solicitadas pela banca, incluindo adequações da introdução, métodos, resultados e discussão, conclusão.

Prof. Dr. Roberto Hirochi Herai
Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Cristina Pellegrino Baena
Coordenadora do PPGCS-PUCPR

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, simplesmente por tudo. Não existiria sem vocês.

À minha família: Carol, minha esposa e meus filhos Henrique, Igor e Iago pelo apoio e compreensão dispensados a mim neste período.

À minhas irmãs: Monica pelo apoio e Vilma pela nossa parceria fundamental no doutorado.

Ao meu orientador ,Prof. Dr. Roberto Hirochi Herai, por acreditar em mim (sem mesmo me conhecer!) e por toda sua paciência comigo e, principalmente, por todos seus ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Adriano Ferrasa, pela sua gentileza, apoio e ensinamentos que possibilitaram minha evolução nesta pesquisa.

Aos meus colegas de doutorado DINTER do UNISALESIANO, por todo seu companheirismo.

Aos colegas da PUCPR, integrantes do laboratório do professor Herai, por seu apoio e paciência.

Ao colega Luiz Petroski, pela ajuda e apoio na análise das amostras de dados de sequenciamento de transcriptomas (RNA-seq).

Ao UNISALESIANO, por proporcionar esta experiência incrível em minha vida.

Ao Prof. Alcides Hirai, que foi responsável pelo meu início na área de retina (onde tudo começou).

A todos que, de alguma forma, colaboraram na elaboração desta tese, o meu **muito obrigado**.

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1:	Resultados obtidos na Revisão Sistemática da Literatura.....	22
Figura 2:	Cariótipo com distribuição das variantes genéticas relacionadas com transtornos neurológicos (desenvolvimento, degenerativos e esquizofrenia) e danos na visão.....	23
Figura 3:	Redes de interação gênica dos genes com variantes genéticas em indivíduos com transtornos neurológicos e problemas na visão.....	30
Figura 4:	Expressão do gene <i>HOXA1</i> em diferentes compartimentos cerebrais e partes do corpo.....	32
Figura 5:	Expressão do gene <i>PITX3</i> em diferentes compartimentos cerebrais e partes do corpo.....	34
Figura 6:	Expressão do gene <i>RERE</i> em diferentes compartimentos cerebrais e partes do corpo.....	41
Figura 7:	Expressão do gene <i>NR2F1</i> em diferentes compartimentos cerebrais e partes do corpo.....	43
Figura 8:	Expressão do gene <i>TCF4</i> em diferentes compartimentos cerebrais e partes do corpo.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	String de busca utilizado no PubMed e Scopus.....	14
Tabela 2:	Amostras RNA-seq obtidas através de bases de dados públicos.....	17
Tabela 3:	Fenótipo ocular encontrado por genes da RSL e localização oftalmológica associada e transtorno do SNC associado.....	26
Tabela 4:	Resultados da análise dos bancos de dados de transcriptomas públicos com os genes encontrados da RSL com significância estatística de $p < 0,05$	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>ABCA7:</i>	gene do inglês <i>ATP Binding Cassette Subfamily A Member 7</i> .
<i>ABHD12:</i>	gene do inglês <i>Abhydrolase Domain Containing 12, Lysophospholipase</i> .
<i>AD:</i>	Doença de Alzheimer do inglês <i>Alzheimer's Disease</i> .
<i>ADAM10:</i>	gene do inglês <i>ADAM Metallopeptidase Domain 10</i> .
<i>APOE:</i>	gene do inglês <i>Apolipoprotein E</i> .
<i>APP:</i>	gene do inglês <i>Amyloid Beta Precursor Protein</i> .
<i>ASD:</i>	transtorno do espectro do autismo do inglês <i>Austim Spectrum Disorder</i> .
<i>BACE1:</i>	gene do inglês <i>Beta-Secretase 1</i> .
<i>BDNF:</i>	gene do inglês <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i> .
<i>BIN1:</i>	gene do inglês <i>Bridging Integrator 1</i> .
<i>BPD:</i>	Transtorno Bipolar do inglês <i>bipolar disorder</i> .
<i>CASK:</i>	gene do inglês <i>Calcium/Calmodulin Dependent Serine Protein Kinase</i> .
<i>CASS4:</i>	gene do inglês <i>Cas Scaffold Protein Family Member 4</i> .
<i>CD2AP:</i>	gene do inglês <i>CD2 Associated Protein</i> .
<i>CD33:</i>	gene do inglês <i>CD33 Molecule</i> .
<i>CDH22:</i>	gene do inglês <i>Cadherin 22</i> .
<i>CELF1:</i>	gene do inglês <i>CUGBP Elav-Like Family Member 1</i> .
<i>CHD7:</i>	gene do inglês <i>Chromodomain Helicase DNA Binding Protein 7</i> .
<i>CLU:</i>	gene do inglês <i>Clusterin</i> .
<i>CNV:</i>	do inglês <i>Copy Number Variation</i> .
<i>CRI:</i>	gene do inglês <i>Complement C3b/C4b Receptor 1</i> .
<i>CTNNB:1</i>	gene do inglês <i>Catenin Beta 1</i> .
<i>DJ1:</i>	gene do inglês <i>PARK7 Parkinsonism Associated Deglycase</i> .
<i>DN:</i>	Doenças Neurodegenerativas.

DS:	Distúrbios do Neurodesenvolvimento.
DSM-V:	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais versão V do inglês <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- Fifth Edition</i> .
<i>EMC1</i> :	gene do inglês <i>ER Membrane Protein Complex Subunit 1</i> .
<i>EPHA1</i> :	gene do inglês <i>EPH Receptor A1</i> .
<i>FERMT2</i> :	gene do inglês <i>FERM Domain Containing Kindlin 2</i> .
<i>FLVCR1</i> :	gene do inglês <i>FLVCR Heme Transporter 1</i> .
FXS:	Síndrome do X frágil.
<i>GBA</i> :	gene do inglês <i>Glucosylceramidase Beta</i> .
GWAS:	Estudos de Associação de Amplitude Genômica do inglês <i>Genome-Wide Association Study</i> .
<i>HEXA</i> :	gene do inglês <i>Hexosaminidase Subunit Alpha</i> .
<i>HLA-DRB</i> :	gene do inglês <i>Major Histocompatibility Complex, Class II, DR Beta 1</i> .
<i>HLA-DRB5</i> :	gene do inglês <i>Major Histocompatibility Complex, Class II, DR Beta 5</i> .
<i>HOXA1</i> :	gene do inglês <i>Homeobox A1</i> .
<i>INPP5D</i> :	gene do inglês <i>Inositol Polyphosphate-5-Phosphatase D</i> .
<i>ITM2B</i> :	gene do inglês <i>Integral Membrane Protein 2B</i> .
<i>KCNMA1</i> :	gene do inglês <i>Potassium Calcium-Activated Channel Subfamily M Alpha 1</i> .
<i>LRRK2</i> :	gene do inglês <i>Leucine-rich repeat kinase 2</i> .
<i>MEF2C</i> :	gene do inglês <i>Myocyte Enhancer Factor 2C</i> .
<i>MS4A6A</i> :	gene do inglês <i>Membrane Spanning 40Domains A6A</i> .
NFTs:	Emaranhados Neurofibrilares do inglês <i>Neurofibrillary Tangles</i> .
<i>NME8</i> :	gene do inglês <i>NME/NM23 Family Member 8</i> .
<i>NR2F1</i> :	gene do inglês <i>Nuclear Receptor Subfamily 2 Group F Member 1</i> .
<i>NRG1</i> :	gene do inglês <i>Neuregulin 1</i> .

<i>NXNL1</i> :	gene do inglês <i>Nucleoredoxin Like 1</i> .
<i>OTX2</i> :	gene do inglês <i>Orthodenticle Homeobox 2</i> .
<i>PARK2</i> :	gene do inglês <i>PRKN Parkin RBR E3 Ubiquitin Protein Ligase</i> .
<i>PAX6</i> :	gene do inglês <i>Paired Box 6</i> .
PD:	Doença de Parkinson do inglês <i>Parkinson`s Disease</i> .
<i>PICALM</i> :	gene do inglês <i>Phosphatidylinositol Binding Clathrin Assembly Protein</i> .
<i>PINK1</i> :	gene do inglês <i>PTEN Induced Kinase 1</i> .
<i>PITX3</i> :	gene do inglês <i>Paired Like Homeodomain 3</i> .
<i>POGZ</i> :	gene do inglês <i>Pogo Transposable Element Derived With ZNF Domain</i> .
<i>PRR12</i> :	gene do inglês <i>Proline Rich 12</i> .
<i>PSEN1</i> :	gene do inglês <i>Presenilin 1</i> .
<i>PSEN2</i> :	gene do inglês <i>Presenilin 2</i> .
<i>PTK2B</i> :	gene do inglês <i>Protein Tyrosine Kinase 2 Beta</i> .
<i>RERE</i> :	gene do inglês <i>Arginine-Glutamic Acid Dipeptide Repeats</i> .
<i>RIN3</i> :	gene do inglês <i>Ras and Rab Interactor 3</i> .
RNA-seq:	Sequenciamento de RNA (Sequenciamento de Transcriptoma).
RSL:	Revisão Sistemática da Literatura.
RTT:	Síndrome de Rett.
<i>S100A10</i> :	gene do inglês <i>S100 Calcium Binding Protein A10</i> .
SCZ:	Esquizofrenia.
<i>SLC24A4</i> :	gene do inglês <i>Solute Carrier Family 24 Member 4</i> .
<i>SLC52A2</i> :	gene do inglês <i>Solute Carrier Family 52 Member 2</i> .
SNC:	Sistema Nervoso Central.
<i>SNCA</i> :	gene do inglês <i>Synuclein Alpha</i> .
SNP:	do inglês <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> .

SNV:	do inglês <i>Single Nucleotide Variation</i> .
<i>SORL1</i> :	gene do inglês <i>Sortilin Related Receptor 1</i> .
<i>SOX2</i> :	gene do inglês <i>SRY-Box Transcription Factor 2</i> .
<i>SPATA5</i> :	gene do inglês <i>Spermatogenesis Associated 5</i> .
SPEM:	movimento de rastreamento ocular do inglês <i>Smooth Pursuit Eye Movement</i> .
<i>TCF4</i> :	gene do inglês <i>Transcription Factor 4</i> .
TDAH:	Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade.
TEA:	Transtorno do Espectro do Autismo.
<i>THEM4</i> :	gene do inglês <i>Thioesterase Superfamily Member 4</i> .
<i>VAMP2</i> :	gene do inglês <i>Vesicle Associated Membrane Protein 2</i> .
<i>VPS35</i> :	gene do inglês <i>VPS35 Retromer Complex Component</i> .
<i>ZCWPW1</i> :	gene do inglês <i>Zinc Finger CW-Type and PWWP Domain Containing 1</i> .

RESUMO

Introdução: Os distúrbios do sistema nervoso central (DSNC) são classificados em distúrbios do neurodesenvolvimento (DS) e doenças neurodegenerativas (DN). Entre os DS, estão os Transtornos do Espectro do Autismo (TEA), que se caracterizam por dificuldade de interação, de comunicação social e de comportamento, além de caracterizarem-se por apresentar interesses e realização de atividades restritas. As DN caracterizam-se por diversos problemas relacionados com movimentação, com fala, com raciocínio e com demência. Os indivíduos com TEA ou com alguma DN podem apresentar alterações oculares ou no processamento visual, além de alterações do movimento e fixação do olhar, como já demonstrado em estudos de associação de amplitude genômica (GWAS). Entretanto, na grande maioria dos estudos envolvendo DSNC, as análises não investigam se há presença de variantes genéticas que possuem correlação com alterações oftalmológicas. **Objetivo:** Analisar interações genéticas e moleculares de genes associados a alterações oftalmológicas em distúrbios do neurodesenvolvimento e doenças neurodegenerativas. **Metodologia:** Realizar uma revisão sistemática da literatura (RSL) para identificar e catalogar variantes genéticas associadas a alterações oftalmológicas em indivíduos com DSNC (TEA e DN). Realizar, a partir de genes contendo variantes genéticas, análise de redes de interação molecular e de expressão de genes e proteínas com a utilização de bancos de dados públicos. Anotar genes utilizando bases de dados públicos e literatura especializada de oftalmogenética. Analisar dados de sequenciamento de transcriptoma (RNA-seq) de amostras extraídas de indivíduos com distúrbios do neurodesenvolvimento. Investigar ocorrência de genes relacionados com visão que estejam diferencialmente expressos ($p < 0.05$). **Resultados:** A RSL identificou 1570 artigos candidatos que, após aplicação de um protocolo de análise e seleção de artigos, resultaram em 33 genes com algum tipo de variação genética em indivíduos com DSNC, porém todos com algum problema na visão. Dentre tais genes, 21 apresentaram interação do tipo proteína-proteína, e somente os genes *PRRI2* e *NXNLI* não apresentaram interações genéticas com os demais. Os dados da revisão foram organizados na forma de um atlas de oftalmogenética chamado OftGenetics. Na análise da expressão gênica dos genes do atlas OftGenetics em dados de transcriptoma de amostras post-mortem de córtex cerebral e retina, identificamos que *HOXA1* e *PITX3* não apresentaram expressão, sugerindo que tais genes não apresentam função nessas regiões do cérebro, contrário ao reportado na literatura. Realizou-se também uma busca dos 33 genes do atlas OftGenetics em bases de dados de oftalmogenética, como RETNET, Retinogenetics e KmeDB, sendo encontrado somente 6 genes. **Conclusão:** Encontramos 33 genes associados a DSNC com alterações oftalmológicas, representados na forma do atlas OftGenetics. Na análise dos genes, foram encontrados possíveis mecanismos celulares e moleculares que podem justificar os fenótipos oftalmológicos patogênicos nos indivíduos que apresentaram as variantes genéticas do atlas OftGenetics. Os dados também indicam que indivíduos com DSNC apresentam alterações em dados de expressão gênica, em genes importantes para o desenvolvimento e manutenção do olho.

Palavras-chave: distúrbios do neurodesenvolvimento, transtornos do espectro do autismo, doenças neurodegenerativas, oftalmogenética, redes de interação gênica.

ABSTRACT

Introduction: Central nervous system disorders (CNSD) are classified into neurodevelopmental disorders (DS) and neurodegenerative diseases (DN). Among the DS are the Autism Spectrum Disorders (ASD), which are characterized by difficulty in interaction, social communication and behavior, in addition to presenting restricted interests and activities. DN are characterized by several problems related to movement, speech, reasoning and dementia. Both ASD and DN can present changes in the eye or in visual processing, in addition to changes in gaze movement and fixation, as already demonstrated in genome-wide association studies (GWAS). However, in the vast majority of studies involving mental disorders, genetic analyzes are focused on identifying genetic variants related to CNSD, without investigating correlation with ophthalmological alterations. **Objective:** To analyze genetic and molecular interactions of genes associated with ophthalmological changes in neurodevelopmental conditions and neurodegenerative diseases. **Methodology:** Conduct a systematic literature review (SLR) to identify and catalog genetic variants associated with ophthalmological changes in patients with CNSD (ASD and DN). Perform, from genes containing genetic variants, analysis of molecular interaction networks and expression of genes and proteins in public databases. Search and annotate SLR genes using public databases and specialized ophthalmogenetic literature. To analyze transcriptome sequencing (RNA-seq) data from samples extracted from individuals with neurodevelopmental disorders. Investigate occurrence of SLR genes that are differentially expressed ($p < 0.05$). **Results:** The SLR identified 1570 candidate articles that, after applying an analysis and selection protocol of articles, resulted in 33 genes with some type of genetic variation in individuals with DSNC, but all with some vision problem. Among such genes, 21 showed protein-protein interaction, and only the *PRR12* and *NXNL1* genes did not show genetic interactions with the others. The review data were organized in the form of an ophthalmogenetics atlas called OfGenetics. In the analysis of the gene expression of the 33 genes in the cerebral cortex and retina, we identified that *HOXA1* and *PITX3* did not show expression, suggesting that such genes do not function in the brain. A search was also carried out for the 33 genes of the OfGenetics atlas in ophthalmogenetic databases such as RETNET, Retinogenetics and KmeyeDB, only 6 genes were found. **Conclusion:** We found 33 genes associated with CNSD with ophthalmological alterations, represented in the form of the OfGenetics atlas. In the gene analysis, possible cellular and molecular mechanisms were found that may explain the pathogenic ophthalmological phenotypes in individuals who presented the genetic variants of the OfGenetics atlas. The data also indicate that individuals with CNSD present alterations in gene expression data, in genes important for the development and maintenance of the eye.

Keywords: neurodevelopmental disorders, autism spectrum disorders, neurodegenerative diseases, ophthalmogenetics, gene interaction networks.

RESUMO POPULAR/*FACT SHEET*

Os distúrbios do neurodesenvolvimento (DS) e as doenças neurodegenerativas (DN) são Distúrbios do Sistema Nervoso Central (DSNC) que podem cursar com alterações genéticas e oftalmológicas. Neste sentido, o estudo genético e molecular pode demonstrar que indivíduos acometidos por DS e DN podem também apresentar problemas oftalmológicos. Porém, pouco se sabe atualmente a respeito da correlação entre variantes genéticas em genes que causam DSNC com problemas oftalmológicos. Desta forma, este trabalho buscou identificar e correlacionar variantes genéticas com fenótipos e genótipos de indivíduos com DS e DN. Para tal, foi realizada uma busca detalhada na literatura médica e científica, na forma de uma revisão sistemática da literatura (RSL), na qual foram encontrados 33 genes contendo variações genéticas associadas com DSNC em indivíduos com alterações patogênicas de visão. Na análise da genética molecular desses genes, 21 apresentaram interações do tipo proteína-proteína, e somente 2 genes não apresentaram interações genéticas. Na análise de expressão desses genes em córtex cerebral e retina, os genes *HOXA1* e *PITX3* não apresentaram expressão. Realizamos também uma busca dos 33 genes da RSL em banco de dados de oftalmogenética, como Retnet, Retinobase, e foram encontrados somente 6 genes. Por último, foi realizada uma análise de dados em amostras públicas de transcriptoma de pacientes com DS para verificar se os genes identificados na revisão apresentaram alteração significativa de expressão gênica nas amostras com DSNC. A análise das interações genéticas e moleculares desses genes pode ajudar a justificar os fenótipos encontrados e o número de genes encontrados em bases de oftalmogenética demonstra que esse é um assunto ainda pouco explorado.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. JUSTIFICATIVA.....	10
3. OBJETIVOS.....	11
3.1 Objetivo Geral.....	11
3.2 Objetivos Específicos.....	11
4. MÉTODOS.....	12
4.1 Protocolo de Revisão Sistemática da Literatura.....	12
4.2 Análise de Redes de Interação Proteína-Proteína.....	15
4.3 Análise de Expressão de Genes e Proteínas e Bancos de Dados Públicos.....	15
4.4 Análise de interações genéticas entre os genes.....	15
4.5 Amostras de Transcriptoma (RNA-seq) de Pacientes com Distúrbios do Neurodesenvolvimento.....	16
4.6 Análise de Expressão Gênica de Bibliotecas de Transcriptomas.....	18
4.7 Análise da expressão dos genes encontrados na RSL em base pública de transcriptoma de tecidos oculares.....	19
4.8 Busca dos genes da RSL em base de dados de oftalmogenética.....	19

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5.1 Revisão sistemática da literatura de transtornos mentais relacionados com oftalmogenética.....	21
5.2 Características das variações genéticas de condições do neurodesenvolvimento e neurodegenerativas associadas com alterações da visão.....	22
5.3 Correlação entre genótipo e fenótipo celular/molecular das variações genéticas com alterações da visão.....	28
5.4 Fatores de transcrição envolvidos na interação molecular entre genes associados com transtornos mentais e alteração de visão.....	36
5.5 Classificação dos genes quanto ao grupo de patologias associadas.....	47
5.5.1 Genes relacionados a distúrbios neurodegenerativos.....	47
5.5.2 Genes relacionados a distúrbios do neurodesenvolvimento.....	49
5.6 Genes da revisão e bases de dados de oftalmogenética.....	52
5.7 Análise dos genes encontrados em amostras de transcriptoma (RNA-seq) de pacientes com distúrbios do neurodesenvolvimento (DS).....	54
6. CONCLUSÃO.....	57
7. REFERÊNCIAS.....	59

1.INTRODUÇÃO

Os distúrbios do sistema nervoso central (DSNC) são classificados dicotomizados em distúrbios do neurodesenvolvimento, quando apresentam geralmente início precoce, e doenças neurodegenerativas, quando apresentam início tardio (Thibaut 2022).

O autismo faz parte dos distúrbios do neurodesenvolvimento e foi descrito primeiramente por Kanner em 1943 (Rylaarsdam and Guemez-Gamboa 2019). Posteriormente, foram relatados outros casos, muitos semelhantes, por Asperger em 1944 (Galvez-Contreras, Zarate-Lopez et al. 2020). Tais relatos resultaram em duas síndromes que levam o nome deles: síndrome de Kanner e síndrome de Asperger (Rosen, Lord et al. 2021). A partir de então, diversos distúrbios do neurodesenvolvimento passaram a ser reportados e classificados sob diferentes aspectos, tanto clínicos quanto comportamentais. Neste contexto, atualmente é utilizado o documento “O Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais”, em sua última revisão (DSM-V), do ano de 2013 (Lai, Lombardo et al. 2014), o qual renomeou o autismo como Transtorno do Espectro do Autismo (TEA). Esta classificação mais ampla do autismo para TEA possibilitou a inclusão de vários fenótipos sobre dois aspectos: dificuldade de interação e comunicação social e comportamental, interesses e atividades restritas e repetitivas (Lai, Lombardo et al. 2014).

A síndrome de Rett, classificada no DSM-V como um tipo de autismo sindrômico (2013), é caracterizada por um atraso no neurodesenvolvimento que afeta em sua maioria meninas, por estar ligada ao cromossomo X e a alterações no gene *MECP2* (Weaving, Ellaway et al. 2005). Outro exemplo de autismo sindrômico é a Síndrome do X frágil, síndrome ligada ao X na qual o portador apresenta alterações do neurodesenvolvimento e é um tipo de condição genética dominante e hereditária (Bagni and Zukin 2019).

A incidência atual do TEA é estimada em 2% da população (Jeckel, Kriebel et al. 2021), acometendo mais homens do que mulheres (relação de 4 homens para 1 mulher) (Steinman 2020). Estudos em gêmeos demonstraram alta hereditariedade, em torno de 60-95%, dependendo do tipo de TEA (Bralten, van Hulzen et al. 2017). O aumento da incidência do TEA fez alguns países, como o Japão, realizar triagem das crianças de 18 a 24 meses através de protocolo YACHT, o qual é aplicado por enfermeiras da rede pública (Levy, Mandell et al. 2009).

O TEA é considerado, atualmente, uma patologia multifatorial envolvendo fatores genéticos, ambientais e comportamentais. Fatores ambientais, em trabalhos epidemiológicos, foram considerados fatores de risco para o TEA (Rylaarsdam and Guemez-Gamboa 2019) e devido a alta taxa de hereditariedade do TEA, os fatores genéticos se tornaram a principal fonte de pesquisa da etiopatogenia (Chaste and Leboyer 2012). O avanço no reconhecimento de variantes genéticas fez com que centenas de genes fossem associados com a ocorrência de TEA. Neste contexto, já foram relatados diversos tipos de alterações genéticas, desde polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP, do inglês *Single Nucleotide Polimorphism*) até alterações maiores, como alteração no número de cópias de regiões repetitivas, as quais apresentam perda ou ganho de centenas a até milhares de bases (CNV, do inglês *Copy number variation*). Os estudos também permitiram identificar se as variantes genéticas são hereditárias (herdadas de um dos pais) ou “*de novo*” (são detectadas exclusivamente no genoma do probando, sendo, portanto, ausente no genoma parental) (Vorstman, Parr et al. 2017).

