

A patogênese genética e molecular da síndrome de Angelman

The genetic and molecular pathogenesis of the Angelman syndrome

Angelica Francesca Maris¹, Alexis Trott²

RESUMO

Objetivo: Fornecer uma revisão atualizada em língua portuguesa sobre a síndrome de Angelman, com ênfase nos mecanismos genéticos e moleculares dessa patologia, uma causa de deficiência mental severa que em alguns casos pode apresentar recorrência familiar. **Método:** Foi feita uma revisão bibliográfica utilizando a base de dados do PubMed, tendo como critérios de busca o termo "Angelman syndrome" isoladamente e combinado com "UBE3A", "clinical", "genetics" e "molecular" no título dos artigos. Dentre esses, foram selecionados artigos de revisão e artigos originais sobre a fisiopatologia da síndrome, com ênfase nos últimos dez anos. **Resultados:** Utilizando-se "Angelman syndrome" na busca, apareceram cerca de 1.100 artigos, incluindo 240 de revisão. Nos últimos dez anos são mais de 600 artigos, aproximadamente 120 de revisão, 50% dos quais publicados nos últimos cinco anos. Na base de dados SciELO, são apenas nove artigos sobre a síndrome, dos quais três em português e nenhum artigo atual de revisão. **Conclusão:** Após ter sido uma das principais causas que atraíram atenção ao estudo e ao entendimento dos mecanismos do *imprinting* genômico, a síndrome de Angelman está agora se revelando como uma patologia das sinapses. Apesar de o entendimento da fisiopatologia molecular da síndrome de Angelman ainda estar longe de ser compreendida, seu estudo está fornecendo uma visão extraordinária sobre os mecanismos que regem a plasticidade sináptica, novamente atraindo a atenção de pesquisadores que trabalham na fronteira do conhecimento.

Palavras-chave

Síndrome de Angelman, UBE3A, retardo mental, deficiência mental, *imprinting* genômico, disfunção sináptica.

ABSTRACT

Objective: The aim of this work is to provide an actualized review in Portuguese language of the main clinical and behavioral features and in particular of the genetic and molecular aspects of Angelman syndrome, a cause of severe intellectual disability, which in rare cases can be recurrent in the family. **Method:** This paper is a literature review that used as a source of research, scientific papers with the terms "Angelman syndrome" or combined with UBE3A, clinical, genetics, and molecular in their title, retrieved through the PubMed database. Among those, mainly review articles and original papers about cellular and molecular aspects of the pathology were selected, prioritarily, those published in the last ten years. **Results:** The term Angelman syndrome retrieved about 1100 papers, including close to 240 review articles. During the last ten years there were over 600 publica-

Recebido em
29/6/2011
Aprovado em
18/10/2011

1 Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Laboratório de Neurogenética do Desenvolvimento.

2 Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC), Área de Ciências Biológicas e da Saúde.

Endereço para correspondência: Angelica Francesca Maris
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética
Trindade – 88040-900 – Florianópolis, SC, Brasil
Tel.: (+55 48) 3721-9887
E-mail: afmaris@gmail.com

Keywords

Angelman syndrome, UBE3A, mental retardation, intellectual disability, genetic imprinting, synaptic dysfunction.

tions, with approximately 120 reviews, 50% of whom published in the last five years. The SciELO database was also searched and nine publications about the syndrome were found, three of which in Portuguese and no recent review article. **Conclusion:** After being one of the main causes to attract attention and stimulate studies to unravel the mechanisms of the genetic imprinting, Angelman syndrome is again in the spotlight because it is revealing itself as pathology of synaptic dysfunction. Albeit still long from understood, the molecular and cellular alterations in Angelman syndrome are allowing an extraordinary insight into the mechanisms which control synaptic plasticity.

INTRODUÇÃO

Descrita pela primeira vez em 1965, pelo pediatra inglês Harry Angelman, a síndrome que atualmente leva seu sobrenome se caracteriza por retardo mental (RM) severo, acompanhado por incapacidade de falar palavras ou frases, andar atáxico desequilibrado e convulsões e pelo fato de seus portadores rirem excessivamente sempre que há um estímulo de qualquer natureza. Essas risadas inapropriadas, que ocorrem independentemente de um fato alegre, quase como um reflexo, além do andar vacilante, levou à denominação de "*happy puppet syndrome*" (síndrome da marionete feliz) para essa condição. Posteriormente, considerada pejorativa, foi renomeada de síndrome de Angelman (AS)¹. As estimativas da incidência de AS variam de 1/10.000 a 1/40.000 nascimentos²⁻⁴.

Em 1997, a causa da síndrome de Angelman foi relacionada à perda da função de UBE3A. O gene *UBE3A*, localizado no cromossomo 15, apresenta uma característica incomum, pois a transcrição desse gene não ocorre do alelo herdado do pai nos neurônios de pessoas normais, um mecanismo denominado de impressão genômica paterna (*imprinting* paterno), pois todas as pessoas dependem do alelo herdado da mãe para expressar a proteína UBE3A nessas células. Em todos os outros tecidos, a expressão de UBE3A ocorre de forma bialélica (dos alelos herdados de ambos os pais). A síndrome de Angelman se deve a alterações genéticas que impedem a produção de UBE3A do alelo materno, pois então não haverá a função dessa proteína nos neurônios. O produto do gene *UBE3A* codifica uma ubiquitina ligase, que é responsável por direcionar certas proteínas para degradação. Evidências recentes indicam que desbalanços na função de UBE3A comprometem a função e a plasticidade neuronal; quando não há atividade de UBE3A nos neurônios, desenvolve-se a síndrome de Angelman; já sua expressão aumentada está relacionada com sintomas de autismo^{5,6}.

Neste estudo, o objetivo foi revisar os principais mecanismos genéticos e moleculares envolvidos na patogênese e na fisiopatologia da síndrome de Angelman, delineando brevemente o impacto da síndrome no comportamento e desenvolvimento dos afetados.

Aspectos clínicos e comportamentais da síndrome de Angelman

As crianças com a síndrome de Angelman geralmente nascem com aparência e desenvolvimento inicial indistinguível

de outros bebês saudáveis. A gestação costuma ser normal, os bebês nascem com tamanho e peso normais e, em geral, não há nenhum indício que possa levar os pais ou os médicos pediatras a suspeitarem de qualquer anormalidade²⁻⁴. Somente entre 6 meses e 1 ano é que começa a aparecer o retardo em seu desenvolvimento. Talvez um dos primeiros indícios seja a facilidade em sorrir e rir. Já muito cedo essas crianças sorriem mais que o usual, um fato inexplicável até o momento. Sinais de hipotonia podem se manifestar com dificuldades para sucção e deglutição, dificultando a alimentação. Além do retardo em todos os marcos do desenvolvimento, hiperatividade, risadas explosivas, ausência de linguagem verbal (restrita à sonorização de três a cinco sílabas e raramente quatro a cinco palavras) e o aparecimento de crises convulsivas, que ocorrem em 80% dos casos, geralmente antes dos 4 anos de idade, podem levar o médico a diagnosticar a AS^{1,2,7-9}. Porém, a idade média de diagnóstico gira em torno dos 6 anos de idade e muitos pais ficam anos à procura de respostas². O comportamento de alegria contagiante das crianças afetadas, sua disposição social e a facilidade de satisfazer emocionalmente a criança com AS também podem levar muitos pais a ignorarem por bastante tempo a condição¹⁰. Um dos sinais diagnósticos típicos é um padrão de eletroencefalograma (EEG) característico, com ondas trifásicas amplas e picos lentos².

