# 

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE**

**REDE EM ASSOCIAÇÃO AMPLA**

**EDITAL Nº 01/2015**

**DETECÇÃO E ANÁLISE DE MUTAÇÕES DE NOVO EM PACIENTES COM EXPOSIÇÃO PARENTAL À RADIAÇÃO IONIZANTE DE CÉSIO-137 A PARTIR DE DADOS DE GENOTIPAGEM DE POLIMORFISMOS DE BASE ÚNICA DE ALTA DENSIDADE**

### Nome do Candidato: Hugo Pereira Leite Filho

E-mail: filho.hugo@gmail.com

Telefone: 62-999047721

### 11/08/2016

### Goiânia-GO Universidade Federal de Goiás - UFGo

1. **INTRODUÇÃO**

A capacidade para predição genética nas exposições humanas sob efeitos de radiação ionizantes vem sendo objeto de pesquisa ao longo de 50 anos. A radiação ionizante (IR) é um agente mutagênico amplamente estudada, a sua exposição resulta em diferentes tipos de lesões no DNA, quem vão desde as mudanças em nucleotídeos, até o rompimento de fita da cadeia dupla de DNA. Desta forma, prevalence a relevância biológica de cinco tipos de lesões no DNA induzidos por RI para estudos cinéticos, sendo que foram realizado sem células eucarióticas por vários laboratórios. Estas lesões foram identificadas em ligações cruzadas de DNA-proteína, dano base, quebras de cadeia simples, quebras de cadeia dupla e lesões volumosas (Adewoye et al., 2015; Frankenberg-Schwager, 1990).

Os efeitos mutagênicos de IR sobre a linha germinal são particularmente preocupantes como levam ao acúmulo de mutações adicionais em filhos de pais irradiados. Apesar dos numerosos esforços, pouco se sabe sobre os efeitos genéticos da exposição à radiação em seres humanos e a única evidência definitiva para a indução de mutação germinativa *in vivo* em mamíferos são retratados de estudos com ratos (UNSCEAR, 2001; Nakamura et al., 2013).

Desde o acidente em 1987 ocorrido em Goiânia, com o material radioativo Césio-137, até os dias de hoje, têm sido realizados vários estudos sobre a saúde genética dos radioacidentados goianos. Um dos primeiros testes de biomonitoramento das populações expostas à RI do Césio-137 foi o teste de micronúcleo, que relatou um aumento na frequência de micronúcleos das pessoas envolvidas direta ou indiretamente no acidente (da Cruzet al., 1994).

Atualmente foi estabelecido que a análise cromossômica pelo microarranjo (CMA – do inglês, *Chromosomal Microarray Analysis*) consiste em uma técnica de citogenética molecular, desenvolvida para a detecção de deleções ou duplicações de um amplo espectro de regiões clinicamente significativas do genoma humano (Lu *et al.,* 2008; Kong *et al.,* 2013). O CMA é capaz de detectar erros genômicos em regiões críticas dos cromossomos, geralmente não detectados através da investigação citogenética tradicional. Utilizam-se, na rotina do CMA, chips de DNA e hibridização genômica comparativa (CGH), sendo investigadas para aumento ou diminuição da dosagem várias regiões cromossômicas relevantes, permitindo detectar variações no número de cópias (CNVs) (Coulter*et al.,* 2011).

Os Microarranjos é uma poderosa ferramenta de diagnóstico que pode gerar uma gama de informação considerado sobre gene retirado de uma célula em uma só vez. Vários algoritmos de classificação podem ser aplicados na técnica de microarranjo para o desenvolvimento de métodos que possam predizer a ocorrência de uma doença. No entanto, a precisão de tais métodos difere de acordo com o algoritmo de classificação aplicada. Identificar o melhor algoritmo de classificação se torna um grande desafio (Mudunuri*et al*., 2011).

Xu et al (2011) afirma que as matrizes de genotipagem, provenientes de estudos de associação do genoma inteiro, do inglês *Genome Wide Association Studies* (GWAS) foram desenvolvidas para caracterizar o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP – do inglês *Single-nucleotidepolymorphisms*) e DNA com variação de número de cópias (CNVs – do inglês *copy number variations*). Os algoritmos estatísticos não parametrizados e baseados em modelos foram desenvolvidos para detectar CNVs a partir de SNP, utilizando as intensidades de marcadores. No entanto, esses algoritmos necessitam de especificidade para detectar pequenas CNVs devido à elevada taxa de falsos positivos quando se chama CNVs com base nos valores de intensidade. Portanto, os testes de associações resultante da falta de CNVs afetam o diagnóstico de doenças comuns.