Apesar da etiologia do TEA ainda não ser totalmente conhecida, os indivíduos acometidos por tais distúrbios mentais apresentam alterações neurológicas associadas a problemas de mielinização (Galvez-Contreras, Zarate-Lopez et al. 2020). Tais alterações estão associadas com mudanças em células da glia, onde incluem-se astrócitos,

oligodendrócitos, microglia e células de Schwann (Steinman 2020). Estas últimas são responsáveis pela mielinização do sistema nervoso central e pelo suporte às sinapses dos neurônios, além de sua reparação (Steinman 2020). Áreas mais mielinizadas no cérebro formam a substância cinzenta, já áreas com menos mielina formam a substância branca. Desta forma, as alterações de mielinização fazem com que indivíduos com TEA apresentem alterações nestas duas áreas (Hughes 2007).

Outro tipo de distúrbio do neurodesenvolvimento é a esquizofrenia, que também é classificada como um transtorno neuropsiquiátrico (Rund 2018) que afeta aproximadamente 1% da população mundial (Birnbaum and Weinberger 2017). Seu diagnóstico é realizado através de sintomas positivos, conhecidos como alucinações e delírios, e sintomas negativos como a avolição e o embotamento (McCutcheon, Reis Marques et al. 2020). Com o desenvolvimento de grandes estudos de associação de amplitude genômica (GWAS), foi possível melhorar e aumentar a compreensão da arquitetura genética relacionada com a esquizofrenia (Jaffe, Straub et al. 2018). Meta-análises permitiram reclassificar e associar genes de risco como possíveis responsáveis pela esquizofrenia (van de Leemput, Hess et al. 2016). Pacientes com esquizofrenia também apresentam alterações do movimento do olhar e, através de pesquisas de GWAS, já foram identificados vários SNPs (do inglês *Single Nucleotide Polimorphism*) associados a diferentes fenótipos da visão (Kikuchi, Miura et al. 2018).

No grupo dos distúrbios do neurodesenvolvimento está o Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH), que é caracterizado por desatenção, impulsividade e hiperatividade e com manifestação antes dos 12 anos de idade (Grimm, Kranz et al. 2020). Estudos em gêmeos demonstraram hereditariedade em cerca de 70-80% dos casos de TDAH, e estudos do tipo GWAS indicaram 12 *loci* de risco para o distúrbio (Demontis, Walters et al. 2019).

Outra classe de distúrbios do cérebro envolvem aquelas relacionadas com a neurodegeneração, que é uma disfunção e/ou perda de neurônios e axônios do sistema nervoso central (SNC) (Dugger and Dickson 2017). Tais perdas representam o primeiro sinal de ocorrência de diversas doenças do SNC, como Doença de Parkinson (PD), Doença de Alzheimer (AD) e Esclerose Múltipla (Amor, Puentes et al. 2010). Na maioria das doenças neurodegenerativas, a diminuição/disfunção dos neurônios é associada com acúmulo de proteínas que alteram as características físico-químicas do cérebro e de órgãos periféricos, sendo a classificação dessas doenças baseada no depósito dessas proteínas (Kovacs 2017).

Dentre as doenças neurodegenerativas, a PD se caracteriza por perda prematura dos neurônios dopaminérgicos na porção compacta da substância nigra do cérebro (Hayes 2019). Neste sentido, a deficiência da dopamina dentro dos gânglios da base leva a uma alteração no movimento do olho, que é caracterizado por sintomas motores parkinsonianos clássicos (Kalia and Lang 2015). Entretanto, a doença de Parkinson envolve também outros neurotransmissores além da dopamina, e também outras regiões cerebrais, entre elas, a região dos gânglios da base (Kalia and Lang 2015). As causas da doença de Parkinson, atualmente, são relacionadas com uma associação entre diferentes fatores ambientais e genéticos, e por se tratar de uma doença com progressão lenta e degenerativa, ela pode iniciar-se antes de ser diagnosticada (Kalia and Lang 2015). Nas últimas duas décadas, foram identificados diferentes tipos de variantes genéticas associadas com alto risco ou causais para a PD (Periñán, Brolin et al. 2022). Tais mutações incluem variantes monogênicas e hereditárias (mendelianas), que representam entre 5 a 10% dos casos diagnosticados da doença (Kim and Alcalay 2017). Dentre os principais genes que contém tais variantes, incluem-se *LRRK2* (*Leucine-rich repeat kinase 2*), *SNCA* (*Synuclein Alpha*), *VPS35* (*VPS35 Retromer Complex Component*),

PARK2 (PRKN Parkin RBR E3 Ubiquitin Protein Ligase), PINK1 (PTEN Induced Kinase 1), DJ1 (PARK7 Parkinsonism Associated Deglycase) e GBA (Glucosylceramidase Beta) (Kim and Alcalay 2017).

Outra patologia, a doença de Alzheimer (AD), é a doença neurodegenerativa mais comum da vida adulta (Ertekin-Taner 2007), sendo responsável por 50-75% das demências diagnosticadas (Cacace, Sleegers et al. 2016). AD é caracterizada pela presença de placas amilóides e emaranhados neurofibrilares (NFTs), e foi descrita pela primeira vez por Alois Alzheimer, a partir da análise de autópsias cerebrais de pacientes com AD (Kumar, Singh et al. 2015). Atualmente, sua heterogenicidade clínica indica um grande componente genético. Há atualmente diversos genes que, dependendo do tipo de variante genética que possuem, são classificados com fatores de risco para o desenvolvimento da doença, onde incluem-se os genes *APP (Amyloid Beta Precursor Protein)*, *PSEN1 (Presenilin 1)*, *PSEN2 (Presenilin 2)*, *ADAM10 (ADAM Metallopeptidase Domain 10)*, *APOE (Apolipoprotein E)* (Neuner, Tcw et al. 2020). Outros estudos baseados em GWAS também demonstraram correlação de ocorrência de AD com variants genéticas nos genes *CRI (Complement C3b/C4b Receptor 1)*, *BIN1 (Bridging Integrator 1)*, *CD2AP (CD2 Associated Protein)*, *EPHA1 (EPH Receptor A1)*, *CLU (Clusterin)*, *MS4A6A (Membrane Spanning 40 Domains A6A)*, *PICALM (Phosphatidylinositol Binding Clathrin Assembly Protein)*, *ABCA7 (ATP Binding Cassette Subfamily A Member 7)*, *HLA-DRB5 (Major Histocompatibility Complex, Class II, DR Beta 5)*, *HLA-DRB (Major Histocompatibility Complex, Class II, DR Beta 1)*, *PTK2B (Protein Tyrosine Kinase 2 Beta)*, *SORL1 (Sortilin Related Receptor 1)*, *SLC24A4 (Solute Carrier Family 24 Member 4)*, *RIN3 (Ras and Rab Interactor 3)*, *INPP5D (Inositol Polyphosphate-5-Phosphatase D)*, *MEF2C (Myocyte Enhancer Factor 2C)*, *NME8 (NME/NM23 Family Member 8)*, *ZCWPW1 (Zinc Finger CW-Type and PWWP*

Domain Containing 1), *CELF1* (*CUGBP Elav-Like Family Member 1*), *FERMT2* (*FERM Domain Containing Kindlin 2*), *CASS4* (*Cas Scaffold Protein Family Member 4*), *CD33* (*CD33 Molecule*) e *EPHA1* (*EPH Receptor A1*). Tais genes correspondem a *loci* gênicos de suscetibilidade para AD, sendo que a maioria agrupa-se em três vias metabólicas: inflamação e resposta imune; metabolismo lipídico e endocitose (Reitz 2015). Há também formas de AD de início precoce com sintomas iniciais na faixa dos 50 anos, e com sinais de demência na faixa dos 60 anos (Klein and Hermey 2023). A forma autossômica dominante monogênica representa menos de 1% dos casos da doença, e se caracteriza por sinais iniciais em torno dos 20 anos, com a ocorrência de sinais de demência em torno dos 40 anos (Klein and Hermey 2023), e está associada a mutações em um dos seguintes genes: *APP*, *PSEN1* ou *PSEN2*. As mutações no gene *PSEN1* são as mais frequentes para este subtipo (Vöglein, Paumier et al. 2019). Além disso, também já foi identificado no gene *APOE* um polimorfismo que representa o maior fator de risco para AD. Neste contexto, um único alelo APOE-ε4, quando alterado, representa risco aumentado de 2-3 vezes para a ocorrência da doença, e a presença de 2 cópias de tal gene está associado a um risco de 5-6 vezes maior para sua ocorrência (Neuner, Tcw et al. 2020).

Alterações de massa cinzenta e massa branca são encontradas em doenças neurodegenerativas, como na PD (Bharti, Suppa et al. 2019). No caso da esquizofrenia, estudos baseados na análise de neuroimagem detectaram alterações de diminuição de massa cinzenta e a disrupção das redes de desenvolvimento normais em pacientes com esquizofrenia associado a déficit cognitivos (McCutcheon, Reis Marques et al. 2020). Tais estudos demonstram a ocorrência de fenótipos semelhantes entre esses grupos de doenças distintas.

Apesar da ampla quantidade de fenótipos já identificados nos distúrbios do SNC, tanto dos distúrbios do neurodesenvolvimento quanto de doenças neurodegenerativas, a

grande maioria dos casos analisados não tem investigado se os indivíduos com tais distúrbios apresentam variantes genéticas que afetam também o olho. Em indivíduos com TEA, já foram relatados diversos casos de pacientes que apresentam alterações no processamento do reconhecimento facial, que foi evidenciado por estudos de neurofisiologia (Frye, Vassall et al. 2019). Teorias apresentam, como causa dessa alteração, a dificuldade de interação social e motivacional, mas há outra hipótese de que as alterações de reconhecimento facial também são derivadas de alterações neurológicas presentes nesses indivíduos (Behrmann, Thomas et al. 2006). Além disso, alterações no neurodesenvolvimento já foram associados com interações da formação dos olhos com o sistema nervoso central (Chokron, Kovarski et al. 2020), sugerindo também que alterações congênitas, como aquelas que ocorrem em TEA, podem afetar o desenvolvimento e a estabilidade da visão. Do ponto de vista genético e molecular, o desenvolvimento do cérebro, do olho e diversos outros órgãos é regulado pela via *Hedgehog*. Esta via é composta por uma rede de integração de fatores de transcrição, como *PAX6* e o *OTX2*, que são responsáveis pela sinalização de outras moléculas que, caso apresentem problemas, podem resultar em má formação ocular e cerebral (Cavodeassi, Creuzet et al. 2019).

Com objetivo de mapear as alterações genéticas e moleculares dos distúrbios do sistema nervoso central, tem sido cada vez mais empregadas tecnologias modernas de genômica. Neste contexto, as tecnologias de sequenciamento de transcriptoma de nova geração (RNA-seq) tem sido amplamente utilizadas para identificar genes alterados em distúrbios mentais, pois permitem também desvendar as complexas interações moleculares de genes no desenvolvimento das doenças do neurodesenvolvimento, como o autismo e a esquizofrenia (Tebbenkamp, Willsey et al. 2014). A tecnologia RNA-seq permite identificar quais genes apresentam expressão significativamente alteradas em

probandos em relação a indivíduos neurotípicos, tornando possível gerar hipóteses viáveis de quando e onde, no cérebro humano, os genes envolvidos com a doença convergem. Além disso, dados de RNA-seq também permitem interpretar variantes genéticas e outros tipos de alterações fenotípicas associadas com a doença estudada (Tebbenkamp, Willsey et al. 2014). Neste sentido, pesquisas anteriores utilizando dados de RNA-seq foram usados para demonstrar a associação de genes, como o *FOXP2*, com a ocorrência de distúrbios do neurodesenvolvimento e doenças neurodegenerativas (Oswald, Kloble et al. 2017). Outro gene, o *CHD8*, também já foi associado, através de RNA-seq, com o autismo e a esquizofrenia (Wang, Mokhtari et al. 2017). Outro grupo de transtornos analisados atualmente por RNA-seq são os transtornos bipolares (Hoffman, Bendl et al. 2019), que são caracterizados pela flutuação do humor nos indivíduos acometidos, sendo sua hereditariedade estimada em aproximadamente 70-90% (Carvalho, Firth et al. 2020). A partir de dados de RNA-seq, já é possível utilizar bases de dados de oftalmologia, como o *The Human Eye Transcriptome Atlas*, para analisar qual parte da visão pode estar afetada a partir de dados de genes diferencialmente expressos no indivíduo afetado. Esta base de dados apresenta dados de RNA-seq de quinze tipos de tecidos oculares e fornece dados comparativos com a expressão de genes de 100 tipos de patologias com relação a tecidos oculares normais (Wolf, Boneva et al. 2022).

Atualmente, na literatura, há poucos trabalhos sobre o impacto de alterações oftalmológicas em pacientes com distúrbios do neurodesenvolvimento e doenças neurodegenerativas. Além disso, faltam também bases de dados de genes e transcriptomas que associem alterações oftalmológicas com distúrbios do sistema nervoso central. Desta forma, o melhor conhecimento de alterações genéticas e moleculares, assim como das vias metabólicas associadas a elas, pode ajudar na melhor compreensão das alterações

oftalmológicas em indivíduos acometidos com distúrbios do neurodesenvolvimento ou doenças neurodegenerativas.

2.JUSTIFICATIVA

Conforme amplamente reportado na literatura, incluindo diversos estudos de caso e de coortes, indivíduos com distúrbios do sistema nervoso central (DSNC), como os distúrbios do neurodesenvolvimento (DS) e as doenças neurodegenerativas (DN), possuem diversas comorbidades, incluindo alterações oftalmológicas. O problema é que tais alterações são apenas citadas por estudos independentes e com poucos indivíduos. Faltam, portanto, estudos que cataloguem tais dados em uma base única, e que seja possível investigar se as variantes genéticas patogênicas dos pacientes com DSNC podem também estar correlacionadas com problemas oftalmológicos.

Além disso, os estudos que correlacionam alterações genéticas com danos oftalmológicos em indivíduos com DSNC apenas apresentam dados empíricos, sem demonstrar a nível celular ou molecular se a variante patogênica identificada é a causa do problema na visão. Desta forma, tais estudos não realizam uma investigação molecular correlacionando se a alteração em um determinado gene pode alterar o fenótipo do olho. Tais fenótipos incluem desde manutenção da visão/olho, o processamento visual no cérebro, mas também sua formação, desenvolvimento e manutenção, que já se inicia no estágio embrionário.

Complementarmente, os estudos envolvendo indivíduos com DSNC são dirigidos para a investigação de alterações moleculares em dados de transcriptoma ou proteoma, porém consideram apenas genes envolvidos com fenótipos relacionados diretamente com problemas no cérebro, ignorando genes associados com alterações oftalmológicas. Entretanto, o fato dos indivíduos com DSNC também apresentarem danos na visão sugere fortemente que há ocorrência de problemas de expressão de genes que também atuam no desenvolvimento ou manutenção da visão.

3.OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Realizar o mapeamento de alterações genéticas em distúrbios do neurodesenvolvimento e em doenças neurodegenerativas para identificação de alterações transcricionais e moleculares associados a alterações oftalmológicas.

3.2 Objetivos específicos:

- a) Realizar uma revisão sistemática da literatura (RSL) para identificar variantes genéticas associadas a alterações oftalmológicas em pacientes com distúrbios do neurodesenvolvimento ou doenças neurodegenerativas;
- b) Anotar e caracterizar genes e variantes genéticas associados a alterações oftalmológicas e respectivos fenótipos, e disponibilizar na forma de um atlas oftalmogenético OftGenetics;
- c) Realizar análise de interação genética e molecular dos genes do atlas OftGenetics para identificar correlações com desenvolvimento e manutenção da visão;
- d) Analisar dados de sequenciamento de RNA (RNA-seq) de indivíduos com distúrbios do sistema nervoso central, onde incluem-se TEA, doenças neurodegenerativas e esquizofrenia;
- e) Identificar genes diferencialmente expressos em dados de RNA-seq para gerar redes de interação genética e molecular, e correlacionar com os dados do atlas OftGenetics;
- f) Identificar problemas no desenvolvimento e/ou manutenção da visão a partir de alterações moleculares identificadas em RNA-seq;
- g) Comparar genes dos atlas OftGenetics com dados de bases públicas de oftalmogenética.

4.MÉTODOS

4.1 Protocolo de Revisão Sistemática da Literatura

Foi realizado uma revisão sistemática da literatura (RSL) baseado no protocolo de Kitchenham and Charters (Kitchenham 2007). O objetivo principal desta RSL foi buscar alterações genéticas em condições do neurodesenvolvimento e neurodegenerativas em indivíduos que também apresentem alterações de visão. O protocolo para a RSL foi definido e executado sequencialmente considerando as seguintes etapas:

a) Questões principais e secundárias:

A realização desta RSL foi focada na seguinte questão principal:

- Quais são as alterações genéticas de condições do neurodesenvolvimento e de doenças neurodegenerativas que apresentam alterações na estrutura da visão?

A partir da questão principal, foram definidas as seguintes questões secundárias:

- Quais os tipos de variantes genéticas (SNP, inserção, deleção, indel, mosaicismo, CNV, entre outras) ocorrem em distúrbios do neurodesenvolvimento e doenças neurodegenerativas associadas a alterações da visão.
- Qual a relação das variantes genéticas encontradas com genes, e qual relação de cada uma com fenótipo celular/molecular relacionado com alteração da visão?
- Para cada variante genética encontrada, qual a condição oftalmológica foi reportada?

b) Determinação das palavras-chave:

As 3 seguintes palavras-chave e seus respectivos sinônimos, todos em idioma inglês, foram considerados nesta revisão. É importante ressaltar que as palavras-chave são amplas para garantir que não sejam ignorados trabalhos relevantes para a pesquisa:

- palavra 1: *genetics*: *gene*, *genomic*, DNA, RNA.

- palavra 2: *neurological condition, neurodegenerative, neurologic, autism, mental disorder, neurodegeneration, Alzheimer, Parkinson, Schizophrenia.*

- palavra 3: *vision: visual, eye, retina.*

c) Critérios de inclusão e exclusão:

Os seguintes critérios de inclusão foram considerados:

- Artigos publicados até 01/08/22.
- Somente artigos escritos no idioma inglês.
- Somente artigos que apresentam alterações oftalmológicas/visuais associados a doenças neurodegenerativas ou a distúrbios do neurodesenvolvimento.

Os critérios de exclusão considerados foram:

- Artigos que apresentam estudos em organismos não-humanos.
- Artigos que não apresentam alterações oftalmológicas/visuais em relação a doenças neurodegenerativas ou a distúrbios do neurodesenvolvimento.

d) Base de dados para busca de artigos:

As bases de dados PubMed e Scopus foram utilizadas nesta pesquisa.

e) Construção de *String* de Busca:

As palavras-chave da RSL foram combinadas para formar a *string* de busca para as bases de dados consideradas (Tabela 1).

Tabela 1- *String* de busca utilizado no PubMed e Scopus.

Base de dados	String de busca
PubMed	(gene[Title/Abstract] OR genome[Title/Abstract] OR genetic[Title/Abstract] OR dna[Title/Abstract] OR RNA[Title/Abstract]) AND (neurodegenerative[Title/Abstract] OR neurologic[Title/Abstract] OR autism[Title/Abstract] OR mental disorder[Title/Abstract] OR neurodegeneration[Title/Abstract] OR Alzheimer[Title/Abstract] OR Parkinson[Title/Abstract] OR schizophrenia[Title/Abstract]) AND (visual[Title/Abstract] OR vision[Title/Abstract] OR eye[Title/Abstract] OR retina[Title/Abstract]) AND (human[Title/Abstract] OR homo sapiens[Title/Abstract])
Scopus	TITLE-ABS (gene) OR TITLE-ABS (genome) OR TITLE-ABS (genetic) OR TITLE-ABS (dna) OR TITLE-ABS (rna) AND TITLE-ABS (neurodegenerative) OR TITLE-ABS (neurologic) OR TITLE-ABS (autism) OR TITLE-ABS (mental AND disorder) OR TITLE-ABS (neurodegeneration) OR TITLE-ABS (alzheimers) OR TITLE-ABS (parkinson) OR TITLE-ABS (schizophrenia) AND TITLE-ABS (visual) OR TITLE-ABS (vision) OR TITLE-ABS (eye) OR TITLE-ABS (retina) AND TITLE-ABS (human) OR TITLE-ABS (homo AND sapiens)

f) Extração de dados:

Os artigos selecionados foram analisados e os dados foram coletados em planilhas de dados (Excel) para responder as questões da pesquisa. As informações coletadas para cada artigo selecionado foram: ano de publicação e dados bibliográficos, alteração genética relatada (cromossomo, tipo de variação genética, hereditariedade, zigosidade, gene associado, localização da variante genética, versão do genoma, código da variação genética, impacto da variação genética na proteína), idade dos pacientes, gênero, descrição clínica dos pacientes (fenótipo) e patologias associadas.

4.2 Análise de redes de interação proteína-proteína

A análise de interação proteína-proteína foi realizada com o software String, que possui uma base de dados de interações proteína-proteína (Szklarczyk, Gable et al. 2021). A utilização do software baseou-se no uso dos seguintes parâmetros (mantidos em inglês para garantir reprodutibilidade dos experimentos): 1st shell: no more than 35 interactors; 2nd shell: no more than 35 interactors; minimum confidence: high confidence (0.700); active sources: textmining, experiments, database, co-occurrence, co-expression.

4.3 Análise de expressão de genes e proteínas em bancos de dados públicos

Para verificar a expressão de genes e proteínas foram utilizadas duas bases de dados públicas. A primeira base de dados é GTEx (*The Genotype-Tissue Expression* (GTEx) (Consortium 2013), a qual contém dados públicos abrangentes de expressão e regulação de genes específicos de diferentes tecidos (cérebro, coração, olho, fígado, intestino, etc.). As amostras de tecidos desse consórcio incluem dados coletados de doadores saudáveis *post mortem*. Através de estudos de genotipagem, é verificada a variação genética dos dados, e através da análise de RNA de cada tecido, é possível avaliar os níveis de expressão dos genes de forma quantitativa.

A segunda base de dados utilizada é *The Human Protein Atlas* (HPA) (Uhlen, Fagerberg et al. 2015), a qual contém dados de expressão de proteínas em diferentes tecidos, similar ao GTEx. A base de dados HPA é composta por seis atlas distintos, na qual o atlas de cérebro permite que sejam exploradas a expressão das proteínas de dez regiões do cérebro de mamíferos, onde incluem-se humanos e camundongos.

4.4 Análise de interações genéticas entre os genes

Para análise de interações genéticas entre genes foi utilizada a base de dados GeneMANIA (Warde-Farley, Donaldson et al. 2010), a qual permite realizar uma análise detalhada de interações entre genes através de dados de interações de proteína, genes, co-expressão, co-localização e similaridade de domínios de proteína.

4.5 Amostras de transcriptoma (RNA-seq) de pacientes com distúrbios do neurodesenvolvimento (DS)

Para o levantamento de amostras de pacientes com DS, foi realizada uma busca por dados de transcriptoma (RNA-seq) disponíveis através do banco de dados público *BioProject*, disponibilizado pelo *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). O repositório *BioProject* armazena diversas categorias de dados biológicos produzidos pela comunidade de pesquisa. Os tipos de dados incluem genomas completos e parciais, transcriptomas, epigenoma, dados de variantes genéticas e dados fenotípicos (Barrett, Clark et al. 2012).

Para esta pesquisa, foi realizada uma busca por bases de RNA-seq que foram depositadas no *BioProject*, considerando amostras celulares e/ou de tecidos caracterizadas e publicadas em periódicos internacionais. Os dados de cada trabalho foram analisados meticulosamente e incluídos neste estudo (Tabela 2). Ao total, foram obtidas e analisadas 525 amostras de RNA-seq oriundos de 18 projetos distintos. As amostras selecionadas, referentes a DN, compreendem as seguintes condições: TEA (Transtorno do Espectro do Autismo), BPD (Transtorno Bipolar), RTT (Síndrome de Rett), SCZ (Esquizofrenia) e FXS (Síndrome do X frágil).

Tabela 2: Amostras de RNA-seq obtidas através de bases de dados públicas e a partir de colaboração. DS: tipo de distúrbio estudado: TEA (transtorno espectro autismo), BPD (transtorno Bipolar), RTT (síndrome de Rett), FXS (síndrome do X frágil) ou SCZ (esquizofrenia); BioProject ID: identificador da biblioteca de amostras; Amostras CT: número de amostras do tipo controle para a biblioteca; Amostras DN: número de amostras que são caracterizadas para o DN estudado. Tipo celular: tipo celular ou origem do tecido extraído para amostras. ESC (célula-tronco embrionária), iPSC (célula-tronco com pluripotência induzida), NPC (célula precursora neuronal), NE (neurônio) e PO (tecido *post mortem*), KO (células com “*Knockout*” do gene).