O desenvolvimento motor dos portadores da AS mostra déficits desde os 6 ou 7 meses de idade, com atraso nos marcos mais característicos. Raramente sentam sem apoio antes do primeiro ano de vida e geralmente só conseguem andar sozinhos em torno dos 4 anos de idade ou mais, e cerca de 10% não desenvolvem ambulação¹⁰. O seu andar é característico, desajeitado, como que desequilibrado, com frequência sendo acompanhado por tremores, com os braços posicionados com cotovelos flexionados, os antebraços erguidos e as mãos flexionadas para baixo. Todos apresentam dificuldade em coordenar a musculatura motora voluntária e possuem hipotonia do tronco e ao mesmo tempo contratividade de membros. A hiperatividade e a hiperexcitabilidade estão em 100% dos casos, sendo que reagem aos menores estímulos físicos e mentais com explosões descontroladas de risos, vocalizações (gritos de excitação) e com agitação (abano) das mãos. Apesar de esse comportamento ser descrito como um mero reflexo motor, tem-se a impressão de que os afetados tendem a se sentir felizes e satisfeitos, exceto quando não estão conseguindo comunicar um desejo.

Por causa de sua hiperatividade, as crianças pequenas com AS sempre estão manuseando algum brinquedo e o colocando na boca, assim como os próprios dedos. Mais tarde, é comum empurrarem, puxarem cabelos, beliscarem e morderem outras crianças. Mesmo sem nada na boca, são frequentes os movimentos de mastigação, e sua dificuldade com a deglutição pode levá-los a apresentar sialorreia (escape oral de saliva) em graus variados. Além das dificuldades com alimentação, hiperatividade e hiperexcitabilidade, os distúrbios do sono também são muito comuns em pacientes com a síndrome, tornando-se um transtorno para toda a família e por isso é frequente que sejam administradas medicações para dormir⁹. Principalmente na infância, há grande dificuldade para pegar no sono e muita facilidade para acordar e uma aparente necessidade de somente cinco a seis horas de sono por noite, sem que isso perturbe a sua disposição e atenção durante o período de vigília^{11,12}.

Os indivíduos com AS atingem uma idade mental e funcional máxima considerada equivalente a 12 e 30 meses de idade^{1,10,13}. Sua capacidade de compreensão é muito maior que sua capacidade de verbalização. Parece haver influência do tipo de mutação nessa condição, e os mais comprometidos são aqueles com deleções mais extensas, que se caracterizam pela ausência total de linguagem, seguidos pelos que têm mutação no gene *UBE3A*, que podem chegar a falar duas a cinco sílabas e, eventualmente, três a quatro palavras. Os menos afetados são os portadores de dissomia uniparental, cujo vocabulário pode chegar a mais de dez palavras, porém nunca há aquisição de linguagem verbal com mais de algumas palavras, exceto para casos de mosaicismos somáticos. A ausência de linguagem verbal associada ao comportamento de risadas reativas e descontroladas e a ausência de regressão nas habilidades adquiridas tendem a ser marcos inconfundíveis da síndrome, servindo quase sempre para a suspeita inicial de diagnóstico.

Com o passar dos anos, a hiperatividade característica diminui e aumenta a capacidade prestar atenção e de seguir ordens simples. A maioria desenvolve comunicação suficiente para demonstrar sua vontade e fazer escolhas, como o que quer comer ou vestir. Portadores da AS podem aprender a se comunicar mais com gestos que com a linguagem verbal e há relato de que, mesmo com esforços consistentes para intervir no desenvolvimento da linguagem verbal, o sucesso é praticamente nulo. Por isso, a intervenção no quesito comunicação deveria se concentrar no desenvolvimento da capacidade de comunicação não verbal, ensinando-se comunicação com utilização de imagens, fotos e gestos, uma vez que a frustração com a incapacidade de comunicar seus desejos ou expressar sua contrariedade são as principais causas que originam comportamentos agressivos em portadores de AS^{14,15}.

Os indivíduos com AS necessitam de suporte intenso por toda a vida e de supervisão durante as 24 horas do dia.

Apesar de desenvolverem certa independência para realizar algumas atividades, não têm noção de perigo e tendem a sempre necessitar de ajuda para realizar as tarefas mais básicas, como tomar banho, escovar os dentes, comer e vestir-se. Muitos aprendem a se despir e a manusear talheres simples, especialmente colheres. Um terço a 50% aprendem a utilizar o banheiro durante o dia, porém é comum molharem a cama à noite^{2,11}. Podem exibir hipersensibilidade ao calor e uma das características marcantes em portadores da AS é sua fascinação por água, não sendo incomum jogarem-se em uma piscina com roupa. Gostam de ver fotos, escutar música alta – inclusive para dançar –, assistir à TV, assim como manusear plásticos brilhantes ou papéis metalizados, como as embalagens de salgadinhos, balões e outros brinquedos que chamam atenção e não exigem coordenação motora fina.

A entrada na puberdade ocorre no período normal, assim como o desenvolvimento sexual¹⁶. Indivíduos com AS são férteis e há ao menos um caso relatado de uma mulher com AS transmitindo a mutação para uma filha¹⁷. Sua expectativa de vida sob cuidados é considerada normal, porém, após os 50 anos, podem apresentar distonia ou parkinsonismo¹⁰.

Características físicas típicas dos portadores da síndrome de Angelman

Apesar de indistinguíveis de bebês normais ao nascimento, 80% dos portadores da AS apresentam atraso no crescimento cefálico, que resulta em microcefalia aos 2 anos de idade e, conforme crescem, muitos se caracterizam por prognatismo, com queixo proeminente, boca larga, com o lábio superior fino, a língua protusa e os dentes espaçados. A cabeça mais achatada no sentido anteroposterior também é achado comum. Muitos adultos desenvolvem obesidade devido a uma ingesta calórica grande (adoram comer) e uma relativa relutância em caminhar ou participar de atividades esportivas, mas também surge como efeito colateral de anticonvulsivantes^{14,18}.

Entre os portadores de deleções que incluem o gene *P*, é comum a hipopigmentação da pele, dos olhos e da retina e uma alta proporção de estrabismo. O gene *P*, necessário para pigmentação normal, fica próximo ao gene *UBE3A* e codifica um transportador de membrana para pequenas moléculas, provavelmente envolvido no transporte de tirosina, precursora de melanina, nos melanócitos¹⁹.

