



## Otizm Spektrum Bozukluğunun Moleküler Yönleri: İmmün Sistem ve Mikrobiyom Üzerine Bulgular

### Molecular Aspects of Autism Spectrum Disorder: The Findings on the Immune System and Microbiome

Rafiq Gurbanov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Bilecik Şeyh Edebalı Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, <sup>2</sup>Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilecik, Turkey

#### ABSTRACT

As one of the increasing problems of our age, autism spectrum disorder is an umbrella term used for heterogeneous neurodevelopmental disorders such as inadequacy in social development, repetitive motor movements, and retardation in language development. Autism has been argued to be associated with mutations that may occur in different chromosomal regions. Therefore, it has been suggested that genetic factors may play a role in the etiology of the disease. Immunological and immunogenetic changes are the other factors that have been suggested to contribute to the etiology of the disease. In the emergence of autism, besides the genetic factors, the potential effects of environmental factors on functional disorders should not be ignored. In this sense, it has been reported that the intestinal microbiome may be involved in the etiology and/or pathophysiology of autism, and it has been shown that impaired microbiome can cause autistic behaviors by affecting the immune system and central nervous system. In this work, current studies to comprehend the etiology of autism have been reviewed and the potentials of gene and microbiome-oriented therapeutic options in the treatment of autism have been discussed.

**Keywords:** Autism spectrum disorder, microbiota, genetic factors, immune system, probiotics

#### ÖZET

Görülme sıklığı artmakta olan otizm spektrum bozuklukları, sosyal gelişimde yetersizlik, tekrarlayıcı motor hareketler ve dil ve konuşma güçlükleri gibi heterojen nörogelişimsel bozukluklar ile karakterize bir tanı gurubu için kullanılan şemsiye bir terimdir. Otizmin, farklı kromozomal bölgelerde ortaya çıkabilen mutasyonlarla ilişkili olabileceği, dolayısıyla hastalığın etiolojisinde genetik etmenlerin etkili olabileceği öne sürülmüştür. Bağışıklık sisteminde meydana gelebilecek değişimler ve immünogenetik, hastalığın etiolojisine katkısı olduğu ileri sürülen diğer etmenlerdir. Otizmin ortaya çıkışında genetik etkenlerin yanında çevresel etkenlerin sebep olabileceği fonksiyonel bozukluklar da göz ardı edilmemelidir. Bu anlamda, bağırsak mikrobiyomunun otizm ile ilişkili olabileceği güncel çalışmalarla bildirilmiş olup, bozulmuş mikrobiyomun, bağışıklık sistemi ve merkezi sinir sistemini etkileyerek otistik davranışlara sebep olabileceği önerilmiştir. Bu çalışmada, otizmin etiolojisini kavramak üzere yapılmış güncel çalışmalar derlenmiş olup, otizm tedavisinde gen ve mikrobiyom odaklı tedavi seçeneklerinin potansiyelleri tartışılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Otizm Spektrum Bozukluğu, Mikrobiyota, Genetik Etmenler, İmmün Sistem, Probiyotikler

#### Giriş

Çağımızın giderek artan sorunlarından biri olan otizm spektrum bozukluğu (OSB) ilk kez 1943 yılında, Amerikalı çocuk psikiyatrisi Leo Kanner tarafından tanımlanmıştır<sup>1</sup>. “Yaygın Gelişimsel Bozukluk-YGB” olarak da adlandırılan OSB, erken çocukluk dönemlerinden itibaren başlayan nörogelişimsel bir bozukluktur<sup>2</sup>. Sosyal gelişimde yetersizlik, anormal dil gelişimi ile sınırlı ve tekrarlayıcı motor hareketler, hastalığın klinik belirtileri arasındadır<sup>2</sup>. Günümüzde her 59 çocuktan 1’inde görülen OSB’nin sıklığı, erkek çocuklarda kız çocuklarına oranla dört kat fazladır<sup>3</sup>. Hastalığın nedenlerinin anlaşılmasına yönelik araştırmalar 1950-60 yılları arasında yaygınlık kazanmış olmakla birlikte, hastalığın etiolojisi henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak OSB’li hastaların % 70’inde gastrointestinal sistem (GİS) bozuklukları gözlemlendiğinden, güncel bazı çalışmalar OSB’yi “bağırsak-beyin eksen bozukluğu” olarak tanımlamaktadır<sup>4</sup>. Çoğu nörogelişimsel bozuklukta olduğu gibi OSB de karmaşık bir etiolojiye sahiptir. Hastalık çeşitli



nörobiyolojik faktörlerle ilişkili olup güncel çalışmalar neticesinde sebepleri konusunda daha fazla bilgi sahibi olunmaya başlanmıştır<sup>5</sup>.

Bu çalışmada, OSB'nin genetik temelleri ve hastalığın gelişiminde immün sistem ile bağırsak mikrobiyotasındaki değişimler moleküler bir bakış açısı ile derlenmiştir. Ayrıca, OSB tedavisinde bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesine yönelik probiyotik uygulamaların potansiyeli de vurgulanmıştır.

## OSB'de Genetik Etmenler

Son zamanlarda yapılan birçok araştırma sonucunda OSB ile ilişkili olduğu düşünülen önemli genetik mutasyonlar belirlenmiştir<sup>6</sup>. OSB'nin büyük oranda (% 50) kalıtsal olarak aktarılan genel genetik varyantlarla ve daha az oranda (% 10-25) kopya sayısı varyasyonları (copy number variants/ CNV) ve tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphisms/ SNP) ile ilişkili olabileceği varsayılmaktadır<sup>7</sup>. Hastalığın fenotipik çeşitliliği çoklu genlerin etkileşerek farklı gen kombinasyonları oluşturmasına bağlı olabileceğinden OSB, birden çok genetik altyapı bozukluğu ile ortaya çıkan heterojen bir hastalık olarak tanımlanabilmektedir<sup>8</sup>.

Genetik sendromlar da dahil olmak üzere otistik fenotip ile ilişkilendirilebilecek çok sayıda hastalık bulunmaktadır<sup>9</sup>. Bu hastalıklar arasında, Angelman Sendromu (*UBE3A*/ ubiquitin protein ligase E3A), Rett sendromu (*MECP2*/ Methyl CpG binding protein 2), nörofibromatozis (NF1/ neurofibromin 1), Timothy sendromu (*CACNA1C*/ calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit), Smith-Lemli-Opitz sendromu (*DHCR7*/ 7-dehydrocholesterol reductase), CHARGE sendromu (*CHD7*/ chromodomain helicase DNA binding protein 7), Cohen sendromu (*VPS13B*/ vacuolar protein sorting 13 homolog B), Noonan sendromu (*PTPN11*/ protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11), 2q37 delesyon sendromu, Cornelia de Lange sendromu (*NIPBL*/ Nipped-B homolog, *SMC1A*/ structural maintenance of chromosomes 1A ve *SMC3*/ structural maintenance of chromosomes 3), DiGeorge/ Velokardiyofasiyal sendrom (22q11), Smith-Magenis (*RAI1*/ retinoic acid induced 1), Williams-Beuren sendromu (7q11.23) ve Phelan-McDermid sendromu (22q13.3) sayılabilir<sup>9</sup>.

OSB ile ilişkili olabilecek birçok gen öne sürülmüştür<sup>10</sup>. Özellikle, kromozom 7q (uzun kol) üzerindeki kırılma noktalarının hastalık ile ilişkisi önerilmiştir<sup>11</sup>. 7q31-q33 mutasyonlarının (translokasyon kırılma bölgesi olan *IMMP2L* ve sadece bir OSB'li çocukta rastlanılmış olan *RAY1*/ *ST7*'de görülen kırılma bölgeleri), otistik bireylerde görülen konuşma bozukluğunda rol oynayabileceği düşünülmektedir<sup>12</sup>. Araştırmacılar, 7q31-q33 bölgesinde OSB için markör potansiyeli taşıyan *AUTS1* isimli bir alan tanımlamışlardır<sup>13</sup>. 15q11-q13 bölgesinde tanımlanan duplikasyonlar, delesyonlar ve inversiyonların da OSB'li bireylerde sıklıkla görüldüğü rapor edilmiştir<sup>13</sup>. Hastalıkla bağlantısı olduğu önerilmiş diğer aday genler ise, 15q11-q13 bölgesindeki *UBE3A* ve *GABAA* (gamma-aminobutyric acid type A) reseptör alt birimi genleri ile 7q22-q33 bölgesindeki *FOXP2* (Forkhead box protein P2), *ST7* (suppression of tumorigenicity 7), *IMMP2L* (inner mitochondrial membrane peptidase-like) ve *RELN* (Reelin) genleridir<sup>9,13</sup>. 17q11-q12 bölgesindeki *SLC6A4* (solute carrier family 6 member 4) geninin allel varyantları da OSB'li bireylerde daha sık gözlenmiştir<sup>9,13</sup>. *UBE3A*'nın yüksek düzeyde ifade edildiği yer insan beynidir. Anne tarafından miras alınan *UBE3A*'nın nöronal aktivitesinin kaybı, ağır zeka geriliği, konuşma eksikliği, nöbet ve otistik davranışlar ile karakterize Angelman sendromuna (AS) neden olur<sup>14</sup>. *UBE3A* genindeki duplikasyon, triplikasyon veya işlev kazancı (gain-of-function) gibi mutasyonların da OSB ile bağlantılı olduğu önerilmiştir<sup>14</sup>. Protein Reelin (*RELN*), 7q22'de translokasyon bölgesine lokalize olmuş, nöronal migrasyon sırasında salgılanan önemli bir glikoproteindir<sup>15</sup>. Reelin proteinindeki değişimler kortikal ve serebral gelişimi etkiler. Otistik bireylerin Reelin proteini seviyesinde % 44'lük bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca, *RELN* geninin 5α bölgesinde görülen uzun bir trinükleotid tekrar polimorfizmi de OSB ile ilişkilendirilmiştir<sup>13</sup>. *RELN* geninde yapılan birçok çalışmada OSB ile ilişkili olabilecek 40'ın üstünde heterozigot mutasyon tespit edilmiştir<sup>15</sup>. Benzer şekilde 22q13 bölgesindeki delesyonların da (*SHANK3*/*SH3* and multiple ankyrin repeat domains 3'un intron 8'inde) OSB ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir<sup>16</sup>. Her ne kadar 2q37 bölgesi OSB ile ilişkilendirilse de, bu bölgedeki spesifik genin/genlerin hastalıkla olan bağlantısı kesin olarak saptanamamıştır<sup>17</sup>. 16p11.2 ve 15q13.3 bölgelerinde görülen duplikasyon ve delesyonların da OSB ile ilişkili olabileceğini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur<sup>18</sup>. *DYRK1A* (Dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 1A), otistik bireylerin % 0,1-0,5'inde

