

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CHAPECÓ
CURSO DE MEDICINA**

CLÁUDIA FERNANDA GARCEZ FERNANDES

**PARTICIPAÇÃO DA VIA MTOR NO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA:
REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS EM HUMANOS**

**CHAPECÓ
2022**

CLÁUDIA FERNANDA GARCEZ FERNANDES

**PARTICIPAÇÃO DA VIA MTOR NO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA:
REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS EM HUMANOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como parte dos requisitos para obtenção do grau de Médico(a).

Orientadora: Profa. Dra. Zuleide Maria Ignácio

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Barbato

CHAPECÓ

2022

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Fernandes, Cláudia Fernanda Garcez
PARTICIPAÇÃO DA VIA MTOR NO TRANSTORNO DO ESPECTRO
AUTISTA:: REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE EVIDÊNCIAS
CIENTÍFICAS EM HUMANOS / Cláudia Fernanda Garcez
Fernandes. -- 2022.
24 f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Zuleide Maria Ignácio
Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Barbato
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina, Chapecó, SC, 2022.

1. Alvo de Rapamicina de Mamíferos. 2. transtorno do
espectro autista. 3. transtornos do
neurodesenvolvimento. I. Ignácio, Zuleide Maria, orient.
II. Barbato, Paulo Roberto, co-orient. III.
Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.



CLAUDIA FERNANDA GARCEZ FERNANDES

acadêmica

**PARTICIPAÇÃO DA VIA MTOR NO TRANSTORNO DO ESPECTRO
AUTISTA - REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS
EM HUMANOS**

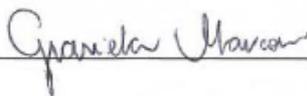
Trabalho de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de aprovação no respectivo componente da grade do curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul - *campus* Chapecó.

Orientadora: **Prof.^a Dr.^a Zuleide Maria Ignácio**

Coorientador: **Prof. Dr. Paulo Roberto Barbato**

Este trabalho de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 26/08/2022

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a MSc Grasiela Marcon



Prof.^a Dr.^a Margarete Dulce Bagatini

PARTICIPAÇÃO DA VIA MTOR NO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS EM HUMANOS

Cláudia Fernanda Garcez Fernandes

RESUMO: O transtorno do espectro autista (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento, caracterizado principalmente pela dificuldade de criar e manter laços socioafetivos. Entre os fatores de risco para o desencadeamento do TEA estão tanto condições ambientais intra e extra-uterinas, como também, características genéticas e fisiológicas, as quais ainda carecem de estudos e elucidação. A literatura científica traz bastante evidências sobre vias moleculares intracelulares, as quais participam do neurodesenvolvimento e que apresentam alterações funcionais no TEA. Dessa forma, o intuito deste artigo foi verificar se alterações na função da via relacionada ao alvo mamífero da rapamicina (mTOR → da expressão em inglês mammalian target of rapamycin) impactam no desdobramento de sinais e sintomas clássicos do TEA. O presente estudo trata-se de revisão sistemática de literatura, seguindo o protocolo da plataforma PRISMA (sigla do inglês: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). O protocolo da revisão foi submetido à base de registro de protocolos de revisões sistemáticas, PROSPERO. Foram feitas buscas nas bases de dados MEDLINE (VIA PUBMED); EMBASE e LILACS. Foram utilizados descritores, cujas chaves de busca possibilitem resultados nas bases de dados selecionadas. Os descritores foram detalhados na metodologia do projeto. Considerando estudos preliminares da literatura científica, foi encontrada uma relação relevante entre a superexpressão via mTOR e o desenvolvimento de características típicas autistas em 15 dos 16 estudos selecionados. Sabendo que tal via é fundamental no processo de neurogênese, e que o TEA é um transtorno do neurodesenvolvimento, evidenciar uma relação entre a função da via de sinalização mTOR e o TEA significa um avanço nos conhecimentos e consequente subsídio para possíveis testes diagnósticos e futuras pesquisas sobre intervenções terapêuticas viáveis e eficazes.

Palavras-chave: Alvo de Rapamicina de Mamíferos; transtorno do espectro autista; transtornos do neurodesenvolvimento.

INTRODUÇÃO

O transtorno do espectro autista (TEA) é um transtorno mental que se enquadra em transtornos do neurodesenvolvimento, ou seja, é uma morbidade que se desdobra desde o desenvolvimento neural intra uterino, e continua com o neurodesenvolvimento pós natal. Os primeiros sinais e sintomas são percebidos, normalmente, entre o primeiro e o segundo ano de vida. Devido a um dos principais sintomas ser a dificuldade de formar e manter relações socioemocionais, e também possuir déficits neuropsicomotores, os pais e familiares costumam perceber que a criança não apresenta as características esperadas para a idade. O diagnóstico é complexo e leva em conta não somente as percepções do médico, mas também esse histórico relatado pela família (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

Nesse contexto, são muitos os critérios diagnósticos que devem ser levados em conta. Os critérios essenciais incluem, de acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5): “déficits persistentes na comunicação social e na interação social” e “padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades”. Ainda consoante com o DSM-5, existem outros critérios que devem ser levados em conta: “os sintomas devem estar presentes precocemente no período do desenvolvimento”, “os sintomas causam prejuízo clinicamente significativo no funcionamento social, profissional etc” (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

O tema “autismo” vem se tornando cada vez mais disseminado, principalmente pela relevância da sua incidência, tendo em vista que uma em cada 160 crianças apresenta TEA (OPAS, 2021). Se compararmos sua prevalência e o que realmente é conhecido sobre a doença, existe pouca informação, principalmente relacionada a sua fisiopatologia. Não são conhecidas terapias eficazes específicas para o TEA, apenas algumas medicações e terapias que conseguem minimizar os sintomas (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). Entre as poucas evidências conhecidas de anormalidades no cérebro de pessoas com TEA, está o tamanho aumentado do encéfalo (SUBRAMANIAN, M., *et.al.*, 2015), alterações corticais (GANESAN, *et al.*, 2019), a hiperconectividade neuronal e o número aumentado de sinapses (LICAUSI, HARTMAN, 2018), sendo que os sintomas apresentados são correlacionados com tais diferenciações fisiológicas e anatômicas (CUNHA DOS SANTOS, 2020).

