

Células-Tronco Pluripotentes Induzidas (iPSC) na Modelagem do Transtorno do Espectro Autista (TEA)

Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC) in Modeling the Autistic Spectrum Disorder (ASD)

Bruna Maria da Cruz Fontes^a; Cleide Barbieri de Souza^a

^aCentro Universitário Lusíada, Núcleo Acadêmico de Estudos e Pesquisas em Biotecnologia e Biologia Molecular. SP, Brasil.

*E-mail: bm.fontes@hotmail.com

Resumo

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) se caracteriza pela manifestação de déficits persistentes na comunicação e interação social associados aos padrões restritos e repetitivos de comportamentos, interesses ou atividades. Sua prevalência demonstrou crescimento nos últimos anos, em 2000 era de 1 em 150 crianças, alcançando, em 2016, estimativas de 1 em 54 crianças diagnosticadas, estimulando a busca pela identificação de aspectos biológicos em âmbito molecular do transtorno. Com o advento das células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC), através da reprogramação de células somáticas, tornou-se possível o estudo das células dos portadores *in vitro*. Portanto, o artigo objetivou revisar aspectos gerais envolvidos no TEA e as alterações celulares e moleculares descritas em células neurais dos portadores, mediante o uso da modelagem do TEA, a partir de iPSC. Para isso, foi realizada uma revisão bibliográfica de caráter descritivo, utilizando bancos de dados como *National Library of Medicine* (PUBMED), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs), preconizando artigos datados de 2014 a 2019. Em conclusão, os dados reunidos no trabalho demonstram que a modelagem do TEA, a partir de iPSC, forneceu evidências sobre alterações de natureza morfológica, funcional e na conectividade neuronal de neurônios e neuróglia derivadas do autismo. Observando-se, também, anormalidades funcionais importantes no estabelecimento de sinapses, modificações eletrofisiológicas, desequilíbrios entre os estímulos excitatórios promovidos pelos neurotransmissores glutamato e estímulos inibitórios pelos neurotransmissores GABA nessas células, explicitando ainda um compartilhamento de alterações em vias moleculares comuns entre autismo síndrômico e não síndrômico.

Palavras-chave: Modelagem de Doenças. Transtorno do Espectro Autista. TEA. iPSC.

Abstract

Autistic Spectrum Disorder (ASD) is characterized by the manifestation of persistent deficits in communication and social interaction associated with restricted and repetitive patterns of behavior, interests, or activities. Its prevalence has shown growth in recent years, in 2000 it was 1 in 150 children, reaching in 2016 estimates of 1 in 54 children diagnosed, stimulating the search for the identification of biological aspects at the disorder molecular level. With the advent of pluripotent induced stem cells (iPSC) through somatic cell reprogramming, it became possible to study the carriers cells in vitro. Therefore, the article aimed to review general aspects involved in TEA and the cellular and molecular alterations described in the carriers neural cells, using iPSC modeling of TEA. For this purpose, a descriptive bibliographic review was carried out using databases such as the National Library of Medicine (PUBMED), Scientific Electronic Library Online (SciELO) and Latin American and Caribbean Literature on Health Sciences (Lilacs), recommending articles dated from 2014 to 2019. In conclusion, the data gathered in the work demonstrate that the TEA modeling from iPSC provided evidence on changes of morphological, functional, and neuronal connectivity of neurons and neuroglia derived from autism. Important functional abnormalities were also observed in the establishment of synapses, electrophysiological modifications, imbalances between excitatory stimuli promoted by glutamate neurotransmitters and inhibitory stimuli by GABA neurotransmitters in these cells, also explaining a sharing of alterations in common molecular pathways between syndromic and non-syndromic autism.

Keywords: Disease Modelling. Autistic Spectrum Disorder. ASD. iPSC.

1 Introdução

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um distúrbio do neurodesenvolvimento, cujos sintomas-chaves são: déficits persistentes na comunicação e interação social, associados aos padrões restritos e repetitivos de comportamento, de interesses ou de atividades (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014; GRIESI-OLIVEIRA; SERTIÉ, 2017).

Nos últimos anos, o tema ganhou intensa evidência, em função do aumento considerável do número de casos se estima

que o distúrbio afeta cerca de 1% da população mundial (POSAR; VISCONTI, 2017). Esse crescimento instiga a busca de uma melhor elucidação a respeito dos aspectos celulares e moleculares envolvidos em seu desenvolvimento (RUSSO, 2015).

As pesquisas sobre o TEA ganharam nova perspectiva, a partir do ano de 2006, quando Takahashi e Yamanaka comprovaram que células diferenciadas através da reprogramação genética podem ser convertidas em células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC) e estas, por sua vez,

podem se diferenciar em qualquer tipo celular desejado (TAKAHASHI; YAMANAKA, 2006; TAKAHASHI *et al.*, 2007 apud BELTRÃO-BRAGA; MUOTRI, 2017).

Essa nova tecnologia tornou viável a obtenção de um modelo mais eficiente para o estudo do TEA, visto que mediante a reprogramação genética de células periféricas do portador é possível gerar iPSC e especializá-las em neurônios e neuróglia, que carregam de forma íntegra a genética do paciente, permitindo o exame das células do sistema nervoso central (SNC) de portadores *in vitro* (ACABE; MUOTRI, 2015).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi revisar aspectos gerais envolvidos no TEA e as alterações celulares e moleculares descritas em células neurais dos portadores, mediante o uso da modelagem do TEA, a partir de iPSC.

2 Desenvolvimento

2.1 Metodologia

O artigo trata de uma revisão bibliográfica com caráter descritivo. O material revisado consistiu em artigos científicos recentes em idiomas, como: inglês, português e espanhol e, com menor utilização de livros, teses e dissertações. A coleta das informações foi realizada em bancos de dados como Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), sendo a maior parte retirada da plataforma *National Library of Medicine* (PUBMED). Foram utilizados os descritores: Transtorno do Espectro Autista, Células-Tronco Pluripotentes Induzidas, Reprogramação Celular, Técnicas *in vitro*, iPSC-neurônios de autistas, Modelagem do Autismo suas combinações e termos em inglês.

Preconizou-se a revisão de artigos de 2014 a 2019, contudo, informações pontuais, necessárias para o entendimento do distúrbio e ausentes em artigos atuais foram retiradas de fontes datadas de 2010 a 2013, sendo estes os critérios de inclusão. Os critérios de exclusão foram: artigos de período inferior a 2009, artigos dos anos de 2014 a 2019 presentes em fontes não confiáveis ou que não apresentavam informações importantes para os tópicos abordados.