GWAS são estudos de “caso-controle” que examina SNPs para determinar fatores genéticos com doenças complexas. Nas últimas décadas, GWAS vem sendo utilizados em muitas doenças comuns de diferentes natureza, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, doenças infecciosas, doenças psiquiátricas como por exemplo o autismo (Li, *et al.* 2014; Smoller, *et al*. 2013).

Dados originados de GWAS podem ser aplicados para identificação de CNVs. Assim, discutiremos alguns métodos para utilização de dados de SNPs para detectar eventos no número de cópias. Serão revisados uma série de algoritmos projetados para detectar as variações de número de cópias, por meio da utilização de dados com apresentações de sinais de intensidades, implementando aplicações em modelos estatísticos. Assim, será possível a realização de comparações de métodos para avaliar a precisão e detecção das alterações de CNVs.

1. **JUSTIFICATIVA**

No ano de 1987, em Goiânia-Goiás (Brasil), uma série de eventos inesperados resultou em um grave acidente radiológico, provocando um rastro de contaminação humana, animal, vegetal e ambiental por um radionuclídeo.

Os efeitos mutagênicos da radiação ionizante (RI) sobre a linhagem germinativa são de preocupação especial, pois podem perdurar por várias gerações, levando ao acúmulo de mutações adicionais em filhos de pais irradiados.

Várias técnicas moleculares têm permitido avanços consideráveis no campo da citogenética clínica e superaram as limitações do cariótipo convencional, visando detectar rearranjos não identificados na microscopia óptica que permitem avaliar pequenas perdas e ganhos de material genético (Yiping*et al*. 2010; Kong *et al.*, 2013; Shi*et al.*, 2013).

Para Jiang et al (2010), estudar as variações genéticas relacionadas às doenças, usando os estudos sobre GWAS vem sendo bastante aplicado em ensaios com base em centenas de milhares de SNPs, com objetivo de descobrir de forma individual ou em combinação de SNPs associados aos achados em doenças. O método comum de análise é empregar estatísticas parametrizadas com ajustes de testes realizados para limitar os achados falsos-positivos.

A pesquisa genômica pode levar a descobertas de variações no número de cópias (CNVs) que pode ser um fator de relevância aos irradiados. Estabelecer um método de identificação de CNVs por microarranjos de alta densidade, podendo contribuir com o aumento do conhecimento sobre os efeitos biológicos de exposição humana à radiação ionizante, possibilitando estimar a frequência de mutações germinativas na prole de indivíduos expostos acidentalmente à radiação ionizante de Césio-137.

A pesquisa trata sobre o grupo constituído por 12 famílias, dos quais pelo menos um dos progenitores foi diretamente exposto à radiação ionizante de Césio-137, incluindo um total de 40 indivíduos (12 casais e 16 filhos nascidos após o acidente). A dose absorvida para os indivíduos expostos foi estimada em ≤0,2 Gray. Um grupo de indivíduos não-expostos à radiação ionizante foi usado como controle. Esse grupo foi composto por 8 famílias goianas sem histórico de exposição à RI.

O estudo propõe examinar modelos de algoritmos aplicados na detecção e predição de CNVs em matrizes de genotipagem de SNPs aos indivíduos, e suas proles, que foram expostos acidentalmente à radiação ionizante de Césio-137.

1. **OBJETIVOS**
   1. **Objetivo Geral**

  Realizar um estudo com base nos conhecimentos da Bioinformática que buscará estabelecer um método de identificação de CNVs por microarranjos de alta densidade em SNPs, contribuindo com o aumento do conhecimento sobre os efeitos biológicos de exposição humana à radiação ionizante, possibilitando estimar a frequência de mutaçõe sgerminativas na prole de indivíduos expostos acidentalmente à radiação ionizante de Césio-137.