mutasyona uğrayan bir genidir. Bu gen mikrosefali, zihinsel gerilik, konuşmada gecikme ve görme bozukluğu gibi fenotipik özelliklerden sorumludur<sup>19</sup>. OSB vakalarının % 10'unda ise *NRXN1* (*Nurexin1*), *NLGN3/NLGN4* (*Nöroligin 3/ 4*) ve *SHANK3* genlerinin etkisi gözlenmiştir<sup>20</sup>. Örneğin; *NLGN3*'de hastalıkla ilişkili olabilecek R451C mutasyonu, sinaptik hücre-yüzey etkileşimlerini inhibe eder<sup>21</sup>. Bu çerçevede, *SHANK3* geninde nadir gözlenen *de novo* delesyonların da OSB'nin patogeneğinde etkili olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır<sup>17,22</sup>.

OSB'li bireylerin en az % 10'unda CNV ve SNP'ler görülmektedir<sup>2</sup>. Bilinen SNP'ler kullanılarak yapılan genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında *CHD9* (chromodomain helicase DNA binding protein 9)'un ve *CHD10* (chromodomain helicase DNA binding protein 10)'un OSB ile bağlantılı olabileceği belirtilmiştir<sup>23</sup>. Otistik bireylerin % 5'inde Tüberoz Skleroz ve yine benzer yüzdelerde Fragil X Sendromu, Rett Sendromu, Fenil Ketonüri, Williams Sendromu, Cohen Sendromu ve Angelman Sendromu gibi pek çok genetik hastalık eş zamanlı olarak gözlenmektedir<sup>17</sup>. OSB ile ilişkili olabilecek bu sendromlarda çoklu moleküler işlevlere sahip genlerin değişimi söz konusudur. Örneğin; Angelman ve Rett Sendromu ile OSB'de *UBE3A* ve *GABAA* genlerinin ifadesinde azalmalar belirlenmiştir<sup>24</sup>. Dahası Rett Sendromunda ortaya çıkan *MECP2* geni mutasyonlarına OSB olgularında ve Angelman Sendromunun alt tiplerinde rastlanılmıştır<sup>25</sup>. Bir başka çalışmada; OSB'li 69 kadın hastanın 2'sinde Rett Sendromunda gözlenen *MECP2* mutasyonuna rastlanılmıştır<sup>26</sup>. Her ne kadar *MECP2* geninin OSB etiolojisinde önemli olduğu öne sürülmüş olsa da, heterojen olarak tanımlanan OSB için tek genetik faktör değildir. Turner Sendromuna sahip kişiler ele alındığında, X kromozomu anneden kalıtılanların sosyal becerilerinin, babadan kalıtılanlara oranla daha yetersiz olduğu saptanmıştır. OSB'nin bu genetik sendromlar ile karşılaştırılabilir olarak değerlendirilmesi, ortak olan moleküler özelliklerinin belirlenmesine katkı sağlamıştır<sup>17,27</sup>. Fragil X sendromu ikincil otizm olarak adlandırılır ve % 5-10 oranında OSB ile birlikte görülür<sup>28</sup>. Mental retardasyonla kendini gösteren Fragil X sendromundan sorumlu olan gen, Xq27.3'de lokalize olmuş *FMR1* (fragile X mental retardation 1) genidir. Fragil X sendromu tanısı koyulmuş erkek bireylerin % 30'una aynı zamanda OSB tanısı konmuştur<sup>28</sup>.

## OSB'de İmmünojenetik Etmenler

İmmünojenetik genel olarak genetik faktörlerin immün hastalıklar ile güçlü bir şekilde ilişkisini ifade etmektedir<sup>29</sup>. Güncel çalışmalar, kromozom 6 ve 19'daki sırasıyla insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigens/ HLAs) ve öldürücü hücre immünooglobulin benzeri reseptörleri (killer cell immunoglobulin-like receptors/ KIRs) gen kümelerinin OSB'de rolü olabileceğini göstermiştir<sup>30</sup>. HLA kompleksi, ligandlar, reseptörler, sitokinler, sinyal faktörleri, ısı şok proteinleri, transkripsiyon düzenleyicileri ve en önemlisi yabancı faktörleri tanıma gibi çeşitli fonksiyonlara sahip proteinleri kodlayan yaklaşık 200 geni içerir. Bu bölgedeki bazı allellerin/ genlerin OSB ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Örneğin, farklı araştırma grupları OSB ile HLA-A2 (A2) alleli arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir<sup>30</sup>. Hamilelikte trofoblastlarca ifade edilen HLA-G, maternal-fetal arayüzde maternal doğal öldürücü (natural killer/ NK) hücrelerce ifade edilen lökosit ile ilişkili immünooglobulin benzeri reseptör (leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor/ LAIR) ve KIR (2DL4) molekülleri ile etkileşerek normal immün yanıtı inhibe eder<sup>31</sup>. HLA-G'nin 3'-UTR ucundaki 14 bp'lik delesyon HLA-G'nin yüksek ifadesi ile ilişkiliyken, 14 bp'lik insersiyon HLA-G'nin düşük ifadesi ile bağlantılıdır. OSB'li bireylerde 14 bp'lik insersiyon artışı ile HLA-G protein seviyelerinde azalma gözlenmiştir<sup>32</sup>. Bu nedenle, OSB'li bireylerin ve annelerinin HLA-G aracılı immün toleranslarının hamilelik sırasında azalmış olabileceği öne sürülmüştür<sup>30</sup>. Han Çinlileri üzerinde yapılan çalışmaya göre, OSB'li bireylerde DR4 dahil HLA-DRB1 allel frekansları sağlıklı kontrol grubuna göre farklılık göstermektedir<sup>33</sup>. Irk gruplarının otoimmün hastalıklarla ilişkili farklı HLA allellere sahip olmalarının yaygın olduğu unutulmamalıdır. DR4 alleli OSB popülasyonunda yüksek frekans gösterdiğinden, bu allelin ortak genetik varyant (common genetic variant) olabileceği görüşü öne sürülmüştür. Ayrıca, belirli DR4 allellerin paylaşılan epitop (shared epitope/ SE) olarak da adlandırılan aşırı değişken-3 (HVR-3) bölgesinin OSB popülasyonlarında yüksek oranda (% 31,5) arttığı görülmüştür. Proinflamatuvar yardımcı T hücrelerinin Th17 (T helper 17 cells) soyunun (lineage), otoimmün nöroinflamatuvar hastalıklarının patogenezindeki rolü bilinmektedir. SE peptidi, yardımcı T hücrelerinin Th17 soyuna farklılaşmasında önemlidir. Th17 hücreleri ve SE peptidinin OSB fenotipine etki edebileceği öne sürülmüştür<sup>34</sup>. KIR genlerinin tamamının ifadesinin OSB'de artmış olduğu gösterilmiş; bu genler arasında *3DS1*, *2DS1* ve *2DS2* genleri ise OSB'de ortak genetik varyant olarak önerilmiştir. Ortak genetik varyant olma potansiyeli taşıyan

diğer HLA allelleri ve KIR genleri, Torres ve arkadaşları (2016) tarafından derlenmiştir<sup>30</sup>. Patojenlerle mücadelede bağışıklık sistem elemanlarına yardım eden kompleman sisteminin 25 proteininden 4'ü HLA kompleksi (C4A, C4B, C2 ve Bf) içinde ifade edilmektedir. C4A ve C4B kompleman proteinleri HLA sınıf III bölgesinin iki farklı geni tarafından kodlanmaktadır. OSB'li bireylerde C4B gen delesyonu<sup>35,36</sup> ve plazma C4B protein seviyesinde azalma tespit edilmiştir<sup>37</sup>.