DS	BioProject ID	Amostras CT	Amostras DN	Tipo Celular
TEA03	PRJNA398545	39	13	PO
TEA12	PRJNA143369	6	6	PO
TEA18	PRJNA316853	9	9	PO
TEA21	PRJNA222268 PRJNA254971	38	34	PO
TEA45	PRJNA261255	8	4	iPSC
TEA83	PRJNA280163	8	5	iPSC
BPD07	PRJNA231202	31	31	PO
BPD18	PRJNA253946	4	6	NE
FXS01	PRJNA307570	4	4	iPSC/NE
FXS02	PRJNA481532	10	14	iPSC/ESC/K O
RTT16	PRJNA302685	3	3	PO
RTT20	PRJNA224073	3	13	iPSC
RTT30	PRJNA419983	14	16	iPSC/ESC/N E
SCZ01	PRJNA358689	4	4	NE
SCZ09	PRJNA248182	3	6	NE
SCZ38	PRJNA343829	19	19	PO
SCZ82	PRJNA314463	18	22	PO
SCZ94	PRJNA417295	24	24	NE
SCZ94	PRJNA417295	24	23	NPC

4.6 Análise de expressão gênica de bibliotecas de transcriptoma

Para análise de expressão gênica de bibliotecas de sequenciamento de RNA (RNA-seq), cada amostra foi inicialmente filtrada, no qual foram descartados *reads* de baixa qualidade (escore PHRED inferior a 20), e eliminadas sequências de adaptadores utilizando o NGS-QC Toolkit (Patel and Jain 2012). As *reads* de alta qualidade foram mapeadas contra o genoma de referência humano (hg38) com o software de alinhamento de transcritos STAR (*Spliced Transcripts Alignment to a Reference*)(Dobin, Davis et al. 2013) versão 2.5.4b.

Após a análise dos alinhamentos, foi realizada a contagem da quantidade absoluta de *reads* alinhadas para cada uma das amostras. A contagem considera *reads* alinhadas unicamente e foi realizada com o uso do software *featureCounts* versão 1.6.3 (Liao, Smyth et al. 2014), utilizando parâmetros padrão e anotação para o genoma de referência humano (hg38).

A análise de significância estatística da expressão de transcriptoma foi realizada com o pacote DESeq2 (Love, Huber et al. 2014) versão 1.16.1 utilizando o software R (Team 2016) versão 3.4.1. Para esta análise, as amostras foram normalizadas através do método RLE (*Relative Log Expression*) e a partir dos dados normalizados, foi realizado o cálculo do *fold-change* em escala *log* na base 2 e a significância estatística (*p*) calculada através do teste de Wald (Wald 1945). O *fold-change* indica a variação relativa de expressão dos transcritos entre duas amostras comparadas. Estes valores são controlados por erros estatísticos do tipo 1 (probabilidade de falso positivos), calculados pelo método conhecido por *False Discovery Rate* (FDR) e ajustados com o uso de testes múltiplos de Benjamin-Hochberg (Benjamini and Hochberg 1995). O nível de significância estatística foi considerado para $p < 0,05$.

4.7 Análise da expressão dos genes em base pública de transcriptoma de tecidos oculares

A análise de expressão dos genes em tecidos oculares foi realizada através da base de dados “*Human Eye Transcriptome Atlas*”(HETA) (Wolf, Boneva et al. 2022), a qual apresenta a expressão de genes oculares oriunda de 100 amostras que correspondem a 15 diferentes tipos de tecido ocular, tanto de patologias oftalmológicas quanto de tecidos saudáveis. Esta base possui os dados normalizados, nas 100 amostras, para garantir a comparação entre a expressão gênica em diferentes tecidos.

4.8 Busca dos genes em base de dados de oftalmogenética

Foi realizado a busca dos genes em bases de dados de oftalmogenética. As bases utilizadas foram: RetNet (the Retinal Information Network), ClinVar (Landrum, Lee et al. 2018), Retinogenetics (Ran, Cai et al. 2014), KMeyeDB (Minoshima, Mitsuyama et al. 1999), RetinoBase (Kalathur, Gagniere et al. 2008) e EyeSite (Lee, Fefeu et al. 2004). RetNet é uma base focada em doenças hereditárias da retina. ClinVar é uma base de referência para variantes genéticas com importância clínica. Retinogenetics é uma base de dados genética sobre degeneração hereditária de retina. KMeyeDB é uma base de mutações genéticas em doenças oculares. RetinoBase é uma base de dados de expressão gênica em retina. EyeSite é uma base de proteínas do olho.

5.RESULTADOS E DISCUSSÃO

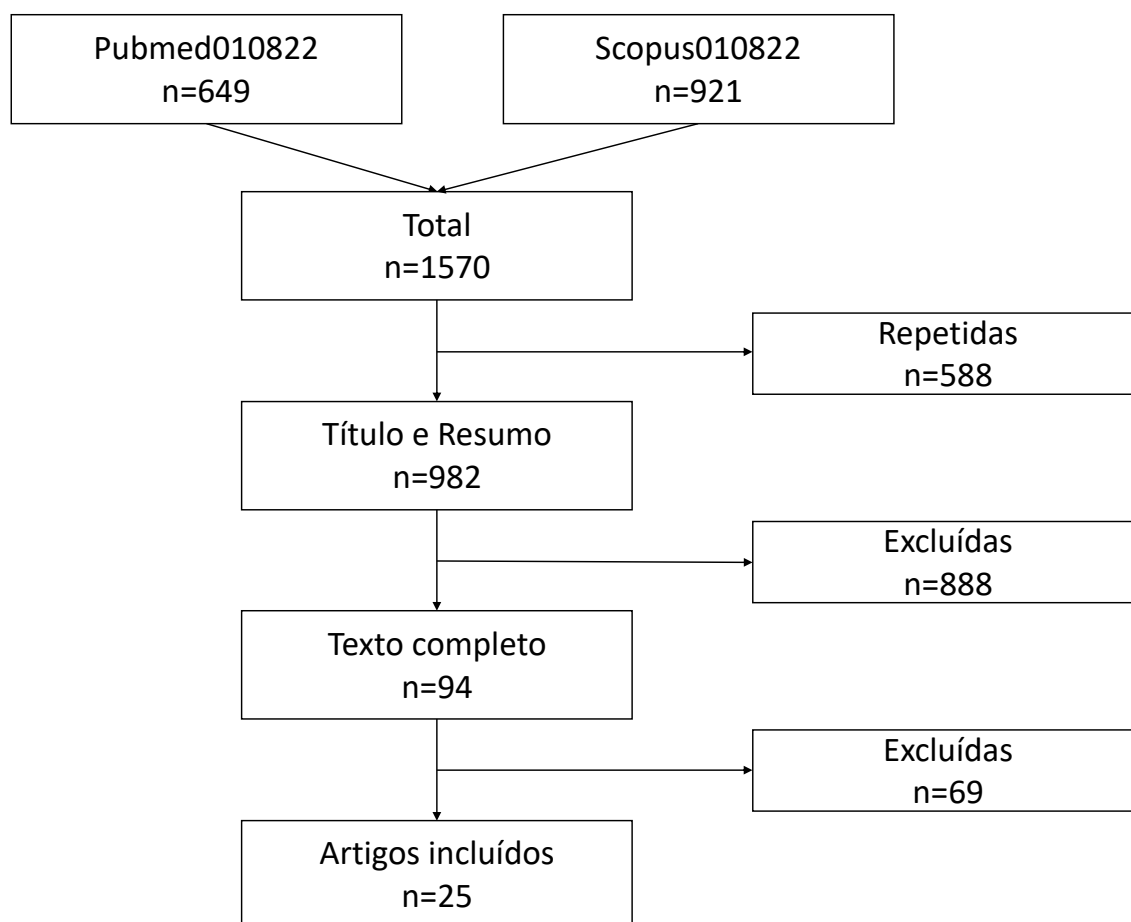
Para realizar o levantamento e análise de variantes genéticas de indivíduos com distúrbios do sistema nervoso central (DSNC) (nesta tese foram considerados os distúrbios do neurodesenvolvimento (DS) e as doenças neurodegenerativas (DN)) e que também apresentam problemas na visão, dividimos este trabalho em 5 partes. Na primeira, realizamos uma revisão sistemática da literatura (RSL) com uma ampla busca em base de dados públicas para catalogar todos os tipos de variantes genéticas em pacientes com DSNC e que apresentam em sua descrição clínica problemas oftalmológicos. Posteriormente, na segunda parte, os achados genéticos foram analisados e correlacionados com a literatura na busca por evidência que os relacionam com alterações na visão, e também o local onde são expressos no cérebro e em outras partes do corpo. Os achados genéticos, incluindo anotações funcionais, foram então agrupados em uma base de dados, na forma de um atlas, que chamamos de OftGenetics. Na terceira parte, utilizando ferramentas de bioinformática e de modelagem de biologia de sistemas, também investigamos se os genes do atlas OftGenetics têm relação genética/molecular com a visão. Na quarta parte, analisamos se os genes do atlas OftGenetics estavam presentes em bases de dados de oftalmogenética existentes na literatura e em bancos públicos de doenças genéticas. Na última parte, analisamos amostras públicas de sequenciamento de transcriptomas (RNA-seq) de indivíduos com diversos tipos de DS para verificar a ocorrência de genes com expressão significativamente alterados que estão presentes no atlas OftGenetics.

5.1 Revisão sistemática da literatura de distúrbios mentais relacionados com oftalmogenética

Embora existam diversos relatos na literatura descrevendo que pacientes com DSNC possuem problemas oftalmológicos, os estudos genéticos concentram-se em identificar variantes genéticas causais que afetam o desenvolvimento e/ou manutenção normal do cérebro. Desta forma, os estudos não verificam se as variantes genéticas ocorrem em genes que também possuem papel fundamental no desenvolvimento e/ou manutenção da visão. Neste contexto, aplicamos um protocolo de Revisão Sistemática da Literatura para mapear todas as variantes genéticas que ocorrem em pacientes com DSNC com alterações oftalmológicas. A partir da aplicação do protocolo, foram encontrados 649 artigos no PUBMED e 921 no Scopus, totalizando 1570 artigos. Destes, 588 estavam repetidos, totalizando 982 artigos únicos. Após análise do Título e Resumo, segundo os critérios de inclusão e exclusão, foram excluídos 888 artigos da revisão. Os trabalhos duvidosos foram todos mantidos para garantir que dados importantes para a pesquisa não fossem excluídos. Dos 94 artigos restantes, todos passaram por análise do texto completo (“*full text*”) e, após nova aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, restaram 25 artigos para o estudo, os quais passaram pela última etapa da revisão, a extração de dados (Figura 1).

Figura 1 – Resultados obtidos na Revisão Sistemática da Literatura.

Legenda: n= números de artigos encontrados.



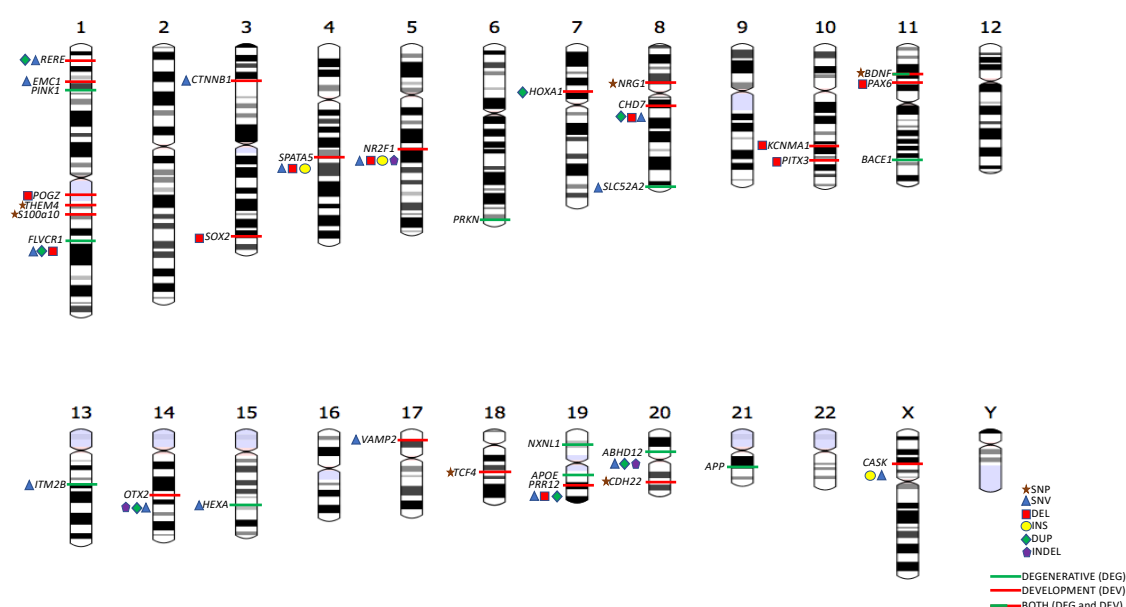
Os dados extraídos dos artigos selecionados foram organizados para responder todas as perguntas secundárias da RSL.

5.2 Características das variações genéticas encontradas em indivíduos com distúrbios do sistema nervoso central com alterações da visão

Após análise dos artigos e completa extração de dados, foram identificados 33 genes com algum tipo de variação genética em indivíduos acometidos por distúrbios do sistema nervoso central (DSNC) (distúrbios do neurodesenvolvimento ou doenças neurodegenerativas), e todos com relato clínico de algum problema na visão (Figura 2).

Figura 2 – Cariótipo com distribuição das variantes genéticas relacionadas com distúrbios do sistema nervoso central (distúrbios do neurodesenvolvimento ou doenças neurodegenerativas) e problemas na visão.

Legenda: Traços: Verde- doença neurodegenerativa (DEG), Vermelho-distúrbio do neurodesenvolvimento (DEV), verde e vermelho-ambas (DEG e DEV). Símbolos: Estrela-SNP, Triângulo-SNV, Quadrado-Deleção, Círculo-Inserção, Losango- Duplicação, Pentágono-Indel.



Nos DSNC relacionados aos distúrbios do neurodesenvolvimento, foram encontradas variantes genéticas do tipo: SNP, SNV, deleção, inserção, indel e duplicação (relacionadas a alterações no número de nucleotídeos); mutações gênicas *nonsense*, *missense*, *frameshit* (relacionadas com o impacto da variação genética em genes codificantes de proteínas); e mutações do tipo *de novo* (relacionadas a hereditariedade da variante genética). As variantes do tipo SNP foi detectada nos genes *THEM4* (*thioesterase superfamily member 4*), *S100A10* (*S100 calcium binding protein A10*), *CDH22* (*cadherin 22*), *NRG1* (*Neuregulin 1*), *TCF4* (*Transcription Factor 4*). As variantes genéticas do tipo SNV foram encontradas nos genes *VAMP2* (*vesicle-associated membrane protein 2*), *PRR12* (*proline rich 12*), *NR2F1* (*nuclear receptor subfamily 2 group F member 1*), *OTX2* (*orthodenticle homeobox 2*), *CASK* (*calcium/calmodulin dependent serine protein kinase*), *RERE* (*arginine-glutamic acid dipeptide repeats*), *CHD7* (*chromodomain helicase DNA binding protein 7*), *CTNBN1*

(*Catenin Beta 1*), *EMC1* (*ER membrane protein complex subunit 1*), *SPATA5* (*spermatogenesis associated 5*), *POGZ* (*pogo transposable element derived with ZNF domain*). As variantes do tipo deleção foram encontradas nos genes *PRR12*, *PAX6* (*paired box 6*), *SOX2* (*SRY-box transcription factor 2*), *NR2F1*, *OTX2*, *CHD7*, *SPATA5*, *POGZ*, *PITX3* (*paired like homeodomain 3*) e *KCNMA1* (*Potassium Calcium-Activated Channel Subfamily M Alpha 1*). As variantes do tipo inserção foram encontradas nos genes *OTX2*, *CASK*. As variantes do tipo duplicação foram encontradas nos genes *PRR12*, *OTX2*, *RERE*, *CHD7*, *POGZ*, *HOXA1* (*homeobox A1*). As variantes do tipo indel (inserção associada a deleção) foram encontradas nos genes *NR2F1* e *OTX2*.

Variantes genéticas do tipo *nonsense* foram encontradas nos genes *OTX2*, *CHD7*, *CTNNB1*, *EMC1*, *SPATA5*, *POGZ*, *HOXA1* e *KCNMA1*. As variantes do tipo *missense* foram encontradas nos genes *VAMP2*, *NR2F1*, *RERE*, *CHD7*, *EMC1*. As variantes do tipo *frameshit* foram encontradas nos genes *SOX2*, *NR2F1*, *OTX2*, *CHD7*, *POGZ*, *HOXA1*, *PITX3*. Variantes genéticas do tipo *de novo* foram encontradas nos genes *VAMP2*, *PRR12*, *RERE*, *CHD7*, *POGZ* e *KCNMA1*.

Nos DSNC relacionados às doenças neurodegenerativas, foram encontradas as variantes genéticas dos tipos: SNV, deleção, inserção, indel e duplicação. Com relação às variantes que apresentam impacto na tradução de proteínas, foram encontradas alterações *nonsense*, *missense* e *frameshift*. As variantes do tipo SNV foram encontradas nos genes *HEXA* (*hexosaminidase subunit alpha*), *SLC52A2* (*solute carrier family 52 member 2*), *FLVCR1* (*FLVCR heme transporter 1*) e *ITM2B* (*Integral Membrane Protein 2B*). Variantes do tipo deleção foram encontradas nos genes *SLC52A2* e *FLVCR1*. As variantes do tipo *indel* foram encontradas no gene *ABHD12* (*abhydrolase domain containing 12, lysophospholipase*). Variantes do tipo duplicação foram encontradas nos genes *ABHD12* e *FLVCR1*. Com relação ao impacto na proteína, as variantes genéticas *nonsense* foram

encontradas nos genes *HEXA* e *ABHD12*. Variantes do tipo *missense* foram encontradas nos genes *SLC52A2*, *FLVCRI* e *ITMB2*. Variantes do tipo *frameshift* foram encontradas nos genes *SLC52A2*, *FLVCRI*, *ABHD12*. Variações do tipo *de novo* não foram reportadas neste grupo.

Somente o gene *BDNF* (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*) apresentou SNP (rs6265) com variante genética relacionadas tanto a distúrbios do neurodesenvolvimento quanto a doenças neurodegenerativas (Shen, You et al. 2021).

Quando investigamos a localização cromossômica das variantes genéticas relacionadas com neurodesenvolvimento e neurodegeneração, observamos que as alterações se acumulam em maior frequência no cromossomo 1 (contém 5 genes envolvidos com distúrbios do neurodesenvolvimento e 2 genes envolvidos com doenças neurodegenerativas) (Figura 2). Entretanto, há cromossomos, como o 2, 9, 12, 16, 22 e Y que não apresentam alterações genéticas.

Dentre todas as variantes encontradas, o gene com maior quantidade de alterações é o *NR2F1*, que possui variantes do tipo SNV, deleção, inserção e indel, sendo todos relacionados com distúrbios do neurodesenvolvimento associados com os transtornos do espectro do autismo (TEA). Outros genes que apresentam 3 variantes são: *POGZ*, associado ao neurodesenvolvimento (TEA), apresenta SNV, deleção e duplicação; *FLVCRI*, associado a DN que apresenta SNV, deleção e duplicação; *SPATA5*, associado ao neurodesenvolvimento, apresenta SNV, deleção e inserção; *CHD7*, associado ao neurodesenvolvimento, apresenta SNV, deleção e duplicação; *OTX2*, associado ao neurodesenvolvimento e TEA, apresenta SNV, duplicação e indel; *PRRI2*, associado ao neurodesenvolvimento, TEA, apresenta SNV, deleção e duplicação; e *ABHD12*, associado a DN, apresenta SNV, deleção e indel.

Quanto ao fenótipo ocular encontrado, as alterações oftalmológicas mais frequentes foram encontradas na retina e nervo óptico (12 genes cada), seguidos de alterações de musculatura extraocular (MEO) com 11 genes e córnea com 5 genes (Tabela 3). Todos os genes da RSL foram incorporados em uma base de dados de variantes genéticas de oftalmologia correlacionados com distúrbios do sistema nervoso central, chamada de atlas OftGenetics.

TABELA 3: Fenótipo ocular, localização e DSNC correlacionados com os genes identificados pela RSL.

Legenda: Gene: identificação do gene; Fenótipo ocular: PHARC *Polyneuropathy, hearing loss, ataxia, retinitis pigmentosa, and cataract*, SPEM *smooth pursuit eye movement*, NEDSDV *Neurodevelopmental disorder with spastic diplegia and visual defects*, ERG eletrorretinograma; Localização ocular: local onde o fenótipo foi encontrado no olho, MEO musculatura extraocular, DVC defeito de visão cortical; Transtorno: tipo de transtorno do SNC associado.

Gene	Fenótipo ocular	Localização ocular	Transtorno
<i>ABHD12</i>	Catarata, retinose, distrofia cone bastonete (PHARC)	Retina e Cristalino	Neurodegeneração
<i>APOE</i>	Glaucoma	Nervo óptico	Neurodegeneração
<i>APP</i>	Distrofia corneana	Córnea	Neurodegeneração
<i>BACE1</i>	Distrofia corneana	Córnea	Neurodegeneração
<i>BDNF</i>	Glaucoma	Nervo óptico e Retina	Neurodegeneração e Neurodesenvolvimento
<i>CASK</i>	Hipoplasia nervo óptico, estrabismo, astigmatismo, hipermetropia	Nervo óptico e MEO	Neurodesenvolvimento
<i>CDH22</i>	Alterações do olhar (SPEM)	MEO	Neurodesenvolvimento
<i>CHD7</i>	Coloboma (CHARGE síndrome)	Íris e Retina	Neurodesenvolvimento
<i>CTNNA1</i>	NEDSDV (estrabismo, descolamento de retina, catarata e opacidades vítreas)	Retina, Cristalino, Vítreo e MEO	Neurodesenvolvimento
<i>EMC1</i>	Estrabismo e ambliopia	MEO	Neurodesenvolvimento

<i>FLVCR1</i>	Degeneração retiniana	Retina	Neurodegeneração
<i>HEXA</i>	Doença de Tay Sachs (perda da visão)	Retina	Neurodegeneração
<i>HOXA1</i>	Estrabismo	MEO	Neurodesenvolvimento
<i>ITM2B</i>	Retinose pigmentar	Retina	Neurodegeneração
<i>KCNMA1</i>	ERG alterado (célula bipolar da retina)	Retina	Neurodesenvolvimento
<i>NR2F1</i>	Hipoplasia nervo óptico	Nervo Óptico	Neurodesenvolvimento
<i>NRG1</i>	Alteração do olhar (SPEM)	MEO	Neurodesenvolvimento
<i>NXNL1</i>	Retinose pigmentar	Retina	Neurodegeneração
<i>OTX2</i>	Anoftalmia, microftalmia e hipoplasia nervo óptico	Nervo Óptico	Neurodesenvolvimento
<i>PARK2</i>	glaucoma	Nervo óptico	Neurodegeneração
<i>PAX6</i>	Aniridia hipoplasia nervo óptico	Nervo óptico e Íris	Neurodesenvolvimento
<i>PINK1</i>	Glaucoma	Nervo óptico	Neurodegeneração
<i>PITX3</i>	Microftalmia e opacidade de córnea	Córnea	Neurodesenvolvimento
<i>POGZ</i>	Hipoplasia nervo óptico, estrabismo, macula em cereja, ceratite, alterações em pálpebras, nistagmo, miopia.	Nervo Óptico, MEO, Retina, Córnea, Pálpebras	Neurodesenvolvimento
<i>PRR12</i>	Alterações em íris(<i>brushfield spots</i>) coloboma, miopia e exotropia	Íris, MEO e Retina	Neurodesenvolvimento
<i>RERE</i>	Coloboma, hipoplasia nervo óptico, microftalmia e anisometropia	Nervo Óptico, Iris e Retina	Neurodesenvolvimento
<i>S100A10</i>	Alterações do olhar (SPEM)	MEO	Neurodesenvolvimento
<i>SLC52A2</i>	Hipoplasia de nervo óptico	Nervo Óptico	Neurodegeneração
<i>SOX2</i>	Hipoplasia de nervo óptico, anoftalmia e microftalmia	Nervo Óptico	Neurodesenvolvimento

<i>SPATA5</i>	Deficiência visual e estrabismo e Defeito visão cortical (DVC)	Córtex (SNC) e MEO	Neurodesenvolvimento
<i>TCF4</i>	Distrofia corneana	Córnea	Neurodesenvolvimento
<i>THEM4</i>	Alterações do olhar (SPEM)	MEO	Neurodesenvolvimento
<i>VAMP2</i>	Defeitos de visão cortical (DVC)	Córtex (SNC)	Neurodesenvolvimento

5.3 Correlação entre genótipo e fenótipo celular/molecular das variações genéticas com alterações da visão

Após a identificação dos genes relacionados com distúrbios do neurodesenvolvimento e doenças neurodegenerativas, todos relacionados com problemas de visão, investigamos se estes mesmos genes possuem algum tipo de interação genética e/ou molecular entre si e com genes relacionados com a visão. Embora os genes tenham localização cromossômica diferente e funções distintas, a revisão buscou por estudos que reportaram pacientes com problemas na visão como elemento comum. Desta forma, embora trate-se de DSNC distintas e que ocorrem em fases opostas da vida do ser humano (neurodesenvolvimento versus neurodegeneração), o fato de apresentarem envolvimento com visão sugerem que possam ter alguma relação de interação genética.