* 1. **ObjetivosEspecíficos**
* Propor técnicas de detecções em matrizes de genotipagem de SNPs em bases de dados distintos baseadas em GWAS;
* Realizar um estudo sobre métodos de busca aos achados de CNVs;
* Comparar e analisar as ferramentas computacionais de investigação;
* Mapear um fluxo para auxiliar na compreensão da metodologia;
* Identificar o melhor modelo estatístico por meio de algoritmos de aprendizagem;
* Estabelecer a taxa de frequência de mutação germinativa de CNVs induzida pela exposição parental à RI;
* Manter a continuidade aos estudos de monitoramento genético da população acidentalmente exposta ao Césio-137 em Goiânia-Goiás, contribuindo com o conhecimento sobre os efeitos biológicos de exposição à radiação ionizante.

1. **METODOLOGIA**
   1. **Grupo amostral**

O grupo exposto foi constituído por 12 famílias, dos quais pelo menos um dos progenitors foi diretamente exposto à radiação ionizante de Césio-137, incluindo um total de 40 indivíduos (12/12 pais/mães e 16 filhos nascidos após o acidente). A dose absorvida para os indivíduos expostos foi estimada em ≤0,2Gy.Um grupo de indivíduos não-expostos à radiação ionizante foi usado como controle. Esse grupo foi composto por 8 famílias goianas sem histórico de exposição à RI. As amostras biológicas foram constituídas de sangue periférico, sendo coletados 10 mL porpunção venosa. Para cada amostra biológica, foram separadas alíquotas de plasma, anel leucocitário e hemácias, sendo armazenadas a -20ºC. O anel leucocitário foi usado subsequentemente para extração e purificação do DNA genômico. O material restante foi armazenado para estudos futuros nos termos da Resolução CNS Nº 441/11. No momento da coleta, os participantes responderam voluntariamente a um questionário e assinaram a um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Todas as coletas foram procedidas nos domicílios dos participantes dos grupos de radioexpostos. Os controles doaram suas amostras voluntariamente no laboratório de genética do Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC Goiás. O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-Goiás) e o número do CAAE foi 49338615.2.0000.0037.

* 1. **Extração e Quantificação das Amostras de DNA:**

Para a extração de DNA foi utilizado o Kit de extração de DNA IllustraBloodGenomicPrep® Mini Kit (GE Healthcare, EUA). A quantificação da concentração de DNA (ng/µL) existente em cada amostra foi realizada em um espectrofotômetro NanoVue® Plus (GE Healthcare Life Sciences, Reino Unido). Ambos os procedimentos foram executados de acordo com os protocolos sugeridos pelos fabricantes.

* 1. **Análise Cromossômicas por Microarranjos**

A análise cromossômica por microarranjos (CMA) foi conduzida em um GeneChipCytoScan HD® (Affymetrix – Estados Unidos da América, EUA), sendo uma matriz de genotipagem abrangente para o genoma humano. A matriz de genotipagem apresenta ampla cobertura do genoma e maior desempenho para a análise de alterações cromossômicas humanas, sendo capaz de detectar variações genéticas estruturais. O CytoScan HD® possui mais de 99% de sensibilidade na detecção de CNVs, determinação de perda de heterozigose (LOH) e baixos níveis de mosaicismo. A matriz do chip possui cerca de 2,6 milhões de cópias de marcadores, incluindo aproximadamente 750 mil SNPs e cerca de 2 milhões de sondas não polimórficas. As sondas que integram o chip apresentavam tamanho de 25 pb.

* 1. **Tratamento e Análise dos Dados Obtidos em Matrizes na Genotipagem dos SNPs**

A grande quantidade de informações disponibilizadas pelo uso do GeneChip® HD faz com que sejam necessárias análises complexas para o tratamento dos dados.

A proposta visa aplicar os procedimentos de exame de Trio, ligando CNV para cada 3 indivíduo (Pai, Mãe e Filho).

A estrutura familiar pode ser usada para chamadas de CNVs mais precisas, uma vez que seja possível correlacionar informações de CNVs dos membros da família., pois provavelmente compartilham da mesma região de CNV.

* 1. **Técnicas Aplicadas na Utilização do GeneChip® HD**

Foi executada no Software ChAS® que possibilita investigar alterações estruturais ao longo do genoma, tais como variações no número de cópias, como duplicações e deleções de segmentos de DNA de regiões gênicas presentes nas amostras estudadas de modo comparativo, facilitando as interpretações dos resultados.

Foram fixados como filtros: 15 e 8 marcadores de SNPs para se detectar microduplicações e microdeleções, respectivamente, distribuídos com uma média ≤2.000 kb, limitando-se a fragmentos ≥1kb.

