

Artigo de revisão

Patricia Ucelli Simioni¹
Helamã Moraes Dos Santos¹
Leila Aidar Ugrinovich^{1,2,3}

Aplicação das células-tronco pluripotentes induzidas na investigação do autismo: uma revisão

Application of pluripotent stem cells induced in autism research: a review

ABSTRACT

The technology of induced pluripotent stem cells has evolved in recent years, considering the effects of cell reprogramming and its application in the treatment of diseases. In parallel, there is an increase in the incidence of individuals diagnosed with Autism Spectrum Disorders, in studies related to particular aspects, not only behavioral, but also physiological changes and associated social impacts. Within this, the applicability of Induced Pluripotent Stem Cells in medical research is observed, as it allows the creation of new tissues in vitro for various purposes such as regeneration of necrotic tissues, impacts of drugs, investigation of mechanisms of various diseases, among others. Autism modeling studies were performed by obtaining stem cells by reprogramming adult somatic cells. In vitro analyzes have shown that autism manifests itself mainly in three different ways: in astrocytes, preventing the full maturation and support of neurons, in stimulating inflammatory processes in the neural tissue and, finally, in the protein structuring in the channels that make up the synaptic clefts.

RESUMO

A tecnologia das células-tronco pluripotentes induzidas tem evoluído nos últimos anos, a considerar os efeitos da reprogramação celular e sua aplicação no tratamento de doenças. Paralelamente, observa-se um aumento na incidência de indivíduos diagnosticados com os Transtornos do Espectro do Autismo, em estudos relacionados a aspectos particulares, não só comportamentais, mas também alterações fisiológicas e impactos sociais associados. Dentro disto, observa-se a aplicabilidade das Células-tronco Pluripotentes Induzidas nas pesquisas médicas, por possibilitar a criação de novos tecidos in vitro para diversas finalidades como regeneração de tecidos necrosados impactos de medicamentos, investigação de mecanismos de variadas doenças, entre outros. Os estudos de modelagem do autismo foram realizados por meio da obtenção das células-tronco pela reprogramação de células somáticas adultas. As análises in vitro têm demonstrado que o autismo se manifesta, principalmente, de três formas distintas: nos astrócitos, impedindo a plena maturação e suporte aos neurônios, na estimulação de processos inflamatórios no tecido neural e, por fim, na estruturação proteica nos canais que compõem as fendas sinápticas.

KEYWORDS

Induced Pluripotent Stem Cells; Cells Reprogramming; Disease Modeling; Autism; Autism Spectrum Disorder

PALAVRAS-CHAVE

Células-Tronco Pluripotentes Induzidas, Reprogramação Celular, Modelagem De Doenças, Autismo, Transtorno Do Espectro Autista

AUTOR CORRESPONDENTE:

Patricia Ucelli Simioni
<psimioni@gmail.com>
Av. Joaquim Bôer, 733 - Jardim Luciane,
13477-360, Americana – SP, Brasil

INTRODUÇÃO

Desde sua descoberta inicial, ao serem isoladas em camundongos, no início dos anos 80, as células-tronco têm tido destaque na comunidade científica, principalmente por sua capacidade de diferenciação (EVANS, KAUFMAN, 1981). Atualmente, as células-tronco podem ser definidas por três critérios principais: plasticidade, potencial de autorrenovação (propriedade de multiplicar-se, mantendo o seu estado indiferenciado) e capacidade de reconstituição de um determinado tecido (BYDLOWSKI et al, 2009; LAKSHMIPATHY, VERFAILLIE, 2005; PHILLIPS, GASSEI, ORWIG, 2010).

Nesse sentido, observou-se que, ao serem inseridos determinados fatores de transcrição em fibroblastos maduros de camundongos, estas células expressam características idênticas às das células-tronco embrionárias, com grande capacidade de diferenciação celular (TAKAHASHI, YAMANAKA; 2006). No que tange a tal perspectiva, verificou-se a possibilidade de novas aplicações para as células-tronco pluripotentes induzidas, devido à capacidade da reprodução *in vitro* de tecidos diferenciados e maduros. Dessa forma, juntamente com os recentes progressos na área de edição genética (como a metodologia de CRISPR-Cas9), essa técnica tem trazido avanços na investigação dos mecanismos biológicos de patologias como o autismo (SHI et al.; 2016).