2.2 Células-Tronco Pluripotentes Induzidas - iPSC

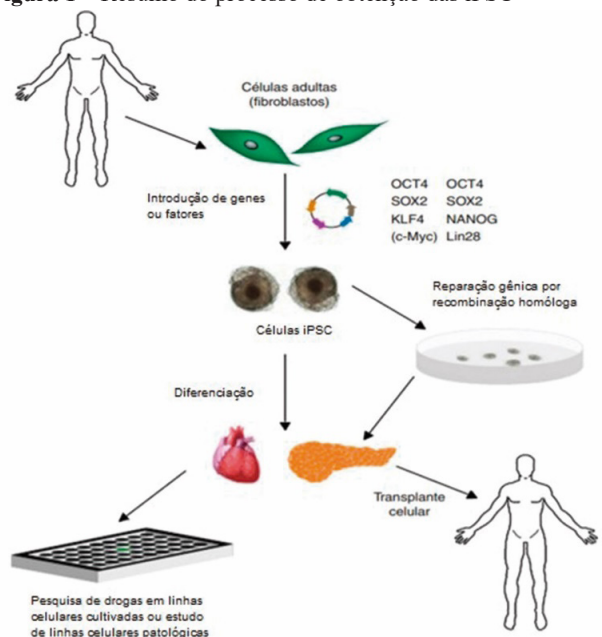
As iPSC são células alcançadas, artificialmente, mediante expressão forçada de fatores de transcrição associados a pluripotência de células-tronco embrionárias. Permitindo com que células somáticas, já em um estado diferenciado, possam ser convertidas novamente a um estado embrionário. São capazes de se diferenciar irreversivelmente em células presentes em qualquer um dos folhetos germinativos. Morfologicamente são pequenas, com grande proporção núcleo/citoplasma, bordas claras, se organizando em colônias condensadas (BROUWER; ZHOU; KASRI, 2016).

A produção de iPSC foi descrita, pela primeira vez, em 2006, pelos pesquisadores Kazutoshi Takahashi e Shinya

Yamanaka, que estabeleceram a tecnologia de reprogramação genética de células somáticas, inicialmente, utilizando fibroblastos de murinos e, em 2007, fibroblastos humanos (TAKAHASHI; YAMANAKA, 2006; TAKAHASHI *et al.*, 2007 apud TAKAHASHI; YAMANAKA, 2013).

O advento da tecnologia de reprogramação celular possibilitou o emprego de modelos *in vitro* para a investigação de doenças. Esse novo modelo, resumido na figura 1, baseia-se na diferenciação de células somáticas de portadores de doenças em iPSC. Por carregarem o mesmo material genético da célula, que a originou, evidenciam fidedignamente características fenotípicas da doença, sendo consideradas um dos melhores modelos de estudos na área da biologia. Outra vantagem é a possibilidade de investigação de células de difícil obtenção *in vivo*, citando-se os neurônios como um exemplo (RUSSO, 2015; CATELLI, 2016; REIS, 2017).

Figura 1 – Resumo do processo de obtenção das iPSC

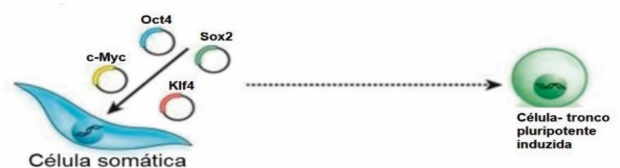


Fonte: Aznar e Tudela (2017, tradução nossa).

2.2.1 Tecnologia de reprogramação celular para obtenção de iPSC

A técnica de reprogramação celular por expressão de fatores transcricionais, esquematizada na Figura 2, foi estabelecida no experimento de Takahashi e Yamanaka para a geração de iPSC, sendo até os dias atuais o foco para o desenvolvimento de iPSC em virtude de sua alta eficiência (TAKAHASHI; YAMANAKA, 2006 apud CATELLI, 2016).

Figura 2 - Técnica de reprogramação por expressão de fatores transcricionais



Fonte: Yamanaka; Blau (2010 apud ARAÚJO, 2015).

A primeira etapa da reprogramação é a seleção da fonte celular. O tipo celular utilizado é um aspecto importante, pois interfere, diretamente, na eficiência e cinética do processo e deve considerar: suscetibilidade a reprogramação, facilidade de obtenção, eficiência e estabilidade para armazenamento (BROUWER; ZHOU; KASRI, 2016).

Os queratinócitos, por exemplo, obtidos de folículos capilares humanos sem procedimentos invasivos, possuem eficiência e um menor tempo para reprogramação (RE *et al.*, 2018). Células de polpa dentária se mostram uma excelente fonte de iPSC para a modelagem de doenças neuropsiquiátricas, em função de sua origem na crista neural a partir do ectoderma (RUSSO, 2015).

Uma vez escolhido o tipo celular é necessário selecionar os fatores transcripcionais para a reprogramação. Os fatores de Yamanaka são os mais utilizados e incluem Oct-4, Sox-2, Klf4 e c-Myc, porém outros já foram identificados e demonstraram eficiência no processo, como: SALL4, DAX1, ESRB, TBX3, TCL1, RIF1 e NAC1 (BROUWER; ZHOU; KASRI, 2016).

O fator de transcrição Oct-4 está relacionado com a promoção da diferenciação celular, sendo importante para a característica de autorrenovação das iPSCs. Sox-2 possui a capacidade de assegurar o desenvolvimento, formando com Oct-4 um heterodímero que impulsiona a expressão do fator transcricional Nanog. Klf4 bloqueia a expressão da proteína p53 promovendo a diferenciação da célula embrionária. Já c-Myc é necessário para o desenvolvimento embrionário normal, induzindo a acetilação global de histonas, favorecendo que Oct-4 e Sox-2 se liguem aos seus lócus específicos (BELTRÃO-BRAGA; MUOTRI, 2017).

Esses fatores podem ser adicionados na célula alvo por métodos de integração ao genoma, através de vetores retrovirais e lentivirais, e não integrativos utilizando vetores como vírus Sendai ou Adeno, vetor *Transposons piggy Bac*, vetor episomal, mRNA e microRNAs (LIM *et al.*, 2015).

Após adição dos fatores, as células somáticas sofrem mudanças epigenéticas até a obtenção de iPSC, incluindo metilação do DNA e alterações nas histonas, que redefinem sua expressão gênica e estabilizam a capacidade de autorrenovação (GIADYCH *et al.*, 2015).

Nos últimos dez anos, as iPSC contribuíram para o avanço das pesquisas biomédicas de transtornos neurológicos e neurodegenerativos, dado que ao serem diferenciadas em neurônios e neuróglia podem esclarecer seus mecanismos celulares e moleculares (LINDA; FIUZA; KASRI, 2018).