Para CytoScan® HD os marcadores são atribuídos individualmente a uma chamada do número de cópias (NC) através do “Modelo Oculto de Markov” (do inglês, Hidden Markov Models, HMM). As entradas específicas da amostra para o HMM em relação ao sinal de referência são Log2 ratio, que são convertidos em número de cópias (NC) para cada marcador.

O HMM usa o algoritmo Viterbi para calcular os conjuntos de marcadores entre cada número de cópias. Quando os marcadores são atribuídos entre os números pelo HMM, trechos contínuos de marcadores adjacentes ordenados por posição de cromossomo são agregados em segmentos. Esses segmentos são resultantes do número de cópia, número de marcadores no segmento e da posição do marcador que inicia e termina o segmento.

Sendo assim, os parâmetros predefinidos aplica um segmento de entrada de comprimento mínimo com 5 marcadores. (Affymetrix® Chromosome Analysis Suite 2.0 TM Software User Manual).

Foram incluídas nas análises subsequentes CNVs que apareceram nos bancos de dados do Cytoscan HD® (Affymetrix, EUA) e do DGV (The Database of Genomic Variants).

* 1. **Coleta e Processamento das Amostras**

Após assinatura do TCLE e a obtenção dos escores ADI-R, serão obtidas as amostras biológicas dos pacientes, correspondendo a 10 mL de sangue periférico. Posteriormente, parte de cada amostra será processada para a separação do anel leucocitário.

* 1. **Análise Comparativa dos Algoritmos para as Chamadas de CNVs**

A determinação de CNVs inseridas em GWAS para matrizes de SNPs vem apresentando crescente avanço para as associações de doenças relacionadas com aspectos genéticos. Vários métodos de detecção de CNVs estão disponíveis na literatura científica, no entanto, a precisão da detecção de CNV não é suficiente e os resultados diferem de acordo com os programas de detecção utilizados e seus parâmetros (Delling, et al., 2010; Koike, et at. 2011).

* 1. **Métodos de detecção de CNVs**

As matrizes de SNP foram inicialmente construídos para genotipar SNPs em milhares usando a técnica de GWAS simultaneamente. Atualmente, suas aplicações estão expandido para incluir a detecção de CNV usando informações adicionais, como o sinal de hibridização da sonda para cada chip individual. Os microarrays SNP mais conhecidos estão disponíveis a partir de fornecedores comerciais, como Illumina e Affymetrix (LaFramboise, 2009; Rincon, et al., 2011; Xu, et al. 2013)

* 1. **Comparação de Algoritmos para Chamadas de CNVs para Humanos**

As comparações das plataformas são identificados as características positivas e negativas publicados usando dados da CNV humanos. Embora os resultados publicados são rapidamente ultrapassada à medida que novas plataformas e ferramentas são introduzidos, em geral é consistente aplicar essas comparações. Importante ressaltar a falta de uma abordagem padrão para a coleta dos dados e a falta de amostras de referência padronizados; o que torna difícil comparar os resultados da CNV em diferentes estudos (Scherer, et al. 2007; Xu, et al. 2013).

* 1. **Algoritmos para detecção de CNVs**

O desenvolvimento microarray tem estimulado os avanços na metodologia de análise computacional em campos quantitativos da biologia. Uma ampla gama de ferramentas de descoberta de CNV foi desenvolvido com base em dados provenientes de matrizes de SNPs.

Algoritmos como *BirdSuite* (Korne, et al. 2008), *PennCNV-Affy2sv*(Wang, et al. 2007; Hernandez-Ferrer, et al. 2015), *QuantiSNP* (Collela, 2007) são modelos aplicados para detecção de CNVs.

*PennCNV* e *QuantiSNP* são ferramentas *open-sources* baseado em HMMs (*do inglês, Hidden Markov Model*) (Wang, et al. 2007; Collela, 2007). Ambos processam dados dos equipamentos de dados SNP da Illumina e Affymetrix. PennCNV incorpora múltiplas fontes de informações, incluindo LRR (*do inglês, log R ratio*) e BAF (*do inglês,B allelefrequency*) para cada marcador SNP, sendo a distância entre os vizinhos SNPs e a frequência de alelo do SNP.

BirdSuite aplica o método usando o algoritmo EM (*do inglês, Expectation-Maximization*) em combinação com o modelo HMM, além de usar o algoritmo Viterbi para calcular os estudos de emissão, para detecção de CNVs (Korn, et al. 2008).