Consoante a isto, o Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) corresponde a um conjunto de transtornos de neuro-desenvolvimento, nos quais os portadores apresentam dificuldades de estabelecer relações comunicativas e sociais (SILVA, MULLICK; 2009). Nesse contexto, os estudos de doenças de caráter neuropsicológico podem trazer resultados positivos para a assistência a estes indivíduos, embora os recursos para o entendimento desse transtorno sejam limitados (TEIXEIRA, 2010; MUOTRI, 2010).

O entendimento das manifestações biológicas de doenças, tanto nas propriedades moleculares e teciduais, bem como possíveis investigações de terapias mais eficazes e específicas podem melhorar a qualidade de vida dos portadores desse transtorno (MUOTRI, 2010). Desse modo, o presente estudo possui como objetivo fundamental teoricamente, através de revisão literária, os aspectos que envolvem a utilização e aplicação das células-tronco pluripotentes induzidas na pesquisa dos mecanismos biológicos envolvidos no Transtorno do Espectro do Autismo (TEA).

DESENVOLVIMENTO

O presente estudo trata-se de um trabalho de revisão literária de caráter expositivo-descritivo, abordando a tecnologia das iPSC e sua aplicabilidade na pesquisa de distúrbios neurológicos como o autismo. A metodologia utilizada para o desenvolvimento deste trabalho consistiu na busca de artigos científicos eletrônicos nacionais e internacionais em pesquisa nas bases de dados de sites acadêmicos, como Scielo, Pubmed e Google Acadêmico, por meio dos termos “células-tronco pluripotentes induzidas”, “reprogramação celular”, “modelagem de doenças”, “autismo” e “transtorno do espectro autista”. Foram selecionados artigos cujo temática principal se

relacionavam com células tronco pluripotentes induzidas e o transtorno do espectro autista nas línguas portuguesa e inglesa. Inicialmente, foram selecionados 110 artigos, sendo que, após avaliação criteriosa, os manuscritos que se adequaram à proposta foram restritos a 53 artigos com publicação recente. Artigos com mais de dez anos de publicação e livros foram selecionados apenas quando de grande relevância na conceituação de alguns termos e tema. Os critérios de seleção principais foram: relevância com o tema, acessibilidade gratuita e impacto sociocientífico. Os demais artigos descrevendo outros tipos de células tronco, ou mesmo que não associassem à população com o tratamento do transtorno de autismo, foram excluídos da seleção.

O TEA compreende um grupo de transtornos de desenvolvimento neurológico do qual fazem parte o autismo idiopático, a síndrome de Asperger, síndrome de Rett, o transtorno desintegrativo da infância, o autismo atípico, entre outros. De forma geral, esses transtornos comprometem o estabelecimento de interações sociais e comunicativas - de caráter verbal ou não - com comportamentos peculiares restritos, estereotipados e comumente repetitivos (SILVA, MULLICK, 2009). Constatou-se, em estudos recentes, que cerca de 1% da população mundial é acometida por algum destes transtornos, sendo a incidência predominantemente maior no sexo masculino (BROEK et al., 2014; GEIER et al., 2012).

No Transtorno do Espectro Austista, os indivíduos afetados apresentam dificuldades de diversas naturezas, tais como problemas sensoriais, sendo impedidos de estabelecer assimilações comuns a estímulos audiovisuais, gustativos e táteis. Em alguns casos, esses pacientes são pouco sensíveis e altamente vulneráveis aos mesmos tipos de estímulos (NEWSOM, HOVANITZ, 2006; BARBARESI, KATUSIC, VOIGT, 2006). Inclusive, problemas de caráter neurológicos são comuns, como convulsões, epilepsia, entre outras disfunções, incluindo níveis de atraso mental (GILBERT, COLEMAN, 1996). Classicamente, os distúrbios comportamentais mais frequentes são dificuldades de concentração, hiperatividade associada à impulsividade, e em alguns casos, comportamentos agressivos com acessos raivosos repentinos (LINDSAY, AMAN, 2003).

Em países desenvolvidos, como Estados Unidos e alguns países europeus, o diagnóstico de crianças com o autismo se dá por volta dos 3 a 4 anos, idade em que as manifestações clínicas tornam-se mais evidentes (GEIER et al., 2012). No Brasil, o prazo estimado para o diagnóstico clínico da doença é maior, ocorrendo por volta dos 7 anos de idade (GEIER et al., 2012; SILVA, MULLICK, 2009).