Síndrome de Angelman e autismo

Alguns autores consideram que uma parte dos afetados por AS apresenta autismo, já que no autismo como na AS há ausência de linguagem e atraso no desenvolvimento social, satisfazendo alguns dos critérios mais relevantes. Porém, as controvérsias a esse respeito são muitas. Ao contrário dos autistas, é notória a disposição para interação

social nos portadores de AS, mesmo que não desenvolvam muitas habilidades sociais²⁰. Na realidade, são os casos mais graves, com maior comprometimento cognitivo, que se enquadrariam melhor no diagnóstico autista, porém há autores que alertam que para qualquer condição que resulta em uma deficiência intelectual profunda ou idade mental abaixo de 12 meses de idade é difícil a diferenciação do autismo com base nos critérios utilizados^{21,22}. Vale mencionar que alterações na expressão do gene *UBE3A* têm apresentado uma relação com o autismo, mas o mecanismo seria justamente oposto ao que causa a AS, uma vez que cerca de 1% dos indivíduos com autismo apresenta duplicação da região do cromossomo 15 que contém o gene *UBE3A*. Portanto, a atividade aumentada (e não deficiente) de *UBE3A* poderia ser responsável pelos sintomas de autismo nessas pessoas^{5,6}.

O gene *UBE3A*

Esse gene codifica a E6-AP ubiquitina ligase humana, um membro de uma classe de ubiquitina-proteína ligases funcionalmente relacionadas às E3 ubiquitina ligases definido por um domínio carboxiterminal denominado de HECT (*Homologous to the E6-AP CarboxyTerminus*)²³. As proteína-ligases E3 participam de um sistema de degradação proteica não lisossomal, por meio da via ubiquitina-proteossoma, que é responsável pela degradação da maioria das proteínas e de vida curta, cuja síntese e eliminação são reguladas, assim como daquelas envolvidas em processos de sinalização celular, progressão do ciclo celular e reparação de DNA, além de também degradar proteínas anormais^{24,25}. O sistema de ubiquitinação envolve a ação coordenada de três enzimas: enzimas ativadoras de ubiquitina (E1), enzimas conjugadoras de ubiquitina (E2) e (E3) proteínas ligases. As enzimas E3 parecem ser críticas para definir que substrato será ubiquitinado, e aquelas com domínio HECT formam intermediários com os substratos para que estes possam receber a ubiquitina da proteína E2^{23,26,27}.

Além de seu papel como ubiquitina ligase, cuja função depende do domínio HECT e de um domínio de transativação localizados na porção C-terminal da proteína, o produto do gene *UBE3A* também funciona como coativador de transcrição pela família de receptores nucleares de hormônios. A atividade de coativador reside em um domínio localizado na porção terminal N-terminal de E6-AP, que, na maioria dos pacientes com AS por mutação em *UBE3A*, se encontra intacta, por isso não é considerada relevante para a patogênese da condição²⁸.

As alterações gênicas que causam a síndrome de Angelman

A grande maioria dos casos da síndrome de Angelman é causada por quatro mecanismos genéticos distintos, defini-

dos como classes de mutação I a IV, todos resultando em uma ausência de expressão do gene *UBE3A* materno, localizado na região 15q13. Em uma quinta classe – classe V –, são incluídos aqueles casos impossíveis de serem enquadrados nas classes anteriores².

A classe de mutação I representa 70%-75% dos casos de AS e envolve uma deleção na região 15q11-13 cujo tamanho varia, mas a maioria é de 4 Mb e ocorre em pontos de quebra típicos, provavelmente por *crossing-over* desigual devido à presença de sequências repetitivas nessa região. Essas deleções costumam representar mutações novas, geradas na gametogênese da mãe, e resultam na ausência da expressão de *UBE3A* do alelo materno. Quando a mesma deleção é herdada do pai, o indivíduo não desenvolve a síndrome de Angelman, mas a síndrome de Prader-Willi (PW) que não está relacionada ao gene *UBE3A* e seus portadores apresentam problemas mais leves.

As mutações de classe II representam 2%-3% dos afetados e são devidas à dissomia uniparental do cromossomo paterno. Os mecanismos pelos quais essa dissomia ocorre são discutidos, havendo evidências de não disjunção meiótica, porém a maioria parece se dever a eventos pós-zigóticos e tendem a envolver o cromossomo inteiro. Nesse caso, ambos os cromossomos 15 apresentam padrão de *imprinting* paterno e o gene *UBE3A* não é expresso.

A terceira classe de mutações, que representa 3%-5% dos casos de Angelman, é causada por alterações no padrão de metilação do cromossomo 15 materno e se deve a alterações no centro de *imprinting* envolvendo AC-SRO (Figura 1), de forma que resulta em um padrão de *imprinting* genômico paterno para ambos os cromossomos 15 herdados.

A classe IV se deve a mutações que envolvem somente o gene *UBE3A*, representando 5% a 10% dos casos identificados. A grande maioria das mutações identificadas se deve a pequenas deleções ou inserções que podem causar um deslocamento do quadro de leitura e geralmente levam a códons de terminação precoces, truncando a porção carboxiterminal da proteína codificada, e algumas são mutações de sentido trocado, que alteram apenas um ou dois aminoácidos da proteína codificada.

Estrutura gênica de *UBE3A*

O gene *UBE3A* apresenta 16 éxons que se estendem por aproximadamente 120 kb e é transcrito no sentido do centrômero para o telômero no braço longo do cromossomo 15. Esse gene codifica para um número ainda não totalmente definido de isoformas, e ao menos cinco mRNAs distintos foram descritos, resultado de um processamento alternativo complexo da porção 5' do transcrito primário²⁹. Esse processamento pode levar à utilização de inícios de tradução alternativos, localizados nos éxons 4, 5 e 7-8 (Figura 2).

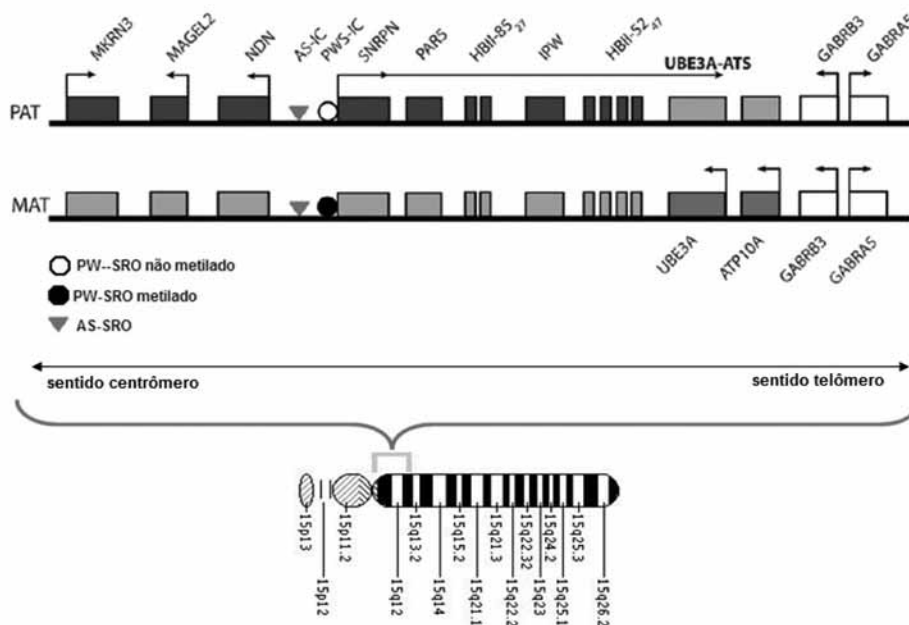


Figura 1. Região cromossômica em 15q11-13. PAT: representando alelos expressos do cromossomo paterno (caixas escuras, no cromossomo do alto), e em cinza-claro os alelos com *imprinting* paterno (*UBE3A* e *ATP10A*). MAT: representando alelos expressos do cromossomo materno com caixas escuras (*UBE3A* e *ATP10A*) e em cinza-claro os alelos com *imprinting* materno. Seta representando a orientação da região cromossômica do trecho representado. Fonte: Adaptado de Lalande e Calciano, 2007³⁴.