2.3 Transtorno do Espectro Autista: características e classificações

No ano de 2013, a 5ª edição do Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais (DSM-5) agrupou as subdivisões: Transtorno Autista, Transtorno de Rett, Transtorno Desintegrativo da Infância, Síndrome de Heller, Transtorno de Asperger e Transtorno Invasivo do Desenvolvimento Sem Outra Especificação, em um só grupo, o qual recebeu a

designação: Transtorno do Espectro Autista (TEA) (FAVERO, 2013; AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

A prevalência de pessoas com TEA aumentou nos últimos anos, segundo dados da Rede de Monitoramento de Autismo e Deficiências do Desenvolvimento, do Centro de Controle e Prevenção de Doenças, em 2000, a incidência de TEA, nos Estados Unidos, estava em 1 em cada 150 crianças. Em 2008, esse número atingiu a marca de 1 em cada 88 crianças, chegando em 2016, com estimativas de 1 em cada 54 crianças diagnosticadas (CHRISTENSEN *et al.*, 2016; CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS, 2020).

Entre as teorias para o aumento dos casos se considera que o aperfeiçoamento dos critérios diagnósticos favoreceu uma maior conscientização sobre o transtorno (POLYAK; KUBINA; GIRIRAJAN, 2015). Entretanto, também se correlaciona a fatores como: aumento dos fatores genéticos e ambientais predisponentes, riscos individuais como idade materna avançada, exposição a vírus e componentes teratogênicos (MAZUMDAR *et al.*, 2014).

No Brasil, ainda não existem dados oficiais sobre essa prevalência (PINTO *et al.*, 2016). Contudo, em julho de 2019, a Lei nº 13.861/19 tornou obrigatório que o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística inclua no Censo 2020 perguntas sobre o TEA para definir o número de portadores (PAIVA JUNIOR, 2019).

O DSM-5 definiu o TEA como um distúrbio do neurodesenvolvimento, cuja diáde diagnóstica engloba déficits persistentes na comunicação e interação social, associados aos padrões restritos e repetitivos de comportamento, de interesses ou de atividades (POSAR; VISCONTI, 2017).

O distúrbio persiste por toda vida do indivíduo, sendo altamente hereditário (LOOMES; HULL; MANDY, 2017). Um estudo de coorte multinacional de base populacional, com mais de 2 milhões de indivíduos, desses 22.156 com TEA nascidos nos países da Dinamarca, Finlândia, Suécia, Israel e Austrália Ocidental, concluiu que a herdabilidade do TEA seja de aproximadamente 80%, sendo as influências genéticas os principais fatores de risco (BAI *et al.*, 2019). O fenótipo do TEA é extremamente variável entre os portadores, podendo ser manifesto em uma série de doenças associadas (LIU *et al.*, 2016; BRITO *et al.*, 2017).

Um estudo realizado na cidade de Estocolmo, localizada na Suécia, avaliou 223.842 indivíduos entre 18 a 27 anos, desses 4.073 eram diagnosticados com TEA, dos quais 19,8% receberam o diagnóstico de depressão, comparando essa mesma faixa etária em indivíduos neuróticos somente 6% haviam apresentado o quadro. Além disso, a depressão foi cerca de 3,64 vezes maior em pacientes com TEA sem deficiência intelectual (RAI *et al.*, 2018). Essa proeminência da depressão em pacientes autistas sem deficiência intelectual se associa com as dificuldades que eles enfrentam em se enquadrarem em padrões sociais, e a sua vulnerabilidade ao bullying, consequentes do déficit na comunicação e

interação social (SRECKOVIC; BRUNSTING; ABLE, 2014; WIGHAM *et al.*, 2017).

Alterações sensoriais como hiperreatividade ou hiporreatividade são vistas em 45 a 95% dos casos de TEA (DELLAPIAZZA *et al.*, 2018). Entre as hipóteses para esses sintomas se encontram um aumento funcional de regiões cerebrais relacionadas às funções perceptuais básicas, aumento na reatividade e plasticidade dos circuitos neurais e uma baixa conectividade entre regiões distantes do córtex cerebral (BAUM; STEVENSON; WALLACE, 2015; POSAR; VISCONTI, 2018).

Outro problema frequente é a seletividade alimentar, consequência da aversão a aspectos do alimento, como: sabor, textura ou cheiro (CHISTOL *et al.*, 2017). Essa característica torna a dieta limitada, prejudicando a adequação nutricional (HUBBARD *et al.*, 2014; BANDINI *et al.*, 2016). Estudos indicam que esses pacientes ingerem menor quantidade de cálcio, magnésio, ferro, selênio, sódio, fósforo, folato vitamina D, B12, B2 e proteínas associados com a elevação na ingestão de vitamina C e E, potássio e ácidos graxos poli-insaturados (MEGUID *et al.*, 2017; ESTEBAN-FIGUEROLA *et al.*, 2019).

Entre 50 a 80% das crianças com TEA apresentam distúrbios no sono como atraso no início, menor duração, inquietação, insônia e objeção ao ato de dormir (LORD, 2019). São geralmente associados com a necessidade de os pacientes requererem um determinado objeto ou seguirem uma rotina específica para o início do sono (MOORE *et al.*, 2017). A hiperreatividade ao toque é considerada um fator-chave para as alterações no sono desses pacientes (TZISCHINSKY *et al.*, 2018). Outras causas incluem alterações neurobiológicas, como redução da ação dos neurotransmissores GABA e conservação da ação glutamatérgica e redução dos níveis do neuro-hormônio melatonina (GOLDMAN *et al.*, 2014; ROBERTSON; RATAI; KANWISHER, 2016).

O autismo na literatura é classificado em autismo síndrômico e autismo não síndrômico, essa separação possui como base aspectos genéticos (BURY; WYNshaw-BORIS, 2017). O autismo síndrômico é aquele que as causas genéticas são conhecidas, estando geralmente associado às síndromes genéticas (BELTRÃO-BRAGA; MUOTRI, 2017; BRITO *et al.*, 2017; BELL; WITTKOWSKI; HARE, 2018).

Estima-se que cerca de 5 a 10% dos casos de TEA são associados às síndromes, como: síndrome de Rett, síndrome de Angelman, síndrome de Prader-Willi, síndrome do X Frágil, síndrome de Phelan-McDermid, Complexo Esclerose Tuberosa, síndrome de Timothy (ST) (SCHMID, 2013; BORGES; MOREIRA, 2018).

Enquanto o autismo não síndrômico apresenta etiologia genética desconhecida, representando 90 a 95% dos casos. Pode ser resultado de uma série de anormalidades genéticas, existindo vários locos cromossômicos e alterações genéticas ainda não detectados envolvidos (AIGNER *et al.*, 2014).

A técnica de reprogramação de células somáticas e a

geração de iPSC tem se mostrado um modelo importante para a definição de mecanismos celulares e moleculares, que contribuem para a manifestação do autismo síndrômico e não síndrômico, fornecendo avanços importantes no seu estudo (LIU *et al.*, 2016; BELTRÃO-BRAGA; MUOTRI, 2017; MARCHETTO *et al.*, 2017; RUSSO *et al.*, 2019).