Além disso, estudos recentes têm demonstrado que sua etiologia advém de causas genéticas (MUHLE, TRENTACOSTE, RAPIN, 2004; GAUGLER et al, 2014; GARCIA, 2016; CARVALHEIRA, VERGANI, BRUNONI, 2004). Carvalheira e outros (2004), ao mapearem geneticamente os portadores do TEA, verificaram que cerca de 20% dos casos advém de sequências gênicas definidas.

Recentemente, foram descritos mais de 30 genes associados a alguma doença a qual o espectro do transtorno autista abrange. Investiga-se seus efeitos nos processos de

regulação sináptica e de transcrição na síntese proteica dos neurônios e, conseqüente regulação nos potenciais de ação, entre outras implicações peculiares do sistema nervoso (DE RUBEIS et al., 2014).

Estudos visam comprovar a relação entre o autismo e fatores ambientais (MOORE, 2000). Desse modo, comprovaram-se anomalias mentais e más formações nervosas ocasionadas pelo consumo excessivo de álcool, assim como de fármacos e abuso de drogas por parte da gestante. Logo, esta exposição relaciona-se diretamente ao aumento da incidência de portadores da doença (XIE, ZHANG, 2015; RUSSO, 2015; COURCHESNE et al, 2007).

Com o crescimento da incidência de indivíduos portadores do autismo, torna-se evidente a necessidade de métodos de diagnóstico e tratamento mais eficazes e, principalmente, uma compreensão mais abrangente a respeito da fisiopatologia desse distúrbio neurológico nos indivíduos acometidos com a finalidade de contribuir aos avanços médicos e proporcionar uma melhor qualidade de vida. Nesse sentido, as pesquisas com a tecnologia das células-tronco pluripotentes induzidas demonstram ser promissoras (TEIXEIRA, 2010; MUOTRI, 2010). Um estudo conduzido por Takahashi e Yamanaka (2006) constatou, por meio da inserção de determinados fatores - nomeados de fatores Yamanaka - em fibroblastos de camundongos adultos, a presença de células com um perfil de expressão gênica idêntico ao das células-tronco. obtidas em estágios embrionários dada a sua pluripotência. Em suma, foi possível reprogramar células diferenciadas de tecidos adultos em células com capacidade de autorrenovação e diferenciação embrionárias (TAKAHASHI, YAMANAKA, 2006).

A despeito das células pluripotentes, vale ressaltar que essas apresentam marcadores específicos que caracterizam seu estágio indiferenciado. Na base genética-molecular, está a tríade composta pelos genes Oct4, Sox2 e Nanog. Esses genes são ativados por fatores de transcrição e regulam outros genes, que irão inibir vias fundamentais para o desenvolvimento e proliferação celular. Metabolicamente, observa-se uma alta atividade das enzimas telomerasas - cuja função básica é auxiliar na estruturação do DNA - e da fosfatase alcalina (ROCHA, 2012).

As análises das iPSC (*Induced Pluripotent Stem Cell*) foram inicialmente realizadas em camundongos. Porém, Yamanaka e sua equipe demonstraram realizar a reprogramação celular pela inserção dos fatores Yamanaka - Oct3/4, Sox2, Klf4 e c-Myc - em fibroblastos humanos adultos, possuindo a mesma capacidade germinativa, proliferação, expressão gênica, entre outras características das células em estados embrionários (YAMANAKA et al, 2007). A reprogramação celular propiciada pelas iPSC adveio da utilização de vetores retrovirais pelo método de transdução, com a inserção de um vírus carreador dos genes dos fatores Oct3/4, Sox2, Klf4 e c-Myc em um fibroblasto humano adulto. Em um período médio de 30 dias, foi possível observar colônias de células-tronco pluripotentes induzidas, atestando assim a sua desdiferenciação, ou reprogramação, de maneira completa e espontânea (YAMANAKA et al, 2007).