Figura 2. Organização gênica de *UBE3A*, representando éxons 1-16, em escala proporcional, e os locais alternativos de iniciação de tradução (códon ATG), nos éxons 4, 5 e 7-8. Fonte: Adaptada de Lossie *et al.*, 2001¹⁸.

Impressão genômica (*imprinting*) e o gene *UBE3A*

A impressão genômica ou o *imprinting* genômico (termo que na prática é mais utilizado e também será utilizado neste texto) marca a origem parental de cromossomos, de regiões cromossômicas ou de genes, resultando em padrões de expressão diferencial de até 100 genes identificados até o momento, sem alterar a sequência de bases no DNA. Mecanismos epigenéticos como metilação de DNA e modificações em histonas são os responsáveis por estabelecer o *imprinting* genômico, que inicialmente se pensava ocorrer somente em mamíferos placentários. Os genes que sofrem *imprinting* tendem a ter o alelo “imprimado” silenciado, portanto apresentam expressão monoalélica; aqueles com *imprinting* paterno somente se expressam do alelo materno e os com *imprinting* materno têm sua expressão apenas do alelo paterno³⁰. Esse processo pode ser mais comum do que se imagina e já foi verificado em várias espécies de insetos e em plantas³¹. Talvez a principal razão para a evolução do *imprinting* genômico seja para servir como mais uma barreira à reprodução assexuada ou partenogênica³². Curiosamente,

vários dos genes regulados por esse mecanismo no início do desenvolvimento fetal estão envolvidos na alocação de recursos da mãe para o feto, e há uma teoria muito aceita de que o *imprinting* evoluiu como uma “disputa” de genomas paternos de mamíferos poligâmicos para alocar o máximo de recursos da mãe para seu descendente e a defesa da mãe para conservar recursos suficientes para garantir a sua sobrevivência e de outros filhos³⁰.

Acredita-se que a maioria dos genes exibe o padrão de *imprinting* genômico em todas as células do organismo ao longo de sua existência. Porém, mais recentemente se verificou que o *imprinting* pode reger a expressão diferencial de alelos, dependendo de sua origem paterna ou materna de forma não somente tecido-específica, mas também de forma diferencial em vários estágios do desenvolvimento embrionário³⁰.

A região 15q11-13, deletada no cromossomo materno da maioria dos pacientes com AS, contém uma série de genes sujeitos à impressão genômica materna ou paterna. Quando essa região está ausente (deletada) no cromossomo paterno, origina a síndrome de Prader-Willi, caracterizada por hipoto-

nia neonatal, atraso no crescimento, hiperfagia desde a infância que resulta em obesidade, baixa estatura, mãos e pés pequenos, hipogonadismo, problemas de comportamento e RM de leve a moderado³³. A ausência da mesma região no cromossomo materno causa a síndrome de Angelman, cujas consequências no desenvolvimento mental e funcional são bem mais graves. O desenvolvimento de PW depende da ausência da expressão de vários genes da região no alelo paterno, enquanto para AS a ausência específica da expressão do gene *UBE3A* do alelo materno causa a condição.

A regulação dessa região do cromossomo 15 parece ser coordenada por um centro de impressão genômica (PW/AS-IC) com dois elementos funcionais, denominados PW-SRO e AS-SRO (SRO está para *shortest region of overlap*: região de mínima sobreposição entre todas as deleções que causam a condição por mecanismos que afetam o padrão de impressão genômica)^{34,35}.

A PW-SRO é uma região de 4,1 kb, que contém o promotor e o primeiro éxon do gene *SNRP*. Um cromossomo 15 sem a PW-SRO se apresenta com o padrão de expressão de cromossomo de origem materna independentemente de ter sido transmitido pelo pai ou pela mãe, não expressando os vários genes do cromossomo que sofrem impressão genômica materna. Normalmente, a PW-SRO sofre metilação pós-zigótica (dependente de AS-SRO) no cromossomo de origem materna, permitindo a metilação secundária dos genes de impressão genômica materna da região 15q11-13, enquanto no cromossomo paterno PW-SRO não é metilado, conseguindo evitar a metilação dos alelos paternos daqueles genes.

O AS-SRO representa uma região de 880 pb, distante 35 kb do éxon 1 de *SNRPN*, em direção ao centrômero. Essa região contém éxons u5 e u6 localizados antes da origem de transcrição usual de *SNRPN*, que estão presentes em uma proporção muito pequena de transcritos alternativos de *SNRPN*. A AS-SRO é necessária para estabelecer o padrão de expressão materno (essencial para expressão de *UBE3A*) de seu cromossomo somente quando a PW-SRO está funcional. Em caso de deleção ou metilação de PW-SRO, a função de AS-SRO é dispensável (Figura 1)^{34,35}.

O mecanismo de impressão genômica secundária de *UBE3A* difere funcionalmente da maioria dos genes da região por somente ser estabelecida em neurônios do cérebro e não apresentar alterações epigenéticas em seu DNA ou histonas que diferenciem sua origem parental. Foi reportado que o silenciamento da cópia paterna de *Ube3a* (camundongo) se deve a um transcrito de sentido contrário (*antisense*) ao gene *Ube3a*, expresso somente em neurônios cerebrais exclusivamente do cromossomo de origem paterna³⁶. Porém, dados mais recentes contradizem esse fato, e o exato mecanismo de silenciamento do gene *Ube3a* ainda não está totalmente esclarecido^{34,37}.