2.4 A modelagem do Transtorno do Espectro Autista

Apesar da procura pela etiologia do autismo ser antiga, por anos sua compreensão apresentou como obstáculo a ausência de modelos ideais de estudo (BRICK *et al.*, 2014). Durante décadas, as informações mais valiosas foram obtidas através de investigações em amostras *post-mortem* de pacientes. Todavia, essa obtenção era complicada e limitada, permitindo somente análises dos estágios finais da condição e impossibilitava ensaios funcionais (ACABE; MUOTRI, 2015).

Modelos animais ainda são empregados contribuindo com dados valiosos, porém exibem algumas barreiras, como o risco de não refletirem completamente o neurodesenvolvimento humano, o que poderia limitar o conhecimento do TEA, um distúrbio com um fenótipo restritamente humano (RUSSO *et al.*, 2019). Com o advento das iPSC, grandes déficits presentes nos modelos de estudo em animais e amostras *post-mortem* se tornaram possíveis de serem superados (SINISCALCO *et al.*, 2018).

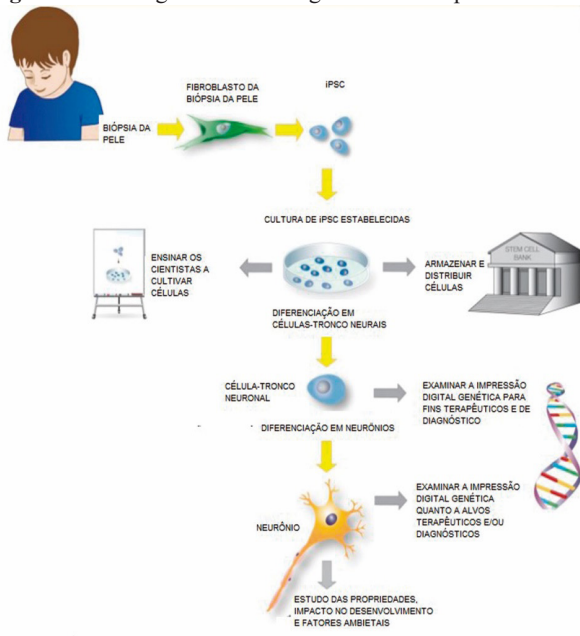
Os fibroblastos dérmicos são as células mais utilizadas na reprogramação, entretanto, o procedimento de biopsia de pacientes com o TEA se mostra dificultoso. Assim, para facilitar o procedimento, *células com acesso mais fácil foram utilizadas incluindo: células derivadas do sangue do cordão umbilical, queratinócitos do cabelo, células epiteliais renais esfoliadas da urina e de dentes decíduos de pacientes* (LIM *et al.*, 2015). Uma vez que as células somáticas do TEA são obtidas, e as iPSC são geradas, a etapa seguinte consiste na diferenciação em neurônios (LIU *et al.*, 2016).

Os métodos para a indução neural de iPSC incluem: cultura de células aderentes em monocamada e indução por meio de formação de corpo embrionário (NUMASAWA-KUROIWA *et al.*, 2014). A indução por formação de corpo embrionário é o mais utilizado para a modelagem *in vitro* do TEA. Os corpos embrionários são formados através do fator de crescimento bFGF, sendo convertidos em rosetas neurais. A diferenciação neural é obtida através dos Morfógenos *Wnt* e *SHH*, ácido retinóico e fator de crescimento de fibroblastos. Suas desvantagens são: elevado tempo e múltiplas etapas para a geração de células neurais maduras (KNIGHT *et al.*, 2018). No método de cultura de células aderentes em monocamada, a diferenciação neural é alcançada por inibição de proteínas da família SMAD, da via de sinalização TGF- β e das proteínas BMP (PRILUTSKY *et al.*, 2014).

Como ilustrado na Figura 3, a modelagem consiste em coletar células somáticas de voluntários com TEA, reprogramá-las em iPSC, e diferenciá-las em linhagens

neurais, subsequentemente, esses neurônios cultivados *in vitro* podem ser comparados aos de pessoas não afetadas (BRICK *et al.*, 2014).

Figura 3 - Visão geral da modelagem do TEA a partir de iPSC



Fonte: Brick *et al.* (2014, tradução nossa).

2.4.1 iPSC de portadores do TEA e as alterações neuronais evidenciadas

O autismo sintomático foi a primeira forma da condição a ser estudada através da modelagem com iPSC, sendo a síndrome de Rett a primeira forma do autismo sintomático a ser investigada (ACABE; MUOTRI, 2015).

Neurônios derivados de iPSC de pacientes com síndrome de Rett apresentam eletrofisiologia modificada, densidade dendrítica da coluna neuronal reduzida, número reduzido de sinapses, alterações no influxo de Ca^{2+} , menor tamanho da soma e núcleo e, retardo na maturação (FREITAS *et al.*, 2014; BEN-REUVEN; REINER, 2016). Outro estudo demonstra que neurônios derivados da síndrome de Rett exibem amplitude das correntes GABAérgicas de natureza espontânea reduzidas, diminuição nos níveis α -tubulina acetilada, proteína importante em diversas funções das células neuronais (LANDUCCI *et al.*, 2018). Revelando também a interrupção na dinâmica de seus microtúbulos, prejuízo na manutenção das sinapses e nas funções dos astrócitos (FINK; LEVINE, 2018; RUSSO *et al.*, 2019).

Neurônios derivados de iPSC, da síndrome do X Frágil, expressam menor quantidade de sinapses e de síntese de proteínas sinápticas, comprimento e funcionamento de neuritos (finos prolongamentos celulares) alterados e elevação transitória dos níveis de cálcio (RUSSO *et al.*, 2015). Diminuição da expressão da proteína sináptica PSD95, do comprimento de neurites, anormalidades funcionais e alteração na resposta para captação de glutamato (PRILUTSKY *et al.*, 2014). Recentemente, identificou-se que

os neurônios derivados da síndrome do X Frágil não propagam potenciais de ação consecutivos, tem ausência na maturação das respostas de GABA e redução da amplitude dos potenciais de ação (PAL; BHATTACHARYA, 2019).

Neurônios derivados a partir de iPSC da síndrome de Algelman demonstram intensa indução da expressão de *SNHG14* (STANUROVA *et al.*, 2016). Além de alterações na maturação do potencial de membrana em repouso, na propagação do potencial de ação e da atividade e plasticidade sináptica desses neurônios (FINK *et al.*, 2017).