Vale ressaltar também o contraste que a tecnologia das iPSC, em comparação ao método de transferência nuclear das células-tronco embrionárias (NT-ESC), método este pioneiro nos estudos de células-tronco (WOLF et al., 2016; SHI et al, 2016). Uma das principais vantagens desse método é não utilizar oocistos ou embriões em fases pré-implantatórias, o que traz um diferencial médico-científico por evitar questões éticas (TAKEUCHI, TANNURI, 2006). Entretanto, ele apresenta algumas desvantagens, pois os estudos realizados até o presente momento não eliminam completamente as marcas epigenéticas residuais dessas células, o que pode causar uma instabilidade genética e posterior diferenciação em linhagens celulares distintas (WOLF et al., 2016)

Outra desvantagem é a utilização de vetores virais, o que gera preocupação com possíveis mutações causadas pela integração dos genes virais no material genético da célula hospedeira, bem como o risco de reatividade imunológica (WOLF et al., 2016; ROCHA, 2012). Apesar das limitações, acredita-se que essa tecnologia seja a chave para a compreensão do mecanismo de doenças psiquiátricas complexas, como a esquizofrenia e o autismo (MUOTRI, 2010).

Contudo, um dos principais benefícios médico-científico que essa tecnologia apresenta é a modelagem *in vitro* de doenças quando comparada a outros métodos tradicionais, uma vez que, sua pluripotência a torna capaz de dar origem a uma diversidade de tipos celulares (SHI et al, 2016; MARCHETTO et al, 2008). A fase inicial da modelagem de doenças se dá pela reprogramação celular, com inserção dos fatores de transcrição acima citados no tecido extraído e indução de sua desdiferenciação (YAMANAKA et al, 2007). O processo de reprogramação celular resume-se num procedimento onde uma cultura de células com características diferenciadas torna-se indiferenciada, com capacidade pluripotente, por meio da expressão, induzindo fatores de transcrição específicos (ROCHA, 2012).

As primeiras doenças de natureza neurológica estudadas pelo método de reprogramação celular *in vitro* foram a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA), a doença de Parkinson e a Distrofia Muscular de Duchenne (EBERT et al., 2009; SOLDNER et al., 2009; PARK et al., 2008; DIMOS et al., 2008).

A primeira fase para a modelagem de doenças utilizando esta tecnologia é a obtenção de células somáticas adultas. Russo (2015) propôs a obtenção de células neurais a partir da reprogramação de células da polpa de dente decíduo esfoliado de indivíduos controle – neurotípicos – e portadores do TEA de doadores voluntários, para a modelagem de uma patologia dentro do espectro autista – o autismo idiopático (RUSSO, 2015).

Ressalta-se que, mesmo reprogramadas, estas células promovem a manutenção da memória gênica e, por essa razão, o tecido neural tanto das amostras controle quanto as autistas devem manifestar o comportamento original dos respectivos indivíduos (MARCHETTO et al, 2008).

O próximo passo é a inserção dos fatores de transcrição – ou fatores Yamanaka - nas células previamente tratadas na cultura. Este processo, geralmente, é realizado com o auxílio de vetores retrovirais; porém,

tem-se descrito uma variabilidade de opções alternativas para realizar esta inserção como a utilização de plasmídeos, RNA sintetizados, transposons – porções de DNA móveis capazes de replicar-se no material genético da célula hospedeira - e até mesmo proteínas recombinantes purificadas (OKITA et al, 2011; WARREN et al, 2010; PATEL, YANG, 2010; BELAY et al, 2011; KIM et al, 2009).

A reprogramação dos fibroblastos realizada por Yamanaka, nos estudos pioneiros, eram lentas e levavam, em média, um período de 30 dias. Atualmente, tem-se prazos menores, de aproximadamente 5 dias, em média, no período pós-transdução, para o aparecimento das primeiras colônias de células-tronco pluripotentes induzidas (TAKAHASHI, YAMANAKA, 2006; YAMANAKA et al, 2007; RUSSO, 2015).

Os fatores Oct4 e Sox2 agem como interruptores do processo de transcrição comum das células e de igual maneira ativam o gene Nanog formando a tríade pluripotente já citada anteriormente. Combinados, eles tornam-se reguladores das vias bioquímicas responsáveis pela proliferação, regulação, diferenciação, entre outros diversos processos de desenvolvimento celular, e, por sua vez, os genes Klf4 e c-Myc têm sua ação concentrada na mitose, regulando as divisões celulares, induzindo alterações constantes no estado epigenético celular (LIU, 2008).

Em síntese, ao introduzir tais fatores de transcrição, há a indução de genes endógenos dos quais ativam uma cascata autorregulatória transcricional de pluripotência. Essa ação regulatória silencia, por ação dos genes promotores, a ação dos fatores exógenos. Uma vez que há essa interrupção externa, as iPSC's reprogramam-se, em seu estado pluripotente, unicamente dependente do processo transcricional interno (JAENISCH, YOUNG, 2008; HOTTA, ELLIS, 2008).