Os alvos de UBE3A e efeitos da falta de expressão de UBE3A nas células

Alguns dos alvos de ubiquitinação por *UBE3A* são conhecidos, como o supressor de tumor p53^{38,39}, porém não parece ser esse o responsável pela síndrome. Apesar de, até pouco tempo atrás, nenhum alvo direto de ubiquitinação identificado esclarecer o fenótipo apresentado por afetados com AS, estudos em camundongo revelaram que a deficiência de *UBE3A* resulta em um aumento da fosforilação inibitória da proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina tipo 2 (CaMKII) e diminui sua concentração no terminal pós-sináptico⁴⁰. Isso pode indicar que a proteína quinase responsável pela fosforilação inibitória da CaMKII seja alvo de degradação regulada por *UBE3A*, que não ocorreria nos camundongos mutantes. Conhecida por seus efeitos na modulação da plasticidade neuronal, aprendizado e memória, a CaMKII também é essencial para o aprendizado motor cerebelar e a plasticidade de células de Purkinje⁴¹. Sua ativação provoca crescimento de filopódia e formação de espinhas dendríticas e sua inibição resulta na perda delas. Camundongos duplo-mutantes para AS e para uma mutação em CaMKII que impede a sua fosforilação inibitória demonstraram uma diminuição de 60% na incidência de crises convulsivas em relação a camundongos somente AS e uma reversão praticamente total para os fenótipos cognitivos, motores dos animais, assim como para os déficits severos no estímulo de potenciação de longa duração (LTP) verificada em hipocampo de camundongos AS. Isso sugere que a proteína quinase que provoca a fosforilação inibitória em CaMKII ou alguma proteína necessária para a via de fosforilação inibitória seja substrato de degradação por meio de *UBE3A* sempre que há a necessidade de ativar CaMKII. Os duplo-mutantes (AS e CaMKII mutada), que apresentam a atividade de degradação de proteínas regulada por *UBE3A* disfuncional, porém possuem uma CaMKII mutada de forma que não possa ocorrer a inibição por fosforilação, também não apresentam o aumento médio em 20% no peso visto em camundongos que somente têm a mutação AS⁴². Até que ponto esses resultados podem ser extrapolados para seres humanos não está claro, porém, fornecem um forte indicativo de um papel importante da CaMKII na fisiopatologia da síndrome de Angelman.

Em 2010, finalmente alguns substratos de *UBE3A* que podem explicar os déficits cognitivos na AS foram identificados. Pesquisadores do grupo de Michael Greenberg (*Harvard Medical School*) descobriram que *UBE3A* regula o desenvolvimento de sinapses excitatórias por meio do controle da degradação de ARC, uma proteína sináptica que promove a interiorização de receptores de glutamato do subtipo AMPA. Portanto, se não houver *UBE3A* nos neurônios, haverá mais proteína ARC, o que resulta em um aumento na interiorização (portanto, em uma diminuição no número) de receptores AMPA nas sinapses excitatórias. Desse modo, a desregulação

da expressão dos receptores AMPA nas sinapses, importante para definir se uma sinapse será potenciada ou deprimida, pode ser uma das principais causas para a disfunção cognitiva que ocorre na síndrome de Angelman^{43,44}. Outra proteína cuja degradação é regulada por UBE3A, a Ephexin-5 (Efexina-5), foi descoberta pelo mesmo grupo⁴⁵. A Efexina-5 atua como uma proteína ativadora de RhoA, que é uma pequena proteína sinalizadora da família das proteínas G, que em seu estado ativo limita a formação de novas sinapses por antagonizar com a ação de Rac, outra proteína G sinalizadora, cuja função, porém, é estimular o desenvolvimento de espículas sinápticas. Após estímulo adequado, a Efexina-5 é fosforilada, ubiquitinada (marcada para degradação) via UBE3A e degradada, liberando, assim, Rac para agir no desenvolvimento sináptico. Na ausência da ação de UBE3A, a degradação da Efexina não ocorre de forma adequada, prejudicando a plasticidade sináptica.

Expressão e função do gene *UBE3A* na estrutura cerebral e neuronal

Os primeiros estudos de expressão do gene *UBE3A* verificaram expressão bialélica (do alelo materno e paterno) em linfócitos e fibroblastos humanos em cultura⁴⁶, o que apresentou um paradoxo para os pesquisadores, uma vez que somente a ausência de um gene *UBE3A* funcional da cópia materna, mas não do alelo paterno, causava a síndrome. Até então existia a ideia generalizada de que o padrão de *imprinting* era estabelecido na gametogênese e que esse padrão seria expresso em todas as células do organismo⁴⁷.

Estudos com embriões humanos em estágio de pré-implantação (4 a 8 céls) constatam que o gene *UBE3A* já é expresso nessa fase, e provavelmente por ambos os alelos⁴⁸. Análise direta em cérebros de fetos humanos e de afetados por AS com a deleção característica no cromossomo materno⁴⁹ demonstrara que o gene *UBE3A* sofre *imprinting* paterno específico no cérebro, e não em outros tecidos. Para analisar esse fenômeno mais em detalhe, os pesquisadores se valeram de modelos animais, mais especificamente de camundongos. Em 1997, um grupo de pesquisadores demonstrou um modelo de AS em camundongo devido à dissomia uniparental do cromossomo paterno que porta o gene *Ube3a*. Como as duas cópias de *Ube3a* neste caso sofrem *imprinting* paterno, não ocorre a expressão do alelo materno⁵⁰. Isso tornou viável utilizar o camundongo como modelo para examinar a expressão de *Ube3a* em subgrupos específicos de células cerebrais e também durante o desenvolvimento embrionário. Em camundongos normais, ao contrário do relatado para embriões humanos, não foi detectada a expressão de *Ube3a* bem no início da fase embrionária até os 7,5 dias, somente a partir de 8,5 dias foi detectada a expressão no neuroepitélio e em vários tecidos mesenquimais, incluindo os arcos branquiais, que foi sendo vista na maioria dos tecidos analisados no decorrer do desenvolvimento do embrião⁵⁰. Nessas

fases, os autores não estabeleceram o padrão de expressão de *Ube3a* em camundongos com dissomia paterna para comparação, mas o fizeram em cérebros de camundongos adultos de 7-9 meses. Nestes, foram encontradas diferenças de expressão para grupos celulares específicos, mas nos mutantes não foi detectada expressão de *Ube3a* em neurônios do hipocampo e células Purkinje e uma expressão diminuída no córtex cerebral. No restante das regiões cerebrais e outros tecidos, não foram detectadas diferenças na expressão entre camundongos normais e mutantes, levando a concluir que nestes o gene *Ube3a* é expresso de forma bialélica. Os autores não detectaram diferenças histopatológicas entre as estruturas de animais com e sem a expressão do alelo materno. Atualmente se acredita que a expressão de *Ube3a* nos nichos de células-tronco que revestem os ventrículos laterais e no giro dentado da formação do hipocampo, assim como células progenitoras de neurônios e neurônios imaturos, ocorre de forma bialélica. A expressão monoalélica (exclusivamente do alelo materno) parece ser estabelecida somente no decorrer da maturação dos neurônios⁵¹.

Para esclarecer se o *imprinting* de *Ube3a* era específico para regiões cerebrais ou se era específico de tipos celulares, Yamasaki *et al.* analisaram a expressão desse gene em culturas de células cerebrais (neurônios e células gliais) de camundongos normais e de camundongos com a mutação para AS. Foi verificado que, no cultivo de células neuronais, a expressão do gene *Ube3a* ocorria somente quando havia a expressão do alelo materno, enquanto nas células gliais (astrócitos) a expressão era bialélica³⁶.