Neurônios derivados a partir de iPSC de pacientes com síndrome de Timothy, outra forma de autismo sintomático, demonstram anormalidades no processo de sinalização de cálcio intracelular, elevação na expressão de catecolaminas e da enzima tirosina hidroxilase, redução do tamanho das células, que expressam marcadores das regiões corticais inferiores (FREITAS *et al.*, 2014). Outros estudos em neurônios iPSC, derivados da síndrome, indicam prejuízo na expressão dependente de atividade de genes frequentemente associados ao TEA e no processo de sinalização de cálcio, maior duração dos potenciais de ação, ruptura da motilidade dendrítica e despolarização, deficiência da proteína sináptica CaMKII (FINK; LEVINE, 2018).

Através de técnicas de edição do genoma, pesquisadores induziram mutações no gene *SHANK3* em neurônios derivados de iPSC, mostrando que as mutações nesse gene resultam em danos nos canais de cátions ativados por hiperpolarização, que se relacionam a uma redução da interação e transmissão sináptica. Esses dados sugeriram que os pacientes com TEA compartilham a presença de deficiências sinápticas (GOUDER *et al.*, 2019).

Outra investigação diferenciou neurônios de portadores de TEA com microdeleções no gene *SHANK3*. Quando comparados aos de indivíduos saudáveis demonstram diminuição de corpos celulares, aumento da ramificação de neurites, deficiência na retração e extensão de neurites e diminuição de motilidade (KATHURIA *et al.*, 2018).

Recentemente, neurônios e oligodendrócitos corticais derivados de iPSC do Complexo Esclerose Tuberosa revelaram aumento na atividade de rede neuronal e da densidade axonal, hipertrofia celular e quando cultivados com neurônios e oligodendrócitos derivados de iPSC, observou-se que as alterações neuronais se tornaram mais expressivas (NADADHUR *et al.*, 2019).

O primeiro modelo IPSC para estudar o autismo não sintomático foi estabelecido no ano de 2014. E constatou-se que esses neurônios exibiam: redução da densidade da coluna dendrítica e da arborização, alterações no desenvolvimento dendrítico e axonal, redução das correntes de Na^+ e sinapses excitatórias (GRIESI-OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Outro estudo observou que os neurônios derivados desses pacientes exibem alterações nas correntes pós-sinápticas excitatórias, na excitabilidade e redução nas correntes de Na^+

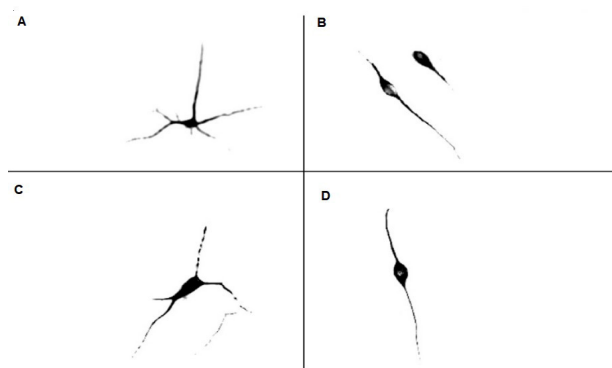
e K⁺. Ademais, relatou-se expressão diferencial de 161 genes já associados ao autismo (LIU *et al.*, 2017).

Células progenitoras neuronais derivadas de iPSC, de pacientes com autismo não síndrômico, evidenciaram diminuição da expressão de Reelin, aumento na ativação da via mTORC1, inter-relação cruzada atípica entre as cascatas de sinalização Reelin-DAB1 e mTORC1, transdução de sinal Reelin DAB1 deficiente (SÁNCHEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2018).

Ao analisar a conexão neuronal e interação entre astrócitos e neurônios derivados de iPSC, de pacientes com autismo não síndrômico, observou-se que os neurônios derivados de TEA possuem expressão diminuída de proteínas pré-sinápticas como SYN1 e proteínas pós-sinápticas como PSD95, diminuição das sinapses, de neurotransmissores glutamato, maior estresse oxidativo e maior nível de interleucina 6 nos astrócitos derivados (RUSSO *et al.*, 2018). Neurônios normais em co-cultura com astrócitos inflamados eram menos ativos, desenvolvendo menor conexão e ramificações. O contrário ocorreu ao cultivar neurônios derivados de iPSC de pacientes autistas em conjunto de astrócitos de indivíduos neurotípicos (RUSSO *et al.*, 2018).

A Figura 4 ilustra o impacto dos astrócitos no desenvolvimento neuronal, em que em (A) se mostra a morfologia de neurônio derivado de iPSC de pacientes normais cultivados com astrócito normais; (B) evidencia neurônio normal cultivado com astrócito autista; (C) neurônio autista cultivado com astrócito normal e (D) neurônio autista em cultura com astrócito autista (FREIRE, 2018).

Figura 4 - Impacto dos astrócitos no desenvolvimento neuronal em diferentes formas de co-cultivo



Fonte: Freire (2018).

Organoides produzidos a partir de iPSC, de autismo não síndrômico, demonstraram diminuição do ciclo celular, aumento do potencial proliferativo, superprodução de neurônios GABAérgicos, ausência de neurônios de glutamato e aumento do crescimento de neurites (MARIANI *et al.*, 2015). Em contrapartida, outra análise relatou que células progenitoras neurais derivadas de iPSC apresentavam diminuição de neurotransmissores GABA, proliferação celular mais rápida, desregulação na cascata de transcrição β -catenina/

BRN2. Os neurônios derivados de iPSC possuíam diminuição na sinaptogênese e anormalidade na neurogênese, redução nas sinapses excitatórias com menor densidade sináptica de transportadores de glutamato Vglut1 (MARCHETTO *et al.*, 2017).

Outros neurônios iPSC de autismo exibem: diminuição dos picos sinápticos, interrupção da sinalização de cálcio, alterações funcionais e de desenvolvimento de neurônios inibitórios GABAérgicos e anormalidades em vias de sinalização proteica do citoesqueleto, motilidade, diferenciação e orientação axonal (DEROSA *et al.*, 2018).

As evidências encontradas nos últimos anos, com base nos modelos iPSC, possibilitaram a identificação e caracterização de alterações neuronais compartilhadas entre autismo síndrômico e autismo não síndrômico. Em ambas as formas de TEA se verificam anormalidades neuronais que incluem alterações morfológicas e, principalmente, deficiências no processo sináptico (ACABE; MUOTRI, 2015).

2.5 Perspectivas e limitações da modelagem do TEA

Entre as perspectivas para a pesquisa do TEA se encontra o estabelecimento de consórcios de pesquisa (FREITAS *et al.*, 2014). A utilização de iPSC para o estudo e descoberta de novas drogas para o tratamento de condições sem intervenções farmacológicas eficazes (GOMATHI; BALACHANDAR, 2017; RUSSO *et al.*, 2019), e a aplicação das iPSC na área de transplantes *ex-vivos* e medicina personalizada (MUOTRI, 2015).