Nessa lógica, uma vez que a obtenção das células-tronco pluripotente induzidas é realizada, é necessário diferenciá-las em células neurais. Sendo assim, para o estudo do comportamento biológico autista, diferenciaram-se, inicialmente, uma célula precursora neural que dará a origem à linhagem dos neurônios e das células da glia, predominantemente astrócitos, as quais são as células alvo para o entendimento proposto (MUOTRI, 2010; RUSSO, 2015).

Os neurônios são importantes por representarem o papel central na fisiopatologia do TEA. Os astrócitos, por sua vez, têm demonstrado a atuação dessas células no desenvolvimento de neuropatias, principalmente as de caráter neurodegenerativo, como o Transtorno do Espectro Autista (DEROSA et al, 2012; GOMES, TORTELLI, DINIZ, 2013). Concluiu-se que, os astrócitos desempenham um papel fundamental na maturação dos neurônios, atuando tanto na capacidade de retardar o desenvolvimento, quanto na recuperação estrutural e funcional dos mesmos (RUSSO, 2015; RUSSO et al., 2018).

Essa interferência na estrutura dos neurônios e posterior formação e comunicação intercelular é uma característica do autismo e age, principalmente, na sinaptogênese ocasionando a disfunção sistêmica, levando aos problemas

cognitivos que caracterizam os portadores do TEA (PRILUTSKY et al., 2014; MARCHETTO et al., 2010).

Reforça-se ainda que os astrócitos de indivíduos portadores do TEA diminuem significativamente o número de sinapses entre os neurônios. Esta redução tem relevância mais acentuada nas regiões do córtex pré-frontal, do qual há a regulação emocional e comportamental, ocasionando nas disfunções sociais dos indivíduos portadores do espectro autista (RUSSO et al, 2018; BENEKAREDDY et al, 2018).

Uma característica peculiar que pode ser observada também, principalmente nos astrócitos, são os níveis de citocinas, como a interleucina-6 (IL-6), comum em processos inflamatórios, que apresenta níveis elevados em portadores do TEA. Controlando-se os níveis de IL-6, os neurônios e suas conexões sinápticas se recuperaram de maneira morfológica e funcional (RUSSO et al, 2018).

Investiga-se ainda se essas falhas sinápticas se devem à inibição do gene SHANK (Shank family proteins) pela doença, com falha na produção das proteínas efetoras. As proteínas da família SHANK agem nas conexões entre os receptores dos neurônios, causando distúrbios principalmente na transmissão de neurotransmissores, primordialmente, o glutamato (COUTINHO, BOSSO, 2015). A presença do glutamato nas fendas pós-sinápticas provoca um estado excitatório e, quando esses receptores estão prejudicados, pode influenciar a uma hipoglutamatergia. Em camundongos, observa-se, nesse estado, um comportamento característico do autismo (GUYTON, HALL, 2011; CORDEIRO, VALLADA, 2005). Considera-se ainda que há diversas alterações de base genética nos sistemas responsáveis pelo controle de alguns neurotransmissores e seus respectivos receptores, além do glutamato, como o GABA, as catecolaminas, a melatonina, a acetilcolina, a oxitocina e a serotonina (REGO, 2012).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As disfunções pertencentes ao Transtorno do Espectro Autista têm apresentado padrões comuns, direcionando as pesquisas com foco no comportamento dos astrócitos. Tais observações tem definido o perfil de manifestação biológica da doença, além da relação da IL-6, a qual torna-se extremamente útil nos estudos para a produção de medicamentos para essa alteração. Observa-se ainda uma disfunção nas cascatas de neurotransmissores, o que justifica as dificuldades sociais e psíquicas que os portadores do TEA apresentam. Em suma, os estudos nesse campo somente tornaram-se possíveis devido a tecnologia de reprogramação celular que, apesar da necessidade de refinamento, apresenta uma resposta satisfatória. De igual modo, a modelagem de doenças por meio da produção de culturas celulares *in vitro* tem sido um excelente apoio na pesquisa médica.