Nessa perspectiva, existem várias vias de sinalização que são importantes para que haja um neurodesenvolvimento normal, pois são responsáveis pela cortico-gênese, sinaptogênese, neurogênese e pela homeostase do sistema nervoso central (SNC), entre outras

funções (GANESAN, *et al.*, 2019). Entre essas vias, pode-se citar a via da quinase relacionada à tropomiosina (Trk - da expressão em inglês, *tropomyosin-related kinase*) e também a via que será investigada neste trabalho, alvo mamífero (ou mecanístico) da rapamicina (mTOR - da expressão em inglês, *mammalian target of rapamycin*) (GANESAN, *et al.*, 2019). A mTOR é uma via de sinalização complexa que já foi associada a diversas doenças que possuem falhas ou alterações no neurodesenvolvimento, como a esclerose tuberosa (KAEBERLEIN, 2013). O número de estudos a respeito da relação da mTOR com o autismo está crescendo exponencialmente, e é essencial que existam estudos de revisão sistemática para agrupar e analisar as especificidades de todas essas informações, no sentido de mostrar os avanços e evidências com relação aos mecanismos específicos envolvendo a mTOR no neurodesenvolvimento e no TEA. Considerando conhecimentos preliminares sobre o envolvimento da via mTOR, as evidências encontradas neste estudo poderão contribuir para um avanço na elucidação dos mecanismos fisiopatológicos, marcadores de diagnóstico e como subsídio de estudos sobre estratégias terapêuticas mais efetivas e que possam melhorar a qualidade de vida das pessoas diagnosticadas com TEA.

METODOLOGIA

O presente estudo trata-se de uma revisão sistemática de literatura sobre as possíveis relações entre a via mTOR e o TEA. Para elaboração da revisão, foi adotado o protocolo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*). Foram realizadas buscas bibliográficas a partir das bases de dados MEDLINE (VIA PUBMED); EMBASE e LILACS, com o objetivo de selecionar todos os artigos publicados até 01/10/2021, que tenham sido realizados com humanos e que abordassem a relação da via mTOR com características do TEA. Como estratégia de busca foi elaborada a seguinte chave:

((("mtor" OR "mtor protein" OR "mammalian target of rapamycin" OR "mechanistic target of rapamycin") OR ("Protein kinase B" OR "PKB/Akt") OR ("Extracellular signal-related kinase" OR "ERK") OR ("Tuberous sclerosis (TSC1 and TSC2) complexes") OR ("Glycogen synthase kinase-3" OR "GSK-3") OR ("Ribosomal protein S6 kinases" OR "S6Ks") OR ("Eukaryotic initiation factor 4E" OR "eIF4E") OR ("Eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E)-binding proteins (4E-BP)") OR ("Eukaryotic elongation factor 2" OR "eEF2")) AND (("autistic disorder") OR ("disorder, autistic") OR ("disorders autistic") OR ("autism") OR ("autism spectrum disorder") OR ("autism spectrum disorders") OR ("disorder, autistic spectrum"))))

A seleção dos termos que compõem a chave de busca foi realizada a partir dos mesh terms do PubMed, sinônimos e siglas correspondentes. Para buscas no EMBASE e LILACS foram usados os vocabulários controlados correlatos, Emtree e DeCS, respectivamente.

Os critérios de inclusão foram: Estudos com protocolos em humanos com características autistas que envolvam análises e resultados sobre moléculas da via mTOR; estudos redigidos em inglês, português e espanhol; publicações que permitam acesso ao texto completo; estudos disponíveis a partir do ano de 2000.

Os critérios de exclusão foram: artigos em que a via mTOR não esteja envolvida, estudos em modelos animais; publicações em língua que não sejam as supramencionadas; estudos anteriores ao ano 2000. Não foi incluída literatura cinza.

Para a definição da inclusão dos estudos na revisão, três avaliadores autônomos realizaram a leitura dos títulos e resumos e, a partir dos critérios de inclusão e exclusão, definiram os manuscritos que passariam por essa etapa de triagem. Após essa etapa os resultados foram confrontados e as divergências encontradas foram avaliadas pelos pesquisadores orientadores, os quais definiram pela inclusão ou não dos estudos em questão.

Após a triagem pelos títulos e resumos, três avaliadores autônomos fizeram a leitura do texto completo do manuscrito. As divergências encontradas foram avaliadas pelos pesquisadores orientadores, os quais definiram a inclusão final do manuscrito na revisão.

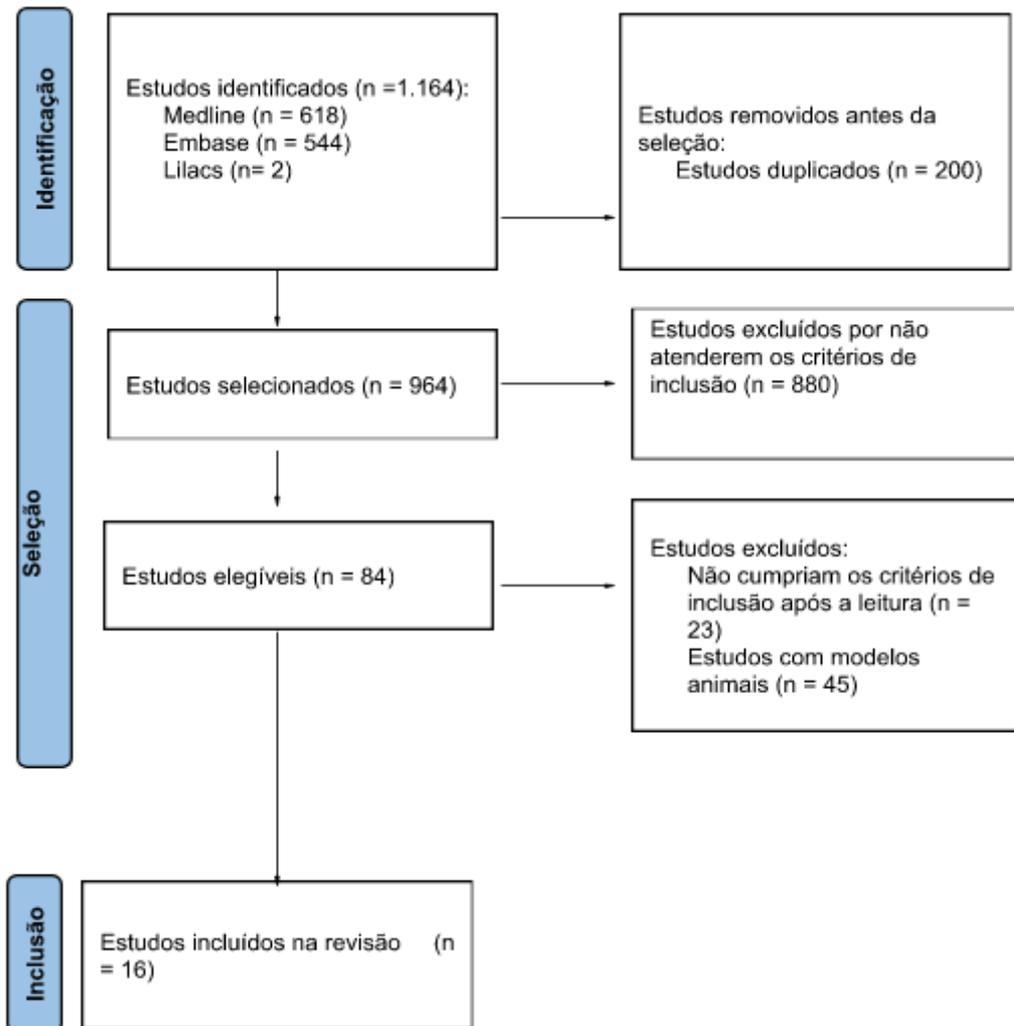
De forma similar à seleção dos estudos que compuseram a revisão sistemática, a extração de dados foi realizada por três avaliadores autônomos e as divergências foram avaliadas pelos pesquisadores orientadores.