## OSB'de Bağışıklık Sisteminin Rolü

Etiyolojisi hala tam olarak tanımlanmamış olmakla OSB'nin bağışıklık sistemi ile bağlantılı olabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır<sup>38</sup>. Otistik bireylerde, B ve T lenfositlerin ve NK hücrelerinin üretiminde ve işlevinde yetersizlik gözlenmiştir<sup>39-43</sup>. Ayrıca, hastalarda sitokin seviyelerinde ve beyin omurilik sıvısında MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1) düzeyinde belirgin bir artış saptanmıştır<sup>39-43</sup>. MCP-1'in yanı sıra TARC (thymus and activation regulated chemokine) gibi bazı proinflamatuvar kemokinlerin ve tartışmalı da olsa TGFβ1 (transforming growth factor beta 1)'in artışı gösteren çalışmalar da bulunmaktadır<sup>44</sup>. Diğer nörolojik hastalıklarda olduğu gibi OSB nöroinflamasyonunun patogeneğinde proinflamatuvar sitokinlerin de rol oynayabileceği bildirilmiştir<sup>45</sup>. Çeşitli otistik fenotiplerin ortaya çıkmasında nöroimmün bozuklukların katkısı olabilir<sup>39,46</sup>. Nöroinflamasyon, OSB gelişimi için doğrudan etken olmamakla birlikte merkezi sinir sistemi (MSS) anormalliklerinin başlamasını tetikleyen kritik etmenlerden biri olarak görülmektedir. Bu kapsamda bazı çalışmalar sitokin benzeri inflamasyon belirteci olan HMGB1 proteininin (high mobility group box 1 protein) otistik semptomlar ile bağlantılı olabileceğini göstermiştir<sup>47</sup>. OSB'li hastaların postmortem beyin örneklerinde de nöroinflamasyon gözlenmiştir<sup>48</sup>. OSB'de astrositlerin ve mikroglial hücrelerin aktivasyonu inflamasyonu tetikleyebilir. Antikorlar organizmayı bakteri ve virüs gibi patojenlere karşı savunur. Ancak bazı bozukluklarda bu antikorlar normal hücrelere de saldırarak otoimmün hastalıkların oluşmasına sebep olabilir<sup>49</sup>. Otistik bireylerde beyine özgü otoantikorların yüksek düzeyi, hastalığın olası otoimmün mekanizmasının aydınlatılması gerekliliğine işaret etmektedir<sup>50</sup>.

Reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species/ ROS) normalde hücrenin enerji üretim aşamaları sırasında açığa çıkar ve hücrenin antioksidanlar tarafından bertaraf edilir<sup>51</sup>. Nitrik Oksit (NOX) enzim ailesinin bir üyesi olan Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz (NADPH oksidaz) kompleksi plazma membranı boyunca elektronları taşıırken aynı zamanda ROS üretilir. ROS, DNA, lipit ve protein gibi makromoleküllerde yapısal değişimlere yol açar<sup>52</sup>. NADPH oksidaz kompleksinin homoloğu olan NOX-2 (gp91phox) ilk olarak nötrofil ve makrofajlarda bulunmuştur. NOX-2'nin temel işlevi, ROS'un başlıca kaynağı olan süperoksiti üretmektir<sup>53</sup>. Dolayısıyla, bu hücreler ROS üretimiyle yabancı mikroorganizmaların öldürülmesini sağlar<sup>52</sup>. NOX-2 nörodejeneratif hastalıklarda düzenleyici olarak görev alır<sup>54</sup>. TLR-4 (Toll-like Receptor 4) sinyali mikroorganizmalara karşı bağışıklık için önemlidir. İnflamatuvar sitokinler, kemokinler ve ROS üretimiyle olan ilişkisi yüzünden TLR-4 sinyali OSB patogeneziyle ilişkilendirilmiştir<sup>55</sup>. Örneğin, otistik bireylerin periferik kan mononükleer hücrelerinin TLR-4 ligandı lipopolisakkarid (LPS) ile uyarıldığında oluşan proinflamatuvar sitokin miktarının, sağlıklı bireylerde üretilenden fazla olduğu görülmüştür<sup>56</sup>. Otistik bireylerin CD4<sup>+</sup> (Cluster of Differentiation 4) T hücrelerinde TLR-4 ve NOX-2 ekspresyonlarının artmış olduğu görülmüş olup, bu artışın CD4<sup>+</sup> T hücrelerindeki artmış ROS üretiminden sorumlu olduğu öne sürülmüştür<sup>51</sup>. Le Belle ve arkadaşları (2014) farelerde LPS ile indüklenen maternal inflamasyon ile aktive olan NOX'un, erken beyin gelişimi sırasında ROS aracılığı ile kök hücre ve projenitör hücrelerin aşırı proliferasyonuna bağlı olarak makrosefaliye ve otizme neden olabileceğini bildirmiştir<sup>57</sup>.

İmmünite ve nöronal regülasyon arasındaki ilişki detaylarıyla henüz açıklanmamış olmasına rağmen, bazı sitokinlerin nörogelişimsel bozukluklara yol açabileceği bilinmektedir<sup>58</sup>. Sitokinler, çeşitli hücreler ve moleküler olayların düzenlenmesinde önemlidir<sup>59</sup>. Bu bağlamda MSS'deki sitokinler ve onların reseptörleri nöronal farklılaşma ve plastisite olaylarının önemli immunomodülatörleridir<sup>58</sup>. Örneğin, interlökin (IL)-6 gibi nöropoetik sitokinler, nöron çoğalması, gelişimi ve ölümü gibi süreçlere etki edebilecek olayları doğrudan etkileyebilmektedir<sup>58</sup>. IL-1β ve TNF-α (tumor necrosis factor alpha) gibi sitokinler ise, oligodentrosit toksisitesi, nörit büyümesi ve hipokampüsteki homeostatik sinaptik plastisitenin düzenlenmesi ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle sitokin disregülasyonu, nöronal aktivite ve gelişim gibi davranış olumsuz biçimde etkileyen olaylar üzerinde önemli etkilere sahip olabilir<sup>58</sup>. OSB'li postmortem

beyinlerin temporal korteksinden elde edilen örneklerde IL-6 ve IL-1 gen ekspresyonunun artmış olduğu görülmüştür<sup>60</sup>. Bu sitokinlerin stereotipik davranışsal bozukluklarla yakından ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Otistik bireylerde regresyon ve stereotipik davranış düzeyleri ile IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  ve IL-12p40 gibi sitokinlerin düzeyleri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir<sup>61</sup>. Farklı çalışmalarda TGF $\beta$ 1, immünoglobülin (Ig)-G4, makrofaj inhibitör faktör, trombosit-endothelyal adezyon molekülü, monosit aktivasyonunun disfonksiyon ve seviyeleri de OSB'li bireylerde görülen davranış bozuklukları, sosyal etkileşim ve iletişim becerisi eksikliği ile ilişkilendirilmiştir<sup>58</sup>. Otistik çocuklarda, düzensiz immün yanıtlar, immün hücrelerinden IL-23 salınımının azalmasına neden olabilmektedir<sup>62</sup>. IL-23 seviyesi azalırken, IL-17 seviyesinde değişiklik saptanmamıştır<sup>62</sup>. IL-23, OSB'de nöroinflamasyonun tetiklenmesinde potansiyel rolü olduğu düşünülen Th17 hücrelerinin oluşumunu ve sağ kalımını ve dolayısıyla IL-17 hücrelerinin devamlı üretimini sağlayan önemli bir proliferatif faktördür. Örneğin, hayvanlara uygulanan anti-IL-23 tedavisi deneysel otoimmün ensefalomyelit (experimental autoimmune encephalomyelitis/ EAE)'in iyileştirilmesini sağlamıştır<sup>62</sup>. Bununla birlikte, OSB'de IL-23'den bağımsız olarak Th17 üretimini destekleyen TGF $\beta$ 1 seviyelerinde azalmalar da bildirilmiştir<sup>63</sup>. Bu çelişkili deneysel bulgular, OSB'de Th17'nin rolünün aydınlatılması gerekliliğine işaret etmektedir.

Otistik bireylerde Ig anormallikleri de saptanmıştır. 6 ay uygulanan intravenöz Ig (IVIG) tedavisinin otistik davranışlarda dikkat çekici bir gerilemeye neden olduğu gözlenmiştir<sup>64</sup>. Otistik bireylerin % 30-40'ında IgA eksikliği saptanmıştır. IgA eksikliğinde, alerji ve otoimmünite sıklığı artar<sup>65</sup>. Yates (1984), otistik çocuklarda rutin olarak gözlenen fonksiyonel bozuklukların beyin sol hemisferinde meydana gelen hasar sonucu oluştuğunu belirtmiştir<sup>66</sup>. T hücre disfonksiyonunun sol hemisferik hasarla ilişkili olduğu öne sürülmektedir<sup>67</sup>. Prematüre doğan bebeklerde OSB gelişimi normal doğan bebeklere oranla dört kat daha fazladır. Prematüre bebeklerin bağırsak, kan ve beyin gelişimleri daha geç tamamlandığı için enfeksiyonlara ve nörotoksinlere maruz kalma ihtimalleri daha yüksektir<sup>68</sup>.