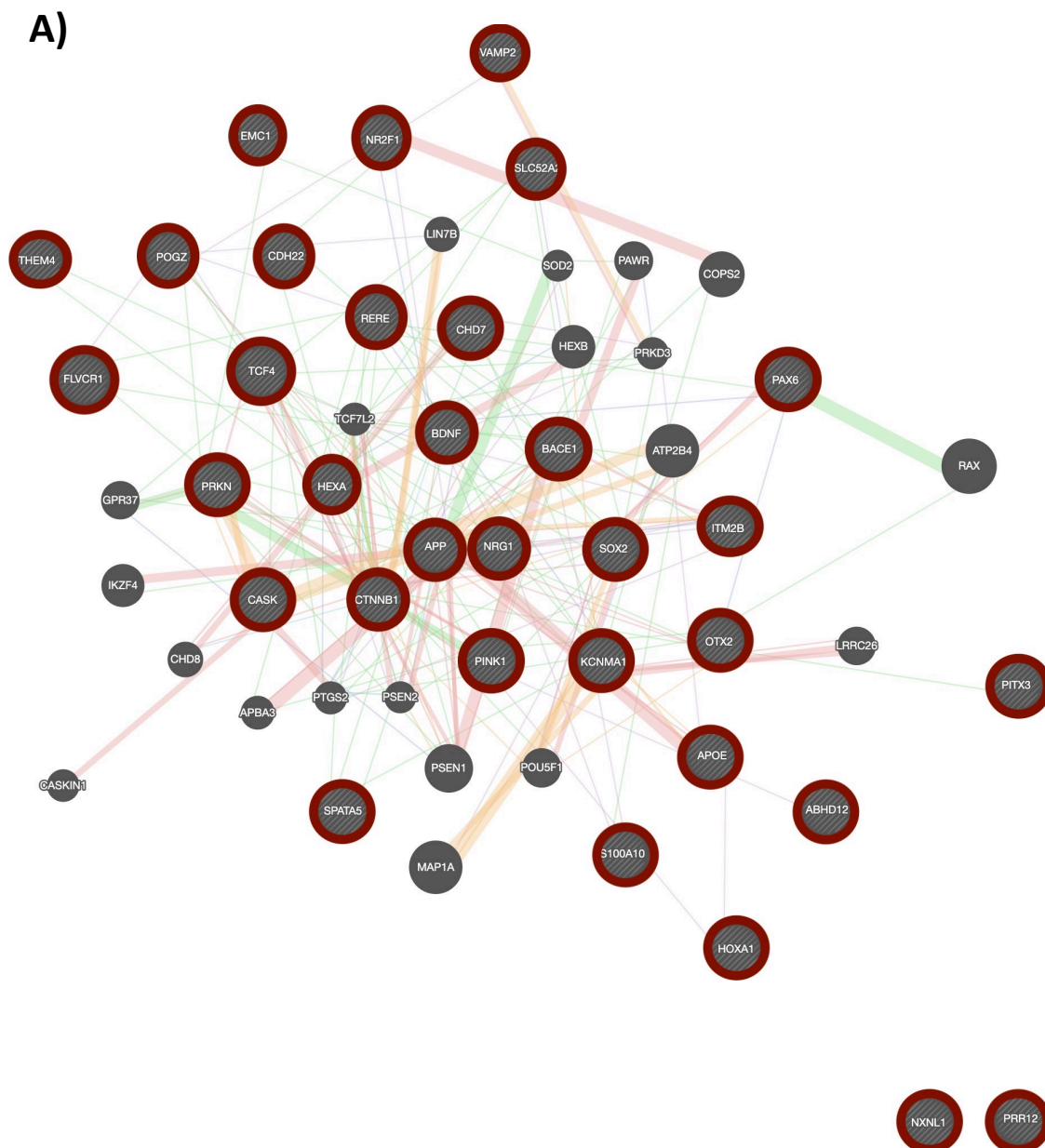
Desta forma, utilizando as ferramentas GeneMANIA e String, conforme hipotetizamos, identificamos que a maioria dos genes do atlas OftGenetics possuem interação genética e interação proteína-proteína, tanto direta e/ou indireta entre si, respectivamente (Figuras 3A e 3B).

Dos 33 genes do atlas OftGenetics, 31 apresentam algum tipo de interação genética, com exceção dos genes *PRRI2* e *NXNLI*. Na análise de interação proteína-proteína, vinte e um genes apresentaram algum tipo de interação e 12 não apresentaram

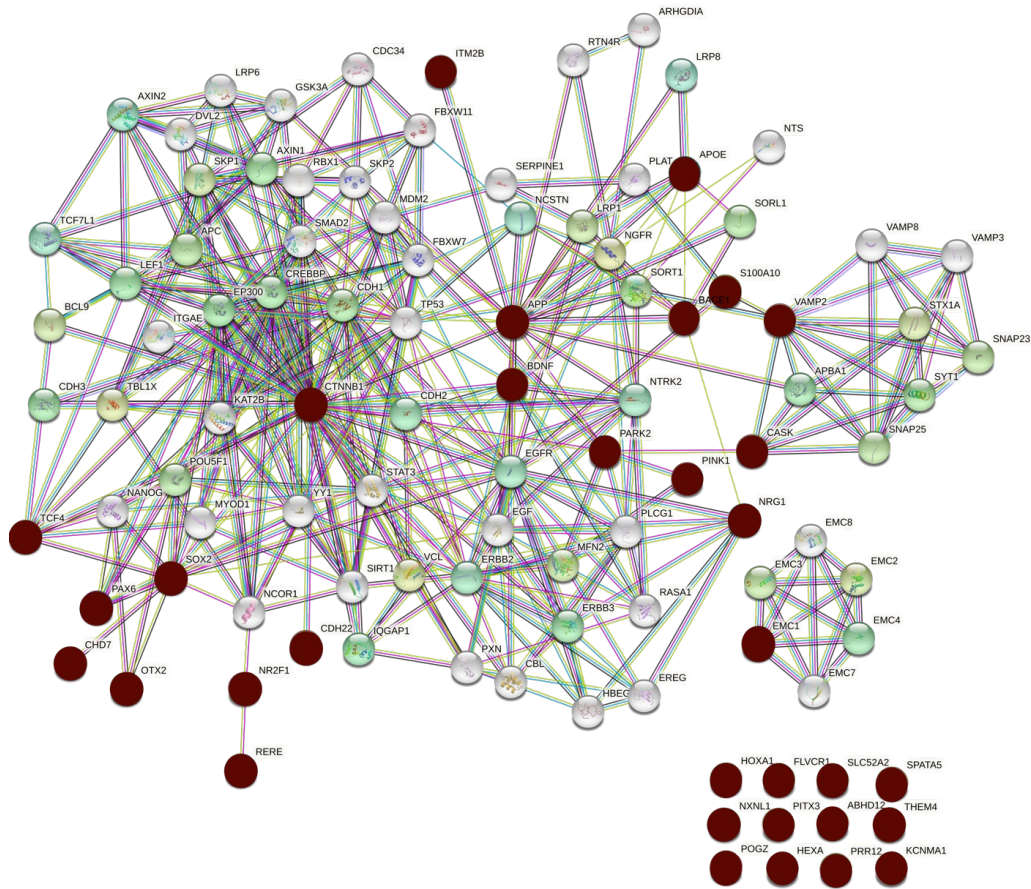
interação alguma. Dentre os genes com interação identificados, os genes *PAX6*, *SOX2*, *NR2F1*, *OTX2*, *HOXA1*, *PITX3* e *TCF4* são fatores de transcrição e todos estão envolvidos no neurodesenvolvimento. Além disso, foram encontrados 7 genes, *VAMP2*, *CDH22*, *PRR12*, *CASK*, *NRG1*, *ABHD12* e *BDNF*, os quais apresentam outros tipos de funções moleculares que também estão envolvidos no desenvolvimento neurológico. Os genes *RERE*, *CHD7*, *APP*, *CTNNB1*, *POGZ* e *APOE* estão envolvidos na regulação da transcrição. Dentre os DSNC correlacionados, os genes *BACE1* e *ITM2B* estão associados com a doença de Alzheimer, e os genes *PRKN* e *PINK1* estão associados com a doença de Parkinson. O gene *FLVCR1* está associado a retinose pigmentar, o gene *NXNL1* está associado ao metabolismo dos cones da retina e o gene *HEXA* está relacionado a doença de Tay Sachs. Além disso, parte dos genes do atlas OftGenetics tem descrição molecular importantes para o fenótipo da visão, como os genes *THEM4* e *S100A10*, que estão associados a fosforilação, o gene *EMCI* que está associado ao reticulo endoplasmático, o gene *SPATA5* está associado com a mitocôndria, o gene *SLC52A2* está relacionado ao metabolismo da riboflavina, e o gene *KCNMA1* está associado a canais de potássio-cálcio e excitabilidade neuronal.

Figura 3- Redes de interação gênica dos genes com variantes genéticas em indivíduos com transtornos neurológicos e problemas na visão.

A) Rede de interação de genes criado com o software GeneMANIA, onde os círculos com contorno vermelho indicam os genes identificados na pesquisa, e as linhas coloridas indicam diferentes tipos de interação: física (rosa), preditas (laranja), genéticas (verde), co-expressão gênica (roxo) e co-localização entre os genes (azul). **B)** Rede de interação proteína-proteína criado com o software String, no qual os círculos com contorno vermelho indicam as proteínas codificadas a partir dos genes identificados na pesquisa, e as linhas coloridas indicam diferentes tipos de interação: interações conhecidas de base de dados curados (azul claro), interações conhecidas determinadas experimentalmente (*pink*), interações previstas por: *gene neighborhood* (verde), *gene fusions* (vermelho), *gene co-occurrence* (azul escuro); outras interações: *textmining* (verde claro), co-expressão (preto) e *protein homology* (roxo).



B)



Dentre os genes investigados, analisamos também sua expressão nos compartimentos cerebrais, em tecidos oculares e em outras partes do corpo. Porém, de forma bastante intrigante, observamos que os genes *HOXA1* (Figura 4) e *PITX3* (Figura 5) não apresentam expressão em córtex e retina, sendo também muito pouco ou praticamente sem expressão em outras partes do corpo. Isso pode sugerir que tais genes, embora reportados por outros trabalhos como potencialmente causais de transtornos mentais, não possuem relação com a clínica observada. Porém, mais estudos são necessários para melhorar nossa compreensão a respeito de tais genes.

Figura 4 – Expressão do gene *HOXA1* em diferentes compartimentos cerebrais, outras partes do corpo e olho.

A) Expressão do gene *HOXA1* na base HPA – Níveis de expressão de RNA normalizados (nTPM) mostrados para as 13 regiões do cérebro. A codificação de cores é baseada na região do cérebro e a barra mostra a maior expressão entre as sub-regiões incluídas; B) Expressão do gene *HOXA1* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; C) Expressão do gene *HOXA1* na base FANTOM5 dataset: Dados de tecido para expressão de RNA obtidos através de “*Cap Analysis of Gene Expression*” (CAGE) gerados pelo projeto FANTOM5 são relatados como “*Scaled Tags Per Million*”; D) Expressão do gene *HOXA1* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; E) Expressão do gene *HOXA1* na base HETA para múltiplos tecidos oculares, com valores normalizados a partir das *reads*.

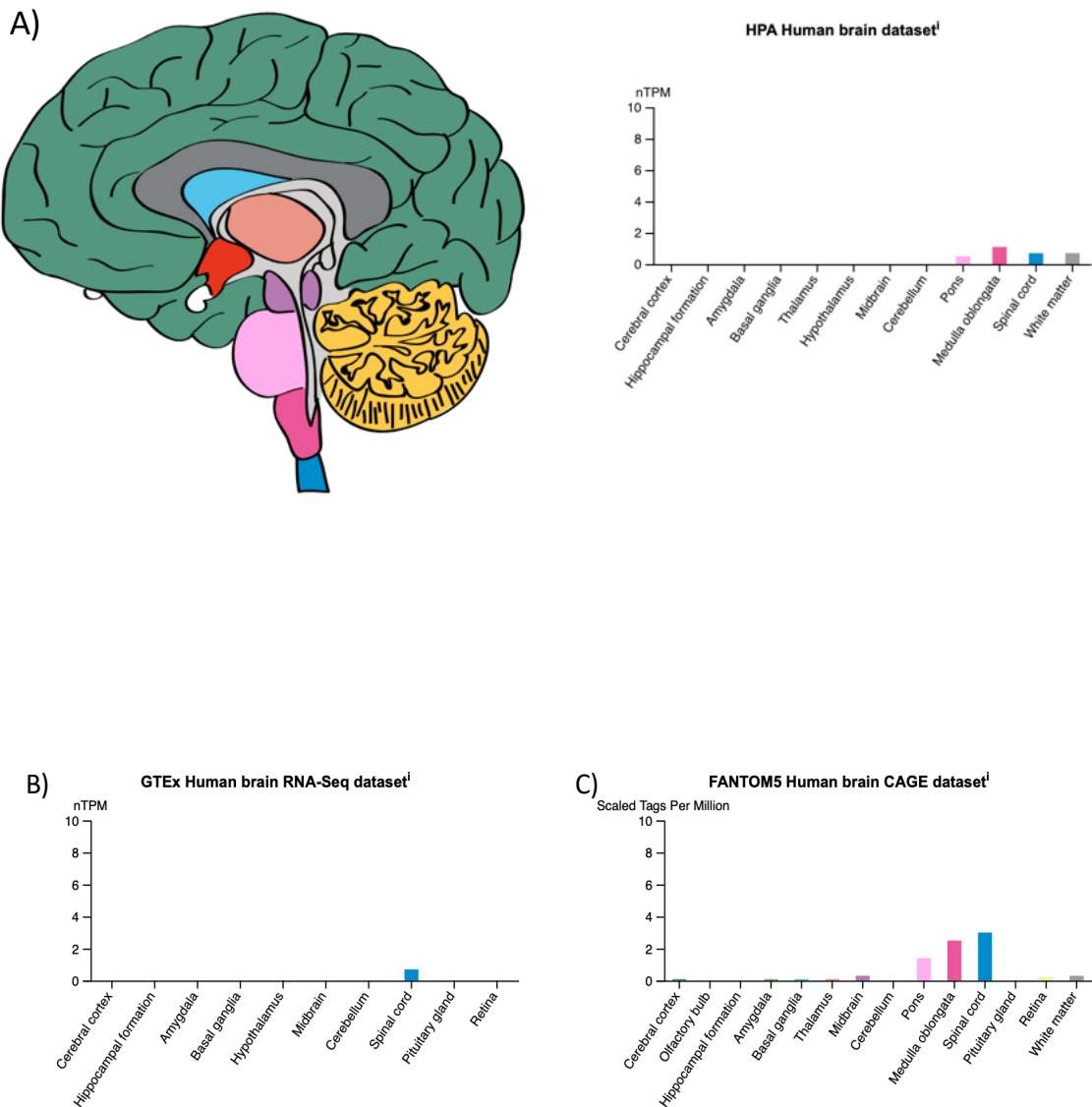
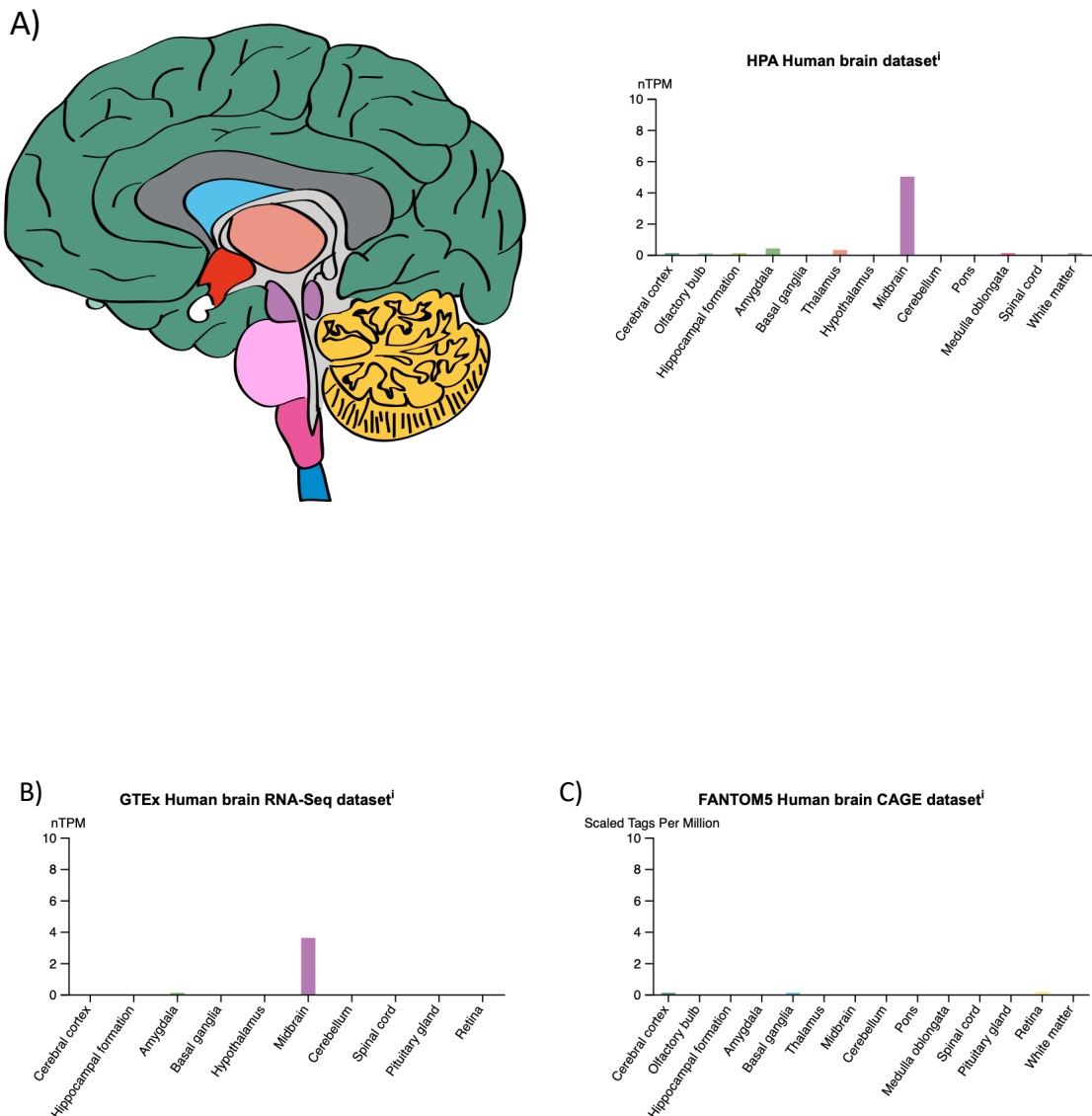


Figura 5 – Expressão do gene *PITX3* em diferentes compartimentos cerebrais, outras partes do corpo e olho.

A) Expressão do gene *PITX3* na base HPA – Níveis de expressão de RNA normalizados (nTPM) mostrados para as 13 regiões do cérebro. A codificação de cores é baseada na região do cérebro e a barra mostra a maior expressão entre as sub-regiões incluídas; **B)** Expressão do gene *PITX3* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; **C)** Expressão do gene *PITX3* na base FANTOM5 dataset: Dados de tecido para expressão de RNA obtidos através de “*Cap Analysis of Gene Expression*” (CAGE) gerados pelo projeto FANTOM5 são relatados como “*Scaled Tags Per Million*”; **D)** Expressão do gene *PITX3* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; **E)** Expressão do gene *PITX3* na base HETA para múltiplos tecidos oculares, com valores normalizados a partir das *reads*.



5.4 Fatores de transcrição envolvidos na interação molecular entre genes associados com transtornos mentais e alteração de visão

Dentre os genes do atlas OftGenetics, identificamos variantes genéticas nos genes *RERE*, *NR2F1* e *TCF4*, que foram correlacionados com o desenvolvimento e/ou manutenção da visão. Destes genes, *NR2F1* e *TCF4* são fatores de transcrição bastante importantes em diversos processos celulares.

O gene *RERE* (*Arginine-Glutamic Acid Dipeptide Repeats*) é um co-regulador de receptor nuclear que funciona em complexos de proteínas para modular positiva e negativamente a transcrição de genes alvo. Alterações nesse gene estão associadas a distúrbios do neurodesenvolvimento, associado ou não a alterações estruturais do olho, coração, rins e trato geniturinário (Scott and Sherr 2019). Ele também está associado ao controle da apoptose (Waerner, Gardellin et al. 2001). Neste processo, por meio da ligação deste gene com o fator de transcrição *NR2F1* e *TCF4*, hipotetizamos que, de forma direta, *RERE* está controlando a ação dos 2 fatores de transcrição, que por sua vez, um ou outro está ativando e/ou inativando genes durante a biogênese. Portanto, alterações (mutações) em *RERE* podem afetar a regulação que ele tem nos fatores de transcrição e, assim, afetar toda a cascata de genes regulados por estes dois fatores de transcrição.

É sabido que *RERE* é um repressor (bloqueio) da transcrição (Waerner, Gardellin et al. 2001). Conforme literatura, não há trabalhos que reportem que *RERE* regula os genes *NR2F1* e *TCF4*, entretanto, a proteína codificada pelo gene *RERE* se liga na proteína COUP-TF1 (Bosch, Boonstra et al. 2016) através de interações com os domínios ELM2 e SANT da proteína RERE, agindo assim como um receptor nuclear (Wang, Rajan et al. 2006). Também foi observado, desta vez em camundongos *knockout* para o gene *NR2F2* e/ou *RERE*, que ocorreram falhas na ativação da transcrição de alvos de ácido retinóico (vit. A), e danos no neurodesenvolvimento (Fregeau, Kim et al. 2016). O gene

NR2F2 é da mesma família que o gene *NR2F1*, portanto, possivelmente falhas nesse gene pode também causar falhas na ativação da transcrição de alvos de ácido retinóico (Vilhais-Neto, Maruhashi et al. 2010).