As limitações da tecnologia iPSC incluem: o fato de que apesar das condições fisiológicas em cultura mimetizarem os neurônios autistas não representam o cérebro real, existindo o risco de prejuízos no entendimento global de condição (BRITO *et al.*, 2017); números reduzidos de estudos abordando modelagem do autismo não síndrômico (ACABE; MUOTRI, 2015); baixa eficiência da reprogramação celular e o alto custo para a manutenção e manipulação das culturas de iPSC *in vitro* (GOMES *et al.*, 2017).

3 Conclusão

Esse trabalho fornece informações dos últimos nove anos (2010 a 2019) sobre o TEA para o meio científico e a sociedade. Reafirmando que o tema precisa ganhar atenção nas pesquisas, pois é uma condição reconhecida por gerar prejuízos, em vários setores do convívio social e profissional, não só dos pacientes como de seus familiares.

Os dados compilados demonstram que a modelagem do TEA, a partir de iPSC, forneceu conhecimento sobre alterações de natureza morfológica, na conectividade neuronal, função e maturação das sinapses em neurônios e neuróglia derivadas. Observando-se anormalidades funcionais importantes no estabelecimento de sinapses, modificações eletrofisiológicas, além de um desequilíbrio entre os estímulos excitatórios promovidos pelos neurotransmissores Glutamato e estímulos inibitórios pelos neurotransmissores GABA.

Embora a modelagem do TEA seja promissora, existem algumas limitações e obstáculos a serem superados. Apesar das condições fisiológicas da cultura de neurônios-iPSC mimetizarem os neurônios autistas, não representam o cérebro real, e assim existe o risco do prejuízo no entendimento global do transtorno. Existe a necessidade de um maior número de modelos iPSC do autismo não síndrômico, forma mais prevalente da condição, para que seja possível desenvolver uma biblioteca de modelos iPSC de uma grande população com TEA, para estabelecer dados estatísticos significativos entre fenótipos e caminhos moleculares similares entre pacientes distintos.

Agradecimentos

Ao apoio financeiro para incentivo a pesquisa do Centro Universitário Lusíada (UNILUS), e ao Núcleo de Estudos e Pesquisas em Biotecnologia e Biologia Molecular (NAPBMM), pela oportunidade de desenvolver este trabalho revisional com objetivo de contribuir com os estudos que abordam este tema.

Referências

ACABE, A.; MUOTRI, A. R. The use of induced pluripotent stem cell technology to advance autism research and treatment. *Neurotherapeutics.*, v.12, n.3, p.534-545, 2015. doi: 10.1007/s13311-015-0354-x.

AIGNER, S. *et al.* Human pluripotent stem cell models of autism spectrum disorder: emerging frontiers, opportunities, and challenges towards neuronal networks in a dish. *Psychopharmacology*, v.231, n.6, p.1089-1104, 2013. doi: 10.1007/s00213-013-3332-1.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM)*. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ARAÚJO, J.A.M. *Reprogramação de células-tronco mesenquimais em neurônios utilizando gens pró-neurais*. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2015.

AZNAR, J.; TUDELA, J. Diez años desde el descubrimiento de las células iPS: estado actual de su aplicación clínica. *Rev. Clín. Española.*, v.217, n.1, p.30-34, 2017. doi: 10.1016/j.rce.2016.08.003.

BAI, D. *et al.* Association of Genetic and Environmental Factors With Autism in a 5-Country Cohort. *Jama Psychiatr.*, p.1-9, 2019. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2019.1411.

BANDINI, L.G. *et al.* Changes in food selectivity in children with autism spectrum disorder. *J. Autism Develop. Dis.*, v.47, n.2, p.439-446, 2016. doi: 10.1007/s10803-016-2963-6.

BAUM, S.H.; STEVENSON, R.A.; WALLACE, M.T. Behavioral, perceptual, and neural alterations in sensory and multisensory function in autism spectrum disorder. *Progress Neurobiol.*, v. 134, p.140-160, 2015. doi: 10.1016/j.pneurobio.2015.09.007.

BELL, L.; WITTKOWSKI, A.; HARE, D. J. Movement disorders and syndromic autism: a systematic review. *J. Autism Develop. Dis.*, v.49, n.1, p.54-67, 2018. doi: 10.1007/s10803-018-3658-y.

BELTRÃO-BRAGA, P.C.B.; MUOTRI, A.R. Modeling autism spectrum disorders with human neurons. *Brain Res.*, v.1656, p.49-54, 2017. doi: 10.1016/j.brainres.2016.01.057.

BEN-REUVEN, L.; REINER, O. Modeling the autistic cell: iPSC recapitulate developmental principles of syndromic and non syndromic ASD. *Develop. Growth Differentiation.*, v.58, n.5, p.481-491, 2016. doi: 10.1111/dgd.12280.

BORGES, V.M.; MOREIRA, L.M.A. Transtorno do espectro autista: descobertas, perspectivas e Autism. *Rev. Ciênc. Méd. Biol.*, v.17, n.2, p.230-235, 2018. doi: 10.9771/cmbio.v17i2.21828.

BRICK, D. J. *et al.* The Autism spectrum disorders stem cell resource at children's hospital of orange county: implications for disease modeling and drug discovery. *Stem Cells Translational Med.*, v. 3, n. 11, p.1275-1286, 2014. doi: 10.5966/sctm.2014-0073.

BRITO, A. *et al.* Autism spectrum disorders and disease modeling using stem cells. *Cell Tissue Res.*, v.371, n.1, p.153-160, 2017. doi: 10.1007/s00441-017-2685-x.

BROUWER, M.; ZHOU, H.; KASRI, N.N. Choices for induction of pluripotency: recent developments in human induced pluripotent stem cell reprogramming strategies. *Stem Cell Reviews And Reports.*, v.12, n. 1, p.54-72, 2016. doi: 10.1007/s12015-015-9622-8.

BURY, L.A.; WYNshaw-BORIS, A. Modeling non-syndromic Autism with human-induced pluripotent stem cells. *Neuropsychopharmacology.*, v.43, n.1, p.219-220, 2017. doi: 10.1038/npp.2017.195.

CATELLI, L. F. *Geração de células-tronco pluripotentes induzidas (hiPSCs) a partir de células somáticas de indivíduos com fenótipo de interesse para transfusões sanguíneas*. 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS. *Rede de Monitoramento de Autismo e Deficiências do Desenvolvimento: dados e estatísticas sobre Transtorno do espectro do autismo*. Estados Unidos, 2020.

CHISTOL, L.T. *et al.* Sensory sensitivity and food selectivity in children with autism spectrum disorder. *J. Autism Develop. Dis.*, v.48, n.2, p.583-591, 2017. doi: 10.1007/s10803-017-3340-9.

CHRISTENSEN, D.L. *et al.* Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years: autism and developmental disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2012. *Mmwr. Surveillance Summaries.*, v.65, n.3, p.1-23, 2016. doi: 10.15585/mmwr.ss6503a1.