Foram extraídos os dados relativos ao estudo, incluindo dados do ano da publicação, autor principal, afiliação, país de origem, detalhes dos métodos, número de participantes da pesquisa, intervenções realizadas e desfechos encontrados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 1.164 artigos nas bases de dados Medline, Embase e Lilacs, conforme as palavras-chave descritas anteriormente. Destes, 200 artigos estavam duplicados, e 880 foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão na primeira etapa de seleção. Os 84 estudos restantes foram lidos na íntegra, sendo que 23 não atenderam a todos os critérios de inclusão, e outros 45 tratavam a respeito de modelos animais, resultando na seleção final dos 16 artigos utilizados para esta revisão sistemática (Figura 1).

Figura 1- Fluxograma dos estudos selecionados para esta revisão



Fonte: elaborado pela autora (2022)

Dentre as diversas possibilidades de foco neste artigo de revisão, foram analisadas moléculas pertencentes à via mTOR ou que possuem efeito direto sobre tal via. Nesse

contexto, analisamos se a(s) molécula(s) estudada(s) em cada artigo possuem efeito de estimular ou inibir a via mTOR, como um todo. Verificamos que, em 1 artigo selecionado, a molécula realiza uma inibição da via, e em outros 15, ela estimula. Com isso, analisamos os resultados de cada um dos estudos para verificar se é possível confirmar a correlação entre a molécula alterada e o desenvolvimento de características pertencentes ao TEA.

Quadro 1- Focos de cada artigo selecionado, características da amostragem e resultados

Autoria	Foco do Estudo	Amostra	Resultado
Bahado-Singh, <i>et al.</i> , 2019	EIF4E	14 pacientes + 10 controles	Por meio de inteligência artificial, foi analisado o DNA extraído de sangue seco de recém-nascidos. Foi visto que há o aumento da expressão de genes correlacionados com a mTOR em pacientes com TEA.
Codina-solà, <i>et al.</i> , 2015	PTEN	36 pacientes homens	Identificados genes que levam à superexpressão da mTOR em pacientes com TEA monogênico altamente penetrante (FUS e TAFIC). Variantes genéticas que levam à supressão do PTEN, logo à superexpressão da mTOR.
Dai, <i>et al.</i> , 2021	IGF1-PI3K-AKT-mTOR/ insulin; MAPK; sinalização actínica	40 pacientes + 18 controles	Tais vias são comuns entre pacientes com TEA e esquizofrenia, quando são duplicadas e Síndrome de Williams, quando são deletérias; o que sugere relação de tais vias com a sinapse de cérebros com características autistas.
Frazier, <i>et al.</i> , 2021	PTEN	61 participantes	Diversas correlações entre proteínas da via PTEN/PI3K-AKT-mTOR que podem explicar impacto na função de neurocomportamento. Nas mutações, o PTEN estava diminuído e a pS6 aumentada, mostrando ativação maior da mTOR.
Hwang, <i>et al.</i> , 2016	Everolimo	Relato de caso	O Everolimo, que é um fármaco inibidor da mTOR, melhorou muito e rapidamente os sintomas típicos de pacientes com TEA em uma criança de 45 meses com Complexo de Esclerose Tuberosa.
Machado, <i>et al.</i> , 2016	Colibistina; mTORC1	1 portador de TEA + 2 controles	A superativação da mTORC1 em células neuronais com CB deficiente pode contribuir para o desenvolvimento de características autistas.
Mullegama, <i>et al.</i> , 2015	MBD5	19 crianças	A diminuição da MBD5 causa alteração na via mTOR, e a mTOR possui importância no ciclo circadiano do sono, além de estar alterada em síndromes relacionadas com o autismo e problemas

			de sono.
Neves-Pereira, <i>et al.</i> , 2009	EIF4E	1 menino + 120 famílias	A translocação cromossômica entre 4q e 5q (inserção da base simples C heterozigota na região promotora do EIF4E), que havia sido encontrada em um primeiro sujeito, foi também encontrada em duas outras famílias, sendo nos dois irmãos e no pai, e em nenhum dos casos controle. Essa mutação de novo encontrada, aumenta a expressão da mTOR.
Overwater, <i>et al.</i> , 2019	Everolimo	60 crianças	O Everolimo, fármaco inibidor da mTOR, não traz benefícios em relação ao desenvolvimento de crianças (entre 4 e 17 anos) com TEA tratadas com o medicamento.
Poopal, <i>et al.</i> , 2016	PI3K (S6 phosphorylation)	58 células de linhagem linfoblásticoide	A alteração da mTOR ocorre por meio do aumento da subunidade p110gama da PI3K, relacionada com o desenvolvimento de características do transtorno do espectro autista; tal alteração já foi linkada com esquizofrenia.
Rosina, <i>et al.</i> , 2019	pS6, p-eIF4E, TSC1 e p-MNK1	33 pacientes + 22 controles	Essas 4 proteínas, analisadas a partir de sangue periférico, são capazes de distinguir, com acurácia, pacientes com TEA, de pacientes controle, assim como pacientes com TEA severo e pacientes com TEA de média intensidade. Elas levam a um aumento da atividade mTOR.
Stamova, <i>et al.</i> , 2013	Divisão de transcritos alternativos (DAS)	30 meninos com TEA + 20 meninos com desenvolvimento típico	No sangue periférico de portadores de TEA há anormalidade nos genes DAS que afetam via mTOR, em comparação aos casos controle. Superexpressão da mTOR em cerca de 60% dos casos de TEA idiopático
Trifonova, <i>et al.</i> , 2019	genes moduladores da via mTOR; genes mTOR-modulados	281 genes do banco SFARI	222 dos 281 genes (79%) com pontuação alta do banco de dados SFARI <i>Gene</i> , estavam conectados à atividade de sinalização mTOR, havendo sua maior ativação.
Tylee, <i>et al.</i> , 2017	626 casos + 447 controles	PI3K-AKT-mTOR	Diminuição da expressão da PI3K-AKT-mTOR em pacientes com TEA.
Waltes, <i>et al.</i> , 2014	EIF4E	708 famílias	Variantes do gene EIF4E, que levam à maior ativação da mTOR, influenciam no TEA severo.
Yeung, <i>et al.</i> , 2017	PI3K-AKT-mTOR	21 pacientes	Aproximadamente 50% das crianças com macrocefalia e atraso no desenvolvimento/TEA apresentaram mutações na via PI3K-AKT-mTOR, com sua maior ativação.