O gene *NR2F1* (*Nuclear Receptor Subfamily 2 Group F Member 1*), também conhecido como *COUP-TF1* (*Chicken Ovalbumin Upstream Promoter-Transcription Factor*), o qual se liga ao promotor da ovalbumina e, em conjunto com a proteína S300-II, estimula a iniciação da transcrição (Wang, Tsai et al. 1989). Ele pertence a superfamília de receptores de esteróide / hormônio tireoidiano (Qiu, Krishnan et al. 1995), está associado a via de regulação de transcrição do ácido retinóico (Berenguer, Meyer et al. 2020) e regula o desenvolvimento do olho, atuando na morfogênese da vesícula óptica (Tang, Xie et al. 2010). Estudos anteriores indicam que alterações no gene causam atrofia óptica com deficiência intelectual (Bosch, Boonstra et al. 2014), deficiência visual cerebral (Bosch, Boonstra et al. 2016) e alterações no neurodesenvolvimento (Bertacchi, Parisot et al. 2019).

O gene *TCF4* (*Transcription Factor 4*) é um fator de transcrição hélice-alça-hélice básico (Mesman, Wever et al. 2021). Ele está associado com a diferenciação do sistema nervoso dos vertebrados e do desenvolvimento do córtex (Brockschmidt, Todt et al. 2007), além de diferenciação de oligodendrócitos em parceria com o gene *OLIG2* (Wedel, Fröb et al. 2020). Alterações nesse gene podem causar a distrofia endotelial de Fuchs; em interação com o gene *AGBL1* (Riazuddin, Vasanth et al. 2013), a Síndrome de Pitt-Hopkins, colangite esclerosante primária e também tem associação com esquizofrenia (Forrest, Hill et al. 2014).

Para tentar compreender se os 3 genes (*RERE*, *NR2F1* e *TCF4*) possuem algum tipo de relação com o desenvolvimento e/ou manutenção da visão, realizamos análise de interação molecular entre eles, e observamos que *RERE* está diretamente conectado com

NR2F1 em redes de interação proteína-proteína (Figura 3B), os quais foram demonstrados experimentalmente e por análises de co-expressão. Também observamos que há interação genética indireta de *RERE* com o fator de transcrição *TCF4* (Figura 3A). Neste último caso, *RERE* interage com os seguintes genes do atlas OftGenetics: *HEXA*, *NRG1*, *POGZ*, *SLC52A2* e *KCNMA1*. Estes mesmos genes também interagem com *TCF4*.

Outro gene investigado, o *HEXA* (*Hexosaminidase Subunit Alpha*), é traduzido em uma proteína que forma a subunidade alfa da enzima lisossomal beta-hexosaminidase, que junto com a proteína ativadora do cofator GM2, degradam o gangliosídeo GM2 (Dersh, Iwamoto et al. 2016). O gangliosídeo GM2 normalmente está associado na regulação da dendritogênese em neurônios corticais piramidais (Walkley, Siegel et al. 1995). O acúmulo de GM2 nos lisossomos das células neuronais causa edema, e também degeneração neurológica, e variantes genéticas nesse gene causam a doença de Tay-Sachs (Zhang, Chen et al. 2019). Esta doença é causada por uma neuropilidose, e é caracterizada por ocorrência de fraqueza progressiva, déficit motor e neurológico, e presença de mácula em cereja associada a baixa visão e cegueira (Toro, Shirvan et al. 1993). As alterações do fundo de olho dessa doença, a mácula em cereja, se deve ao acúmulo de GM2 nas células ganglionares da retina (Cheema, Waheed et al. 2019).

Outro gene da base criada, o *NRG1*, é traduzido em uma proteína que esta associada com a regulação das células de Schwann, atuando em sua proliferação, migração e mielinização através de sua ligação com os receptores ERBB2/3 (Newbern and Birchmeier 2010). O gene também foi associado a esquizofrenia devido a alterações de mielinização e migração neuronal encontrados em cérebros de pacientes esquizofrênicos (Corfas, Roy et al. 2004), os quais apresentam alterações na movimentação do olhar (SPEM) (Kim, Park et al. 2012). Em estudos experimentais, a

proteína NRG-1 mostrou-se diminuída em células ganglionares da retina e esta redução de expressão pode contribuir para a morte destas células no glaucoma (Wang, Huang et al. 2009).

O gene *POGZ* (*Pogo Transposable Element Derived With ZNF Domain*) é traduzido para uma proteína de ligação α de heterocromatina proteína 1, que contém um agrupamento de múltiplos dedos de zinco do tipo C2H2, um domínio de ligação de DNA semelhante a proteína centrômero (CENP), e um domínio DDE que pode regular a expressão gênica (Stessman, Willemsen et al. 2016) durante a mitose (Nozawa, Nagao et al. 2010). Alterações nesse gene causam a Síndrome de White-Sutton (Assia Batzir, Posey et al. 2020) na qual os indivíduos apresentam alterações visuais (hipermetropia) e distúrbios do neurodesenvolvimento (Ibaraki, Hamada et al. 2019). Encontramos fenótipos oculares associados também a este gene, onde incluem-se: erros refracionais, estrabismo, ceratite e mácula em cereja (Stessman, Willemsen et al. 2016).

O gene *SLC52A2* (*Solute Carrier Family 52 Member 2*) é traduzido para uma proteína de membrana que pertence a família dos transportadores de riboflavina. A riboflavina é precursor do mononucleotídeo de flavina (FMN) e do dinucleotídeo de flavina adenina (FAD), ambos, usados na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial (Manole, Jaunmuktane et al. 2017). Alterações nesse gene causam a Síndrome Brown-Vialetto-Van Laere 2 (Johnson, Gibbs et al. 2012) e alguns fenótipos observados apresentam atrofia óptica (Babanejad, Adeli et al. 2018).

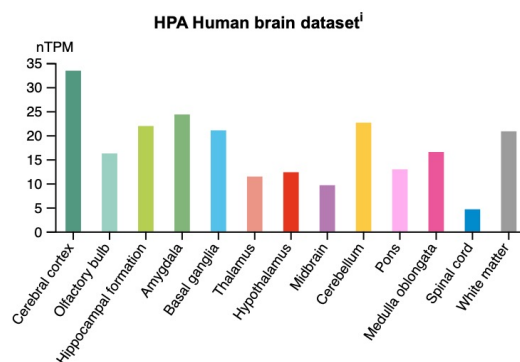
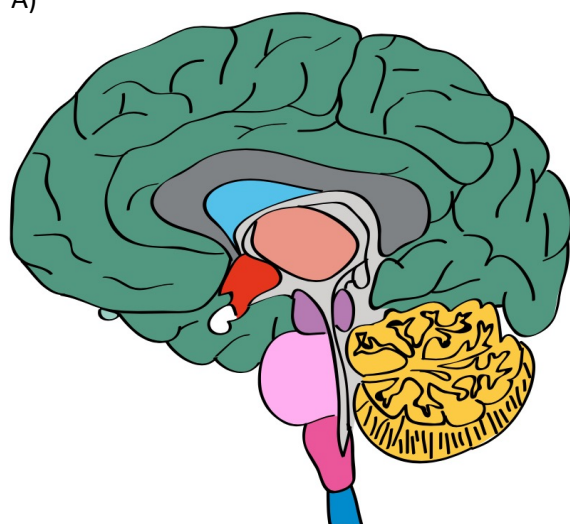
O gene *KCNMA1* (*Potassium Calcium-Activated Channel Subfamily M Alpha 1*) traduz a subunidade α do canal de potássio e cálcio que esta associada a excitabilidade neuronal e repolarização de membrana, e é expresso em vários tecidos (Liang, Li et al. 2019). Alterações nesse gene foram associadas a TEA (Wu, Li et al. 2020), com diversos SNPs associados a miopia de alto grau (Wong, Hysi et al. 2019). Outro estudo revelou

que variantes genéticas nesse gene podem levar a alterações em células bipolares da retina, através de alterações observadas em exames de eletrorretinograma e teste de sensibilidade de contraste (Perche, Lesne et al. 2022).

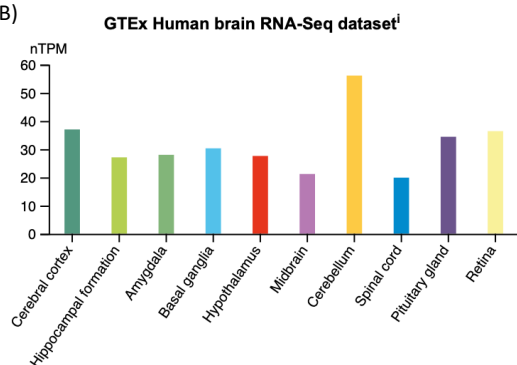
Além da interação entre os genes descritos, também investigamos, complementarmente, o perfil de expressão dos genes *RERE*, *NR2F1* e *TCF4* no cérebro e em outras partes do corpo. Utilizando bases de dados com expressão gênica de tecidos humanos, observamos que os 3 genes são expressos em cérebro e em retina (Figuras 6A-6C, Figuras 7A-7C, Figuras 8A-8C) e em outros tecidos do corpo (Figuras 6B, 7B, 8B).

Figura 6 – Expressão do gene *RERE* em diferentes compartimentos cerebrais e partes do corpo. A) Expressão do gene *RERE* na base HPA – Níveis de expressão de RNA normalizados (nTPM) mostrados para as 13 regiões do cérebro. A codificação de cores é baseada na região do cérebro e a barra mostra a maior expressão entre as sub-regiões incluídas; B) Expressão do gene *RERE* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; C) Expressão do gene *RERE* na base FANTOM5 dataset: Dados de tecido para expressão de RNA obtidos através de “*Cap Analysis of Gene Expression*” (CAGE) gerados pelo projeto FANTOM5 são relatados como “*Scaled Tags Per Million*”; D) Expressão do gene *RERE* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; E) Expressão do gene *RERE* na base HETA para múltiplos tecidos oculares, com valores normalizados a partir das *reads*.

A)



B)



C)

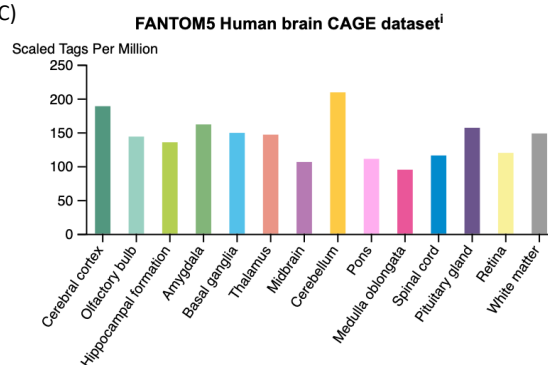
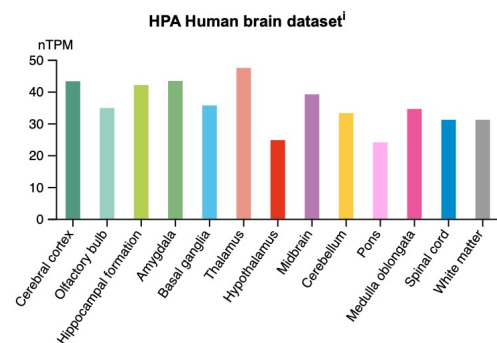
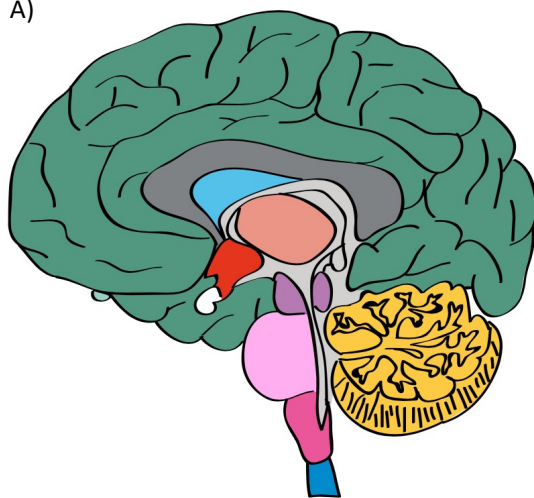


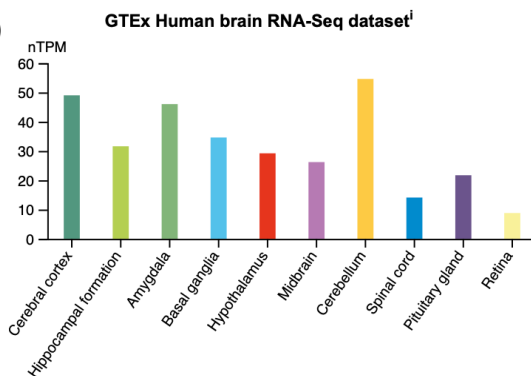
Figura 7 – Expressão do gene *NR2F1* em diferentes compartimentos cerebrais e partes do corpo.

A) Expressão do gene *NR2F1* na base HPA – Níveis de expressão de RNA normalizados (nTPM) mostrados para as 13 regiões do cérebro. A codificação de cores é baseada na região do cérebro e a barra mostra a maior expressão entre as sub-regiões incluídas; **B)** Expressão do gene *NR2F1* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; **C)** Expressão do gene *NR2F1* na base FANTOM5 dataset: Dados de tecido para expressão de RNA obtidos através de “*Cap Analysis of Gene Expression*” (CAGE) gerados pelo projeto FANTOM5 são relatados como “*Scaled Tags Per Million*”; **D)** Expressão do gene *NR2F1* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; **E)** Expressão do gene *NR2F1* na base HETA para múltiplos tecidos oculares, com valores normalizados a partir das *reads*.

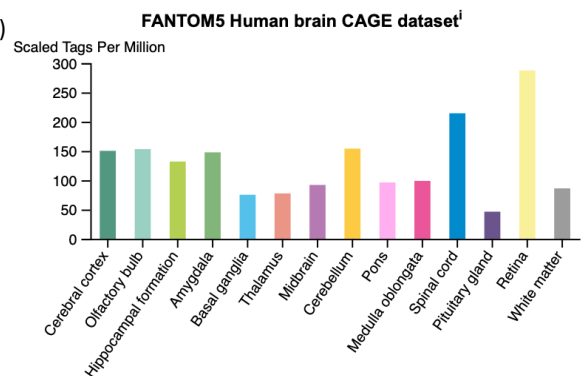
A)



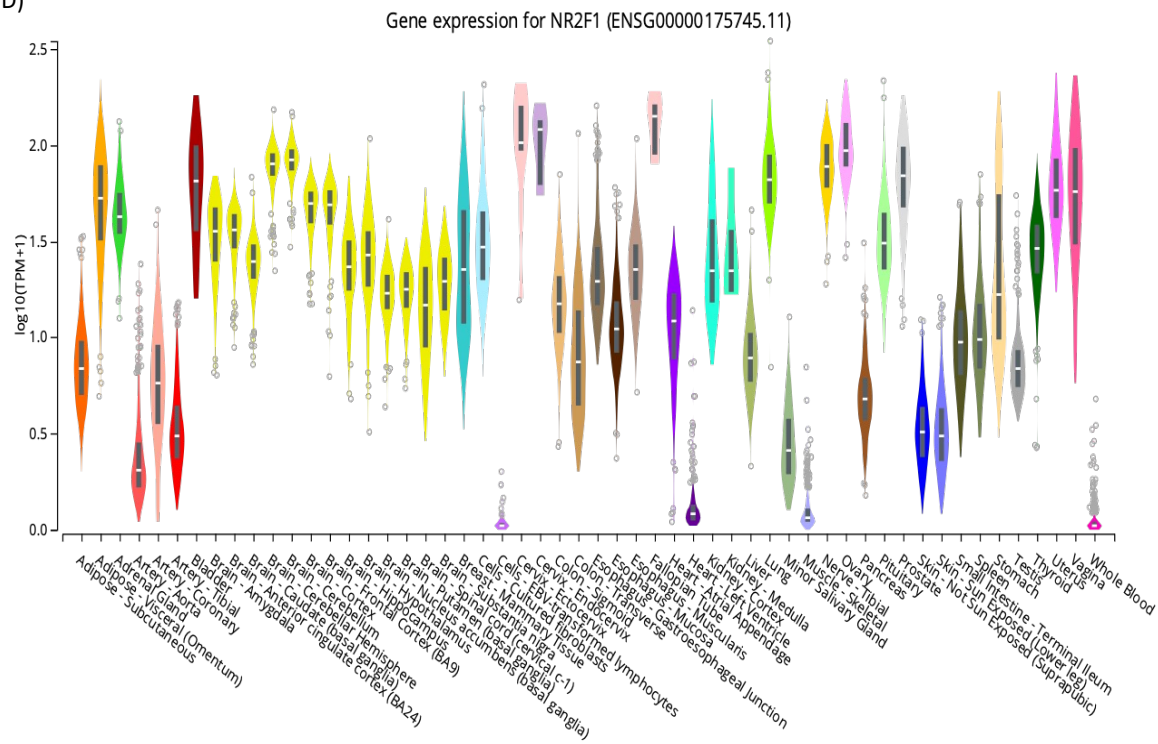
B)



C)



D)



E)

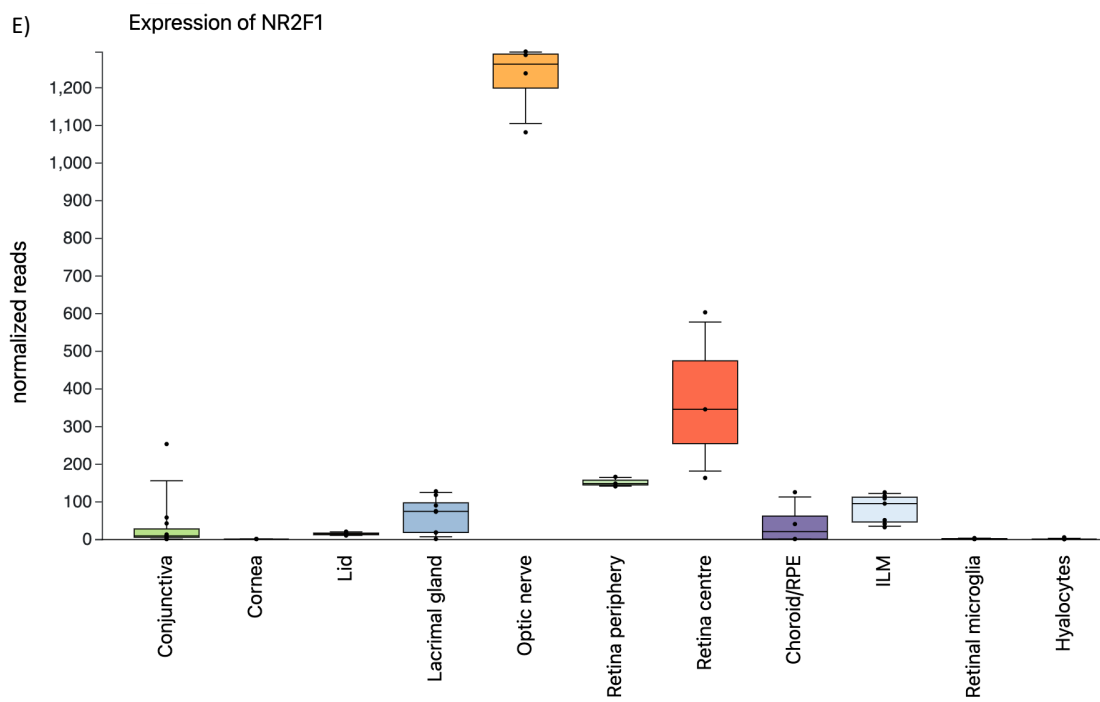
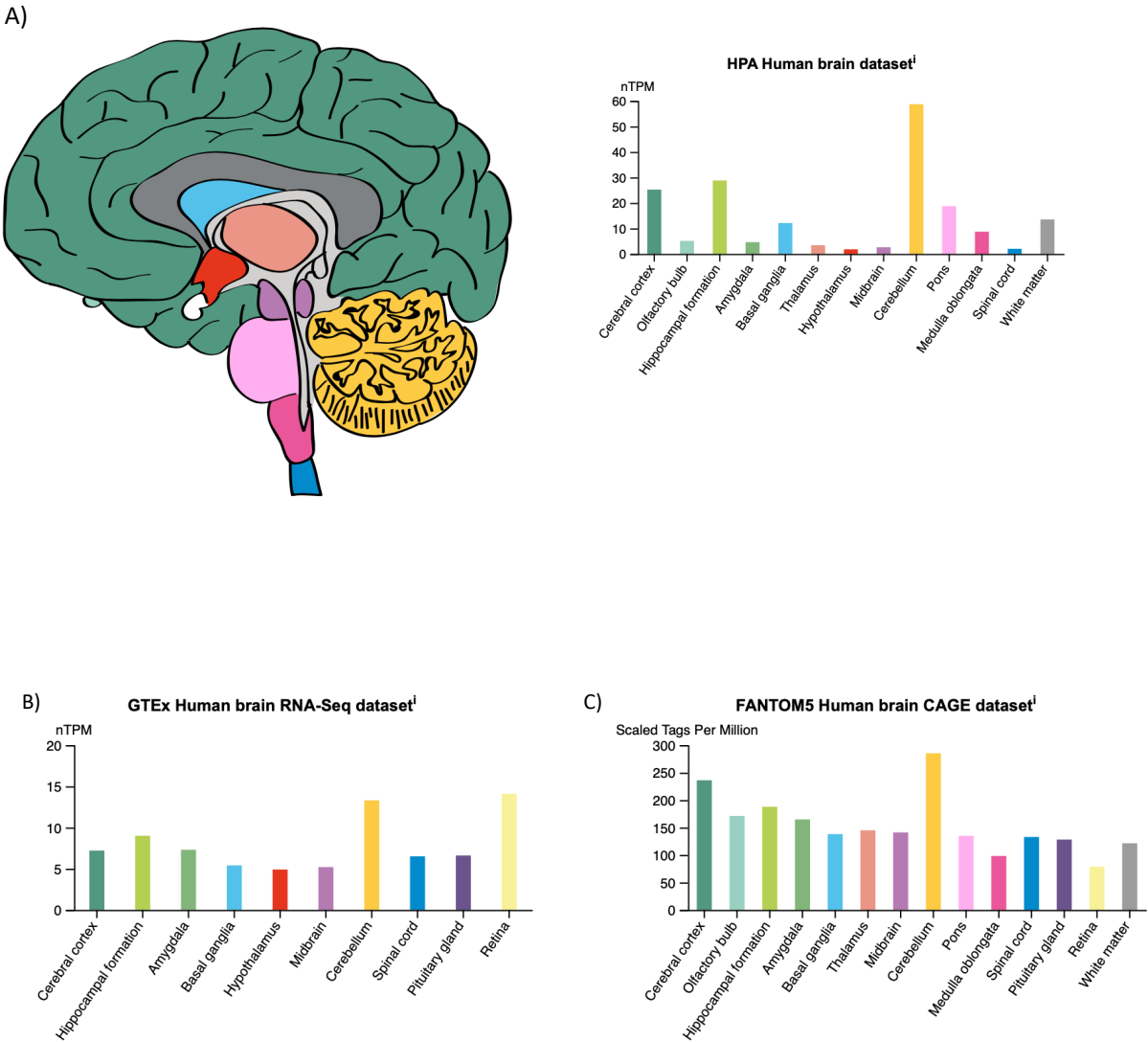


Figura 8 – Expressão do gene *TCF4* em diferentes compartimentos cerebrais e partes do corpo.

A) Expressão do gene *TCF4* na base HPA – Níveis de expressão de RNA normalizados (nTPM) mostrados para as 13 regiões do cérebro. A codificação de cores é baseada na região do cérebro e a barra mostra a maior expressão entre as sub-regiões incluídas; Expressão do gene *TCF4* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; Expressão do gene *TCF4* na base FANTOM5 dataset: Dados de tecido para expressão de RNA obtidos através de “*Cap Analysis of Gene Expression*” (CAGE) gerados pelo projeto FANTOM5 são relatados como “*Scaled Tags Per Million*”; **B)** Expressão do gene *TCF4* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; **C)** Expressão do gene *TCF4* na base HETA para múltiplos tecidos oculares, com valores normalizados a partir das *reads*. **D)** Expressão do gene *TCF4* na base GTEx dataset para cérebro: Os dados de tecido RNA-seq gerados pelo projeto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx) são relatados como nTPM médio, correspondendo aos valores médios das diferentes amostras individuais para a respectiva sub-região. A maior expressão entre as sub-regiões representa a região do cérebro; **E)** Expressão do gene *TCF4* na base HETA para múltiplos tecidos oculares, com valores normalizados a partir das *reads*.



também para expressão no cerebelo e em retina. Além disso, *RERE* também apresenta expressão em trato gastrointestinal e coração, demonstrando que esse gene também é expresso diferencialmente em outros tecidos, apresentando variações nos fenótipos associados a tal gene (Fregeau, Kim et al. 2016).