REFERÊNCIAS

- ARTHUR C. GUYTON; JOHN E. HALL. **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, 1151p.
- BARBARESI, W. J.; KATUSIC, S. K.; VOIGT, R. G. Autism: A review of the state of the science for pediatric

- primary health care clinicians. **Archive of Pediatric and Adolescent Medicine**, v.160, n.11, p.1167-1175, 2006.
- BELAY, E.; DASTIDAR, S.; VANDENDRIESSCHE, T.; CHUAH, M.K. Transposon-mediated gene transfer into adult and induced pluripotent stem cells. **Curr Gene Ther**, v.11, n.5, p.406-413, 2011.
- BENEKAREDDY, M., et al. Identification of a Corticohabenular Circuit Regulating Socially Directed Behavior. **Biological Psychiatry**, v.83, n.7, p.607-617, 2018.
- BROEK, J. A.; GUEST, P. C.; RAHMOUNE, H.; BAHN, S. Proteomic analysis of post mortem brain tissue from autism patients: evidence for opposite changes in prefrontal cortex and cerebellum in synaptic connectivity-related proteins. **Molecular Autism**, v.5, n.1, p.41, 2014.
- BYDLOWSKI, S. P. et al. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v.31, n.1, p. 25-35, 2009.
- CARVALHEIRA, A. G., VERGANI, N., BRUNONI, D. Genética do autismo. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.26, n.4, p.270-272, 2004.
- CORDEIRO, Q.; VALLADA, H. Cartas aos Editores: Genetics of Autism. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.27, n.7, p.254-258, 2005.
- COURCHESNE, E. et al. Mapping Early Brain Development in Autism. **Neuron**, v.56, n.2, p.399-413, 2007.
- COUTINHO, J. V. C., BOSSO, R. M. V. Autismo E Genética: Uma Revisão De Literatura. **Revista Científica do ITPAC**, v.8, n.1, p.4, 2015.
- DE RUBEIS, S. et al. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. **Nature**, v.515, n.7526, p.209-215, 2014.
- DEROSA, B. A. et al. Derivation of autism spectrum disorder-specific induced pluripotent stem cells from peripheral blood mononuclear cells. **Neurosci Lett.**, v.516, n.1, p.9-14, 2012.
- DIMOS, J. T. et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. **Science**, v.321, n.1, p.1218-1221, 2008.
- EBERT, A. D. et al. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. **Nature**, v.457, n.1, p.277-280, 2009.
- EVANS, M. J.; KAUFMAN, M. H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. **Nature**, v. 292, n. 5819, p.154-156, 1981.
- GARCIA, A. H. C. et al. Transtornos do espectro do autismo: avaliação e comorbidades em alunos de Barueri, São Paulo. **Psicol Teor Prat**, v.18, n.1, p.166-177, 2016.
- GAUGLER, T. et al. Most genetic risk for autism resides with common variation. **Nature Genetics**, v.46, n.8, p.881-885, 2014.
- GEIER, D. A., KERN, J. K., GEIER, M. R. A. A prospective cross-sectional cohort assessment of health, physical, and behavioral problems in autism spectrum disorders. **Mœdica (Buchar)**, v.7, n.3, p.193-200, 2012.
- GILBERT, C.; COLEMAN, M. Autism and medical disorders: a review of the literature. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v.38, n.3, p.191-202, 1996.
- GOMES, F. C. A., TORTELLI, V. P., DINIZ, L. Glia: dos velhos conceitos às novas funções de hoje e as que ainda virão. **Estudos Avançados**, v.27, n.77, p.61-84, 2013.
- HOTTA, A., ELLIS, J. Retroviral vector silencing during iPS cell induction: an epigenetic beacon that signals distinct pluripotent states. **J Cell Biochem**, v.105, n.1, p.940-948, 2008.
- JAENISCH, R.; YOUNG, R. Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming. **Cell**, v.132, n.4, p.567-582, 2008.
- KIM, D. et al. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. **Cell Stem Cell**, v.4, n.1, p.472-476, 2009.
- LAKSHMIPATHY, U.; VERFAILLIE, C. Stem cell plasticity. **Blood Reviews**, v.19, n.1, p.29-38, 2005.
- LINDSAY, R. L., AMAN, M. G. Pharmacologic therapies aid treatment for autism. **Pediatric Annals**, v.32, n.10, p.671-676, 2003.
- LIU, S. V. iPS cells: a more critical review. **Stem Cells Dev.**, v.17, n.3, p.391-397, 2008.
- MARCHETTO, M. C. et al. A Model for Neural Development and Treatment of Rett Syndrome Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. **Cell**, v.143, n.4, p.527-539, 2010.
- MARCHETTO, M. C. et al. Non-Cell-Autonomous Effect of Human SOD1 G37R Astrocytes on Motor Neurons Derived from Human Embryonic Stem Cells. **Cell Stem Cell**, v.3, n.6, p.649-657, 2008.
- MOORE, S. J. et al. A clinical study of 57 children with fetal anticonvulsant syndromes. **Journal of Medical Genetics**, v.37, n.7, p.489-497, 2000.
- MUHLE, R., TRENTACOSTE, S. V., RAPIN, I. The Genetics of Autism. **Pediatrics**, v.113, n.5, p.472-486, 2004.
- MUOTRI, A. R. Células-tronco pluripotentes e doenças neurológicas. **Estud Av**, v.24, n.70, p.71-79, 2010.
- NEWSOM, C. HOVANITIZ, CA. Autistic spectrum disorders. In E. J. Mash, R. A. Barkley (Eds.), **Treatment**