Dindot *et al.* analisaram a expressão em detalhes ainda mais específicos, com o objetivo de localizar não somente as células que expressam o gene em seu contexto cerebral, mas encontrar a localização subcelular de UBE3A, assim como os efeitos da ausência da proteína na microestrutura neuronal⁵². Para tal, esses autores fusionaram o gene *Ube3a* de camundongo à proteína fluorescente amarela (UBE3A-YFP) e verificaram por imunistoquímica que *Ube3a* é expressa quase exclusivamente do alelo materno em neurônios cerebrais de todas as regiões do cérebro em camundongos normais. Essa expressão ocorre em níveis mais elevados nas células piramidais do hipocampo e do córtex e nas células Purkinje do cerebelo, do que nas células gliais que delimitam os ventrículos o gene é expresso de forma bialélica. Em astrócitos de outras regiões do cérebro, não foi encontrada expressão da proteína codificada por *Ube3a*. A análise da localização subcelular de UBE3A demonstrou alta concentração no núcleo de todas as células em que é expressa, distribuição menos concentrada pelo corpo celular com concentração maior nos cones de crescimento dos neurônios e nos compartimentos pré e pós-sinápticos. Esses autores confirmaram a aparência normal da arquitetura celular do cérebro e da arborização dendrítica dos neurônios em camundongos mutados, porém encontraram nesses neurônios espinhas dendríticas de

formato anormal e com tamanho e densidade reduzida, assim como dendritos secundários mais delgados e com algumas regiões nodulares (Figura 3).

Esses resultados levaram à conclusão de que UBE3A não afeta a neurogênese em si, mas parece ter um papel local para regular o desenvolvimento das espinhas dendríticas ou a plasticidade sináptica⁵², o que vai de encontro com o envolvimento da proteína quinase cálcio/calmodulina dependente do tipo II (CaMKII), conforme mencionado acima. A demonstração pelo grupo de Greenberg, de que a degradação regulada da proteína Arc e Efexina-5 depende de UBE3A, reforça o conceito emergente de que a síndrome de Angelman é uma síndrome de disfunção no desenvolvimento sináptico. O grupo de Philpot demonstrou que a UBE3A é necessária para a plasticidade neocortical e a plasticidade dependente de experiências *in vivo*, indicando que os déficits de aprendizado apresentados pelos indivíduos com a AS provavelmente se devem a uma rigidez sináptica severa⁵³. O mesmo grupo, estudando o cérebro de camundongos que não expressam Ube3a materno, verificou que há uma severa diminuição de sinapses excitatórias no 21º dia do desenvolvimento pós-natal e que mais tarde no desenvolvimento também são encontradas diminuições severas no desenvolvimento de sinapses inibitórias, sendo que a ausência destas talvez explique a suscetibilidade a convulsões apresentadas pelos afetados pela síndrome⁵¹.

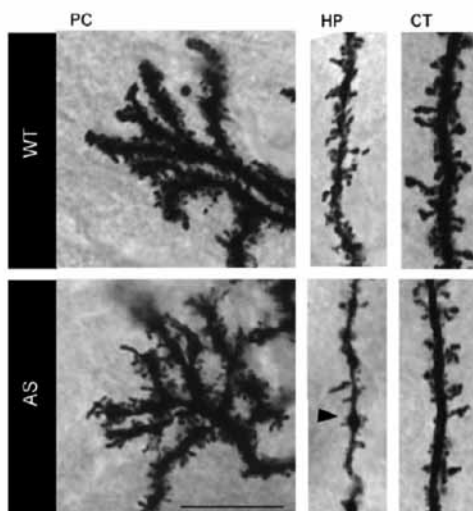


Figura 3. Morfologia alterada e densidade reduzida de espinhas dendríticas em neurônios Purkinje do cerebelo e em neurônios piramidais do hipocampo e do córtex de camundongos com deficiência materna para Ube3a, apesar de a arquitetura celular e de a quantidade de ramificações dendríticas aparentemente serem normais. Outras alterações verificadas se referem a ramificações dendríticas secundárias aparentemente mais finas com alguns nódulos mais largos (indicado pela ponta de seta) em neurônios piramidais. AS: camundongos com deficiência materna para Ube3a; WT: camundongos tipo selvagem; PC: células de Purkinje; HP: neurônios piramidais do hipocampo; CT: neurônios piramidais do córtex. Fonte: Imagem de Dindot *et al.*, 2008⁵².

Síndrome de Angelman, síndrome do X-frágil e a síndrome de Rett: três síndromes com alterações nas espinhas dendríticas

Além da AS, ao menos duas outras patologias relacionadas com retardo mental são causadas por mutações que alteram a formação, morfologia ou densidade de espinhas dendríticas. Uma delas, a síndrome do X-frágil, é causada por mutações que abolem a expressão da proteína FMR1, envolvida no transporte e tradução local de mRNAs específicos junto a espinhas dendríticas⁵⁴⁻⁵⁶, e um dos mRNAs cuja tradução é regulada pela proteína FMR1 é o da proteína ARC⁵¹, considerada um dos alvos mais relevantes de UBE3A. A ausência de FMR1 causa aumento na densidade de espinhas dendríticas, porém a morfologia destas é anormal, sendo mais alongadas e sem o formato de cogumelo característico⁵⁷⁻⁵⁹. Na síndrome de Rett, cujo gene mutado é *MECP2*, que codifica para uma proteína ligadora a metil-CpG, que em neurônios age como repressor de transcrição na ausência de estímulo sináptico, há uma diminuição na densidade de espinhas dendríticas que também se apresentam imaturas (alongadas e sem o formato de cogumelo característico). Porém, a ausência de *Mecp2* (camundongo), além da alteração na função sináptica, também afeta a orientação dos axônios de certos grupos celulares, resultando em sua desorganização⁶⁰. Realmente, o efeito de mutações de perda de função em *MECP2* tem efeito devastador; como esse gene se localiza no cromossomo X, a ausência de sua função tende a apresentar letalidade *in utero* para meninos, e meninas heterozigotas apresentam déficits variados dependendo da gravidade da mutação e do padrão de inativação do X. Ao contrário do que ocorre para as síndromes de Angelman e X-frágil, em que os afetados têm seu desenvolvimento prejudicado, porém não tendem a perder habilidades adquiridas, maior parte dos afetados pela síndrome de Rett, após desenvolvimento aparentemente normal durante os primeiros 6-18 meses de vida, apresenta graves sintomas de regressão cognitiva e funcional⁶¹.

MÉTODO

Este trabalho é uma revisão bibliográfica que utilizou como fonte de pesquisa as bases de dados do PubMed e Medline, tendo como critérios de busca os termos "síndrome de Angelman", de forma isolada e em combinações variadas com "UBE3A", "genetics", "clinic", "molecular" e "review" no título dos artigos, com ênfase nos últimos dez anos. Dentre os artigos encontrados, foram selecionados, a critério dos autores, artigos de revisão para rever a parte clínica e comportamental da síndrome, assim como para rever os mecanismos genéticos que levam à alteração da função de UBE3A. Já para entender a parte da fisiopatologia molecular e celular, foram selecionados artigos originais, com ênfase nas descobertas

dos últimos dez anos. Além desses, alguns outros trabalhos foram citados, por sua relevância para a discussão do tema.