O gene *NR2F1* está relacionado ao desenvolvimento do sistema nervoso (Bertacchi, Romano et al. 2020), sendo muito expresso em cérebro e retina. Alterações nesse gene estão relacionados como causa de atrofia óptica (Bosch, Boonstra et al. 2014).

O gene *TCF4*, assim como os genes *RERE* e *NR2F1*, também apresenta expressão elevada em cerebelo e sistema nervoso, mas se comparado com os outros dois, é o menos expresso na retina. Alterações genéticas neste gene já foram associadas como causa de problemas oculares, incluindo distrofia de córnea e alterações na camada plexiforme interna da retina, a qual foi observada em pacientes com síndrome de Pitt-Hopkins. Isso sugere que há envolvimento desse gene do desenvolvimento do olho, principalmente em sua fase tardia na qual a camada plexiforme interna da retina e a córnea estão envolvidos (Brockschmidt, Filippi et al. 2011).

5.5 Classificação dos genes quanto ao grupo de patologias associadas

Na base OftGenetics, os genes catalogados foram classificados em 2 grupos distintos de DSNC: distúrbios do neurodesenvolvimento e doenças neurodegenerativas. A classificação dos genes em grupos permite uma melhor compreensão da função de cada uma, com o tipo de doença relacionada. Além disso, utilizando dados de interação molecular já apresentados, também é possível determinar relação de co-ocorrência entre fenótipos que aparentemente ocorrem em mais de um tipo de doença.

5.5.1 Genes relacionados com distúrbios neurodegenerativos

O gene *APOE* (*Apolipoprotein E*) é traduzido na maior apoproteína do cérebro (Margeta, Letcher et al. 2020). As apoproteínas são fundamentais no metabolismo de lipídeos, pois é a partir do seu processamento que são sintetizados lipídeos essenciais para o desenvolvimento das células, onde incluem-se também os ácidos graxos (Bales 2010). Portanto, falhas neste gene causam problemas no metabolismo de lipídeos, contribuindo para alterações de desenvolvimento de diversos tipos de células nervosas, como células ganglionares (Amaratunga, Abraham et al. 1996). Devido seu papel relacionado com metabolismo de lipídeos, este gene está associado com a doença de Alzheimer (Huang and Mahley 2014). No olho, a presença do alelo $\epsilon 4$ apresenta associação com glaucoma primário de ângulo aberto (Al-Dabbagh, Al-Dohayan et al. 2009).

O gene *APP* (*Amyloid Beta Precursor Protein*) é traduzido para uma proteína precursora transmembrana que passa por um processo de proteólise para produção de peptídeos, onde inclui-se o amiloide β (Nguyen 2019). A nível celular, o amiloide β é fundamental para o desenvolvimento (células NPC), diferenciação e migração neuronal (Zhou, Chan et al. 2011). Neste contexto, uma superexpressão da proteína APP pode causar acúmulo de amiloide β extracelular e, conseqüentemente, a formação das placas amilóides, que em cérebro está relacionado com a ocorrência da doença de Alzheimer (Ludewig and Korte 2017). Um estudo independente baseado em GWAS também identificou que o gene *APP* é um fator de risco significativo para a ocorrência de glaucoma e AD (Artero-Castro, Rodriguez-Jimenez et al. 2020), e também foi associado com a ocorrência de distrofia de córnea (Choi, Lee et al. 2019).

O gene *BACE1* (*Beta-Secretase 1*) é codificado para a maior molécula de beta-secretase do corpo humano, a qual é responsável por iniciar a proteólise da proteína APP (Zhou, Qing et al. 2004). No cérebro, o gene *BACE1* apresenta papel crítico no desenvolvimento sináptico e na sua plasticidade (Das and Yan 2017). Além disso,

também foi demonstrada sua associação com plasticidade sináptica no córtex visual (Petrus and Lee 2014). Alterações na expressão da proteína codificada a partir do gene *BACE1* já foram associadas com AD, uma vez que falhas neste gene interferem diretamente na proteólise de APP (Okada, Zhang et al. 2010). Estudos com modelos animais utilizando ratos demonstraram que os genes *BACE1* e *APP* são expressos em fibroblastos localizados na córnea e na retina (Choi, Lee et al. 2019), o que sugere que podem apresentar papel fundamental na visão.

O gene *PINK1* é traduzido para uma proteína do tipo serina/treonina quinase, que é clivada ao ser translocada para o interior da mitocôndria, para atuar na proteção da célula contra apoptose quando induzida pelo estresse oxidativo (Deas, Plun-Favreau et al. 2009). Foi identificado que formas recessivas do gene *PINK1* tem associação com a doença de Parkinson (Nguyen, Padman et al. 2016). Também foi observado que em glaucoma, falhas no gene *PINK1* e *PRKN*, em células ganglionares (responsáveis pela formação do nervo óptico), geram problemas na homeostase mitocondrial e incapacidade da célula contra o estresse excessivo, causando citotoxicidade que induz morte da célula por mitofagia (Quinn, Moreira et al. 2020). Além disso, falhas no funcionamento da proteína PINK1 também estão associadas a distrofias corneanas, que são ocasionadas por danos nas células endoteliais da córnea, as quais são ricas em mitocôndrias (Miyai, Vasanth et al. 2019).

5.5.2 Genes relacionados com Distúrbios do Neurodesenvolvimento

O gene *CDH22* é membro da superfamília das caderinas (Saarimäki-Vire, Alitalo et al. 2011). Expresso principalmente no cérebro, o gene *CDH22* está envolvido no desenvolvimento neural (Mayer, Bercsényi et al. 2010). Foi demonstrado que as caderinas estão associadas com a metilação do DNA, e alterações de metilação estão

associadas à esquizofrenia (Burghardt, Goodrich et al. 2018). Além disso, tipos específicos de caderinas têm associação com células bipolares retinianas, e estão associadas ao processamento visual da retina (Duan, Krishnaswamy et al. 2014). Alterações neste gene já foram associadas com a alterações da movimentação do olhar (SPEM) (Kikuchi, Miura et al. 2018).

O gene *S100A10* produz a proteína p11 que está associada a modulação de proteínas alvo na célula, que é induzida em resposta a sinais de cálcio (CA) intracelular (Rescher and Gerke 2008). A proteína p11 é a única da família S100 que, devido a mutações nos sites de ligação do CA, torna-se insensível ao CA e é continuamente ativada (Svenningsson and Greengard 2007). A proteína P11 (S100A10), quando menos expressa, está associada a depressão, distúrbio bipolar, suicídio e esquizofrenia (Sanders, Göring et al. 2013). Em estudos GWAS, foi identificada correlação significativa de SNP no gene *S100A10* ($p < 0.05$) com pacientes com esquizofrenia contendo disfunção do movimento ocular (Kikuchi, Miura et al. 2018).

O gene *THEM4* faz parte da superfamília das tioesterases envolvidas no metabolismo de ácidos graxos mitocondriais (Maira, Galetic et al. 2001), e está envolvido no processo de apoptose (Ono, Sakoda et al. 2007). A expressão da THEM4 é aumentada na presença de vitamina D e a deficiência desta vitamina está associada a doenças neurodegenerativas como AD e Parkinson (Berridge 2015). Estudos de GWAS também demonstraram associação significativa desse gene com alteração do movimento ocular (SPEM) em pacientes com esquizofrenia (Kikuchi, Miura et al. 2018).

O gene *CHD7* é um provável regulador de transcrição (Zentner, Hurd et al. 2010). Tal gene regula a proliferação de células troncos neurais do tipo NSPC (*neural stem/progenitor cells*) e tem interação fisiológica com o gene *SOX2* em humanos (Ohta, Yaguchi et al. 2016). Mutações deste gene estão associadas a TEA (Feng, Kawauchi et

al. 2017). Outros fenótipos associados a ele é a síndrome CHARGE, que apresenta como características: colobomas, alterações cardíacas, atresia de coanas e retardo de crescimento e desenvolvimento (Janssen, Bergman et al. 2012).

O gene *CTNGB1* é um gene que desempenha um papel fundamental na adesão celular e na via de sinalização Wnt (Li, Xu et al. 2017). A proteína β catenina produzida por este gene, na via Wnt, regula o desenvolvimento do telencéfalo ventral (Gulacsi and Anderson 2008) e também o desenvolvimento neuronal e do córtex cerebral (Bae and Hong 2018). Alterações nesse gene tem associação com TEA (Krumm, O'Roak et al. 2014). Foi demonstrando também que mutações nesse gene podem causar alterações na retina, cristalino e opacidades vítreas (Li, Xu et al. 2017) e a vitreorretinopatia familiar exsudativa (FEVR) (Coussa, Zhao et al. 2020).

O gene *SOX2* é um fator de transcrição envolvido no desenvolvimento da crista neural e no desenvolvimento neuronal (Wakamatsu and Uchikawa 2021). Ele é expresso amplamente em tecido neural primordial, auxiliando em sua diferenciação e no desenvolvimento do SNC, e também na formação e manutenção do olho (Pevny and Nicolis 2010). Alterações nesse gene, como a insuficiência haplóide, são responsáveis por 10% dos casos de anoftalmia em humanos (Taranova, Magness et al. 2006).

O gene *PAX6* é um fator de transcrição envolvido no desenvolvimento de vários órgãos, entre eles o cérebro e o olho (Haubst, Berger et al. 2004). Por ser um fator de transcrição, regula a expressão de muitos genes durante a formação do córtex cerebral e esta associado a muitos genes relacionados ao TEA (Kikkawa, Casingal et al. 2019), incluindo diversos fenótipos comportamentais do autismo (Lima Cunha, Arno et al. 2019). No olho, age na diferenciação do cristalino e no desenvolvimento da retina (Ashery-Padan and Gruss 2001). Mutações nesse gene estão associadas a aniridia (M.Hanson, Seawright et al. 1993).

5.6 Genes da RSL em bases de dados de oftalmogenética

A RSL trouxe alguns genes que supostamente estão envolvidos com problemas de visão, e na busca por eles, em base de dados de oftalmogenética, verificamos que alguns não encontram-se descritos. Neste contexto, as bases de dados investigadas foram: RetNet, ClinVar, Retinogenetics, KMeyeDB RetinoBase e EyeSite.

Dentre todas as bases de oftalmogenética, RetNet é a mais popular para uso clínico oftalmológico. Ela é uma base que lista os genes baseado apenas em dados da literatura. O fato de um gene não ser encontrado nessa base requer atenção, pois ela é usada como referência na área de oftalmogenética e devido ao seu foco, em doenças hereditárias da retina, limita sua busca por genes. Dentre os 33 genes encontrados em nossa revisão, que fazem parte da base criada OftGenetics, somente 6 encontram-se presentes bases de dados de RetNet, que são os genes *ABHD12*, *EMC1*, *FLVCRI*, *ITMB2*, *OTX2* e *NR2F1*. Os genes *ABHD12*, *EMC1*, *FLVCRI*, *OTX2* também foram encontrados na base de dados Retinogenetics. Em todas as demais bases de dados de oftalmogenética publicadas, intrigantemente nenhum gene da pesquisa foi encontrado. Tais genes são importantes para a visão, e são descritos a seguir.

O gene *ABHD12* (*Abhydrolase Domain Containing 12*, *Lysophospholipase*) codifica uma serina hidrolase de membrana integral, e possui alta expressão no sistema nervoso central (SNC) e em células imunes inatas, incluindo microglia e macrófagos (Ichu, Reed et al. 2020). Ele está associado a vias de lisofosfatidilserina e/ou endocanabinóides, e é responsável pela doença neurodegenerativa PHARC (polineuropatia, perda auditiva, ataxia, retinose pigmentar e catarata de início precoce) (Tingaud-Sequeira, Raldúa et al. 2017). Além de RetNet, este gene também é descrito na base Retinogenetics, como causa de PHARC.

O gene *EMC1* (*ER Membrane Protein Complex Subunit 1*) codifica uma proteína transmembrana tipo I que é uma subunidade do complexo de proteínas da membrana do retículo endoplasmático (EMC) (Cabet, Lesca et al. 2020). Alterações no retículo endoplasmático estão associados a epilepsia, doenças neurodegenerativas, doenças do metabolismo e alteração e deficiência visual (Geetha, Lingappa et al. 2018). Estudos com *Drosophila* demonstraram que EMC desempenha papel fundamental na biogênese e homeostasia da rodopsina, que tem papel importantíssimo na visão, pois é a partir da sua ativação, em resposta a luz, que se inicia a cascata de fototransdução que produz sinais elétricos na retina, sendo que sua perda causa degeneração na retina (Satoh, Ohba et al. 2015).

O gene *FLVCR1* (*The Feline Leukemia Virus subgroup C Receptor 1*) produz uma proteína que é exportadora de heme, cofator essencial em vários processos biológicos (Grudzinska Pechhacker, Yoon et al. 2020). A isoforma *FLVCR1a* é importante para sobrevivência neuronal e manutenção de sua especialização em diversos órgãos e tecidos como cérebro, retina e medula espinhal (Castori, Morlino et al. 2017). Mutações recessivas deste gene estão relacionadas com ataxia da coluna posterior e retinose pigmentar (Rajadhyaksha, Elemento et al. 2010).

O gene *ITM2B* (*Integral Membrane Protein 2B*) codifica uma proteína de membrana tipo 2 BRI2, que atua interagindo fisiologicamente com a proteína precursora do amiloide β (Yao, Yin et al. 2019). Além disso, a proteína também atua como inibidor do amiloide β , que está relacionado com a doença de Alzheimer (Wohlschlegel, Argentini et al. 2021) e distrofia retiniana (Nassisi, Wohlschlegel et al. 2021).

O gene *OTX2* (*Orthodenticle Homeobox 2*) é um fator de transcrição relacionado com desenvolvimento do cérebro, cerebelo, glândula pituitária (Gregory, Gergics et al. 2021), formação da retina, diferenciação dos fotorreceptores (Ghinia Tegla,

Buenaventura et al. 2020), e pode estar relacionada com hipoplasia de nervo óptico e TEA (Chen, Yin et al. 2017). *OTX2* é expresso no plexo coroidal e está associado a neurogênese (Planques, Oliveira Moreira et al. 2019). Este gene também tem associação com neurônios dopaminérgicos, participando da regulação da substância nigra, e por isso também está associado a Doença de Parkinson (Simeone, Di Salvio et al. 2011).

A presença de somente 6 genes da base OftGenetics em bases de dados de oftalmogenética públicas nos faz questionar se falta, na literatura, trabalhos com enfoque em genética. Além disso, tal questionamento também sugere que falta uma visão mais detalhada das alterações oftalmológicas descritas nos indivíduos reportados pelos trabalhos, e a importância de se pesquisar possíveis alterações oftalmológicas que podem ser encontradas nesse grupo de distúrbios cerebrais.

5.7 Análise dos genes encontrados em amostras de transcriptoma (RNA-seq) de pacientes com distúrbios do neurodesenvolvimento (DN)

A partir dos dados da base OftGenetics, foi feita uma investigação para verificar a possibilidade de encontrar genes associados com problemas de visão em amostras celulares de distúrbios e transtornos mentais. Para tal, foram obtidos dados de amostras de transcriptomas públicos (amostras n=525 de 18 projetos). Tais amostras foram copiadas e analisadas por ferramentas de bioinformática, e foram considerados genes diferencialmente expressos aqueles que apresentaram nível de significância de $p < 0,05$ (Tabela 4). Do total de projetos analisados, somente 8 apresentaram amostras com significância estatística.

Tabela 4- Resultados da análise dos bancos de dados de transcriptomas públicos com os genes encontrados da RSL com significância estatística de $p < 0,05$. Legenda: GENES: identificação do gene, TEA (transtorno espectro autismo), BPD (transtorno Bipolar), RTT (síndrome de Rett), FXS (síndrome do X frágil) ou SCZ (esquizofrenia), número associado ao tipo de transtorno=identificação da amostra apresentada na Tabela 2.

GENES	TEA 12	TEA 18	TEA 21	RTT 30	FXS 02	BPD 07	SCZ 01	SCZ 09
<i>ABHD12</i>	0.001							
<i>APOE</i>	0.010	0.037	0.019					
<i>APP</i>	0.000		0.013			0.009		
<i>BACE1</i>								
<i>BDNF</i>	0.000							
<i>CASK</i>			0.006			0.007		
<i>CDH22</i>	0.000					0.017		
<i>CHD7</i>	0.000	0.040				0.000		
<i>CTNNB1</i>								0.000
<i>EMC1</i>	0.000		0.000			0.008		
<i>FLVCR1</i>								
<i>HEXA</i>								0.000
<i>HOXA1</i>								
<i>ITM2B</i>			0.026				0.031	0.000
<i>KCNMA1</i>	0.000							
<i>NR2F1</i>								0.000
<i>NRG1</i>			0.001	0.002		0.007	0.001	
<i>NXNL1</i>			0.012			0.023		
<i>OTX2</i>					0.002			0.000
<i>PAX6</i>	0.001	0.032	0.048			0.000		0.000
<i>PINK1</i>						0.002		
<i>PITX3</i>								
<i>POGZ</i>								
<i>PRKN</i>	0.007					0.000		
<i>PRR12</i>			0.036					
<i>RERE</i>								
<i>SI00A10</i>	0.000		0.005			0.000		
<i>SLC52A2</i>								
<i>SOX2</i>	0.002	0.017				0.000		0.046
<i>SPATA5</i>					0.015			
<i>TCF4</i>								0.023
<i>THEM4</i>	0.000		0.007					
<i>VAMP2</i>			0.005			0.009		

No total, 26 genes apresentaram, em pelo menos 1 transtorno mental, alteração de expressão com significância estatística. O gene que se apresentou significativamente alterado em mais amostras de transtornos mentais foi o *PAX6*, em 5 condições (Tabela 4). Os genes *NRG1* e *SOX2* apresentaram significância estatística em 4 amostras, seguidos dos genes *APP*, *S100A10*, *EMC1*, *CHD7*, *ITM2B* e *APOE* com 3 resultados significativos (Tabela 4).

O gene *PAX6* é um fator de transcrição e está relacionado ao desenvolvimento neurológico e formação do olho (Ashery-Padan and Gruss 2001), principalmente a íris (M.Hanson, Seawright et al. 1993). Na busca da literatura realizada neste estudo encontramos associação do *PAX6* com TEA (Kikkawa, Casingal et al. 2019), justificando a associação encontrada de alterações de expressão em amostras de TEA dos transcriptomas públicos. O gene *PAX6* não estava descrito nas bases de dados de oftalmogenética por não apresentar associações com doenças hereditárias da retina.

O gene *NRG1*, descrito anteriormente, apresenta associação com esquizofrenia (Corfas, Roy et al. 2004) e glaucoma (Wang, Huang et al. 2009). No caso da análise dos dados de RNA-seq, também foi identificada alteração significativa de expressão em diferentes condições mentais, como TEA, Transtorno Bipolar e Síndrome de Rett. O gene *SOX2* está associado ao desenvolvimento neural (Wakamatsu and Uchikawa 2021) e formação do olho (Pevny and Nicolis 2010). Na análise sua expressão, apresentou-se alterado em amostras de TEA, BPD e esquizofrenia.

Os genes *PITX3* e *HOXA1* não apresentaram alterações significativas nas amostras analisadas, demonstrando novamente que provavelmente não tem associações diretas com alterações oftalmológicas. A expressão alterada desses genes nesses dados de transcriptoma pode servir de comprovação que alterações nas expressões deles estaria associada a distúrbios do neurodesenvolvimento e alterações oftalmológicas.

6. CONCLUSÃO

Este estudo encontrou, através de uma RSL, 33 genes associados a alterações oftalmológicas em indivíduos com patologias do sistema nervoso central (SNC), tanto relacionados com distúrbios do neurodesenvolvimento e/ou doenças neurodegenerativas. Tais genes foram incorporados em uma base de dados, chamada OftGenetics. Foi possível, através de análises de interações genéticas e moleculares, além de levantamento e análise de dados públicos de expressão de transcriptomas, associar os genes da base OftGenetics às patologias do SNC, e assim formular possíveis associações que justifiquem os fenótipos oculares encontrados.

A partir dos dados da base OftGenetics, foi realizada uma busca em bancos de dados públicos de referência médica em oftalmogenética, porém poucos genes foram encontrados. A inexistência de tais genes evidenciou a falta de um enfoque detalhado de problemas oftalmológicos em indivíduos com patologias do SNC, indicando a importância na realização de exames oftalmológicos em pacientes com distúrbios do neurodesenvolvimento e doenças neurodegenerativas.

Complementarmente, realizamos uma análise de bases públicas de transcriptomas oriundos de indivíduos com distúrbios do neurodesenvolvimento, com intuito de verificar se os genes da base OftGenetics apresentam alteração significativa de expressão gênica. Nas análises realizadas, identificamos que diversos genes da base OftGenetics apresentam alteração significativa na expressão gênica, possivelmente justificando o fenótipo encontrado, e a necessidade de buscar alterações oftalmológicas nos indivíduos acometidos pelos distúrbios.

Este estudo foi realizado de forma descritiva e analítica, e não teve como objetivo provar associações, por isso somente foi realizada a descrição e análise *in silico* das

associações encontradas. Porém, devido à profundidade e nível de evidências levantadas neste trabalho, é fato que os dados deste estudo podem auxiliar em pesquisas futuras, para um melhor entendimento do mecanismo fisiopatológico das patologias do SNC, com foco na área oftalmológica, e desta forma proporcionar uma melhora na qualidade de vida dos pacientes.

Como perspectivas futuras, planejamos a criação prática, na forma de um portal WEB de acesso público, de uma base de dados de genética que associe genes com alterações oftalmológicas e distúrbios do sistema nervoso central. Isso permitirá auxiliar pesquisadores a buscar associações entre as patologias e os genes, principalmente devido ao baixo número de genes da base OftGenetics, que foram encontrados em bases de oftalmogenética existentes.

7.REFERÊNCIAS

- (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-5. Arlington, VA, American Psychiatric Association.
- Al-Dabbagh, N. M., N. Al-Dohayan, M. Arfin and M. Tariq (2009). "Apolipoprotein E polymorphisms and primary glaucoma in Saudis." Molecular Vision **15**: 912.
- Amaratunga, A., C. R. Abraham, R. B. Edwards, J. H. Sandell, B. M. Schreiber and R. E. Fine (1996). "Apolipoprotein E Is Synthesized in the Retina by Müller Glial Cells, Secreted into the Vitreous, and Rapidly Transported into the Optic Nerve by Retinal Ganglion Cells (*)." Journal of Biological Chemistry **271**(10): 5628-5632.
- Amor, S., F. Puentes, D. Baker and P. van der Valk (2010). "Inflammation in neurodegenerative diseases." Immunology **129**(2): 154-169.
- Artero-Castro, A., F. J. Rodriguez-Jimenez, P. Jendelova, K. B. VanderWall, J. S. Meyer and S. Erceg (2020). "Glaucoma as a neurodegenerative disease caused by intrinsic vulnerability factors." Progress in neurobiology **193**: 101817.
- Ashery-Padan, R. and P. Gruss (2001). "Pax6 lights-up the way for eye development." Current opinion in cell biology **13**(6): 706-714.
- Assia Batzir, N., J. E. Posey, X. Song, Z. C. Akdemir, J. A. Rosenfeld, C. W. Brown, E. Chen, S. G. Holtrop, E. Mizerik, M. Nieto Moreno, K. Payne, A. Raas-Rothschild, R. Scott, H. J. Vernon, N. Zadeh, J. R. Lupski and V. R. Sutton (2020). "Phenotypic expansion of POGZ-related intellectual disability syndrome (White-Sutton syndrome)." Am J Med Genet A **182**(1): 38-52.
- Babanejad, M., O. A. Adeli, N. Nikzat, M. Beheshtian, H. Azarafra, F. Sadeghnia, M. Mohseni, H. Najmabadi and K. Kahrizi (2018). "SLC52A2 mutations cause SCABD2 phenotype: A second report." Int J Pediatr Otorhinolaryngol **104**: 195-199.
- Bae, S. M. and J. Y. Hong (2018). "The Wnt signaling pathway and related therapeutic drugs in autism spectrum disorder." Clinical Psychopharmacology and Neuroscience **16**(2): 129.
- Bagni, C. and R. S. Zukin (2019). "A synaptic perspective of fragile X syndrome and autism spectrum disorders." Neuron **101**(6): 1070-1088.
- Bales, K. R. (2010). "Brain lipid metabolism, apolipoprotein E and the pathophysiology of Alzheimer's disease." Neuropharmacology **59**(4): 295-302.
- Barrett, T., K. Clark, R. Gevorgyan, V. Gorelenkov, E. Gribov, I. Karsch-Mizrachi, M. Kimelman, K. D. Pruitt, S. Resenchuk, T. Tatusova, E. Yaschenko and J. Ostell (2012). "BioProject and BioSample databases at NCBI: facilitating capture and organization of metadata." Nucleic Acids Res **40**(Database issue): D57-63.
- Behrmann, M., C. Thomas and K. Humphreys (2006). "Seeing it differently: visual processing in autism." Trends Cogn Sci **10**(6): 258-264.