Fonte: elaborado pela autora (2022)

A principal característica do TEA é a apresentação de desordens sociais, dificuldade em criar, manter e ser recíproco em relacionamentos, além de não entender tais conexões afetivas. Por isso, as pessoas que se enquadram em tal morbidade têm dificuldade na comunicação verbal e não verbal. Ademais, para que se enquadre nesse transtorno, o paciente precisa apresentar padrões de comportamentos, interesses e atividades repetitivos e restritivos. Os sintomas do TEA, geralmente, são percebidos entre os 12 e os 24 meses de idade. Contudo, a externalização dos sintomas pode variar muito, e isso depende, principalmente, do grau do TEA e da capacidade de adaptação de cada indivíduo. Quando há grande comprometimento, os sintomas podem aparecer antes mesmo dos 12 meses. Por outro lado, eles podem não se apresentar tão cedo, e só se tornarem aparentes quando as demandas sociais excederem a capacidade da pessoa (BAHADO-SINGH, *et al.*, 2019). Além disso, os sintomas podem ser mascarados com o tempo, conforme o indivíduo se adapta. Por isso, o diagnóstico pode ser feito, considerando comportamentos retrospectivos, desde que a pessoa apresente algum sinal ou sintoma que ainda prejudique sua vida significativamente (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

O TEA pode ser estadiado em 3 níveis, de acordo com o nível de apoio exigido pelo paciente, sendo o menor nível, considerado o mais leve e o maior nível, caracterizando o nível mais grave. O nível 1 é definido quando a pessoa se enquadra em uma condição considerada como “exigindo apoio”, o nível 2 “exigindo apoio substancial” e o nível 3 “exigindo apoio muito substancial” (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). O paciente com TEA pode ou não ter deficiência intelectual. Se o indivíduo apresentar deficiência intelectual ele será diagnosticado com TEA a deficiência intelectual sendo comórbida, estando em outra classificação, de acordo com os Critérios da Classificação Internacional de Doenças-11 (CID-11): para o TEA sem deficiência intelectual comórbida, usa-se 6A02.0 (sem prejuízo ou com prejuízo leve da linguagem funcional) e 6A02.2 (com grande prejuízo da linguagem funcional); para o TEA com deficiência intelectual comórbida usa-se 6A02.1 (sem prejuízo ou com prejuízo leve da linguagem funcional), 6A02.3 (com grande prejuízo da linguagem funcional) e 6A02.5 (com completa ou quase completa ausência da linguagem funcional). Em relação a comorbidades do TEA, mais de 70% dos pacientes podem apresentar transtornos psiquiátricos, dependendo da área afetada e de quais modificações o cérebro apresenta. Além disso, aproximadamente 40% dos diagnosticados podem ter dois ou mais transtornos comórbidos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

O número de crianças diagnosticadas com TEA vem crescendo nos últimos anos. Ainda não se tem certeza se esse aumento é devido a fatores genéticos ou ambientais, ao sobrediagnóstico, ao aumento da oferta de serviços de saúde, ao aumento da globalização de informações ou ao aumento de conhecimento e estudos sobre o tema (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

O desenvolvimento neural é um processo complexo, que se arrasta desde a formação do tubo neural durante a gestação até o fim da vida, mas tem relevância ímpar entre o início da infância e o princípio da adolescência (LICAUSI, HARTMAN, 2018). O neurodesenvolvimento envolve diversas vias de sinalização que convergem para que ocorra a sinaptogênese e a neurogênese (GANESAN, *et al.*, 2019). Para a homeostasia do sistema nervoso central (SNC) é imprescindível não só a formação dos neurônios e das sinapses, mas também as interligações, a frequência dos estímulos, a localização dos circuitos, entre outros (LICAUSI, HARTMAN, 2018).

Uma das vias que possui muita influência no neurodesenvolvimento e no funcionamento do SNC é a via da mTOR, a qual é parte de um complexo ainda maior, a PI3K-AKT-mTOR. Este complexo tem função relevante na multiplicação, crescimento e diferenciação celular, plasticidade sináptica, regulação da síntese proteica e na morfologia dos dendritos, bem como no crescimento e na sobrevivência axonal, entre outras diversas funções (LIMA, 2019).

Para a ativação da via PI3K-AKT-mTOR, o primeiro passo é a ativação dos receptores de tirosina quinase, a partir da ligação de um fator de crescimento. A ativação dos receptores culmina em uma cascata de eventos bioquímicos, iniciando com a ativação de proteínas intracelulares ligadas à tirosina fosforilada. Essas proteínas ativam a PI3K, que é composta por duas subunidades: a p85 e a p110 (domínio catalítico). A p110 precisa de ativação, uma função desempenhada pelo vírus do sarcoma de rato-Guanosina trifostato (RAS-GTP). Então, a PI3K se transforma em fosfatidilinositol 3,4,5-trifostato (PIP3 - do termo em inglês *phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate*). O PIP3, por sua vez, interage com a proteína quinase-1 dependente de proteína 3-fosfoinositídeo (PDK1- do termo em inglês *phosphoinositide dependent protein kinase 1*) e com a proteína PDK2, recrutando a proteína quinase B (AKT). Um dos papéis da AKT é inibir a TSC2. A TSC2 é uma subunidade da Tuberina, que estimula o Homólogo do RAS (RHEB) a hidrolisar guanosina trifostato (GTP) em guanosina difostato (GDP), mantendo o RHEB inativo. Para a ativação da via mTOR, um de seus complexos, o mTORC1 precisa da ligação ao RHEB. Uma vez inibida a TSC2, o

RHEB se mantém ativo, podendo ativar o mTORC1, levando à estimulação da via mTOR (MARMAN, 2010).