PennCNV também integra às aproximações computacionais por modelo apropriados de regressão com conteúdos de superação conhecidos como GC (*do inglês, Genomic Waves*)(Marioni, et al., 2007; Diskin, et al., 2008). Adicionalmente, o PennCNV é capaz de considerar informações hereditárias (trio – pais e filhos) para melhorar as taxas de chamadas e acurácias da parada de predição, como também realizar inferências de genótipos SNP em CNVs.

QuantiSNP, altera a técnica aplicada no PennCNV por tratar de um método conhecida por aproximação Objetiva de Bayes (Colella, 2007) para inferir os estados de CNVs baseado em LogR *ratio* e Frequência de Alelo B para cada marcador SNP. QuantiSNP calcula as probabilidades bayesianas para cada par de marcador SNP e utiliza o método HMM, assim permite cruzar os marcados para formar os CNVs.

* 1. **Abordagens computacionais para GWAS**

Com o conceito de interações epistáticas que são interações não-aditivas entre alelos, *lócus* ou mutações que com efeito combinado entre as mutações não se espera de seus efeitos individuais. Portanto, os genes podem mascarar a presença de outro ou se combinar para produzir uma característica nova (Phillips, 2009). Sendo assim, a variação genética que possui alcance individual suficiente para influenciar sobre uma doença ou fenótipo é conhecida como efeito principal (Yang et al., 2010). Assim, com este cenário de variação genética vem sendo desenvolvido um intenso avanço em ferramentas para pesquisas genéticas, como banco de dados, e tecnologias para genotipagem cada vez mais precisas e acessíveis, contribuindo aos avanços no desenvolvimento de softwares para análise GWAS (Li, *et al.* 2014)

Para Yang (2009), ao se tratar com a análise de dados de GWAS, a imensa quantidade de dados se torna um fator crucial na seleção dos métodos mais adequados, pois prevalece a impossibilidade de todos os métodos serem capazes de lidar com tantos dados em um tempo que não seja proibitivo. O tempo computacional pode ser substancialmente reduzido se uma técnica de seleção de variáveis apropriada é usada. Com base na estratégia de otimização usada, foi definida uma classificação de métodos computacionais: métodos de busca exaustiva, métodos de busca gulosa e métodos de busca estocástica.

Cabe ressaltar que as ferramentas que são aplicadas os métodos serão analisadas neste trabalho gerando resultados comparativos sobre os impactos nas pesquisas.

* + 1. **Método de busca exaustiva**

A busca exaustiva, enumera todos os k-lócus de interações possíveis entre SNPs para identificar o efeito, ou efeitos, que melhor predizem o desfecho fenotípico. Esta propriedade exaustiva leva à sua característica mais importante do ponto de vista computacional. Embora seja viável, mesmo para os maiores conjuntos de dados disponíveis hoje, utilizando, por exemplo, computação paralela, as generalizações para investigar interações de ordem superior são excessivamente demoradas. Nesta seção será realizado um breve resumo de algumas abordagens exaustivas disponíveis na literatura.

* + 1. **Método de busca gulosa**

Os métodos de busca gulosa utilizam de algoritmos que buscam uma solução para o problema tomando decisões que levam a um novo resultado ótimo a cada passo da execução. Com isso, espera-se que ao final da busca seja alcançado o resultado ótimo global sem que seja necessário analisar todas as situações possíveis (Torres e Castro, 2012).

* + 1. **Método de busca estocásticos**

Os métodos estocásticos realizam uma investigação probabilística do espaço de busca. Alguns começam com um modelo composto por um conjunto aleatório de SNPs e tentam melhorar a sua precisão de classificação, enquanto outros usam um subconjunto pequeno que foram previamente selecionados incorporando conhecimento aprimorado sobre os dados (Jiaquiao, et al. 2008).

1. **RESULTADOS E IMPACTOS ESPERADOS**

A presente proposta visa a comparação de ferramentas de Bioinformática, realizando uma análise sistemática dos modelos que possa auxiliar na interpretação aplicada à metodologia de microarranjos, para detecção e predição de CNVs sobre as características de SNPs da população exposta ao RI.

Os resultados desta estratégia de diagnóstico serão importantes para promover um conhecimento sobre os efeitos biológicos de exposição à radiação ionizante.

Ao final do estudo, os resultados permitirão inferir sobre os possíveis mecanismos moleculares associados ao retardo mental idiopático autossômico, além de contribuir para uma melhor elucidação da fisiopatologia dessa alteração genética, tão heterogênea.