## OSB'de Potansiyel Gen Tedavileri

Günümüzde antisens oligonükleotid (antisense oligonucleotides/ ASO) ve virüs-temelli gen yerine koyma (replacement) tedavileri, sırasıyla spinal müsküler atrofi (spinal muscular atrophy/ SMA) ve Leber'in konjenital amorozi (Leber's congenital amaurosis/ LCA) hastalıklarında klinik olarak onaylanmıştır<sup>69</sup>. Ayrıca, yaban tip *SMN1* geni taşıyan rekombinant adeno-ilişkili virüs 9 (recombinant adeno-associated virus 9/ rAAV9) klinik denemesinin, SMA hastası yeni doğanlarda güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir<sup>70</sup>. Kan beyin bariyerini (blood brain barrier/ BBA) geçerek MSS'nin bütün (global) nöron ve glia hücrelerini transdüksiyona uğratma potansiyeline sahip rAAV9 vektörünün OSB gen tedavisinde değerlendirilmesi mantıklı bir yaklaşım olabilir<sup>69</sup>. İşlev kaybı mutasyonları ile karakterize edilen tek gen kaynaklı (monogenic) OSB'de basit gen yerine koyma işlemi, sinaptik fonksiyonları iyileştirebilir<sup>69</sup>. Monojenik hayvan modelleri ile gerçekleştirilen bir dizi çalışma, rAAV9 gen tedavisinin (örneğin, *MECP2* ve *FMR1*) davranışsal ve fenotipik bozuklukların iyileştirilmesinde etkili olabileceğini göstermiştir<sup>69,71,72</sup>. Olasıdır ki, hem multifaktöriyel bir hastalık olması hem de nöron hücrelerinin yetersiz transdüksiyonu nedeniyle yukarıda belirtilen gen tedavilerinin hiçbiri OSB fenotipinin bütünsel olarak iyileştirilmesinde başarılı olamamıştır. Nöronların yaklaşık % 80 transdüksiyonu yeterli iyileşme sağlayabilmektedir<sup>73</sup>. Ancak transdüksiyon başarısını yükseltmek için vektör dozunun artırılması genomda hedef dışı (off-target) transgen ekspresyonuna neden olabilmektedir. Örneğin, yüksek dozlarda rAAV9-MECP2 vektörü, muhtemelen *MECP2* geninin karaciğer metabolizmasındaki rolü nedeniyle karaciğer toksisitesine sebep olmuştur<sup>74</sup>.

İlgili genin ifadesi posttranskripsiyonel olarak diziyeye özel susturma (knockdown) teknikleri ile de kontrol edilebilir: tasarlanmış ASO'lar ve kısa susturucu RNA'lar (short interfering RNAs/ siRNAs), ilgili mRNA transkriptine bağlanmak ve onun translasyonunu önlemek için kullanılabilir<sup>75</sup>. SMA tedavisinde ve Huntington hastalığının klinik denemelerinde kullanılmakta olan bu nükleotidler<sup>69</sup>, viral bir vektöre gerek duymadan kolay üretilebilir olup aynı zamanda yıkıma dirençli ve inflamasyona yol açmayacak şekilde modifiye edilebilirler<sup>75</sup>. *MECP2* transkriptine özel tasarlanmış ASO'ların intraventriküler uygulaması, MSS'de geniş yayılım göstererek etkili susturma ve dolayısıyla fenotipik iyileşme sağlamıştır<sup>76</sup>. Babadan kalıtılan (paternal) uzun kodlamayan (long non-coding) UBE3A antisens transkripti (UBE3A-AST), maternal kökenli *UBE3A*'nın ifadesini baskılayarak (genomic imprinting), OSB fenotipinin ortaya çıkmasına

neden olabilir. UBE3A-AST transkriptini hedefleyen ASO'nun intraventriküler enjeksiyonu ile MSS'deki UBE3A seviyeleri % 40 oranında geri kazanılmıştır<sup>77</sup>. Ne yazık ki, hem ASO hem de siRNA stratejileri viral gen susturma işlemlerinde olduğu gibi öngörülemeyen hedef dışı susturmalara neden olabilmektedir<sup>69</sup>. Gen tedavilerinin OSB'de potansiyel uygulamaları ve ilgili sorunlar, daha detaylı bir şekilde Bengert ve arkadaşları (2018) tarafından değerlendirilmiştir<sup>69</sup>.

## Bağırsak-Beyin Eksenini

Bağırsak-beyin eksenini, GİS ve sinir sistemi arasındaki çift yönlü biyokimyasal iletişimi tanımlar<sup>78</sup>. Karşılıklı etkileşim ağı MSS, otonom sinir sistemi (OSS), enterik sinir sistemi (ESS), hipotalamik-pitüiter adrenal eksenini (HPA), bağırsak mikrobiyomu ve aynı zamanda iç organlar arasındaki bağlantılar ile ana yolak olan vagus sinirini kapsar<sup>79,80</sup>. Son yıllarda MSS, GİS ve OSB arasındaki ilişkileri anlama ve açıklamaya yönelik çalışmalar hız kazanmıştır<sup>81</sup>. GİS'e ait ESS, tahmini olarak omuriliğe eşdeğer sayıda nöron içerir ve dolayısıyla 'ikinci beyin' olarak adlandırılır<sup>81,82</sup>. MSS, bağırsak lümeni mikrobiyomunun etkisi altındadır<sup>83</sup>. Bağırsak mikrobiyomu bellek için önem arz eden serotonin, GABA ve beyin-türevli nörotrofik faktör (brain derived neurotrophic factor/ BDNF) gibi nörotransmitter maddeleri sentezler<sup>84</sup>. Beyin, mikroorganizmaların yaşamı için gerekli mukozal biyofilmi sağlamak için hareketlilik, asit ve münin salgılanması ve bağırsak sıvısının taşınması gibi bağırsak fonksiyonlarını modüle edebilmektedir<sup>84</sup>. Bağırsak mikrobiyomunun ve metabolitlerinin, bağışıklık ve GİS'i modüle ederek OSB'yi doğrudan veya dolaylı olarak etkilediğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır<sup>80</sup>. Son dönemde yapılan çalışmalar bağışıklık sistemi ile mikrobiyota ve davranışa etki eden sinir sistemi arasında sıkı ilişkiler olduğunu öne sürmektedir. GİS mukozasında yaklaşık olarak  $5 \times 10^{10}$  lenfosit bulunur. Bu hücreler, 'mukozaya bağlı lenfoid dokular' olarak adlandırılır<sup>85</sup>. Lümendeki mikroorganizma topluluklarına çok yakın bir yerde bulunan ESS, GİS fonksiyonlarını da düzenler<sup>86</sup>. Bağırsakta bulunan mikroorganizmalar, nörotransmitter fonksiyona sahip, ruhsal durumu ve davranışları modüle etmede görevli metabolitlerin sentezlenmesini de sağlarlar<sup>87</sup>. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, bağırsak mikroorganizmalarının MSS'deki mikroglial hücreler üzerine etki ederek serotonin seviyelerini ve ruh halini ve davranışları düzenlediği rapor edilmiştir<sup>81</sup>. Sinir sistemi, immün sistem bileşenleri ve bağırsaklar, sıkı ve kontrollü bir iletişim ve ilişki halindedir<sup>88</sup>. Mikropsuz (germ-free) fareler üzerine yapılan çalışmalarda gözlenen bağışıklık sistemi kusurları, mikrobiyomun bağışıklık için gerekli olduğunu kanıtlar niteliktedir<sup>89</sup>. Güncel çalışmalardan, bağırsaktaki bakteri kolonizasyonunun konakçı edinsel immün yanıtın olgunlaşma ve gelişimine yön verebileceğine dair veriler elde edilmiştir. Mikrobiyom ve bağışıklık arasındaki faydalı ortaklık, yaşam boyunca konakçı homeostazisinin sağlanmasına büyük katkılar sağlar<sup>80</sup>.