A via mTOR envolve uma cascata molecular que regula a sua ativação, e outra cascata que é regulada pela sua ativação. É formada por dois complexos, o mTOR complexo 1 (mTORC1) e o mTOR complexo 2 (mTORC2). O mTORC1, dentre outras funções, é o responsável por ativar a proteína ribossomal S6 quinase beta-1 (p70S6K), que tem como função inibir a quinase fator de alongamento eucariótico-2 (eEF2K- da expressão em inglês, *Eukaryotic elongation factor-2 kinase*), que inibiria o fator de alongamento eucariótico-2 (eEF2- da expressão em inglês, *Eukaryotic elongation factor-2*). Estando a eEF2K inibida pela p70S6K, a eEF2 fica ativa. A eEF2 aumenta a tradução, logo, aumenta a síntese proteica. A p70S6K também é responsável por ativar a eIF4E, o que também aumenta a proliferação celular. Por fim, uma das funções mais importantes da p70S6k é promover o crescimento celular (GUYOTI, 2009).

Entre outras funções do mTORC1 estão a promoção da tradução de RNA mensageiro (RNAm), inibição da autofagia, o que, posteriormente, devido a alguma desregulação, pode levar ao aumento irregular de células no encéfalo, com hiperconectividade e também sinapses descontroladas em certas regiões do SNC (KAEBERLEIN, 2013; ROSINA, *et al.*, 2019). A respeito do mTORC2, o papel mais importante, nesse contexto, que ele exerce, é ativar a AKT, após ser ativado pela PDK1 (SILVA, *et al.*, 2009).

Outro fator importante para o bom funcionamento da via PI3K/AKT/mTOR é a fosfatase homóloga à tensina (PTEN- da expressão em inglês, *phosphatase and tensin homologue*). A PTEN tem como função regular negativamente, ou seja, inibir a via AKT/mTOR; portanto a PTEN é, praticamente, antagonista à PI3K. Para que uma via funcione de maneira satisfatória, é necessário que ambos seus fatores, excitatórios e inibitórios, trabalhem concomitantemente. Qualquer desbalanço afeta toda a via, por exemplo, o desbalanço da PTEN pode levar à hiperconectividade cerebral (FRAZIER, *et al.*, 2021).

Dentre as moléculas pesquisadas nos artigos selecionados, a mais investigada foi a enzima fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K - da expressão, em inglês, *phosphatidylinositol 3-kinase*) estudada em cinco dos dezesseis artigos selecionados. A PI3K faz parte da chamada via fosfatidilinositol 3-quinase-proteína quinase B ou AKT-Alvo mamífero da rapamicina (via PI3K-AKT-mTOR), bem estabelecida como uma cascata sinalizadora para multiplicação celular e plasticidade cerebral.

Um desses estudos, utilizou 58 células de linhagem linfoblásticoide, sendo 21 dessas da coleção *Autism Genetic Research Exchange* (AGRE) e 37 da *Simons Simplex Collection*

(SSC) e seus irmãos saudáveis. Foram analisadas mais especificamente células de um indivíduo, que possuíam fosforilação S6 aumentada. Após análise, os autores chegaram à conclusão que a via PI3K-mTOR super expressa pode servir como biomarcador para possíveis futuras terapêuticas para o TEA, por meio da subunidade catalítica p110gama. Um defeito nessa mesma subunidade já havia sido detectado em indivíduos com esquizofrenia (POOPAL, *et al.*, 2016).

Outro estudo investigou 21 pacientes (17 homens e 4 mulheres, de 4 a 108 meses de idade) com macrocefalia, atraso no desenvolvimento e transtorno do espectro autista. A pesquisa realizou um Sequenciamento de Todo Exoma (WES - da expressão em inglês, *Whole-Exome Sequencing*) para procurar genes alterados na via PI3K-AKT-mTOR. Após minuciosa análise do DNA do sangue, mucosa oral e saliva, foi descoberto que aproximadamente 50% das crianças pesquisadas tinham mutações na via estudada. Os autores, inclusive, sugeriram um novo subgrupo dentro do TEA, o qual seria denominado “Espectro de macrocefalia relacionado com a via mTOR” (YEUNG, *et al.*, 2017).

Em outro estudo que investigou a PI3K, foram avaliados dados transcritos do sangue de 626 pacientes com TEA e 447 casos controles. Nessa mega-análise, os autores encontraram uma diminuição na via PI3K-AKT-mTOR em pacientes que apresentavam características do autismo (TYLEE, *et al.*, 2017).

Em outro estudo foram utilizados 58 indivíduos, sendo 34 com Síndrome de Williams típica, 6 com Síndrome de Williams atípica e 18 controles. Na Síndrome de Williams as crianças são altamente sociáveis, o caráter deletério da via Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1-Fosfoinosítídeo 3 Quinase-Proteína Quinase B-Alvo de Rapamicina de Mamíferos (via IGF1-PI3K-AKT-mTOR) nessa síndrome é inverso ao achado em crianças com TEA, onde a via está aumentada, muitas vezes duplicada, e elas têm muita dificuldade com relações sociais. O estudo mostra, portanto, por meio da avaliação de perfil de expressão de matriz de éxon, RNA-Seq, qRT-PCR, *Western blotting* e análise de simulação de energia que a via estudada é um importante ponto de desregulação tanto na Síndrome de Williams, quanto na esquizofrenia, como no TEA (DAI, *et al.*, 2021).

Nesse estudo foram investigadas quatro moléculas. Entre as moléculas avaliadas está a rpS6 proteína ribossomal S6 (RPS6 - da expressão em inglês *Ribosomal protein S6*), a qual está ligada ao crescimento e proliferação celular na via PI3K-AKT-mTOR. Participaram do estudo 55 pessoas, sendo 33 pacientes entre 3 e 11 anos com TEA e 22 crianças com desenvolvimento neurotípico. Foi analisado o sangue periférico, além da história clínica para estratificação dos sujeitos afetados. Com o decorrer do artigo, os autores puderam comprovar

que as moléculas estudadas diferem, com acurácia, pessoas com TEA de indivíduos controle, e conseguem, até mesmo, diferenciar TEA de média intensidade do TEA severo. As outras moléculas investigadas nesse estudo foram o Complexo da Esclerose Tuberosa 1 (TSC1- da expressão em inglês, *Tuberous Sclerosis Complex 1*), a Fosfo Serina/Treonina proteína MN quinase 1 (p-MNK1- da expressão em inglês, *Serine/threonine-specific protein MN kinase 1*), e o Fosfo fator de iniciação da tradução eucariótica 4E (p-EIF4E- da expressão em inglês, *phospho eukaryotic translation initiation factor 4E*) (ROSINA, *et al.*, 2019). Essa última, foi citada em mais 3 estudos.