- Benjamini, Y. and Y. Hochberg (1995). "Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing." Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological) **57**(1): 289-300.
- Berenguer, M., K. F. Meyer, J. Yin and G. Duester (2020). "Discovery of genes required for body axis and limb formation by global identification of retinoic acid-regulated epigenetic marks." PLoS Biol **18**(5): e3000719.
- Berridge, M. J. (2015). "Vitamin D cell signalling in health and disease." Biochemical and biophysical research communications **460**(1): 53-71.
- Bertacchi, M., J. Parisot and M. Studer (2019). "The pleiotropic transcriptional regulator COUP-TFI plays multiple roles in neural development and disease." Brain Res **1705**: 75-94.
- Bertacchi, M., A. L. Romano, A. Loubat, F. Tran Mau-Them, M. Willems, L. Faivre, P. Khau van Kien, L. Perrin, F. Devillard, A. Sorlin, P. Kuentz, C. Philippe, A. Garde, F. Neri, R. Di Giaimo, S. Oliviero, S. Cappello, L. D'Incerti, C. Frassoni and M. Studer (2020). "NR2F1 regulates regional progenitor dynamics in the mouse neocortex and cortical gyrification in BBSOAS patients." Embo j **39**(13): e104163.
- Bharti, K., A. Suppa, S. Tommasin, A. Zampogna, S. Pietracupa, A. Berardelli and P. Pantano (2019). "Neuroimaging advances in Parkinson's disease with freezing of gait: A systematic review." Neuroimage Clin **24**: 102059.
- Birnbaum, R. and D. R. Weinberger (2017). "Genetic insights into the neurodevelopmental origins of schizophrenia." Nat Rev Neurosci **18**(12): 727-740.
- Bosch, D. G., F. N. Boonstra, N. de Leeuw, R. Pfundt, W. M. Nillesen, J. de Ligt, C. Gilissen, S. Jhangiani, J. R. Lupski, F. P. Cremers and B. B. de Vries (2016). "Novel genetic causes for cerebral visual impairment." Eur J Hum Genet **24**(5): 660-665.
- Bosch, D. G., F. N. Boonstra, C. Gonzaga-Jauregui, M. Xu, J. de Ligt, S. Jhangiani, W. Wiszniewski, D. M. Muzny, H. G. Yntema, R. Pfundt, L. E. Vissers, L. Spruijt, E. A. Blokland, C. A. Chen, R. A. Lewis, S. Y. Tsai, R. A. Gibbs, M. J. Tsai, J. R. Lupski, H. Y. Zoghbi, F. P. Cremers, B. B. de Vries and C. P. Schaaf (2014). "NR2F1 mutations cause optic atrophy with intellectual disability." Am J Hum Genet **94**(2): 303-309.
- Bralten, J., K. J. van Hulzen, M. B. Martens, T. E. Galesloot, A. Arias Vasquez, L. A. Kiemeny, J. K. Buitelaar, J. W. Muntjewerff, B. Franke and G. Poelmans (2017). "Autism spectrum disorders and autistic traits share genetics and biology." Mol Psychiatry.
- Brockschmidt, A., A. Filippi, P. Charbel Issa, M. Nelles, H. Urbach, N. Eter, W. Driever and R. G. Weber (2011). "Neurologic and ocular phenotype in Pitt-Hopkins syndrome and a zebrafish model." Hum Genet **130**(5): 645-655.
- Brockschmidt, A., U. Todt, S. Ryu, A. Hoischen, C. Landwehr, S. Birnbaum, W. Frenck, B. Radlwimmer, P. Lichter, H. Engels, W. Driever, C. Kubisch and R. G. Weber (2007). "Severe mental retardation with breathing abnormalities (Pitt-Hopkins syndrome) is caused by haploinsufficiency of the neuronal bHLH transcription factor TCF4." Hum Mol Genet **16**(12): 1488-1494.

- Burghardt, K. J., J. M. Goodrich, B. N. Lines and V. L. Ellingrod (2018). "The influence of metabolic syndrome and sex on the DNA methylome in schizophrenia." International journal of genomics **2018**.
- Cabet, S., G. Lesca, A. Labalme, V. Des Portes, L. Guibaud, D. Sanlaville and L. Pons (2020). "Novel truncating and missense variants extending the spectrum of EMC1-related phenotypes, causing autism spectrum disorder, severe global development delay and visual impairment." Eur J Med Genet **63**(6): 103897.
- Cacace, R., K. Sleegers and C. Van Broeckhoven (2016). "Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited." Alzheimers Dement **12**(6): 733-748.
- Carvalho, A. F., J. Firth and E. Vieta (2020). "Bipolar Disorder." N Engl J Med **383**(1): 58-66.
- Castori, M., S. Morlino, M. Ungelenk, D. Pareyson, E. Salsano, P. Grammatico, E. Tolosano, I. Kurth and D. Chiabrando (2017). "Posterior column ataxia with retinitis pigmentosa coexisting with sensory-autonomic neuropathy and leukemia due to the homozygous p.Pro221Ser FLVCR1 mutation." Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet **174**(7): 732-739.
- Cavodeassi, F., S. Creuzet and H. C. Etchevers (2019). "The hedgehog pathway and ocular developmental anomalies." Hum Genet **138**(8-9): 917-936.
- Chaste, P. and M. Leboyer (2012). "Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions." Dialogues Clin Neurosci **14**(3): 281-292.
- Cheema, H. A., N. Waheed and A. Saeed (2019). "Unusual case of Juvenile Tay-Sachs disease." BMJ Case Rep **12**(9).
- Chen, C. A., J. Yin, R. A. Lewis and C. P. Schaaf (2017). "Genetic causes of optic nerve hypoplasia." J Med Genet **54**(7): 441-449.
- Choi, S.-i., B. Lee, J. H. Woo, J. B. Jeong, I. Jun and E. K. Kim (2019). "APP processing and metabolism in corneal fibroblasts and epithelium as a potential biomarker for Alzheimer's disease." Experimental Eye Research **182**: 167-174.
- Chokron, S., K. Kovarski, T. Zalla and G. N. Dutton (2020). "The inter-relationships between cerebral visual impairment, autism and intellectual disability." Neurosci Biobehav Rev **114**: 201-210.
- Consortium, G. T. (2013). "The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project." Nat Genet **45**(6): 580-585.
- Corfas, G., K. Roy and J. D. Buxbaum (2004). "Neuregulin 1-erbB signaling and the molecular/cellular basis of schizophrenia." Nature neuroscience **7**(6): 575-580.
- Coussa, R. G., Y. Zhao, M. J. DeBenedictis, A. Babiuch, J. Sears and E. I. Traboulsi (2020). "Novel mutation in CTNNB1 causes familial exudative vitreoretinopathy (FEVR) and microcephaly: case report and review of the literature." Ophthalmic Genet **41**(1): 63-68.

Das, B. and R. Yan (2017). "Role of BACE1 in Alzheimer's synaptic function." Translational Neurodegeneration **6**(1): 1-8.

Deas, E., H. Plun-Favreau and N. W. Wood (2009). "PINK1 function in health and disease." EMBO molecular medicine **1**(3): 152-165.

Demontis, D., R. K. Walters, J. Martin, M. Mattheisen, T. D. Als, E. Agerbo, G. Baldursson, R. Belliveau, J. Bybjerg-Grauholm, M. Bækvad-Hansen, F. Cerrato, K. Chambert, C. Churchhouse, A. Dumont, N. Eriksson, M. Gandal, J. I. Goldstein, K. L. Grasby, J. Grove, O. O. Gudmundsson, C. S. Hansen, M. E. Hauberg, M. V. Hollegaard, D. P. Howrigan, H. Huang, J. B. Maller, A. R. Martin, N. G. Martin, J. Moran, J. Pallesen, D. S. Palmer, C. B. Pedersen, M. G. Pedersen, T. Poterba, J. B. Poulsen, S. Ripke, E. B. Robinson, F. K. Satterstrom, H. Stefansson, C. Stevens, P. Turley, G. B. Walters, H. Won, M. J. Wright, Ö. Albayrak, R. J. L. Anney, M. J. Arranz, T. J. Banaschewski, C. Bau, J. Biederman, J. K. Buitelaar, M. Casas, A. Charach, J. Crosbie, A. Dempfle, A. E. Doyle, R. P. Ebstein, J. Elia, C. Freitag, M. Föcker, M. Gill, E. Grevet, Z. Hawi, J. Hebebrand, B. Herpertz-Dahlmann, A. Hervas, A. Hinney, S. Hohmann, P. Holmans, M. Hutz, A. Ickowitz, S. Johansson, L. Kent, S. Kittel-Schneider, N. Lambregts-Rommelse, G. Lehmkuhl, S. K. Loo, J. J. McGough, J. Meyer, E. Mick, F. Middleton, A. Miranda, N. R. Mota, F. Mulas, A. Mulligan, F. Nelson, T. T. Nguyen, R. D. Oades, M. C. O'Donovan, M. J. Owen, H. Palmason, J. A. Ramos-Quiroga, T. J. Renner, M. Ribasés, M. Rietschel, O. Rivero, J. Romanos, M. Romanos, A. Rothenberger, H. Royers, C. Sánchez-Mora, A. Scherag, B. G. Schimmelmann, H. Schäfer, J. Sergeant, J. Sinzig, S. L. Smalley, H.-C. Steinhausen, M. Thompson, A. Todorov, A. A. Vasquez, S. Walitza, Y. Wang, A. Warnke, N. Williams, S. H. Witt, L. Yang, T. Zayats, Y. Zhang-James, G. D. Smith, G. E. Davies, E. A. Ehli, D. M. Evans, I. O. Fedko, C. U. Greven, M. M. Groen-Blokhuis, M. Guxens, A. R. Hammerschlag, C. A. Hartman, J. Heinrich, J. Jan Hottenga, J. Hudziak, A. Jugessur, J. P. Kemp, E. Krapohl, M. Murcia, R. Myhre, I. M. Nolte, D. R. Nyholt, J. Ormel, K. G. Ouwens, I. Pappa, C. E. Pennell, R. Plomin, S. Ring, M. Standl, E. Stergiakouli, B. S. Pourcain, C. Stoltenberg, J. Sunyer, E. Thiering, H. Tiemeier, C. M. T. Tiesler, N. J. Timpson, M. Trzaskowski, P. J. van der Most, N. Vilor-Tejedor, C. A. Wang, A. J. O. Whitehouse, H. Zhao, M. Agee, B. Alipanahi, A. Auton, R. K. Bell, K. Bryc, S. L. Elson, P. Fontanillas, N. A. Furlotte, D. A. Hinds, B. S. Hromatka, K. E. Huber, A. Kleinman, N. K. Litterman, M. H. McIntyre, J. L. Mountain, C. A. M. Northover, S. J. Pitts, J. F. Sathirapongsasuti, O. V. Sazonova, J. F. Shelton, S. Shringarpure, C. Tian, V. Vacic, C. H. Wilson, O. A. Andreassen, P. Asherson, C. L. Burton, D. I. Boomsma, B. Cormand, S. Dalsgaard, B. Franke, J. Gelernter, D. Geschwind, H. Hakonarson, J. Haavik, H. R. Kranzler, J. Kuntsi, K. Langley, K.-P. Lesch, C. Middeldorp, A. Reif, L. A. Rohde, P. Roussos, R. Schachar, P. Sklar, E. J. S. Sonuga-Barke, P. F. Sullivan, A. Thapar, J. Y. Tung, I. D. Waldman, S. E. Medland, K. Stefansson, M. Nordentoft, D. M. Hougaard, T. Werge, O. Mors, P. B. Mortensen, M. J. Daly, S. V. Faraone, A. D. Børglum, B. M. Neale, A. W. G. o. t. P. G. Consortium, L. Early, C. Genetic Epidemiology and T. andMe Research (2019). "Discovery of the first genome-wide significant risk loci for attention deficit/hyperactivity disorder." Nature Genetics **51**(1): 63-75.

Dersh, D., Y. Iwamoto and Y. Argon (2016). "Tay-Sachs disease mutations in HEXA target the α chain of hexosaminidase A to endoplasmic reticulum-associated degradation." Mol Biol Cell **27**(24): 3813-3827.

- Dobin, A., C. A. Davis, F. Schlesinger, J. Drenkow, C. Zaleski, S. Jha, P. Batut, M. Chaisson and T. R. Gingeras (2013). "STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner." Bioinformatics **29**(1): 15-21.
- Duan, X., A. Krishnaswamy, I. De la Huerta and J. R. Sanes (2014). "Type II cadherins guide assembly of a direction-selective retinal circuit." Cell **158**(4): 793-807.
- Dugger, B. N. and D. W. Dickson (2017). "Pathology of Neurodegenerative Diseases." Cold Spring Harb Perspect Biol **9**(7).
- Ertekin-Taner, N. (2007). "Genetics of Alzheimer's disease: a centennial review." Neurol Clin **25**(3): 611-667, v.
- Feng, W., D. Kawauchi, H. Körkel-Qu, H. Deng, E. Serger, L. Sieber, J. A. Lieberman, S. Jimeno-González, S. Lambo and B. S. Hanna (2017). "Chd7 is indispensable for mammalian brain development through activation of a neuronal differentiation programme." Nature communications **8**(1): 1-14.
- Forrest, M. P., M. J. Hill, A. J. Quantock, E. Martin-Rendon and D. J. Blake (2014). "The emerging roles of TCF4 in disease and development." Trends Mol Med **20**(6): 322-331.
- Fregeau, B., B. J. Kim, A. Hernández-García, V. K. Jordan, M. T. Cho, R. E. Schnur, K. G. Monaghan, J. Juusola, J. A. Rosenfeld, E. Bhoj, E. H. Zackai, S. Sacharow, K. Barañano, D. G. M. Bosch, B. B. A. de Vries, K. Lindstrom, A. Schroeder, P. James, P. Kulch, S. R. Lalani, M. M. van Haelst, K. L. I. van Gassen, E. van Binsbergen, A. J. Barkovich, D. A. Scott and E. H. Sherr (2016). "De Novo Mutations of RERE Cause a Genetic Syndrome with Features that Overlap Those Associated with Proximal 1p36 Deletions." Am J Hum Genet **98**(5): 963-970.
- Frye, R. E., S. Vassall, G. Kaur, C. Lewis, M. Karim and D. Rossignol (2019). "Emerging biomarkers in autism spectrum disorder: a systematic review." Ann Transl Med **7**(23): 792.
- Galvez-Contreras, A. Y., D. Zarate-Lopez, A. L. Torres-Chavez and O. Gonzalez-Perez (2020). "Role of Oligodendrocytes and Myelin in the Pathophysiology of Autism Spectrum Disorder." Brain Sci **10**(12).
- Geetha, T. S., L. Lingappa, A. R. Jain, H. Govindan, N. Mandloi, S. Murugan, R. Gupta and R. Vedam (2018). "A novel splice variant in EMC1 is associated with cerebellar atrophy, visual impairment, psychomotor retardation with epilepsy." Mol Genet Genomic Med **6**(2): 282-287.
- Gregory, L. C., P. Gergics, M. Nakaguma, H. Bando, G. Patti, M. J. McCabe, Q. Fang, Q. Ma, A. B. Ozel, J. Z. Li, M. M. Poina, A. A. L. Jorge, A. F. F. Benedetti, A. M. Lerario, I. J. P. Arnhold, B. B. Mendonca, M. Maghnie, S. A. Camper, L. R. S. Carvalho and M. T. Dattani (2021). "The phenotypic spectrum associated with OTX2 mutations in humans." Eur J Endocrinol **185**(1): 121-135.
- Grimm, O., T. M. Kranz and A. Reif (2020). "Genetics of ADHD: What Should the Clinician Know?" Curr Psychiatry Rep **22**(4): 18.

- Grudzinska Pechhacker, M. K., G. Yoon, L. N. Hazrati, J. Maynes, H. MacDonald, E. Tavares, A. Vincent and E. Heon (2020). "FLVCR1-related disease as a rare cause of retinitis pigmentosa and hereditary sensory autonomic neuropathy." Eur J Med Genet **63**(11): 104037.
- Gulacsi, A. A. and S. A. Anderson (2008). " β -catenin-mediated Wnt signaling regulates neurogenesis in the ventral telencephalon." Nature neuroscience **11**(12): 1383-1391.
- Haubst, N., J. Berger, V. Radjendirane, J. Graw, J. Favor, G. F. Saunders, A. Stoykova and M. Götz (2004). "Molecular dissection of Pax6 function: the specific roles of the paired domain and homeodomain in brain development."
- Hayes, M. T. (2019). "Parkinson's Disease and Parkinsonism." Am J Med **132**(7): 802-807.
- Hoffman, G. E., J. Bendl, G. Voloudakis, K. S. Montgomery, L. Sloofman, Y.-C. Wang, H. R. Shah, M. E. Hauberg, J. S. Johnson and K. Girdhar (2019). "CommonMind Consortium provides transcriptomic and epigenomic data for Schizophrenia and Bipolar Disorder." Scientific data **6**(1): 1-14.
- Huang, Y. and R. W. Mahley (2014). "Apolipoprotein E: structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases." Neurobiol Dis **72 Pt A**: 3-12.
- Hughes, J. R. (2007). "Autism: the first firm finding = underconnectivity?" Epilepsy Behav **11**(1): 20-24.
- Ibaraki, K., N. Hamada, I. Iwamoto, H. Ito, N. Kawamura, R. Morishita, H. Tabata and K. I. Nagata (2019). "Expression Analyses of POGZ, A Responsible Gene for Neurodevelopmental Disorders, during Mouse Brain Development." Dev Neurosci **41**(1-2): 139-148.
- Ichu, T. A., A. Reed, D. Ogasawara, O. Ulanovskaya, A. Roberts, C. A. Aguirre, L. Bar-Peled, J. Gao, J. Germain, S. Barbas, K. Masuda, B. Conti, P. Tontonoz and B. F. Cravatt (2020). "ABHD12 and LPCAT3 Interplay Regulates a Lyso-phosphatidylserine-C20:4 Phosphatidylserine Lipid Network Implicated in Neurological Disease." Biochemistry **59**(19): 1793-1799.
- Jaffe, A. E., R. E. Straub, J. H. Shin, R. Tao, Y. Gao, L. Collado-Torres, T. Kam-Thong, H. S. Xi, J. Quan, Q. Chen, C. Colantuoni, W. S. Ulrich, B. J. Maher, A. Deep-Soboslay, C. BrainSeq, A. J. Cross, N. J. Brandon, J. T. Leek, T. M. Hyde, J. E. Kleinman and D. R. Weinberger (2018). "Developmental and genetic regulation of the human cortex transcriptome illuminate schizophrenia pathogenesis." Nat Neurosci **21**(8): 1117-1125.
- Janssen, N., J. E. Bergman, M. A. Swertz, L. Tranebjaerg, M. Lodahl, J. Schoots, R. M. Hofstra, C. M. van Ravenswaaij-Arts and L. H. Hoefsloot (2012). "Mutation update on the CHD7 gene involved in CHARGE syndrome." Human mutation **33**(8): 1149-1160.
- Jeckel, P., M. Kriebel and H. Volkmer (2021). "Autism Spectrum Disorder Risk Factor Met Regulates the Organization of Inhibitory Synapses." Front Mol Neurosci **14**: 659856.

- Johnson, J. O., J. R. Gibbs, A. Megarbane, J. A. Urtizberea, D. G. Hernandez, A. R. Foley, S. Arepalli, A. Pandraud, J. Simón-Sánchez, P. Clayton, M. M. Reilly, F. Muntoni, Y. Abramzon, H. Houlden and A. B. Singleton (2012). "Exome sequencing reveals riboflavin transporter mutations as a cause of motor neuron disease." Brain **135**(Pt 9): 2875-2882.
- Kalathur, R. K., N. Gagniere, G. Berthommier, L. Poidevin, W. Raffelsberger, R. Ripp, T. Léveillard and O. Poch (2008). "RETINOBASE: a web database, data mining and analysis platform for gene expression data on retina." BMC Genomics **9**: 208.
- Kalia, L. V. and A. E. Lang (2015). "Parkinson's disease." Lancet **386**(9996): 896-912.
- Kikkawa, T., C. R. Casingal, S. H. Chun, H. Shinohara, K. Hiraoka and N. Osumi (2019). "The role of Pax6 in brain development and its impact on pathogenesis of autism spectrum disorder." Brain Research **1705**: 95-103.
- Kikuchi, M., K. Miura, K. Morita, H. Yamamori, M. Fujimoto, M. Ikeda, Y. Yasuda, A. Nakaya and R. Hashimoto (2018). "Genome-wide Association Analysis of Eye Movement Dysfunction in Schizophrenia." Sci Rep **8**(1): 12347.
- Kim, C. Y. and R. N. Alcalay (2017). "Genetic Forms of Parkinson's Disease." Semin Neurol **37**(2): 135-146.
- Kim, J. H., B. L. Park, C. F. Pasaje, J. S. Bae, C. S. Park, B. Cha, B. J. Kim, M. Lee, W. H. Choi, T. M. Shin, I. G. Choi, J. Hwang, I. Koh, S. I. Woo and H. D. Shin (2012). "Lack of associations of neuregulin 1 variations with schizophrenia and smooth pursuit eye movement abnormality in a Korean population." J Mol Neurosci **46**(3): 476-482.
- Kitchenham, B. a. C., S. (2007). "Guidelines for performing systematic literature reviews in software engineering."
- Klein, M. and G. Hermey (2023). "Converging links between adult-onset neurodegenerative Alzheimer's disease and early life neurodegenerative neuronal ceroid lipofuscinosis?" Neural Regen Res **18**(7): 1463-1471.
- Kovacs, G. G. (2017). "Concepts and classification of neurodegenerative diseases." Handb Clin Neurol **145**: 301-307.
- Krumm, N., B. J. O'Roak, J. Shendure and E. E. Eichler (2014). "A de novo convergence of autism genetics and molecular neuroscience." Trends Neurosci **37**(2): 95-105.
- Kumar, A., A. Singh and Ekavali (2015). "A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update." Pharmacol Rep **67**(2): 195-203.
- Lai, M. C., M. V. Lombardo and S. Baron-Cohen (2014). "Autism." Lancet **383**(9920): 896-910.
- Landrum, M. J., J. M. Lee, M. Benson, G. R. Brown, C. Chao, S. Chitipiralla, B. Gu, J. Hart, D. Hoffman, W. Jang, K. Karapetyan, K. Katz, C. Liu, Z. Maddipatla, A. Malheiro, K. McDaniel, M. Ovetsky, G. Riley, G. Zhou, J. B. Holmes, B. L. Kattman

- and D. R. Maglott (2018). "ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence." Nucleic Acids Res **46**(D1): D1062-d1067.
- Lee, D. A., S. Fefeu, A. A. Edo-Ukeh, C. A. Orengo and C. Slingsby (2004). "EyeSite: a semi-automated database of protein families in the eye." Nucleic Acids Res **32**(Database issue): D148-152.
- Levy, S. E., D. S. Mandell and R. T. Schultz (2009). "Autism." Lancet **374**(9701): 1627-1638.
- Li, N., Y. Xu, G. Li, T. Yu, R.-e. Yao, X. Wang and J. Wang (2017). "Exome sequencing identifies a de novo mutation of CTNNB1 gene in a patient mainly presented with retinal detachment, lens and vitreous opacities, microcephaly, and developmental delay: case report and literature review." Medicine **96**(20).
- Liang, L., X. Li, S. Moutton, S. A. Schrier Vergano, B. Cogné, A. Saint-Martin, A. C. E. Hurst, Y. Hu, O. Bodamer, J. Thevenon, C. Y. Hung, B. Isidor, B. Gerard, A. Rega, S. Nambot, D. Lehalle, Y. Duffourd, C. Thauvin-Robinet, L. Faivre, S. Bézieau, L. S. Dure, D. C. Helbling, D. Bick, C. Xu, Q. Chen, G. M. S. Mancini, A. Vitobello and Q. K. Wang (2019). "De novo loss-of-function KCNMA1 variants are associated with a new multiple malformation syndrome and a broad spectrum of developmental and neurological phenotypes." Hum Mol Genet **28**(17): 2937-2951.
- Liao, Y., G. K. Smyth and W. Shi (2014). "featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features." Bioinformatics **30**(7): 923-930.
- Lima Cunha, D., G. Arno, M. Corton and M. Moosajee (2019). "The spectrum of PAX6 mutations and genotype-phenotype correlations in the eye." Genes **10**(12): 1050.
- Love, M. I., W. Huber and S. Anders (2014). "Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2." Genome Biol **15**(12): 550.
- Ludewig, S. and M. Korte (2017). "Novel insights into the physiological function of the APP (gene) family and its proteolytic fragments in synaptic plasticity." Frontiers in molecular neuroscience **9**: 161.
- M.Hanson, I., A. Seawright, K. Hardman, S. Hodgson, D. Zaletayev, G. Fekete and V. v. Heyningen (1993). "PAX6 mutations in aniridia." Human Molecular Genetics **2**(7): 915-920.
- Maira, S. M., I. Galetic, D. P. Brazil, S. Kaech, E. Ingley, M. Thelen and B. A. Hemmings (2001). "Carboxyl-terminal modulator protein (CTMP), a negative regulator of PKB/Akt and v-Akt at the plasma membrane." Science **294**(5541): 374-380.
- Manole, A., Z. Jaunmuktane, I. Hargreaves, M. H. R. Ludtmann, V. Salpietro, O. D. Bello, S. Pope, A. Pandraud, A. Horga, R. S. Scalco, A. Li, B. Ashokkumar, C. M. Lourenço, S. Heales, R. Horvath, P. F. Chinnery, C. Toro, A. B. Singleton, T. S. Jacques, A. Y. Abramov, F. Muntoni, M. G. Hanna, M. M. Reilly, T. Revesz, D. M. Kullmann, J. E. C. Jepson and H. Houlden (2017). "Clinical, pathological and functional characterization of riboflavin-responsive neuropathy." Brain **140**(11): 2820-2837.