## OSB'de GİS Bozuklukları, Serotonin ve Melatonin Hormonları

Otistik çocuklarda GİS bozukluklarının ve inflamasyonun görülme sıklığının artmış olduğu<sup>90,91</sup>; hastaların % 91'inde GİS bozuklukları saptandığı bildirilmiştir<sup>92</sup>. Son çalışmalar bağırsak fonksiyon bozuklukları ile OSB arasında bir ilişki olabileceğini ve hastalık semptomlarının şiddetinde GİS faktörünün önemli olabileceğini öne sürmektedir<sup>93-95</sup>. Bazı otistik çocuklarda karın ağrısı, ishal, kabızlık ve şişkinlik gibi GİS bozuklukları sıklıkla görülmektedir. % 75'lik bir oranla, otistik çocuklarda en sık görülen bağırsak hastalığı diyaredir. Hastaların % 93'ünde ileal lenfoid nodüler hiperplazi, % 3'ünde ise kronik gastrit tanımlanmıştır<sup>96</sup>. Bu hastalıkların, toksik madde üreten patojenlerin aşırı gelişimine olanak sağlayan bozulmuş bağırsak mikrobiyotası ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Beyindeki en geniş sinir lifi demeti olan korpus kallozum yokluğu ve azalmış hipokampal bağlantılar (hippocampal commissure) ile karakterize edilen BTBR T+tf/ J (BTBR) fare modelinde otistik davranış gözlenmiştir. Bu nedenle, OSB çalışmalarında BTBR faresi çok popüler ve kullanışlı bir modeldir<sup>97</sup>. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BTBR farelerde bozulmuş ince bağırsak motilitesi ve feçes suyunda ve bağırsak geçirgenliğinde (permeabilitesinde) azalma tespit edilmiş olup, bu fonksiyonel bozuklukların, dışkıının kolon boyunca hareketinde yavaşlamaya sebep olduğu düşünülmüştür<sup>98</sup>. Viral enfeksiyonları stimüle etmek amacıyla gebe farelere hamilelik döneminde bir immünostimülant olan poliinozinik: polisitidilik asit verilmiş, bu uygulamanın doğan yavrularda iletişimsel ve sosyal bozukluklar gibi temel otistik belirtilere neden olduğu bildirilmiştir<sup>99</sup>. Gebelik dönemindeki anne farelerin bağışıklık sisteminin aktivasyonu (maternal immune activation/ MIA) yani gelişmekte olan fetüsün maternal sitokinlere maruz bırakılması, yavrularda davranış bozukluğuna ve bağırsak bariyer bütünlüğünün

bozulmasına neden olabilmektedir<sup>100</sup>. Bu hayvanlarda kolonik *TJP1* (tight junction protein 1), *TJP2*, *OCLN* (occludin) ve *CLDN8* (Claudin 8) genlerinin azalmış ekspresyonu, *CLDN15* (Claudin 15) geninin ise artmış ekspresyonu gözlenmiştir<sup>100</sup>. OSB'li çocuklar üzerinde yapılan başka bir araştırmada ise, hastaların % 59'unda şekilsiz dışkı, diyare, şişkinlik, kabızlık, gastroözofageal reflü gibi GİS bozuklukları saptanmıştır<sup>101</sup>. Ağır OSB'li hastalarda ise hafif olanlara nazaran bir enterosit hasarı belirteci olan üriner bağırsak yağ asidi bağlayıcı protein (Intestinal fatty-acid binding protein/ I-FABP) seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir<sup>101</sup>.

Biyokimyasal, farmakolojik ve davranışsal çalışmalar serotonerjik nörotransmisyonun OSB patolojisine katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir<sup>102</sup>. Yüksek serotonin seviyesinin OSB ile ilişkili olabileceği de öne sürülmektedir: hastaların % 25'inde sağlıklı bireylere kıyasla artmış serotonin düzeyi tespit edilmiştir<sup>103</sup>. Serotonin, periferik ve MSS için son derece önemli bir nörotransmitter olup, nöronal gelişimi de kontrol eder<sup>104</sup>. Ayrıca serotonin, anksiyete ve sosyal davranışların şekillenmesinde de önemli bir rol oynar<sup>105</sup>. Mukozal serotonin olan 5-hidroksitriptamin (5-HT), bağırsak peristaltizmini ve elektrolit sekresyonunu aktive eder, ESS gelişimini destekler ve bu nedenle bağırsaktaki inflamatuvar cevapların artışını sağlar<sup>81,98</sup>. 5-HT bağırsak vagal afferent sinirlerin aktivitesini değiştirebilir ve böylece beyindeki vagal sinyalleşmeyi doğrudan etkileyebilir<sup>106</sup>. OSB'deki immün fonksiyon bozuklukları da yüksek serotonin miktarı ile bağlantılı olabilir<sup>44,107</sup>. Sağlıklı bireylerin lenfositlerine *in vitro* olarak uygulanan yüksek serotoninin, lenfosit fitohemaglutinin (PHA)'ine bağlı lenfosit proliferasyonunu engellediği gösterilmiştir<sup>108</sup>. 5-HT ve ilişkili genlerin otizmin etiolojisindeki yeri konusunda çalışmalar bulunmaktadır. Bu konuda serotonin geri alınımında/ taşınmasında önemli rolü olan<sup>109</sup> *SLC6A4* geni ilgi çekicidir<sup>110</sup>. Yapılan çalışmalarda *SLC6A4* gen ekspresyonunun otistik bireylerde düşük olduğu bildirilmiştir<sup>111</sup>. *SLC6A4* promotöründeki bir insersiyon-delesyon polimorfizmi olan 5-HTTLPR ile intron 2 polimorfizmi olan VNTR'nin psikiyatrik bozuklukların etiolojisinde rol oynadığı bildirilmektedir. Bu iki polimorfizmin OSB ile ilişkisi ise tartışmalıdır: bazı çalışmalarda bu polimorfizmlerin otizm için risk faktörü olduğu belirtilirken, bazı çalışmalarda otizm ile bahsedilen varyantlar arasında bir korelasyon bulunmamıştır<sup>111,112</sup>.

OSB'li bireylerde GİS bozuklukları ile ilişkili olmak üzere *CHD8* (chromodomain helicase DNA binding protein 8) ve *SLC6A4* genlerinde mutasyonlar da tespit edilmiştir<sup>81</sup>. Kromatin yeniden düzenlemelerinden sorumlu olan *CHD8* genindeki mutasyonların, makrosefali, yüz fenotipinde değişiklikler ve GİS problemlerine yol açabildiği belirtilmiştir<sup>113</sup>. Zebra balığında gen susturması yaklaşımı kullanarak *CHD8* mutasyonlarının doza bağlı etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, gen susturmasının arka bağırsakta bulunan enterik nöronların sayısında % 50 oranında bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir<sup>113</sup>. Normal koşullarda, serotonin taşıyıcısı olan SERT proteini vasıtasıyla bağırsaklarda dolaşan serotonin, trombositler tarafından alınır<sup>81</sup>. OSB'li bireylerde SERT'de birçok hiperaktif mutasyon bildirilmiş olup, en sık gözlenen proteinin 56. pozisyonundaki glisin alanine dönüşmesine neden olan mutasyondur (SERT Ala56)<sup>114</sup>. SERT, ESS'de enterositler ve serotonojenik nöronlar tarafından, GİS'de ise birçok hücre popülasyonu tarafından ifade edilmektedir<sup>81</sup>. Serotonin taşınma sisteminde meydana gelen bu gibi değişimler ile OSB'li bireylerdeki GİS bozuklukları arasında bağlantı olabileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur<sup>81</sup>. TPH-1 (tryptophan hydroxylase 1) mukozal enterokromafin hücreleri tarafından salınan 5-HT'nin sentezini sağlayan düzenleyici bir enzimdir<sup>115</sup>. BTBR farelerinin hem ince hem de kalın bağırsağında 5-HT'nin % 50 oranında azalmış olduğu gözlenmiş; bu azalmanın *TPH-1* geninin aşağı, *SLC6A4* geninin ise yukarı regülasyonu ile ilgili olabileceği belirtilmiştir<sup>98</sup>. TPH-1 aktivitesi, diyet yoluyla alınan triptofanın metabolize edilmesiyle oluşan ve enterokromafin yüzgeç hücrelerinden salınan 5-HT miktarını belirlerken, *SLC6A4* aktivitesi 5-HT'nin enterosit hücrelerine alım oranını ve buna bağlı olarak yıkımı kontrol eder<sup>98,116</sup>. BTBR farelerinin sekum mikrobiyotasında da ciddi farklılıklar belirlenmiştir<sup>98</sup>. Özellikle BTBR sekumunda *Akkermansia*, *Bifidobacterium*, *Blautia*, *Desulfovibrio*, *Bilofila* gibi cinslerde değişimler görülmüştür<sup>98,117</sup>. Bağırsaktaki *Clostridiales* bakterileri *TPH-1* ifadesini arttırarak 5-HT sentezini tetikler ve bunun bir sonucu olarak bağırsak hareketliliğini hızlandırır<sup>98</sup>. *Bifidobacterium* cinsleri ise konakçı sağlığı üzerinde önemli etkilere sahip probiyotikler olup, mukozal bariyer fonksiyonunu iyileştirerek enterotoksinlerin etkisini azaltırlar<sup>118</sup>. BTBR farelerinin bağırsaklarında, *Blautia* ve *Bifidobacterium* türlerinin azalmasının bir sonucu olarak, bu bakterilerin aracılık ettiği safra dönüşümü ve 5-HT üretimini bozulmuş olabileceği bildirilmiştir<sup>98</sup>. İlginçtir ki, bağırsak 5-HT seviyesi ve *TPH-1* gen ifadesi ile *Blautia* cinslerinin göreceli bolluğu arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır<sup>98</sup>. BTBR farelerinin bağırsaklarında 5-HT'nin öncül maddesi olan 5-HIAA (5-Hydroxyindoleacetic acid)/ 5-HT oranı artar ve bunun sonucunda 5-HT'nin sentezi azalırken yıkım hızı

yükselir<sup>98</sup>. 5-HT'ye alternatif olarak diyet triptofanı bağırsakta kinürenin yoluyla boyunca metabolize edilebilir. Bu yolakta iki hız sınırlayıcı basamak, IDO-1 (indoleamine 2,3-dioxygenase 1) ve TDO-2 (tryptophan 2,3-dioxygenase 2) enzimleridir<sup>98</sup>. BTBR farelerinin kolon örneklerinde hem *IDO-1* hem de *TDO-2* gen ifadelerinin azaldığı gözlemlenmiştir. İnce bağırsakta ise, *IDO-1* gen ifadesi azalırken, *TDO-2* gen ifadesi artmıştır<sup>98</sup>. Kennedy ve arkadaşlarına (2017) göre ise, *IDO-1* ve *TDO-2* gen ekspresyonundaki bu farklılıkların doğrudan BTBR farelerinin beyinde önemli bir etki yaratması beklenemez<sup>119</sup>.