Outro estudo procurou marcadores sanguíneos, com o objetivo de propor um diagnóstico precoce do TEA. Para tanto, utilizaram pontos de sangue seco de 24 recém-nascidos, sendo 14 com TEA e 10 controles, para extrair DNA genômico leucocitário. Foram diversas as moléculas pesquisadas, são elas: EIF4E, FYN quinase, Domínio SRC Homólogo 3 (SH3) e múltiplos domínios de repetição de anquirina (SHANK1), Verona íntegron codificada (VIM), fator de transcrição 1-beta do LIM homeobox (LMX1B), subunidade beta-1 do receptor do ácido gama-aminobutírico (GABRB1), complexo succinato desidrogenase, subunidade A pseudogene 3 (SDHAP3) e proteína de classificação do conjunto ácido de fosfofurina (PACS2). Para analisar a metilação dos genes, foi utilizada inteligência artificial. Foram encontradas desregulações epigenéticas em diversos genes, que levam à ativação de vias ligadas à neuroinflamação, potenciação sináptica a longo prazo, degradação da serotonina, sinalização mTOR e sinalização por enzimas hidrolizadoras de trifosfato guanonisa (GTPases) da Família Rho. Quanto à super ativação da mTOR, foi encontrado aumento na metilação do gene EIF4E, que é relacionado com à via, nos pacientes com TEA em relação aos casos controle. Isso mostra que, a princípio, é possível predizer o diagnóstico de TEA em bebês já no momento do nascimento (BAHADO-SINGH, *et al.*, 2019).

NEVES-PEREIRA, *et al.* (2009) observaram um menino com TEA clássico que possuía uma translocação de nucleotídeo do cromossomo 4 para o cromossomo 5, diretamente ligada à desregulação do EIF4E, o qual estava aumentado. Os mesmos pesquisadores analisaram 120 famílias que possuíam pessoas com TEA e encontraram duas famílias, nas quais dois irmãos em cada uma possuíam a mesma inserção de tal nucleotídeo único na posição 25 do promotor EIF4E. Em uma das famílias, o pai com TEA possuía a mesma desregulação. Com os resultados nesses estudos foi sugerido que o aumento do EIF4E está diretamente relacionado com o desenvolvimento de características do TEA e, mais especificamente, que uma mutação no cromossomo 4q pode levar à superexpressão do EIF4E.

No último estudo dessa linha, os autores utilizaram sangue de 708 famílias para a extração de DNA. Neste estudo foi investigada a expressão de variantes da EIF4E. Foi observado que as variantes que causam a superexpressão de EIF4E estão relacionadas com o desenvolvimento de características do TEA severo (WALTES, *et al.*, 2014).

Em contrapartida, também são estudadas moléculas que, em indivíduos sem TEA, causam redução na expressão da mTOR. Todavia, quando a molécula está suprimida, ocorre aumento na expressão da via mTOR. Uma das moléculas é a fosfatase homóloga à tensina (PTEN - da expressão em inglês, phosphatase and tensin homolog), e o gene que a codifica, também denominado PTEN.

Neste estudo foi avaliado o WES e transcriptoma de células sanguíneas por RNA sequenciamento (RNAseq) em 36 pacientes homens. O estudo mostrou que a supressão do PTEN em uma mutação *de novo* (FUS e TAFIC) é uma forma eficiente de identificar formas monogênicas de TEA altamente penetrante (CODINA-SOLÀ, *et al.*, 2015).

O estudo de FRAZIER, *et al.* (2021) avaliou o sangue periférico de 61 pessoas com TEA, entre 3 e 21 anos, para mensurar proteínas derivadas das vias canônicas de PTEN por meio de *Western blot*. Além disso, foram feitos testes neurocomportamentais para a estratificação dos participantes. Cada mutação do PTEN estudada resultou em diferente efeito cortical, o que era condizente com a estratificação anteriormente feita. Os estudos sugerem que moléculas mutadas que suprimem o PTEN, causam vários efeitos. Entre os efeitos está o aumento da expressão da via mTOR. A desregulação neurocomportamental que um paciente irá apresentar pode ser prevista, de acordo com a mutação PTEN. Como exemplo, os níveis de PTEN e AKT foram associados à capacidade cognitiva global, e a expressão de p27 às funções subcorticais frontais.

A maioria dos artigos selecionados para essa revisão, tem como justificativa o possível desenvolvimento de fármacos que, comprovadamente, tenham efeito terapêutico em pacientes com TEA. Assim, dois dos estudos tinham como foco o Everolimo, que é uma droga que promove a inibição da via mTOR. Apesar de em um dos estudos o Everolimo ter apresentado resultado positivo e no outro negativo, os dois, na verdade, se complementam. No estudo que apresentou resultado negativo, foi analisado se o Everolimo conseguia melhorar o atraso intelectual, o autismo e outros déficits neuropsicológicos em crianças com Complexo de Esclerose Tuberosa (TSC - da expressão em inglês, *tuberous sclerosis complex*). Foram avaliados 60 indivíduos entre 4 e 17 anos. Após 12 meses, os autores chegaram a conclusão de que o medicamento quando inserido nessa faixa etária não tinha influência positiva em

características do TEA, mas que, possivelmente, poderia exercer efeitos positivos em crianças mais novas (OVERWATER, *et al.*, 2019).

Nos estudos de HWANG, *et al.* (2016), os quais relatam um caso de um bebê de 45 meses, portador de TSC, com uma mutação no TSC2, foi observado um aumento significativo da ativação da via mTOR. Foi introduzida a administração de Everolimo no paciente (5.81 mg/m², por dia), e, ao final do estudo, o paciente mostrou uma redução no tamanho da célula astrocitoma gigante subependimal (SEGA - da sigla em inglês, *subependymal giant cell astrocytoma*), um tumor cerebral que se desenvolve em alguns pacientes com esclerose tuberosa. Também foi observado uma redução significativa de comportamentos característicos do espectro autista. O estudo sugere que se introduzido de maneira precoce, o Everolimo pode ter influência positiva em pacientes que se enquadram no TEA.