Resumidamente, ao final do projeto, são esperadas as seguintes contribuições científicas e biotecnológicas:

1. Encontrar técnicas de comparações em bases de dados distintos baseadas em GWAS;
2. Apresentar vantagens e desvantagens dos métodos de buscas que serão apresentados em estudos;
3. Realizar uma revisão geral sobre as ferramentas que serão utilizadas para investigar efeitos de interação epistática em GWAS;
4. Aplicar técnica spara achados de CNVs *de novo* a partir de SNPs;
5. Definir um motor de *workflow* para auxiliar na compreensão da metodologia desenhada após as conclusões do estudo;
6. Propor os melhores modelos estatísticos em bases de dados;
7. Avaliar ferramentas existentes que permite aplicação de uma metodologia de microarranjos, para detecção e predição de CNVs em SNPs;
8. Publicação de artigos científicos que envolvam: descobertas de conhecimentos por meio de algoritmos inteligentes em achados;
9. Estabelecimento e fortalecimento de parcerias com centros de referência e de excelência no diagnóstico molecular das doenças genéticas humanas.
10. **BIBLIOGRAFIA**

|  |  |
| --- | --- |
|  | Betancur C. Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: More than 100 genetic and genomic disorders and still counting. Brain Research, 1380.42-77, 2011. |
|  | Coulter ME, Miller DT, Harris DJ, Hawley P, Picker J, Roberts AE, Sobeih MM, Irons M. Chromosomal microarray testing influences medical management. Genet Med. Sep;13(9):770-6, 2011. |
|  | Fombonne E. Epidemiology of autistic disor-der and other pervasive developmental dis-orders. J Clin Psychiatry. V. 66, 3– 8, 2005. |
|  | Grafodatskaya D, Chung B, Szatmari P, Weksberg R. Autism Spectrum Disorders and Epigenetics. Jrnlameracad child &adol psych.794-49.8, 2010. |
|  | Kong SW, Shimizu-Motohashi MG, Lee HC, Collins CD, Brewster SJ, Holm IA, Rappaport L, Kohane IS, Kunkel LM. Peripheral blood gene expression signature differentiates children with autism from unaffected siblings. Neurogenetics 14:143–152. 2013. |
|  | Li P., Guo M., Wang C., Liu X., ZouAn O. Overview of SNP interactions in genome-wide association studies. Briefings in functional genomics. Vol 14. no 2. 143-155. 2014. |
|  | Nazeer A, Ghaziuddin M. Autism Spectrum Disorders: Clinical Features and Diagnosis. MDbPediatrClin N Am.59,19–25, 2012. |
|  | Phillips P.C., Epistasis the Essential Role of Gene Interactions in the Structure and Evolution of Genetic Systems, 2008, Nature Rev. Genetics, vol. 9, no. 11, pp. 855-867. |
|  | Picker LW, Peter RSJ, Laurie AD, Heather KEB. Caronna, KJ, et al. Clinical Genetic Testing for Patients With Autism Spectrum Disorders. Pediatrics. v.125, no 4, 2010. |
|  | Shi L, Zhang X, Golhar R, Otieno FG, Mingze H, Cuiping H, Kim C, Wang K, Hakonarson K. Whole-genome sequencing in an autism multiplex family. Molecular Autism, 4:8, 2013. |
|  | Smoller J. W., and Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. Lancet. Vol. 381: 1371–79. 2013 |
|  | The Deciphering Developmental Disorders Study. Large-scale discovery of novel genetic causes of developmental disorders. Nature Publishing Group. 2014. |
|  | Vargas EA, Pastore M, Prior T, et al. The preva-lence of PTEN mutations in a clinical pediatric cohort with autism spectrum disorders, developmental delay, and macrocephaly. Genet Med. 11(2): 111–117, 2009. |
|  | Xu Y., Peng B., Yunxin Fu Y., Amos C.: Genome-wide algorithm for detecting CNV associations with diseases. BMC Bioinformatics. 2011, P.12:33. |