DELLAPIAZZA, F. *et al.* Links between sensory processing, adaptive behaviours, and attention in children with autism spectrum disorder: A systematic review. *Psychiatr. Res.*, v.270, p.78-88, 2018. doi: 10.1016/j.psychres.2018.09.023.

DEROSA, B. A. *et al.* Convergent pathways in idiopathic autism revealed by time course transcriptomic analysis of patient-derived neurons. *Sci. Reports*, v.8, n.1, p.1-15, 2018. doi: 10.1038/s41598-018-26495-1.

ESTEBAN-FIGUEROLA, P. *et al.* Differences in food consumption and nutritional intake between children with autism spectrum disorders and typically developing children: A meta-analysis. *Autism.*, v.23, n.5, p.1079-1095, 2019. doi: 10.1177/1362361318794179.

FAVERO, N. DSM V, Autismo, Asperger: TEA, 2013. Disponível em: <<https://nadjafavero.wordpress.com/2013/06/05/dsm-v-e-tea>>. Acesso em: 17 jan. 2021.

FINK, J.J. *et al.* Disrupted neuronal maturation in Angelman syndrome-derived induced pluripotent stem cells. *Nature Communications.*, v.8, n.1, p.1-14, 2017. doi: 10.1038/ncomms15038.

- FINK, J. J.; LEVINE, E. S. Uncovering true cellular phenotypes: using induced pluripotent stem cell-derived neurons to study early insults in neurodevelopmental disorders. *Frontiers In Neurology.*, v. 9, p.1-15, 2018. doi: 10.3389/fneur.2018.00237.
- FREIRE, D. Mais uma possível causa do autismo. *Pesquisa Fapesp.*, v. 236, n., p.50-55, 2018.
- FREITAS, B. C. G. *et al.* Stem cells and modeling of autism spectrum disorders. *Experimental Neurology.*, v.260, p.33-43, 2014. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.09.017.
- GIADYCH, M. *et al.* Review Epigenetic mechanisms of induced pluripotency. *Współczesna Onkologia.*, v. 1, p.30-38, 2015. doi: 10.5114/wo.2014.47135.
- GOLDMAN, S. E. *et al.* Melatonin in children with autism spectrum disorders: endogenous and pharmacokinetic profiles in relation to sleep. *J. Autism Develop. Dis.*, v.44, n.10, p.2525-2535, 2014. doi: 10.1007/s10803-014-2123-9.
- GOMATHI, M.; BALACHANDAR, V. Novel therapeutic approaches: rett syndrome and human induced pluripotent stem cell technology. *Stem Cell Invest.*, v.4, n.3, p.20-20, 2017. doi: 10.21037/sci.2017.02.11.
- GOMES, K.M.S. *et al.* Induced pluripotent stem cells reprogramming: Epigenetics and applications in the regenerative medicine. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, v.63, n.2, p.180-189, 2017. doi: 10.1590/1806-9282.63.02.180.
- GOUDER, L. *et al.* Altered spinogenesis in iPSC-derived cortical neurons from patients with autism carrying de novo SHANK3 mutations. *Scientific Reports.*, v.9, n.1, p.1-14, 2019. doi: 10.1038/s41598-018-36993-x.
- GRIESI-OLIVEIRA, K. *et al.* Modeling non-syndromic autism and the impact of TRPC6 disruption in human neurons. *Mol. Psychiatr.*, v.20, n.11, p.1350-1365, 2014. doi: 10.1038/mp.2014.141.
- GRIESI-OLIVEIRA, K.; SERTIÉ, A. L. Autism spectrum disorders: an updated guide for genetic counseling. *Einstein (São Paulo)*, v.15, n.2, p.233-238, 2017. doi: 10.1590/s1679-45082017rb4020.
- HUBBARD, K.L. *et al.* A comparison of food refusal related to characteristics of food in children with autism spectrum disorder and typically developing children. *J. Academy Nutr. Dietetics.*, v.114, n.12, p.1981-1987, 2014. doi: 10.1016/j.jand.2014.04.017.
- KATHURIA, *et al.* Stem cell-derived neurons from autistic individuals with SHANK3 mutation show morphogenetic abnormalities during early development. *Mol. Psychiatr.*, v. 23, n.3, p.735-746, 2017. doi: 10.1038/mp.2017.185.
- KNIGHT, G. T. *et al.* Engineering induction of singular neural rosette emergence within hPSC-derived tissues. *Elife.*, v.7, p.1-11, 2018. doi: 10.7554/elife.37549.
- LANDUCCI, E. *et al.* iPSC-derived neurons profiling reveals GABAergic circuit disruption and acetylated α -tubulin defect which improves after iHDAC6 treatment in Rett syndrome. *Experimental Cell Res.*, v.368, n.2, p.225-235, 2018. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.05.001.
- LI, Y. *et al.* Abnormal neural progenitor cells differentiated from induced pluripotent stem cells partially mimicked development of TSC2 neurological abnormalities. *Stem Cell Reports.*, v.8, n.4, p.883-893, 2017. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.02.020.
- LIM, C. S. *et al.* Understanding the molecular basis of autism in a dish using hiPSCs-derived neurons from ASD patients. *Molecular Brain.*, v.8, n.1, p.1-17, 2015. doi: 10.1186/s13041-015-0146-6.
- LINDA, K.F.C.; KASRI, N.N. The promise of induced pluripotent stem cells for neurodevelopmental disorders. *Progress Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatr.*, v.84, p.382-391, 2018. doi: 10.1016/j.pnpbp.2017.11.009.
- LIU, X. *et al.* Idiopathic autism: cellular and molecular phenotypes in pluripotent stem cell-derived neurons. *Mol. Neurobiol.*, v.54, n.6, p.4507-4523, 2016. doi: 10.1007/s12035-016-9961-8.
- LIU, Y.N.; LU, S.Y.; YAO, J. Application of induced pluripotent stem cells to understand neurobiological basis of bipolar disorder and schizophrenia. *Psychiatr. Clin. Neurosc.*, v.71, n.9, p.579-599, 2017. doi: 10.1111/pcn.12528.
- LOOMES, R.; HULL, L.; MANDY, W.P.L. What is the male-to-female ratio in autism spectrum disorder? a systematic review and meta-analysis. *J. Am. Academy Child Adolesc. Psychiatr.*, v.56, n.6, p.466-474, 2017. doi: 10.1016/j.jaac.2017.03.013.
- LORD, C. Taking Sleep Difficulties Seriously in Children With Neurodevelopmental Disorders and ASD. *Pediatrics.*, v.143, n.3, p.1-5, 2019. doi:10.1542/peds.2018-2629.
- MARCHETTO, M. C. *et al.* Altered proliferation and networks in neural cells derived from idiopathic autistic individuals. *Mol. Psychiatr.*, v.22, n.6, p.820-835, 2016. doi: 10.1038/mp.2016.95.
- MARIANI, J. *et al.* FOXP1-Dependent Dysregulation of GABA/Glutamate Neuron Differentiation in Autism Spectrum Disorders. *Cell.*, v.162, n.2, p.375-390, 2015. doi: 10.1016/j.cell.2015.06.034.
- MAZUMDAR, S. *et al.* Spatial clusters of autism births and diagnoses point to contextual drivers of increased prevalence. *Soc. Sci. Med.*, v.95, p.87-96, 2014. doi: 10.1016/j.socscimed.2012.11.032.
- MEGUID, N. A. *et al.* Dietary adequacy of Egyptian children with autism spectrum disorder compared to healthy developing children. *Metabolic Brain Dis.*, v.32, n.2, p.607-615, 2017. doi: 10.1007/s11011-016-9948-1.
- MOORE, M. *et al.* Assessment of sleep in children with autism spectrum disorder. *Children*, v.4, n.8, p.72-89, 2017. doi: 10.3390/children4080072.
- NADADHUR, A. G. *et al.* Neuron-glia interactions increase neuronal phenotypes in tuberous sclerosis complex patient ipsc-derived models. *Stem Cell Reports.*, v.12, n.1, p.42-56, 2019. doi: 10.1016/j.stemcr.2018.11.019.
- NUMASAWA-KUROIWA, Y. *et al.* Involvement of ER Stress in Dysmyelination of Pelizaeus-Merzbacher Disease with PLP1 Missense Mutations Shown by iPSC-Derived Oligodendrocytes. *Stem Cell Reports.*, v.2, n.5, p.648-661, 2014. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.03.007.
- PAIVA JUNIOR, F. Quantos Autistas há no Brasil? *Rev. Autismo*, v.4, n.5, p.20-23, 2019.
- PAL, R.; BHATTACHARYA, A. Modelling Protein Synthesis as A Biomarker in Fragile X Syndrome Patient-Derived Cells. *Brain Sciences.*, v.9, n.3, p.59-92, 2019. doi: 10.3390/brainsci9030059.
- PINTO, R.N.M. *et al.* Autismo infantil: impacto do diagnóstico e repercussões nas relações familiares. *Rev. Gaúcha Enferm.*, v.37, n.3, p.1-9, 2016. doi: 10.1590/1983-1447.2016.03.61572.
- POLYAK, A.; KUBINA, R.M.; GIRIRAJAN, S. Comorbidity of intellectual disability confounds ascertainment of autism: implications for genetic diagnosis. *American Journal Of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics.*, v.168, n.7, p.600-608, 2015. doi: 10.1002/ajmg.b.32338.
- POSAR, A.; VISCONTI, P. Autism in 2016: the need for answers. *J. Pediatr.*, v. 93, n. 2, p.111-119, 2017. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.09.002.
- POSAR, A.; VISCONTI, P. Sensory abnormalities in children