Bağırsak bakterileri tarafından üretilen sekonder safra asitleri (bile acid/ BA) bağırsakta önemli sinyal ağlarına katılır. Örneğin, sekonder safra asitleri, 5-HT ve kalsitonin geni ilişkili peptid (calcitonin gene related peptide/ CGRP)'in salınımını indükleyerek bağırsak hareketliliğini artırır<sup>120,121</sup>. Buna karşın, bir safra asidi olan tauro-konjüge  $\beta$ -murikolik asit (tauro- $\beta$ -muricholic acid/ T $\beta$ MCA), farelerde nükleer bir safra asidi reseptörü olan FXR (Farnesoid X receptor)'nin doğal ve güçlü bir antagonistidir<sup>122-124</sup>. Safra asitleri ise FXR reseptörünün ligandı/ agonisti olarak konağında *iNOS* (inducible nitric oxide synthase) ve *RegIII $\gamma$*  (antibacterial lectin) gibi bazı antimikrobiyal genlerin ekspresyonunu indükler<sup>123,124</sup>. *iNOS* gen ifadesinin aşağı regülasyonu bağırsak bariyerinin bütünlüğünün bozulmasına neden olabilir<sup>98</sup>. Mekanizmasının tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen, fare bağırsak mikrobiyomunun özellikle T $\beta$ MCA derişimine etki ederek safra asidi havuzu içeriğini değiştirdiğine dair literatür verileri mevcuttur<sup>122</sup>. Dolayısıyla, bağırsak mikrobiyomu T $\beta$ MCA aracılı FXR reseptör inhibisyonunu hafifleterek, safra asidi metabolizmasının düzenlenmesine katkı sağlayabilmektedir<sup>122</sup>. Önerilen bir mekanizmaya göre; probiyont (hastalık önleyici) *Bifidobacterium* gibi türlerin BTBR fare bağırsağında azalması ile T $\beta$ MCA fraksiyonu artabilmektedir<sup>98</sup>. T $\beta$ MCA, FXR sinyalizasyonunu engeller ve *iNOS* ve *RegIII $\gamma$*  gen ifadesinin inhibisyonu ile konağın antimikrobiyal savunmasını düşürür. Böylece, probiyotik bakteri dengesinin bozulması ile bağırsakta aşırı şekilde patobiyont (hastalık arttırıcı) artışı gerçekleşebilir ve epitelyal bariyerin permeabilitesi artabilir<sup>98</sup>. Bu şekilde ortaya çıkan 'sızdıran bağırsak' olgusu (Geçirgen bağırsak sendromu), bağırsakta düşük dereceli iltihaplanmaları ve beyinde nöroinflamatuvar yanıtların aktivasyonunu etkileyebilir. OSB belirtilerinin sentetik veya mikrobiyal FXR reseptörü agonistleri kullanımı gibi mikrobiyotaya dayalı müdahalelerle önlenilebilir potansiyelinin olduğunu bildiren BTBR fare çalışmaları bulunmaktadır<sup>98,123</sup>.

OSB'li bireylerin % 44-83'ünde değişken oranlarda uyku bozuklukları bildirilmiştir<sup>125</sup>. Otizmde uyku sorunları beraberinde zayıf sosyal etkileşim gibi sorunları da getirir. Bu bozukluklar uykuya geç dalma, sık gece uyanışları ve yetersiz uyku süresidir<sup>125</sup>. OSB'li 160 çocukla yapılan bir çalışmada uyku bozuklukları, GİS ve duyu durum bozuklukları ile ilişkilendirilmiştir<sup>126</sup>. Melatonin, nöronal plastisiteyi düzenleyen, sirkadiyen ritmin ve immünolojik fonksiyonların regülasyonunda yer alan önemli bir antioksidandır<sup>127</sup>. Pineal bez tarafından salgılanan melatonin, serotoninin AA-NAT (aral alkylamine N-acetyltransferase) enzimi ile N-asetilserotonine dönüştürülmesiyle sentezlenir. Daha sonra N-asetilserotonin, ASMT (N-acetylserotonin O-methyltransferase) enzimi vasıtasıyla melotonine dönüştürülür<sup>128</sup>. OSB'li bireylerde gözlenen düşük melatonin seviyesini otistik davranışlarla ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır<sup>129</sup>. Melatonin seviyesindeki farklılıklar melatonin kodlayıcı genlerdeki bozukluklar ile bağlantılı olabilmektedir. Melatonin reseptörleri (*MTNR1A*, *MTNR1B* ve *GPR50*) ve melatonin sentezinde yer alan enzimlerdeki (AA-NAT ve ASMT) mutasyonlar incelendiğinde, ASMT enzimiyle ilgili eş anlamlı olmayan 4 varyasyon (N17K, K81E, G306A, L326F) ve eş anlamlı 2 varyasyon (N167N, Q205Q) tanımlanmıştır. N17K ve L326F varyasyonları otistik popülasyonda daha sık gözlenmiştir<sup>126</sup>. *ASMT* genindeki varyasyonlar, uyku ve nöropsikiyatrik bozukluklarla korelasyon göstermektedir<sup>130</sup>.

## OSB'li Bireylerde Antibiyotik Kullanımı ve Bağırsak Mikrobiyom Farklılıkları

Epidemiyolojik veriler maternal enfeksiyonun OSB üzerinde etkili olabileceğini öne sürmektedir<sup>131</sup>. Hayvan çalışmaları, hamilelikte yaşanan enfeksiyonun yavruda davranış bozukluklarına ve nöropatolojiye yol açabileceğini ortaya koymuştur<sup>132</sup>. Dahası annenin doğum öncesi yaşadığı stres, yavruda kalıcı mikrobiyal disbiyosize, nörogelişimsel ve metabolik bozukluklara neden olabilmektedir<sup>98</sup>. Grubumuzca anksiyete eğilimli BALB/c fareleri üzerine yapılan yeni bir çalışmada, juvenil yaşta tekrarlanan antibiyotik uygulamalarının erişkin farelerde ciddi mikrobiyom farklılıklarına ve buna bağlı olarak anksiyete, depresyon, lokomotor aktivite ve bilişsel beceri düşüklüğü gibi davranışsal değişimlere neden olabileceği gösterilmiştir<sup>133</sup>. OSB'li bireylerde antibiyotik tedavisi geçmişine sıklıkla rastlanmakta olup, bu durumun



hastalarda mikrobiyom bileşimi ve stabilitesini etkilediği düşünülmektedir<sup>134</sup>. Tekrarlanan antimikrobiyal uygulamalar, koruyucu kommensal mikrofloraya zarar vererek, toksin üreten türlerin kolonileşmesine daha elverişli bir ortam yaratabilir. Örneğin, antibiyotik kullanımı, özellikle güçlü nörotoksin üreten *Clostridium* cinslerinin gelişimine zemin yaratır<sup>96</sup>. Otistik çocuklarda oral antibiyotik kullanımının sağlıklı çocuklara oranla anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir<sup>135</sup>. Otistik çocukların antibiyotik kullanma zorunda kalma nedenlerinden biri olarak sıklıkla otitis media (orta kulak iltihabı) enfeksiyonuna maruz kalmaları gösterilmektedir<sup>101</sup>. Bu enfeksiyonun alt edilmesi amacıyla kullanılan antibiyotiklerin ise otistik çocuklarda bağırsak mikrobiyotasını değiştirerek bağışıklık yanıtını etkileyebileceği öne sürülmüştür<sup>136</sup>. Buna karşın, minimum oral emilimi olan glikopeptid yapılı vankomisin antibiyotiğiyle yapılan tedavinin otistik davranışlarda kısa süreli gerileme sağladığı gösterilmiştir<sup>137</sup>. Bir başka çalışmada ise, 1970-1990 yıllarında besi hayvanlarının yemlerinde kullanılan antibiyotikler sonucunda antibiyotik-dirençli patojen bakterilerin geliştiği<sup>138</sup> ve bu hayvanların etleriyle beslenen insanlarda da aynı dirençli bakterilere rastlandığı tespit edilmiştir. İlginç olarak, bu dönemde otistik çocukların % 70-90'unda otitis media vakasının artmış olduğu belirlenmiştir<sup>138</sup>.