RESULTADOS

Utilizando "Angelman syndrome" na busca, apareceram cerca de 1.100 artigos, incluindo 240 de revisão. Nos últimos dez anos, são mais de 600 artigos, aproximadamente 120 de revisão, 50% dos quais publicados nos últimos cinco anos. Na base de dados SciELO, são apenas nove artigos sobre a síndrome, dos quais três em português e nenhum artigo atual de revisão. Conforme explicado em métodos, a escolha dos artigos utilizados nesta revisão foi feita pelos autores. A presente revisão não é exaustiva quanto a todas as mutações encontradas no gene *UBE3A* e nem quanto a todos os substratos encontrados para *UBE3A*. Foram incluídos e discutidos os substratos para os quais pode haver uma correlação com a fisiopatologia dos afetados, um destaque que não é exclusividade dos presentes autores. As figuras foram incluídas pelo seu poder de ilustrar e tornar mais compreensível a parte genética do artigo. A fotografia dos dendritos com suas espículas sinápticas explica o que palavras são pobres para explicar. Nos últimos dois anos, a disfunção de algumas condições clínicas de deficiência intelectual está sendo traçada para a sinapse e está servindo para esclarecer muitos pontos desconhecidos da formação, modulação e manutenção delas.

CONCLUSÃO

Após ter sido uma das principais causas para o estudo mais aprofundado dos mecanismos do *imprinting* genômico, a síndrome de Angelman está se revelando como uma patologia das sinapses. A utilização de modelos animais para a síndrome de Angelman e a possibilidade de cultivar células deficientes na expressão materna de *UBE3A* estão levando ao reconhecimento de proteínas cuja degradação é comprometida nessas células, permitindo estudar sua expressão, localização e função, assim como as alterações micromorfológicas apresentadas pelos neurônios afetados. Apesar de o conhecimento da fisiopatologia molecular da síndrome de Angelman ser muito recente, e seu entendimento estar apenas começando a ser desvendado, seu estudo está fornecendo uma visão extraordinária sobre os mecanismos que regem a plasticidade sináptica.

REFERÊNCIAS

- Williams CA, Zori RT, Stone JW, Gray BA, Cantu ES, Ostrer H. Maternal origin of 15q11-13 deletions in Angelman syndrome suggests a role for genomic imprinting. *Am J Med Genet.* 1990;35(3):350-3.
- Clayton-Smith J, Laan L. Angelman syndrome: a review of the clinical and genetic aspects. *J Med Genet.* 2003;40(2):87-95.
- Fridman C, Kok F, Diament A, Koiffmann CP. Angelman syndrome: a frequently undiagnosed cause of mental retardation and epilepsy [case report]. *Arq Neuropsiquiatr.* 1997;55(2):329-33.
- Ohta T, Gray TA, Rogan PK, Buiting K, Gabriel JM, Saitoh S, et al. Imprinting-mutation mechanisms in Prader-Willi syndrome. *Am J Hum Genet.* 1999;64(2):397-413.
- Cook Jr EH, Lindgren V, Leventhal BL, Courchesne R, Lincoln A, Shulman C, et al. Autism or atypical autism in maternally but not paternally derived proximal 15q duplication. *Am J Hum Genet.* 1997;60(4):928-34.
- Christian SL, Brune CW, Sudi J, Kumar RA, Liu S, Karamohamed S, et al. Novel submicroscopic chromosomal abnormalities detected in autism spectrum disorder. *Biol Psychiatry.* 2008;63(12):1111-7.
- Leitner RP, Smith A. An Angelman syndrome clinic: report on 24 patients. *J Paediatr Child Health.* 1996;32(2):94-8.
- Kara B, Karaman B, Ozmen M, Rosti RO, Caliskan M, Kayserili H, et al. Angelman syndrome: clinical findings and follow-up data of 14 patients. *Turk J Pediatr.* 2008;50(2):137-42.
- Schalock RL, Luckasson RA, Shogren KA, Borthwick-Duffy S, Bradley V, Buntinx WH, et al. The renaming of mental retardation: understanding the change to the term intellectual disability. *Intellect Dev Disabil.* 2007;45(2):116-24.
- Philippart M. Rett and Angelman's syndromes: models of arrested development. *Pediatr Neurol.* 2001;25(4):288-94.
- Walz NC, Beebe D, Byars K. Sleep in individuals with Angelman syndrome: parent perceptions of patterns and problems. *Am J Ment Retard.* 2005;110(4):243-52.
- Guerrini R, Carrozzo R, Rinaldi R, Bonanni P. Angelman syndrome: etiology, clinical features, diagnosis, and management of symptoms. *Paediatr Drugs.* 2003;5(10):647-61.
- Peters SU, Goddard-Finegold J, Beaudet AL, Madduri N, Turcich M, Bacino CA. Cognitive and adaptive behavior profiles of children with Angelman syndrome. *Am J Med Genet A.* 2004;128A(2):110-3.
- Summers JA, Feldman MA. Distinctive pattern of behavioral functioning in Angelman syndrome. *Am J Ment Retard.* 1999;104(4):376-84.
- Summers JA, Allison DB, Lynch PS, Sandler L. Behaviour problems in Angelman syndrome. *J Intellect Disabil Res.* 1995;39(Pt 2):97-106.
- Ruggieri M, McShane MA. Parental view of epilepsy in Angelman syndrome: a questionnaire study. *Arch Dis Child.* 1998;79(5):423-6.
- Lossie AC, Driscoll DJ. Transmission of Angelman syndrome by an affected mother. *Genet Med.* 1999;1(6):262-6.
- Lossie AC, Whitney MM, Amidon D, Dong HJ, Chen P, Theriaque D, et al. Distinct phenotypes distinguish the molecular classes of Angelman syndrome. *J Med Genet.* 2001;38(12):834-45.
- Lee ST, Nicholls RD, Jong MT, Fukai K, Spritz RA. Organization and sequence of the human P gene and identification of a new family of transport proteins. *Genomics.* 1995;26(2):354-63.
- Walz NC. Parent report of stereotyped behaviors, social interaction, and developmental disturbances in individuals with Angelman syndrome. *J Autism Dev Disord.* 2007;37(5):940-7.
- Volkmar FR, Lord C, Bailey A, Schultz RT, Klin A. Autism and pervasive developmental disorders. *J Child Psychol Psychiatry.* 2004;45(1):135-70.
- Trillingsgaard A, Østergaard JR. Autism in Angelman syndrome: an exploration of comorbidity. *Autism.* 2004;8(2):163-74.
- Huibregtse JM, Scheffner M, Beaudenon S, Howley PM. A family of proteins structurally and functionally related to the E6-AP ubiquitin-protein ligase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(7):2563-7.
- Jentsch S. The ubiquitin-conjugation system. *Annu Rev Genet.* 1992;26:179-207.
- Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system for protein degradation. *Annu Rev Biochem.* 1992;61:761-807.
- Scheffner M, Nuber U, Huibregtse JM. Protein ubiquitination involving an E1-E2-E3 enzyme ubiquitin thioester cascade. *Nature.* 1995;373(6509):81-3.
- Schwarz SE, Rosa JL, Scheffner M. Characterization of human hect domain family members and their interaction with UbcH5 and UbcH7. *J Biol Chem.* 1998;273(20):12148-54.
- Nawaz Z, Lonard DM, Smith CL, Lev-Lehman E, Tsai SY, Tsai MJ, et al. The Angelman syndrome-associated protein, E6-AP, is a coactivator for the nuclear hormone receptor superfamily. *Mol Cell Biol.* 1999;19(2):1182-9.