Existe uma base de dados com mais de 1000 genes que influenciam o TEA em um instituto denominado *Simon's Foundation Autism Research Initiative* (SFARI). Em um dos estudos selecionados, os pesquisadores selecionaram e analisaram 281 genes do banco SFARI. O estudo mostrou que 222 dos 281 (79%) dos genes estavam direta ou indiretamente ligados à atividade sinalizadora da mTOR e que, portanto, fatores genéticos ou ambientais, como a indisponibilidade de vitamina D, podem estar subjacentes à hiperativação da via mTOR, um mecanismo comum no TEA e em outras doenças com sintomas do espectro (TRIFONOVA, *et al.*, 2019).

Nos estudos de MACHADO, *et al.* (2016) é sugerido que a desinibição da mTORC1 em células com a colibistina (CB) deficiente, uma proteína envolvida na regulação e funcionamento de sinapses, está relacionada com sintomas do TEA. Os pesquisadores analisaram o sangue de um indivíduo TEA positivo e total deleção do gene CB, comparando-o com dois controles. Para isso, foram analisadas as células progenitoras neurais derivadas de células-tronco pluripotentes induzidas e um sistema de expressão heteróloga.

A mTOR, como já estudado anteriormente, está relacionada a diversos processos no cérebro humano. Além da possível função no desenvolvimento de características autistas, está o ciclo circadiano do sono. Isso foi comprovado quando identificaram super ativação da mTOR em outras doenças, como a Síndrome do X frágil (FXS- da expressão em inglês, *fragile X syndrome*). Para investigar a função circadiana e o desenvolvimento de características do TEA, foram analisadas 19 crianças entre 9 meses e 11 anos de idade. Foi observado que a diminuição da proteína 5 do domínio de ligação metil-CpG (MBD5 - da expressão em inglês, *methyl-CpG binding domain protein 5*) causa alterações na via mTOR,

consequentemente levando a sinais e sintomas de alterações na função circadiana e do TEA (MULLEGAMA, *et al.*, 2015).

O décimo sexto artigo selecionado utilizou RNA de um exoma completo (WES) realizado por meio de amostras de sangue de 50 indivíduos com idades entre 2 e 4 anos (30 meninos com TEA e 20 casos controle). Após analisar genes ligados à divisão alternativa de transcritos (DAS- da expressão em inglês, *differential alternative splicing*) da via mTOR, tais como a subunidade catalítica tipo 3 da fosfatidilinositol 3-quinase (PIK3C3) e a isoforma alfa da subunidade reguladora B de serina/treonina-proteína fosfatase 2A de 55 kDa (PPP2R2A), 60% dos pacientes tinham anormalidades previsíveis na via; além disso, as alterações DAS estão mais relacionadas com TEA em indivíduos com o tamanho normal do encéfalo, em comparação com os de volume aumentado (STAMOVA, *et al.*, 2013).

Assim sendo, é muito possível que alterações da mTOR levem ao desenvolvimento de características autistas. Isso é mostrado quando em 15 dos 16 estudos aqui incluídos mostram aumento significativo da via PI3K-AKT-mTOR nos pacientes com TEA em relação aos controles. Existem, inclusive, estudos em que os autores sugerem que seja criado um novo subgrupo dentro do TEA Idiopático, que seria o TEA com alterações na mTOR (STAMOVA, *et al.*, 2013; YEUNG, *et al.*, 2017). Mesmo que alguns estudos investiguem moléculas que não estão integrantes à via mTOR, todas as mencionadas têm influência na sinalização para essa via, ou são os produtos da sinalização.

O diagnóstico do TEA, atualmente, é clínico, e não existem exames designados para que seja possível prever o desenvolvimento desse transtorno, ou mesmo para validar o diagnóstico clínico (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). Os artigos selecionados para esta revisão utilizaram, em sua maioria, o sangue periférico para a análise da expressão das moléculas estudadas. Um deles, o de BAHADO-SINGH, *et al.* (2019), como supramencionado, utilizou sangue seco de recém-nascidos e foi investigado por meio de inteligência artificial. Todavia, é visto que essa tecnologia ainda não é globalizada, e é bastante cara, por isso a importância do sucesso desses estudos que conseguiram mostrar com eficiência a alteração na via mTOR por meio do sangue periférico.

Apesar de a maioria dos estudos convergirem para a provável influência direta da do aumento da mTOR no desenvolvimento do TEA, um dos estudos apresentou resultados diferentes, quando afirma que, foi visto redução da atividade mTOR (TYLEE, *et al.*, 2017). Devido ao fato de, no próprio estudo, existirem divergências nos resultados, não se pode afirmar que esse estudo seja um indício de influência da mTOR no TEA.

Os transtornos do neurodesenvolvimento podem ter origem genética, ambiental ou combinada (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014), e o TEA está entre as desordens neuropsiquiátrica mais herdáveis, visto que irmãos têm risco aproximadamente 50% maior de desenvolver a desordem. Além disso, gêmeos monozigóticos têm taxa de concordância de apresentar TEA em 90% (CODINA-SOLÀ, *et al.*, 2015). Por isso, alguns estudos procuraram por genes ligados à super ativação da mTOR em pacientes com o transtorno. Um estudo bastante significativo foi de TRIFONOVA, *et al.* (2019), que afirma que 79% dos genes que foram estudados, por meio do banco de dados *Simon's Foundation Autism Research Initiative* (SFARI), que apresenta genes de pessoas com o transtorno, apresentavam relação com a super ativação da mTOR. Genes que estudam reguladores negativos da mTOR, ou seja, que a inibem, como o PTEN, mostraram que a mutação que levava à depleção do PTEN estão relacionadas com o transtorno do espectro autista.

CONCLUSÃO/RECOMENDAÇÕES

A superexpressão da via PI3K-AKT-mTOR foi confirmada em 15 dos 16 estudos incluídos nesta revisão. Contudo, não somente a amostra aqui é baixa, como também são baixas em cada um dos estudos incluídos. A mTOR é, comprovadamente, alterada em doenças que são altamente correlatas com o TEA, como a Esclerose Tuberosa, a Síndrome do X Frágil, entre outras. Assim, é imprescindível que mais estudos sejam realizados com o intuito de avaliar alterações de moléculas relacionadas à mTOR, como possibilidade de investigação precoce e possível previsão do desenvolvimento do transtorno. Não somente a terapêutica farmacológica, mas o tratamento não farmacológico precoce é de suma importância para o controle e redução dos prejuízos causados pelos sinais e sintomas do TEA na vida do paciente. A possibilidade de investigação por meio do sangue periférico de crianças pode fazer com que a introdução dessas em fisioterapia, dinâmicas, fonoaudiologia, entre outras, já no início da vida, permitam a adaptação maior delas ao convívio social.