- Margeta, M. A., S. M. Letcher, R. P. Igo, J. N. C. Bailey, L. R. Pasquale, J. L. Haines, O. Butovsky and J. L. Wiggs (2020). "Association of APOE with primary open-angle glaucoma suggests a protective effect for APOE ϵ 4." Investigative Ophthalmology & Visual Science **61**(8): 3-3.
- Mayer, M., K. Bercsényi, K. Géczi, G. Szabó and Z. Lele (2010). "Expression of two type II cadherins, Cdh12 and Cdh22 in the developing and adult mouse brain." Gene Expr Patterns **10**(7-8): 351-360.
- McCutcheon, R. A., T. Reis Marques and O. D. Howes (2020). "Schizophrenia-An Overview." JAMA Psychiatry **77**(2): 201-210.
- Mesman, S., I. Wever and M. P. Smidt (2021). "Tcf4 Is Involved in Subset Specification of Mesodiencephalic Dopaminergic Neurons." Biomedicine **9**(3).
- Minoshima, S., S. Mitsuyama, S. Ohno, T. Kawamura and N. Shimizu (1999). "Keio Mutation Database for eye disease genes (KMeyeDB)." Nucleic Acids Res **27**(1): 358-361.
- Miyai, T., S. Vasanth, G. Melangath, N. Deshpande, V. Kumar, A.-S. Benischke, Y. Chen, M. O. Price, F. W. Price Jr and U. V. Jurkunas (2019). "Activation of PINK1-parkin-mediated mitophagy degrades mitochondrial quality control proteins in Fuchs endothelial corneal dystrophy." The American journal of pathology **189**(10): 2061-2076.
- Nassisi, M., J. Wohlschlegel, B. Liu, C. Letellier, C. Michiels, A. Audois, S. Mohand-Said, C. Habas, J. A. Sahel, C. Zeitz and I. Audo (2021). "DEEP PHENOTYPING AND FURTHER INSIGHTS INTO ITM2B-RELATED RETINAL DYSTROPHY." Retina **41**(4): 872-881.
- Neuner, S. M., J. Tcw and A. M. Goate (2020). "Genetic architecture of Alzheimer's disease." Neurobiol Dis **143**: 104976.
- Newbern, J. and C. Birchmeier (2010). "Nrg1/ErbB signaling networks in Schwann cell development and myelination." Seminars in Cell & Developmental Biology **21**(9): 922-928.
- Nguyen, K. V. (2019). " β -Amyloid precursor protein (APP) and the human diseases." AIMS neuroscience **6**(4): 273.
- Nguyen, T. N., B. S. Padman and M. Lazarou (2016). "Deciphering the molecular signals of PINK1/Parkin mitophagy." Trends in cell biology **26**(10): 733-744.
- Nozawa, R. S., K. Nagao, H. T. Masuda, O. Iwasaki, T. Hirota, N. Nozaki, H. Kimura and C. Obuse (2010). "Human POGZ modulates dissociation of HP1 α from mitotic chromosome arms through Aurora B activation." Nat Cell Biol **12**(7): 719-727.
- Ohta, S., T. Yaguchi, H. Okuno, H. Chneiweiss, Y. Kawakami and H. Okano (2016). "CHD7 promotes proliferation of neural stem cells mediated by MIF." Mol Brain **9**(1): 96.

- Okada, H., W. Zhang, C. Peterhoff, J. C. Hwang, R. A. Nixon, S. H. Ryu and T. W. Kim (2010). "Proteomic identification of sorting nexin 6 as a negative regulator of BACE1-mediated APP processing." Faseb j **24**(8): 2783-2794.
- Ono, H., H. Sakoda, M. Fujishiro, M. Anai, A. Kushiya, Y. Fukushima, H. Katagiri, T. Ogihara, Y. Oka, H. Kamata, N. Horike, Y. Uchijima, H. Kurihara and T. Asano (2007). "Carboxy-terminal modulator protein induces Akt phosphorylation and activation, thereby enhancing antiapoptotic, glycogen synthetic, and glucose uptake pathways." Am J Physiol Cell Physiol **293**(5): C1576-1585.
- Oswald, F., P. Kloble, A. Ruland, D. Rosenkranz, B. Hinz, F. Butter, S. Ramljak, U. Zechner and H. Herlyn (2017). "The FOXP2-Driven Network in Developmental Disorders and Neurodegeneration." Front Cell Neurosci **11**: 212.
- Patel, R. K. and M. Jain (2012). "NGS QC Toolkit: a toolkit for quality control of next generation sequencing data." PLoS One **7**(2): e30619.
- Perche, O., F. Lesne, A. Patat, S. Raab, R. Twyman, R. H. Ring and S. Briault (2022). "Large-conductance calcium-activated potassium channel haploinsufficiency leads to sensory deficits in the visual system: a case report." J Med Case Rep **16**(1): 180.
- Periñán, M. T., K. Brodin, S. Bandres-Ciga, C. Blauwendraat, C. Klein, Z. Gan-Or, A. Singleton, P. Gomez-Garre, M. Swanberg, P. Mir and A. Noyce (2022). "Effect Modification between Genes and Environment and Parkinson's Disease Risk." Ann Neurol **92**(5): 715-724.
- Petrus, E. and H.-K. Lee (2014). "BACE1 is necessary for experience-dependent homeostatic synaptic plasticity in visual cortex." Neural Plasticity **2014**.
- Pevny, L. H. and S. K. Nicolis (2010). "Sox2 roles in neural stem cells." The international journal of biochemistry & cell biology **42**(3): 421-424.
- Planques, A., V. Oliveira Moreira, C. Dubreuil, A. Prochiantz and A. A. Di Nardo (2019). "OTX2 Signals from the Choroid Plexus to Regulate Adult Neurogenesis." eNeuro **6**(2).
- Qiu, Y., V. Krishnan, Z. Zeng, D. J. Gilbert, N. G. Copeland, L. Gibson, T. Yang-Feng, N. A. Jenkins, M. J. Tsai and S. Y. Tsai (1995). "Isolation, characterization, and chromosomal localization of mouse and human COUP-TF I and II genes." Genomics **29**(1): 240-246.
- Quinn, P. M., P. I. Moreira, A. F. Ambrósio and C. H. Alves (2020). "PINK1/PARKIN signalling in neurodegeneration and neuroinflammation." Acta neuropathologica communications **8**(1): 1-20.
- Rajadhyaksha, A. M., O. Elemento, E. G. Puffenberger, K. C. Schierberl, J. Z. Xiang, M. L. Putorti, J. Berciano, C. Poulin, B. Brais, M. Michaelides, R. G. Weleber and J. J. Higgins (2010). "Mutations in FLVCR1 cause posterior column ataxia and retinitis pigmentosa." Am J Hum Genet **87**(5): 643-654.

- Ran, X., W. J. Cai, X. F. Huang, Q. Liu, F. Lu, J. Qu, J. Wu and Z. B. Jin (2014). "RetinoGenetics': a comprehensive mutation database for genes related to inherited retinal degeneration." Database (Oxford) **2014**.
- Reitz, C. (2015). "Genetic diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease: challenges and opportunities." Expert Rev Mol Diagn **15**(3): 339-348.
- Rescher, U. and V. Gerke (2008). "S100A10/p11: family, friends and functions." Pflügers Archiv-European Journal of Physiology **455**(4): 575-582.
- Riazuddin, S. A., S. Vasanth, N. Katsanis and John D. Gottsch (2013). "Mutations in AGBL1 Cause Dominant Late-Onset Fuchs Corneal Dystrophy and Alter Protein-Protein Interaction with TCF4." The American Journal of Human Genetics **93**(4): 758-764.
- Rosen, N. E., C. Lord and F. R. Volkmar (2021). "The Diagnosis of Autism: From Kanner to DSM-III to DSM-5 and Beyond." J Autism Dev Disord.
- Rund, B. R. (2018). "The research evidence for schizophrenia as a neurodevelopmental disorder." Scandinavian journal of psychology **59**(1): 49-58.
- Rylaarsdam, L. and A. Guemez-Gamboa (2019). "Genetic Causes and Modifiers of Autism Spectrum Disorder." Front Cell Neurosci **13**: 385.
- Saarimäki-Vire, J., A. Alitalo and J. Partanen (2011). "Analysis of Cdh22 expression and function in the developing mouse brain." Developmental Dynamics **240**(8): 1989-2001.
- Sanders, A. R., H. H. Göring, J. Duan, E. I. Drigalenko, W. Moy, J. Freda, D. He, J. Shi, Mgs and P. V. Gejman (2013). "Transcriptome study of differential expression in schizophrenia." Human molecular genetics **22**(24): 5001-5014.
- Satoh, T., A. Ohba, Z. Liu, T. Inagaki and A. K. Satoh (2015). "dPob/EMC is essential for biosynthesis of rhodopsin and other multi-pass membrane proteins in Drosophila photoreceptors." Elife **4**.
- Scott, D. A. and E. H. Sherr (2019). "RERE-Related Disorders." GeneReviews®[Internet].
- Shen, T., Y. You, V. K. Gupta and S. L. Graham (2021). Aging, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its Val66Met polymorphism: a focus on neuropsychology, the visual system, and brain structures. Factors Affecting Neurological Aging, Elsevier: 17-25.
- Simeone, A., M. Di Salvio, L. G. Di Giovannantonio, D. Acampora, D. Omodei and C. Tomasetti (2011). "The role of otx2 in adult mesencephalic-diencephalic dopaminergic neurons." Mol Neurobiol **43**(2): 107-113.
- Steinman, G. (2020). "The putative etiology and prevention of autism." Prog Mol Biol Transl Sci **173**: 1-34.

Stessman, H. A. F., M. H. Willemsen, M. Fenckova, O. Penn, A. Hoischen, B. Xiong, T. Wang, K. Hoekzema, L. Vives, I. Vogel, H. G. Brunner, I. van der Burgt, C. W. Ockeloen, J. H. Schuurs-Hoeijmakers, J. S. Klein Wassink-Ruiter, C. Stumpel, S. J. C. Stevens, H. S. Vles, C. M. Marcelis, H. van Bokhoven, V. Cantagrel, L. Colleaux, M. Nicouleau, S. Lyonnet, R. A. Bernier, J. Gerdts, B. P. Coe, C. Romano, A. Alberti, L. Grillo, C. Scuderi, M. Nordenskjöld, M. Kvarnung, H. Guo, K. Xia, A. Piton, B. Gerard, D. Genevieve, B. Delobel, D. Lehalle, L. Perrin, F. Prieur, J. Thevenon, J. Gecz, M. Shaw, R. Pfundt, B. Keren, A. Jacquette, A. Schenck, E. E. Eichler and T. Kleefstra (2016). "Disruption of POGZ Is Associated with Intellectual Disability and Autism Spectrum Disorders." Am J Hum Genet **98**(3): 541-552.

Svenningsson, P. and P. Greengard (2007). "p11 (S100A10)—an inducible adaptor protein that modulates neuronal functions." Current opinion in pharmacology **7**(1): 27-32.

Szklarczyk, D., A. L. Gable, K. C. Nastou, D. Lyon, R. Kirsch, S. Pyysalo, N. T. Doncheva, M. Legeay, T. Fang, P. Bork, L. J. Jensen and C. von Mering (2021). "The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets." Nucleic Acids Res **49**(D1): D605-D612.

Tang, K., X. Xie, J. I. Park, M. Jamrich, S. Tsai and M. J. Tsai (2010). "COUP-TFs regulate eye development by controlling factors essential for optic vesicle morphogenesis." Development **137**(5): 725-734.

Taranova, O. V., S. T. Magness, B. M. Fagan, Y. Wu, N. Surzenko, S. R. Hutton and L. H. Pevny (2006). "SOX2 is a dose-dependent regulator of retinal neural progenitor competence." Genes & development **20**(9): 1187-1202.

Team, R. C. (2016). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, R Foundation for Statistical Computing: software program.

Tebbenkamp, A. T., A. J. Willsey, M. W. State and N. Sestan (2014). "The developmental transcriptome of the human brain: implications for neurodevelopmental disorders." Curr Opin Neurol **27**(2): 149-156.

Thibaut, F. (2022). Psychiatric disorders: neurodevelopmental disorders, neurodegenerative disorders, or both?, Taylor & Francis.

Tingaud-Sequeira, A., D. Raldúa, J. Lavie, G. Mathieu, M. Bordier, A. Knoll-Gellida, P. Rambeau, I. Couprie, M. André, E. Malm, C. Möller, S. Andreasson, N. D. Rendtorff, L. Tranebjærg, M. Koenig, D. Lacombe, C. Goizet and P. J. Babin (2017). "Functional validation of ABHD12 mutations in the neurodegenerative disease PHARC." Neurobiol Dis **98**: 36-51.

Toro, C., L. Shirvan and C. Tifft (1993). HEXA Disorders. GeneReviews(®). M. P. Adam, H. H. Ardinger, R. A. Pagon et al. Seattle (WA), University of Washington, Seattle

Copyright © 1993-2022, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.

- Uhlen, M., L. Fagerberg, B. M. Hallstrom, C. Lindskog, P. Oksvold, A. Mardinoglu, A. Sivertsson, C. Kampf, E. Sjostedt, A. Asplund, I. Olsson, K. Edlund, E. Lundberg, S. Navani, C. A. Szigartyo, J. Odeberg, D. Djureinovic, J. O. Takanen, S. Hober, T. Alm, P. H. Edqvist, H. Berling, H. Tegel, J. Mulder, J. Rockberg, P. Nilsson, J. M. Schwenk, M. Hamsten, K. von Feilitzen, M. Forsberg, L. Persson, F. Johansson, M. Zwahlen, G. von Heijne, J. Nielsen and F. Ponten (2015). "Proteomics. Tissue-based map of the human proteome." Science **347**(6220): 1260419.
- van de Leemput, J., J. L. Hess, S. J. Glatt and M. T. Tsuang (2016). "Genetics of Schizophrenia: Historical Insights and Prevailing Evidence." Adv Genet **96**: 99-141.
- Vilhais-Neto, G. C., M. Maruhashi, K. T. Smith, M. Vasseur-Cognet, A. S. Peterson, J. L. Workman and O. Pourquié (2010). "Rere controls retinoic acid signalling and somite bilateral symmetry." Nature **463**(7283): 953-957.
- Vöglein, J., K. Paumier, M. Jucker, O. Preische, E. McDade, J. Hassenstab, T. L. Benzinger, J. M. Noble, S. B. Berman, N. R. Graff-Radford, B. Ghetti, M. R. Farlow, J. Chhatwal, S. Salloway, C. Xiong, C. M. Karch, N. Cairns, H. Mori, P. R. Schofield, C. L. Masters, A. Goate, V. Buckles, N. Fox, M. Rossor, P. Chrem, R. Allegri, J. M. Ringman, G. Höglinger, H. Steiner, M. Dieterich, C. Haass, C. Laske, J. C. Morris, R. J. Bateman, A. Danek and J. Levin (2019). "Clinical, pathophysiological and genetic features of motor symptoms in autosomal dominant Alzheimer's disease." Brain **142**(5): 1429-1440.
- Vorstman, J. A. S., J. R. Parr, D. Moreno-De-Luca, R. J. L. Anney, J. I. Nurnberger, Jr. and J. F. Hallmayer (2017). "Autism genetics: opportunities and challenges for clinical translation." Nat Rev Genet **18**(6): 362-376.
- Waerner, T., P. Gardellin, K. Pfizenmaier, A. Weith and N. Kraut (2001). "Human RERE is localized to nuclear promyelocytic leukemia oncogenic domains and enhances apoptosis." Cell Growth Differ **12**(4): 201-210.
- Wakamatsu, Y. and M. Uchikawa (2021). "The many faces of Sox2 function in neural crest development." Development, growth & differentiation **63**(1): 93-99.
- Wald, A. (1945). "Sequential Tests of Statistical Hypotheses." The Annals of Mathematical Statistics **16**(2): 117-186, 170.
- Walkley, S. U., D. A. Siegel and K. Dobrenis (1995). "GM2 ganglioside and pyramidal neuron dendritogenesis." Neurochem Res **20**(11): 1287-1299.
- Wang, D., W. Huang, A. Ray, C. Ergorul, K. Rodgers, Y. Ben and C. L. Grosskreutz (2009). "Downregulation of Neuregulin 1 in Retinal Ganglion Cells in Experimental Glaucoma." Investigative Ophthalmology & Visual Science **50**(13): 2075-2075.
- Wang, L., H. Rajan, J. L. Pitman, M. McKeown and C. C. Tsai (2006). "Histone deacetylase-associating Atrophin proteins are nuclear receptor corepressors." Genes Dev **20**(5): 525-530.
- Wang, L. H., S. Y. Tsai, R. G. Cook, W. G. Beattie, M. J. Tsai and B. W. O'Malley (1989). "COUP transcription factor is a member of the steroid receptor superfamily." Nature **340**(6229): 163-166.

Wang, P., R. Mokhtari, E. Pedrosa, M. Kirschenbaum, C. Bayrak, D. Zheng and H. M. Lachman (2017). "CRISPR/Cas9-mediated heterozygous knockout of the autism gene CHD8 and characterization of its transcriptional networks in cerebral organoids derived from iPS cells." Mol Autism **8**: 11.

Warde-Farley, D., S. L. Donaldson, O. Comes, K. Zuberi, R. Badrawi, P. Chao, M. Franz, C. Grouios, F. Kazi, C. T. Lopes, A. Maitland, S. Mostafavi, J. Montojo, Q. Shao, G. Wright, G. D. Bader and Q. Morris (2010). "The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function." Nucleic Acids Res **38**(Web Server issue): W214-220.

Weaving, L., C. Ellaway, J. Gecz and J. Christodoulou (2005). "Rett syndrome: clinical review and genetic update." Journal of medical genetics **42**(1): 1-7.

Wedel, M., F. Fröb, O. Elsesser, M. T. Wittmann, D. C. Lie, A. Reis and M. Wegner (2020). "Transcription factor Tcf4 is the preferred heterodimerization partner for Olig2 in oligodendrocytes and required for differentiation." Nucleic Acids Res **48**(9): 4839-4857.

Wohlschlegel, J., M. Argentini, C. Michiels, C. Letellier, V. Forster, C. Condroyer, Z. He, G. Thuret, C. Zeitz, T. Léger and I. Audo (2021). "First identification of ITM2B interactome in the human retina." Sci Rep **11**(1): 17210.

Wolf, J., S. Boneva, A. Schlecht, T. Lapp, C. Auw-Haedrich, W. Lagrèze, H. Agostini, T. Reinhard, G. Schlunck and C. Lange (2022). "The Human Eye Transcriptome Atlas: A searchable comparative transcriptome database for healthy and diseased human eye tissue." Genomics **114**(2): 110286.

Wong, Y. L., P. Hysi, G. Cheung, M. Tedja, Q. V. Hoang, S. W. J. Thompson, K. N. Whisenhunt, V. Verhoeven, W. Zhao, M. Hess, C. W. Wong, A. Kifley, Y. Hosoda, A. E. G. Haarmann, S. Hopf, P. Laspas, S. Sensaki, X. Sim, M. Miyake, A. Tsujikawa, E. Lamoureux, K. Ohno-Matsui, S. Nickels, P. Mitchell, T. Y. Wong, J. J. Wang, C. J. Hammond, V. A. Barathi, C. Y. Cheng, K. Yamashiro, T. L. Young, C. C. W. Klaver and S. M. Saw (2019). "Genetic variants linked to myopic macular degeneration in persons with high myopia: CREAM Consortium." PLoS One **14**(8): e0220143.

Wu, H., H. Li, T. Bai, L. Han, J. Ou, G. Xun, Y. Zhang, Y. Wang, G. Duan, N. Zhao, B. Chen, X. Du, M. Yao, X. Zou, J. Zhao, Z. Hu, E. E. Eichler, H. Guo and K. Xia (2020). "Phenotype-to-genotype approach reveals head-circumference-associated genes in an autism spectrum disorder cohort." Clin Genet **97**(2): 338-346.

Yao, W., T. Yin, M. D. Tambini and L. D'Adamio (2019). "The Familial dementia gene ITM2b/BRI2 facilitates glutamate transmission via both presynaptic and postsynaptic mechanisms." Sci Rep **9**(1): 4862.

Zentner, G. E., E. A. Hurd, M. P. Schnetz, L. Handoko, C. Wang, Z. Wang, C. Wei, P. J. Tesar, M. Hatzoglou and D. M. Martin (2010). "CHD7 functions in the nucleolus as a positive regulator of ribosomal RNA biogenesis." Human molecular genetics **19**(18): 3491-3501.

Zhang, J., H. Chen, R. Kornreich and C. Yu (2019). "Prenatal Diagnosis of Tay-Sachs Disease." Methods Mol Biol **1885**: 233-250.

Zhou, W., H. Qing, Y. Tong and W. Song (2004). "BACE1 gene expression and protein degradation." Annals of the New York Academy of Sciences **1035**(1): 49-67.

Zhou, Z.-d., C. H.-s. Chan, Q.-h. Ma, X.-h. Xu, Z.-c. Xiao and E.-K. Tan (2011). "The roles of amyloid precursor protein (APP) in neurogenesis: Implications to pathogenesis and therapy of Alzheimer disease." Cell adhesion & migration **5**(4): 280-292.