- with autism spectrum disorder. *J. Pediatr.*, v. 94, n. 4, p.342-350, 2018. doi: 10.1016/j.jpmed.2017.08.008.
- PRILUTSKY, D. *et al.* iPSC-derived neurons as a higher-throughput readout for autism: promises and pitfalls. *Trends Mol. Med.*, v.20, n.2, p.91-104, 2014. doi: 10.1016/j.molmed.2013.11.004.
- RAI, D. *et al.* Association Between Autism Spectrum Disorders With or Without Intellectual Disability and Depression in Young Adulthood. *Jama Network Open.*, v. 1, n. 4, p.1-11, 2018. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2018.1465.
- RE, S. *et al.* Improved generation of induced pluripotent stem cells from hair derived keratinocytes: a tool to study neurodevelopmental disorders as ADHD. *Frontiers Cell. Neurosc.*, v.12, p.1-11, 2018. doi: 10.3389/fncel.2018.00321.
- REIS, L.C.J.. Células tronco pluripotentes induzidas para o estudo e tratamento da anemia falciforme.2017. 44 f. Tese (Doutorado em Farmacia), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.
- ROBERTSON, C.E.; RATAI, E.M.; KANWISHER, N. Reduced GABAergic Action in the Autistic Brain. *Current Biol.*, v. 26, n. 1, p.80-85, 2016. doi: 10.1016/j.cub.2015.11.019.
- RUSSO, F. B. *et al.* Induced pluripotent stem cells for modeling neurological disorders. *World J. Transplantation.*, v.5, n.4, p.209-223, 2015. doi: 10.5500/wjt.v5.i4.209.
- RUSSO, F. B. *et al.* Modeling the Interplay Between Neurons and Astrocytes in Autism Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Biol. Psychiatr.*, v.83, n.7, p.569-578, 2018. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.09.021.
- RUSSO, F. B. *et al.* The use of iPSC technology for modeling Autism Spectrum Disorders. *Neurobiology Of Disease.*, v. 130, p.104483-104493, 2019. doi: 10.1016/j.nbd.2019.104483.
- SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, S.M. *et al.* Rare RELN variants affect Reelin-DAB1 signal transduction in autism spectrum disorder. *Human Mutation.*, v. 39, n. 10, p.1372-1383, 2018. doi: 10.1002/humu.23584.
- SCHMID, C. *Autismo, educação e transdisciplinaridade.* São Paulo: Papyrus, 2013.
- SINISCALCO, D. *et al.* Stem cell therapy in autism: recent insights. *Stem Cells Clon. Adv. Applications.*, v.11, p.55-67, 2018. doi: 10.2147/sccaa.s155410.
- SRECKOVIC, M. A.; BRUNSTING, N. C.; ABLE, H. Victimization of students with autism spectrum disorder: A review of prevalence and risk factors. *Res. Autism Spectrum Dis.*, v.8, n.9, p.1155-1172, 2014. doi: 10.1016/j.rasd.2014.06.004.
- STANUROVA, J. *et al.* Angelman syndrome-derived neurons display late onset of paternal UBE3A silencing. *Scie. Reports.*, v 6, n.1, p.1-9, 2016. doi: 10.1038/srep30792.
- TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. Induced pluripotent stem cells in medicine and biology. *Development.*, v. 140, n. 12, p.2457-2461, 2013. doi: 10.1242/dev.092551.
- TZISCHINSKY, O. *et al.* Sleep disturbances are associated with specific sensory sensitivities in children with autism. *Mol. Autism.*, v.9, n.1, p.9-22, 2018. doi: 10.1186/s13229-018-0206-8.
- WIGHAM, S. *et al.* A systematic review of the rates of depression in children and adults with high-functioning autism spectrum disorder. *J. Mental Health Res. Intellectual Dis.*, v.10, n.4, p.267-287, 2017. doi: 10.1080/19315864.2017.1299267.