O presente estudo consegue convergir resultados para que, futuramente, mais pesquisadores percebam a importância do tema. Dessa forma, mais pesquisas e maior disseminação de informação sobre o TEA e também sobre a PI3K-AKT-mTOR, via tão importante no neurodesenvolvimento, são de grande relevância e imprescindíveis para desvendar anormalidades moleculares no desenvolvimento cerebral e, assim, possibilitar estratégias terapêuticas que possam ser utilizadas mais precocemente e promovam redução dos danos e melhor qualidade de vida para os indivíduos afetados.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5** (5a ed.; M. I. C. Nascimento, Trad.). Porto Alegre, RS: Artmed, 2014.

BAHADO-SINGH, R. O., et al. Artificial intelligence analysis of newborn leucocyte epigenomic markers for the prediction of autism. **Brain Research**, v. 1724, p. 146457, 2019.

CODINA-SOLÀ, M., et al. Integrated analysis of whole-exome sequencing and transcriptome profiling in males with autism spectrum disorders. **Molecular Autism**, v. 6, n. 1, p. 21, 2015.

CUNHA DOS SANTOS, J., SANTOS OLIVEIRA, SD., D OLIVEIRA MATOS, YK, FIGUEIREDO, A. Fisiopatologia do Autismo e atuais terapias. **Repositório Institucional da Faculdade Unida de Campinas – FACUNICAMPS**. Goiânia, 15 dezembro 2020.

Disponível em:

<https://facunicamps.edu.br/cms/upload/repositorio_documentos/245_FISIOPATOLOGIA%20DO%20AUTISMO%20E%20ATUAIS%20TERAPIAS.pdf>. Acesso em: 8 out. 2021.

DAI, L., et al. Core transcriptional networks in Williams syndrome: IGF1-PI3K-AKT-mTOR, MAPK and actin signaling at the synapse echo autism. **Human Molecular Genetics**, v. 30, n. 6, p. 411–429, 30 abr. 2021.

FRAZIER, T. W., et al. Cross-level analysis of molecular and neurobehavioral function in a prospective series of patients with germline heterozygous PTEN mutations with and without autism. **Molecular Autism**, v. 12, n. 1, p. 5, 2021.

GANESAN, H., BALASUBRAMANIAN, V., IYER, M., VENUGOPAL, A., SUBRAMANIAM, MD., CHO, SG., et al. mTOR signalling pathway - A root cause for idiopathic autism? **BMB Reports**, v. 52, n. 7, p. 424–433, 31 jul. 2019.

GUYOTI, V. Proteínas quinases e a ação hormonal. In: **Seminário da disciplina bioquímica do tecido animal**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, primeiro semestre de 2009.

HWANG, S.-K., et al. Everolimus improves neuropsychiatric symptoms in a patient with tuberous sclerosis carrying a novel TSC2 mutation. **Molecular Brain**, v. 9, n. 1, p. 56, 2016.

KAEBERLEIN, M. mTOR Inhibition: From Aging to Autism and Beyond. **Scientifica**, v. 2013, p. 1–17, 2013.

LICAUSI, F., HARTMAN, N. Role of mTOR Complexes in Neurogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, p. 1544, 22 maio 2018.

LIMA, Matheus Henrique Alves de. **Análise das proteínas da via PI3K/mTOR, ciclo celular e apoptose em pacientes portadores de estomatites associadas ao uso de everolimo**. Orientador: Fábio de Abreu Alves. 2019. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Fundação Antônio Prudente. Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia., São Paulo, 2019. Disponível em:

<<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/06/998176/mhalima.pdf>> . Acesso em: 16 jul. 2022.

MACHADO, C. O. F., et al. Collybistin binds and inhibits mTORC1 signaling: a potential novel mechanism contributing to intellectual disability and autism. **European Journal of Human Genetics**, v. 24, n. 1, p. 59–65, 2016.

MARKMAN, B., DIENSTMANN, R., TABERNERO, J. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway-beyond rapalogs. **Oncotarget**, v. 1, p. 530, 2010.

MULLEGAMA, S. V., et al. MBD5 haploinsufficiency is associated with sleep disturbance and disrupts circadian pathways common to Smith–Magenis and fragile X syndromes. **European Journal of Human Genetics**, v. 23, n. 6, p. 781–789, 2015.

NEVES-PEREIRA, M., et al. Deregulation of EIF4E: a novel mechanism for autism. **Journal of Medical Genetics**, v. 46, n. 11, p. 759–765, 1 nov. 2009.

Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). **Transtorno do espectro autista - OPAS/OMS**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/transtorno-do-espectro-autista>>. Acesso em: 8 out. 2021.

OVERWATER, I. E., et al. A randomized controlled trial with everolimus for IQ and autism in tuberous sclerosis complex. **Neurology**, v. 93, n. 2, p. e200–e209, 9 jul. 2019.

POOPAL, A. C., et al. Increased expression of the PI3K catalytic subunit p110 δ underlies elevated S6 phosphorylation and protein synthesis in an individual with autism from a multiplex family. **Molecular Autism**, v. 7, n. 1, p. 3, 2016.

ROSINA, E., et al. Disruption of mTOR and MAPK pathways correlates with severity in idiopathic autism. **Translational Psychiatry**, v. 9, n. 1, p. 50, 2019.

SILVA, B. V. et al. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 453–462, 2009.

STAMOVA, B. S., et al. Evidence for differential alternative splicing in blood of young boys with autism spectrum disorders. **Molecular Autism**, v. 4, n. 1, p. 30, 2013.

SUBRAMANIAN, M., TIMMERMAN, CK., SCHWARTZ, JL., PHAM, DL., MEFFERT, MK. Characterizing autism spectrum disorders by key biochemical pathways. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, 24 set. 2015.

TRIFONOVA, E. A., et al. The mTOR Signaling Pathway Activity and Vitamin D Availability Control the Expression of Most Autism Predisposition Genes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 24, p. 6332, 15 dez. 2019.

TYLEE, D. S., et al. Blood transcriptomic comparison of individuals with and without autism spectrum disorder: A combined-samples mega-analysis. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 174, n. 3, p. 181–201, 2017.

WALTES, R., et al. Common EIF4E variants modulate risk for autism spectrum disorders in the high-functioning range. **Journal of Neural Transmission**, v. 121, n. 9, p. 1107–1116, 2014.

YEUNG, K. S., et al. Identification of mutations in the PI3K-AKT-mTOR signalling pathway in patients with macrocephaly and developmental delay and/or autism. **Molecular Autism**, v. 8, n. 1, p. 66, 2017.