İnsanlar vücutlarında sayısız mikroorganizma ile bir arada yaşarlar. Mikroorganizmaların ve onların genetik materyalinin toplamına 'mikrobiyom' adı verilir<sup>80</sup>. Sağlıklı bir yetişkin kişinin mikrobiyomuna en çok *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* filumu hâkimdir ki bu grupları *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia*'lar izler<sup>139</sup>. GİS'de yer alan bu bakteriler insanlar tarafından sindirilemeyen besinleri parçalar ve besin rekabeti için ürettikleri antimikrobiyal ajanlar sayesinde patojen mikroorganizmalara karşı savunma sağlarlar<sup>140</sup>. Bu nedenle, insan bağırsak mikrobiyomu hastalıklar için kilit önem taşıyan kompleks bir mikrobik ekosistemdir<sup>141</sup>. Bazı çalışmalarda OSB'li bireylerin bakteriyel kompozisyonları dizileme yöntemleri ile belirlenmiştir<sup>96,142</sup>. Bu ve benzeri moleküler teknikler mikrobiyomun farklı taksonomik sınıflarının tanımlanabilmesine olanak sağlar<sup>133</sup>. Sağlıklı bireylere oranla OSB'li bireylerde patojen *Clostridium* cinsleri yüksek orandan bulunurken, probiyotik *Bifidobacterium* türleri daha düşük oranlarda bulunmaktadır<sup>143,144</sup>. *Sutterella*, *Faecalibacterium*, *Atopobium*, *Bacteroides*, *Rosburia* gibi mikrobiyal türler ise otistik bireylerde değişken oranlarda bulunmaktadırlar. Genel mikrobiyal tabloya göre; OSB'li çocukların bağırsaklarında ağırlıklı olarak patojen *Streptococcus*, *Desulfovibrio*, *Clostridium* türleri hakimdir<sup>144</sup>. Bunlara ilaveten otistik çocukların bağırsaklarında sağlıklı çocuklarda nadiren görülen 9 *Clostridia* üyesinin (*Clostridium boltea*, *Clostridium kumeleri X ve XI*, *Clostridium histolyticum* gibi) artmış olduğu bildirilmiştir<sup>145</sup>. Otistik bireylerde *Prevotella* ve *Coprococcus* cinsi bakterilerin miktarlarının ise düşük olduğu görülmüştür<sup>146</sup>. *Sutterella* cinsi bakteri oranlarındaki artışın GİS rahatsızlıkları ile varsayılan ilişkisi dikkat çekicidir<sup>147</sup>. *Clostridium* cinsleri triptofanı metabolize ederek metabolomik değişikliklere neden olabildiklerinden, bu bakteri türleri ile OSB arasında pozitif bir korelasyon olduğu sanılmaktadır<sup>148</sup>. Özellikle *Clostridium histolyticum* türü ve GİS bozuklukları arasında anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir<sup>96</sup>. Finegold ve arkadaşları (2017) otistik çocukların bağırsağında sağlıklı bireylere göre yüksek oranlarda *Clostridium perfringens* ve enterotoksin genlerinin bulunduğunu belirlemişlerdir<sup>149</sup>. Bağırsaktaki patojen türler toksinlerin kan dolaşımındaki seviyesini arttırarak sistemik bozukluklara neden olabilir. İlginçtir ki, otistik bireylerde GİS bozukluklarının tespit edildiği dönemlerde otistik davranışların şiddetinde de artışlar bildirilmiştir<sup>96</sup>. *Clostridia* sınıfı üyelerinin fazla olmasının sebebi bahsedilen bakterilerin penisilin, ampisilin, tetrasiklin, sefalosporin, kloramfenikol ve diğerleri gibi birçok antibiyotige karşı oldukça dirençli olmasıdır. *Clostridia* sınıfı üyeleri vankomisin veya metronidazol ile tedavi edilip ortadan kaldırıldıktan sonra bağırsakta *Lactobacillus* cinslerinin artışı gözlenmiştir<sup>138</sup>. OSB'li bireylerde *Bacteroidetes*'in göreceli bolluğunun azalması nedeniyle *Firmicutes*/*Bacteroidetes* oranında önemli bir artma,<sup>142</sup> *Prevotella*, *Coprococcus* ve *Veillonellaceae* gibi sindirilemeyen karbonhidratları parçalayan fermantasyon bakteri oranlarında ise azalma bildirilmiştir<sup>101</sup>. Hayvan çalışmalarına göre, bağırsak mikroorganizmaları anksiyete, tekrarlayıcı davranışlar, bilişsel performans ve sosyal etkileşim kabiliyetlerinde etkili olabilmektedirler<sup>133,150,151</sup>. Kang ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışmada, standardize edilmiş insan bağırsak mikrobiyotası, mikrobiyota transfer terapisi (*Microbiota Transfer Therapy*/ MTT) yöntemi ile otistik çocuklara aktarılmış, sonuçta otistik davranışlarda azalma ve GİS bozukluklarında iyileşmeler olduğu bildirilmiştir<sup>152</sup>. Kang ve arkadaşlarının (2019) iki yıl sonra yaptıkları takip (follow-up) çalışmasına göre ise GİS'deki bu normalleşme uzun dönemde (iki yıl) de korunmuştur: bakteriyel çeşitlilikteki önemli artışlar ve *Bifidobacteria* ve *Prevotella*'nın göreceli bolluğu söz konusudur. Takip çalışmasının bir diğer sonucu ise MTT'nin otistik

davranışlarda progresif bir iyileşmeye neden olduğudur. Özetle bu çalışmada MTT yönteminin bağırsak problemi olan otistik çocuklarda uzun dönemde de güvenli ve etkili olduğu öne sürülmektedir<sup>153</sup>. Gelecekte OSB için mikrobiyota odaklı tedavi seçeneklerinin oluşturulabilmesi için, sağlıklı bireyler ile otistik bireyler arasında GIS fizyolojisindeki farklılıkların, bu farklılıklara neden olan faktörlerin ve GIS ile ilgili olmak üzere, otistik davranışların başlangıcını tetikleyen mikrobiyota ve metabolitleri ile ilişkili etmenlerin tanımlanması oldukça önemlidir<sup>98</sup>.

OSB'li bireylerde gözlenen değişken mikrobiyom ve buna bağlı gelişen GIS bozuklukları tedavi edildiği durumda otistik davranışların da iyileştirilebileceği görüşü mevcuttur<sup>80</sup>. Bu konuyla ilgili çalışmalardan birinde, MIA yavru farelerinde kusurlu bağırsak permeabilitesinin bir probiyotik olan *Bacteriodes fragilis*'in oral uygulanması ile iyileştirilmiş olduğu raporlanmış olup, uygulama sonucunda serumdaki mikrobiyal metabolitlerin normal seviyelere döndüğü, ayrıca iletişimsel, sensorimotor ve anksiyete benzeri davranışların iyileşmiş olduğu ifade edilmiştir<sup>100</sup>. Aynı çalışmada *Bacteriodes fragilis* uygulamasının bağırsak mikroorganizmaları tarafından üretilen 4-etilfenol sülfat (4-EPS) toksin ve serum serotonin seviyelerini de normale döndürdüğü belirlenmiştir<sup>100</sup>. *Lactobacillus rhamnosus* tedavisinin ise farelerde stres kaynaklı kortikosteron derişimini azalttığı gösterilmiş olup<sup>154</sup>, *Lactobacillus reuteri* ile yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlara ulaşılmıştır<sup>155</sup>. Probiyotiklerin otizme iyileştirici katkısını öne süren çalışmalar hayvan deneyleri ile sınırlı kalmamış, otistik bireylerle de araştırmalar yapılmıştır<sup>80</sup>. Örneğin, iki ay süreyle *Lactobacillus acidophilus* uygulanan çocukların otistik davranışlarında iyileşme görüldüğü rapor edilmiştir<sup>156</sup>. Bazı probiyotik türlerin ise enterik duyu afferentleri ve ESS aktivitesini modüle ederek semptomların hafiflemesine katkı sağladığı belirtilmiştir<sup>80</sup>. Bir diğer çalışma bulgusuna göre ise, VSL#3 olarak isimlendirilen ve *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus* ve *Streptococcus salivarius* türlerinden oluşan probiyotik karışım otistik davranışlarda hafiflemeye neden olabilmektedir<sup>157</sup>.

Mikrobiyota ve OSB arasındaki ilişkiye vurgu yapan çalışmalarda, her ne kadar yenilikçi ve umut verici bulgular elde edilmiş olsa da, bağırsak mikrobiyotasının OSB patogenezindeki rolünün ve probiyotiklerin insan sağlığı üzerine etkisinin halen bütünsel ve detaylı olarak anlaşılammamış olması gerçeği de göz ardı edilmemelidir<sup>80</sup>. Dolayısıyla otizm için mikrobiyom hedefli tedavi seçeneklerinin tanımlanabilmesi için, çok merkezli, plasebo uygulamalı, uzun dönem takipli, büyük örnek sayılı ve randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıktır<sup>158</sup>.