29. Malzac P, Webber H, Moncla A, Graham JM, Kukulich M, Williams C, et al. Mutation analysis of UBE3A in Angelman syndrome patients. *Am J Hum Genet.* 1998;62(6):1353-60.
30. Tilghman SM. The sins of the fathers and mothers: genomic imprinting in mammalian development. *Cell.* 1999;96(2):185-93.
31. Sha K. A mechanistic view of genomic imprinting. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2008;9:197-216.
32. Engelstadter J. Constraints on the evolution of asexual reproduction. *Bioessays.* 2008;30(11-12):1138-50.
33. Goldstone AP. Prader-Willi syndrome: advances in genetics, pathophysiology and treatment. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15(1):12-20.
34. Lalonde M, Calciano MA. Molecular epigenetics of Angelman syndrome. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64(7-8):947-60.
35. Camprubi C, Coll MD, Villatoro S, Gabau E, Kamli A, Martinez MJ, et al. Imprinting center analysis in Prader-Willi and Angelman syndrome patients with typical and atypical phenotypes. *Eur J Med Genet.* 2007;50(1):11-20.
36. Yamasaki K, Joh K, Ohta T, Masuzaki H, Ishimaru T, Mukai T, et al. Neurons but not glial cells show reciprocal imprinting of sense and antisense transcripts of Ube3a. *Hum Mol Genet.* 2003;12(8):837-47.
37. Horsthemke B, Wagstaff J. Mechanisms of imprinting of the Prader-Willi/Angelman region. *Am J Med Genet A.* 2008;146A(16):2041-52.
38. Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell.* 1993;75(3):495-505.
39. Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM. Cloning and expression of the cDNA for E6-AP, a protein that mediates the interaction of the human papillomavirus E6 oncoprotein with p53. *Mol Cell Biol.* 1993;13(2):775-84.
40. Weeber EJ, Jiang YH, Elgersma Y, Varga AW, Carrasquillo Y, Brown SE, et al. Derangements of hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in a mouse model for Angelman mental retardation syndrome. *J Neurosci.* 2003;23(7):2634-44.
41. Wayman GA, Lee YS, Tokumitsu H, Silva A, Soderling TR. Calmodulin-kinases: modulators of neuronal development and plasticity. *Neuron.* 2008;59(6):914-31.
42. Van Woerden GM, Harris KD, Hojjati MR, Gustin RM, Qiu S, de Avila Freire R, et al. Rescue of neurological deficits in a mouse model for Angelman syndrome by reduction of alphaCaMKII inhibitory phosphorylation. *Nat Neurosci.* 2007;10(3):280-2.
43. Greer PL, Hanayama R, Bloodgood BL, Mardinly AR, Lipton DM, Flavell SW, et al. The Angelman syndrome-associated ubiquitin ligase Ube3A regulates synapse development by ubiquitinating Arc. *Cell.* 2010;140(5):704-16.
44. Tai HC, Schuman EM. Angelman syndrome: Finding the Lost Arc. *Cell.* 2010;140(5):608-10.
45. Margolis SS, Salogiannis J, Lipton DM, Mandel-Brehm C, Wills ZP, Mardinly AR, et al. EphB-mediated degradation of the RhoA GEF Ephexin5 relieves a developmental brake on excitatory synapse formation. *Cell.* 2010;143(3):442-55.
46. Nakao M, Sutcliffe JS, Durtschi B, Mutirangura A, Ledbetter DH, Beaudet AL. Imprinting analysis of three genes in the Prader-Willi/Angelman region: SNRPN, E6-associated protein, and PAR-2 (D15S225E). *Hum Mol Genet.* 1994;3(2):309-15.
47. Cattanach BM, Beechey CV. Autosomal and X-chromosome imprinting. *Dev Suppl.* 1990:63-72.
48. Salpekar A, Huntriss J, Bolton V, Monk M. The use of amplified cDNA to investigate the expression of seven imprinted genes in human oocytes and preimplantation embryos. *Mol Hum Reprod.* 2001;7(9):839-44.
49. Rougeulle C, Glatt H, Lalonde M. The Angelman syndrome candidate gene, UBE3A/E6-AP, is imprinted in brain. *Nat Genet.* 1997;17(1):14-5.
50. Albrecht U, Sutcliffe JS, Cattanach BM, Beechey CV, Armstrong D, Eichele G, et al. Imprinted expression of the murine Angelman syndrome gene, Ube3a, in hippocampal and Purkinje neurons. *Nat Genet.* 1997;17(1):75-8.
51. Philpot BD, Thompson CE, Franco L, Williams CA. Angelman syndrome: advancing the research frontier of neurodevelopmental disorders. *J Neurodev Disord.* 2011;3(1):50-6.
52. Dindot SV, Antalfy BA, Bhattacharjee MB, Beaudet AL. The Angelman syndrome ubiquitin ligase localizes to the synapse and nucleus, and maternal deficiency results in abnormal dendritic spine morphology. *Hum Mol Genet.* 2008;17(1):111-8.
53. Yashiro K, Riday TT, Condon KH, Roberts AC, Bernardo DR, Prakash R, et al. Ube3a is required for experience-dependent maturation of the neocortex. *Nat Neurosci.* 2009;12(6):777-83.
54. Zalfa F, Giorgi M, Primerano B, Moro A, Di Penta A, Reis S, et al. The fragile X syndrome protein FMRP associates with BC1 RNA and regulates the translation of specific mRNAs at synapses. *Cell.* 2003;112(3):317-27.
55. Bassell GJ, Warren ST. Fragile X syndrome: loss of local mRNA regulation alters synaptic development and function. *Neuron.* 2008;60(2):201-14.
56. Dictenberg JB, Swanger SA, Antar LN, Singer RH, Bassell GJ. A direct role for FMRP in activity-dependent dendritic mRNA transport links filopodial-spine morphogenesis to fragile X syndrome. *Dev Cell.* 2008;14(6):926-39.
57. Koekkoek SK, Yamaguchi K, Milojkovic BA, Dortland BR, Ruigrok TJ, Maex R, et al. Deletion of FMR1 in Purkinje cells enhances parallel fiber LTD, enlarges spines, and attenuates cerebellar eyelid conditioning in fragile X syndrome. *Neuron.* 2005;47(3):339-52.
58. Nimchinsky EA, Oberlander AM, Svoboda K. Abnormal development of dendritic spines in FMR1 knock-out mice. *J Neurosci.* 2001;21(14):5139-46.
59. Comery TA, Harris JB, Willems PJ, Oostra BA, Irwin SA, Weiler JJ, et al. Abnormal dendritic spines in fragile X knockout mice: maturation and pruning deficits. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(10):5401-4.
60. Belichenko PV, Wright EE, Belichenko NP, Maslah E, Li HH, Mobley WC, et al. Widespread changes in dendritic and axonal morphology in Mecp2-mutant mouse models of Rett syndrome: evidence for disruption of neuronal networks. *J Comp Neurol.* 2009;514(3):240-58.
61. Chahrour M, Zoghbi HY. The story of Rett syndrome: from clinic to neurobiology. *Neuron.* 2007;56(3):422-37.