|  | Yang, C.,He Z., Wan X., Yang O., Xue H., Yu W.,SNPHarvester: a filtering-based approach for detecting epistatic interactions in genome-wide association studies. Bioinformatics 2009; 25:504-511. |
|  | Yang, C., Wan, X., Yang, Q., Xue, H., Yu, W., 2010, “Identifying main effects and epistatic interactions from large-scale snp data via adaptive group lasso”, BMC Bioinformatics , v.11, Suppl 1, S18. |
|  | Yiping S, Kira AD, Ingrid A. Holm MD, Carolyn BMD, et al. Clinical Genetic Testing for Patients With Autism Spectrum Disorders. Pediatrics. v: 125, no 4, 727- 735, 2010. |
|  | Zhang F., Liang H. "Application of Data Mining Techniques in Universal Design," Cyber-Enabled Distributed Computing and Knowledge Discovery (CyberC), 2014 International Conference on , vol., no., P.179,182 |
|  | Ziats MN, Rennert OM. Aberrant Expression of Long Noncoding RNAs in Autistic Brain. J MolNeurosci 49:589–593, 2013. |
|  | Frankenberg-Schwager, M. Induction, repair and biological relevance of radiation-induced DNA lesions in eukaryotic cells. Radiat. Environ. Biophys. 29,273–292.1990. |
|  | Nakamura, N. et al. Radiation effects on human heredity. Ann. Rev. Genet 47, 51–68. 2013. |
|  | UNSCEAR. Hereditary Effects of Radiation United Nations (2001) . |
|  | ADEWOYE, A. B. et al. The genome-wide effects of ionizing radiation on mutation induction in the mammalian germline. Nature Communications, v. 6, n. 6684, p. 1-8, Mar, 2015. |
|  | da Cruz, A. D. et al. Human micronucleus counts are correlated with age, smoking, and cesium-137 dose in the Goiânia (Brazil) radiological accident. Mutation research, v. 313, n. 1, p. 57-68, Aug, 1994. |
|  | Wang, K.; Li, M.; Hadley, D.; Liu, R.; Glessner, J.; Grant, S.F.; Hakonarson, H.; Bucan, M. PennCNV: AnintegratedhiddenMarkovmodeldesigned for high-resolutioncopynumbervariationdetection in whole-genome SNP genotyping data. Genome Res. 2007, 17, 1665–1674. |
|  | Colella, S.; Yau, C.; Taylor, J.M.; Mirza, G.; Butler, H.; Clouston, P.; Bassett, A.S.; Seller, A.; Holmes, C.C.; Ragoussis, J. QuantiSNP: Anobjectivebayeshidden-Markovmodeltodetectandaccuratelymapcopynumbervariationusing SNP genotyping data. NucleicAcids Res. 2007, 35, 2013–2025. |
|  | Korn, J.M.; Kuruvilla, F.G.; McCarroll, S.A.; Wysoker, A.; Nemesh, J.; Cawley, S.; Hubbell, E.; Veitch, J.; Collins, P.J.; Darvishi, K.; et al. IntegratedgenotypecallingandassociationanalysisofSNPs, common copynumberpolymorphismsandrareCNVs. Nat. Genet. 2008, 40, 1253–1260. |
|  | Marioni, J.C.; Thorne, N.P.; Valsesia, A.; Fitzgerald, T.; Redon, R.; Fiegler, H.; Andrews, T.D.; Stranger, B.E.; Lynch, A.G.; Dermitzakis, E.T.; et al. Breakingthewaves: Improveddetectionofcopynumbervariationfrommicroarray-basedcomparativegenomichybridization. Genome Biol. 2007, 8, R228. |
|  | Diskin, S.J.; Li, M.; Hou, C.; Yang, S.; Glessner, J.; Hakonarson, H.; Bucan, M.; Maris, J.M.; Wang, K. Adjustmentofgenomicwaves in signalintensitiesfromwhole-genome SNP genotypingplatforms. NucleicAcids Res. 2008, 36, e126. |
|  | S. P. Torres and C. A. Castro, "ParallelparticleswarmoptimizationappliedtothestaticTransmissionExpansion Planning problem," TransmissionandDistribution: LatinAmericaConferenceand Exposition (T&D-LA), 2012 Sixth IEEE/PES, Montevideo, 2012, pp. 1-6. doi: 10.1109/TDC-LA.2012.6319053 |
|  | Hu, Jiaqiao; Fu, Michael C.; Marcus, Steven I. A ModelReferenceAdaptiveSearchMethod for Stochastic Global Optimization. Commun. Inf. Syst. 8 (2008), no. 3, 245--276. http://projecteuclid.org/euclid.cis/1241018503. |
|  |  |