- of childhood disorders**. 3ed., New York: Guilford Press, 2006. p. 455-511.
- OKITA, K. et al. A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. **Nat. Methods**, v.8, n.1, p.409-412, 2011.
- PARK, I. H. et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. **Cell**, v.134, n.1, p.877-886, 2008.
- PATEL, M.; YANG, S. Advances in reprogramming somatic cells to induced pluripotent stem cells. **Stem Cell**, v.6, n.3, p.367-380, 2010
- PEREIRA, L. V. A importância do uso das células tronco para a saúde pública. **Ciênc Saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v.13, n.1, p.07-14, 2008.
- PHILLIPS, B. T.; GASSEI, K.; ORWIG, K. E. Spermatogonial stem cell regulation and spermatogenesis. *Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences*, v.365, n.1546, p.1663-1678, 2010.
- PRILUTSKY, D. et al. iPSC-derived neurons as a higher-throughput readout for autism: promises and pitfalls. **Trends in Molecular Medicine**, v.20, n.2, p.91-104, 2014.
- REGO, S. W. S. E. **Autismo - Fisiopatologia e biomarcadores**. 2012. 66 f. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2012.
- ROCHA, A. S. et al. Considerações sobre células-tronco embrionárias. **Vet. e Zootec.**, v.19, n.3, p.303-313, 2012.
- RUSSO, F. B. et al. Modeling the Interplay Between Neurons and Astrocytes in Autism Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. **Biological Psychiatry**, v.83, n.7, p.569-578, 2018.
- RUSSO, F. B. **Geração de células pluripotentes induzidas de pacientes com transtorno do espectro autista**. 2015. 98 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- SHI, Y.; INOUE, H.; WU, J. C.; YAMANAKA, S. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.16, n.2, p.115-130, 2016.
- SILVA, M.; MULICK, J. A. Diagnosticando o transtorno autista: aspectos fundamentais e considerações práticas. **Psicol Ciênc Prof**, v. 29, n. 1, p.116-131, 2009.
- SINGH, V. K. et al. Describing the Stem Cell Potency: The Various Methods of Functional Assessment and in silico Diagnostics. **Frontiers In Cell And Developmental Biology**, v.4, p.1-18, 2016.
- SOLDNER, F. et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. **Cell**, v.136, n.1, p.964-977, 2009.
- TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. **Cell**, v. 126, n. 4, p.663-676, 2006.
- TAKEUCHI, C. A.; TANNURI, U. A polêmica da utilização de células-tronco embrionárias com fins terapêuticos. **Rev Assoc Med Bras**, São Paulo, v.52, n.2, p.63, 2006.
- TEIXEIRA, M. T. V. et al. Literatura científica brasileira sobre transtornos do espectro autista. **Rev Assoc Med Bras**, São Paulo, v. 56, n. 5, p. 607-614, 2010.
- WARREN, L. et al. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. **Cell Stem Cell**, v.7, n.1, p.618-630, 2010.
- WOLF, D. P. et al. Concise Review: Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer. **Stem Cells**, v.35, n.1, p.26-34, 2016.
- XIE, Y. Z., ZHANG, R. X. Neurogenerative diseases in a dish: the promise of iPSC technology in disease modeling and therapeutic discovery. **Neurological Sciences**, v.36, n.1, p.21-27, 2015.
- YAMANAKA, S. et al. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. **Cell**, v.131, n.5, p.861-872, 2007.
- ZATZ, M. Clonagem e células-tronco. **Estud Avancados**, v.18, n.51, p.247-256, 2004.