## Sonuç ve Değerlendirme

Dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı giderek artan OSB, hem sosyoekonomik hem de halk sağlığı açısından değerlendirilmesi gereken bir bozukluk olarak ortaya çıkmaktadır. Hastalık belirtilerinin erken teşhisi, bireyin yaşam kalitesini arttırmakla kalmaz aynı zamanda ileride uygulanabilecek tedavi ve eğitim programlarını da olumlu yönde etkiler. OSB genetik, immünojenik, metabolik, mikrobiyom ve çeşitli çevresel faktörlerin etkisinde, heterojen bir hastalık olarak tanımlanabilir. İkizler üzerinde yapılan çalışmalar bu hastalığın genetik altyapısını güçlendirmiştir. Ayrıca hastalıkla ilişkili olabilecek CNV'ler, SNP'ler ve birçok *de novo* mutasyon tanımlanmıştır. Sitogenetik çalışmalarla farklı kromozomlar üzerinde (özellikle kromozom 2, 7, 15, 16, 17, 22) OSB için belirteç olabileceği belirtilmiş bölgeler söz konusudur. Bazı otistik bireylerde Fragil X Sendromu, Rett Sendromu, Fenil Ketonüri, Williams Sendromu, Cohen Sendromu, Angelman Sendromu gibi genetik hastalıklar eş zamanlı olarak ortaya çıkabilmektedir. HLA ve KIR gen komplekslerinde OSB ile ilişkili olabilecek çok sayıda allelin/ genin bulunması immünojenetik etmenlere dikkat çekmektedir. Birçok nörodejeneratif ve otoimmün hastalığa benzer şekilde<sup>159</sup>, OSB'nin patogenezinde de kemokinlerin ve sitokinlerin rol oynadığı sinyal bozukluklarının olduğu görülebilmektedir. Bunun yanı sıra, otistik hastaların T ve B lenfositlerinde, immünooglobulinlerinde ve NK hücrelerinde gözlenen fonksiyonel değişikliklerin, hastalık etiolojisinde önemli olabileceği düşünülmektedir. Nörotransmitter bir madde olan serotonin ve serotonininden türetilen melatonin de hastalık için belirteç olma potansiyeli taşımaktadır. Anormal serotonin seviyeleri birçok nörolojik yolağı etkilediğinden uygun serotonin derişimini sağlayacak tedavi yaklaşımları ile gelecekte başarılı sonuçlar alınabilir. OSB'de uyku ve davranış bozukluklarının yanı sıra diyare, kabızlık, şişkinlik, reflü gibi GIS problemleri de sıkça görülmektedir. Özellikle antibiyotik kullanımı

ile toksik maddeler üreten patojenlerin sayıca artması ve buna bağlı olarak bozulan mikrobiyota, bağırsak inflamasyonuna ve ESS bozukluklarına neden olabilmektedir. Bağırsaktaki artmış *Clostridium* türlerinin ürettiği güçlü nörotoksinler, bağırsak bariyerinin bütünlüğünü bozarak istenmeyen maddelerin bağırsaktan geçişine neden olur. Bu maddelerin MSS'ye doğrudan veya dolaylı etkisinin, otistik davranışlar ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir. Günümüzde probiyotik tedaviler otistik davranışların tamamen ortadan kaldırılmasında yeterli olmamakla birlikte gelecekte OSB ve birçok nörodejeneratif hastalığın tedavi aşamalarında önleyici/ destekleyici olarak değerlendirilebilir. OSB'li bireylerin kan, idrar ve dışkı analizleri sonucu belirlenen potansiyel biyobelirteçler, hem OSB'nin etiolojisinin anlaşılması için, hem de otizm semptomlarının hafifletilmesine yönelik yapılacak bilimsel çalışmalar için yol gösterici olabilir. Gelecekte, mikrobiyom ve immün sistem hedefli tedaviler geliştirmek için yapılacak çalışmalar ve ASO, siRNA ve rAAV9 gibi gen tedavi stratejileri otistik davranışların şiddetinin azaltılmasına veya tamamen ortadan kaldırılmasına katkı sağlayabilir. Otistik bireylerin her biri farklı özellikler sergilediği için geliştirilecek tedavi stratejilerin bireye özgü olması da tedavinin başarısını artırabilir.

### Teşekkür

Bilimsel içerik üzerine değerli tartışmalarından ve metnin düzenlenmesindeki katkılarından dolayı Dr. Sinem Tunçer'e teşekkür ederim.

### Kaynaklar

1. Baron-Cohen S, Leo Kanner, Hans Asperger, and the discovery of autism. *Lancet*. 2015;386:1329-1330.
2. Yates K, Le Couteur A. Diagnosing autism/autism spectrum disorders. *Paediatr Child Heal (United Kingdom)*. 2016;26:513-518.
3. Baio J, Wiggins L, Christensen DL, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. *MMWR Surveill Summ*. 2018.
4. Wimmerley T, Agerbo E, Pedersen CB, et al. Otitis media, antibiotics, and risk of autism spectrum disorder. *Autism Res*. 2018;11:1432-1440.
5. Petinou K, Minaidou D. Neurobiological Bases of Autism Spectrum Disorders and Implications for Early Intervention: A Brief Overview. *Folia Phoniatr Logop*. 2017;69:38-42.
6. Sadybekov A, Tian C, Arnesano C, Katritch V, Herring BE. An autism spectrum disorder-related de novo mutation hotspot discovered in the GEF1 domain of Trio. *Nat Commun*. 2017;8:1-13.
7. Eapen V, Nicholls L, Spagnol V, Mathew NE. Current status of biological treatment options in Autism Spectrum Disorder. *Asian J Psychiatr*. 2017;30:1-10.
8. Jeste SS, Geschwind DH. Disentangling the heterogeneity of autism spectrum disorder through genetic findings. *Nat Rev Neurol*. 2014;10:74-81.
9. Fett-Conte AC, Bossolani-Martinis AL, Pereira-Nascimento P. Genetic Etiology of Autism. In: Fitzgerald M, ed. *Recent Advances in Autism Spectrum Disorders*. Vol. I. Rijeka, Croatia: IntechOpen; 2013:216-248.
10. Mosca E, Bersanelli M, Gnocchi M et al. Network Diffusion-Based Prioritization of Autism Risk Genes Identifies Significantly Connected Gene Modules. *Front Genet*. 2017;8:1-14
11. Vincent JB, Herbrick J-A, Gurling HMD, Bolton PF, Roberts W, Scherer SW. Identification of a Novel Gene on Chromosome 7q31 That Is Interrupted by a Translocation Breakpoint in an Autistic Individual. *Am J Hum Genet*. 2000;67:510-514.
12. Petek E, Windpassinger C, Vincent JB et al. Disruption of a Novel Gene (IMMP2L) by a Breakpoint in 7q31 Associated with Tourette Syndrome. *Am J Hum Genet*. 2001;68:848-858.
13. Muhle R, Rentacoste S, Rapin I. The genetics of autism. *Pediatrics*. 2004;113:472-486.
14. Vatsa N, Jana NR. UBE3A and Its Link With Autism. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:448.
15. Lammert DB, Howell BW. RELN Mutations in Autism Spectrum Disorder. *Front Cell Neurosci*. 2016;10:1-9.
16. Phelan K, McDermid HE. The 22q13.3 deletion syndrome (Phelan-McDermid syndrome). *Mol Syndromol*. 2012;2:186-201.
17. Abrahams BS, Geschwind DH. Advances in autism genetics: On the threshold of a new neurobiology. *Nat Rev Genet*. 2008;9:341-355.
18. Yosunkaya E. Otizm Etiolojisinde Genetik ve Güncel Perspektif. *İstanbul Tıp Fakültesi Derg*. 2013;76:84-88.
19. Earl RK, Turner TN, Mefford HC, et al. Clinical phenotype of ASD-associated DYRK1A haploinsufficiency. *Mol Autism*. 2017;8:1-15.
20. Onay H, Kacamak D, Kavasoglu AN et al. Mutation analysis of the NRXN1 gene in autism spectrum disorders. *Balk J Med Genet*. 2016;19:17-22.
21. Etherton M, Foldy C, Sharma M et al. Autism-linked neuroligin-3 R451C mutation differentially alters hippocampal and cortical synaptic function. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108:13764-13769.
22. Moessner R, Marshall CR, Sutcliffe JS et al. Contribution of SHANK3 Mutations to Autism Spectrum Disorder. *Am J Hum Genet*. 2007;81:1289-1297.
23. Jones R, Cadby G, Blangero J, Abraham L, Whitehouse A, Moses E. MACROD2 gene associated with autistic-like traits in a general population sample. *Psychiatr Genet*. 2014;24:241-248.

24. Samaco RC, Hogart A, LaSalle JM. Epigenetic overlap in autism-spectrum neurodevelopmental disorders: MECP2 deficiency causes reduced expression of UBE3A and GABRB3. *Hum Mol Genet.* 2005;14:483-492.
25. Watson P. Angelman syndrome phenotype associated with mutations in MECP2, a gene encoding a methyl CpG binding protein. *J Med Genet.* 2001;38:224-228.
26. Carney RM, Wolpert CM, Ravan SA et al. Identification of MeCP2 mutations in a series of females with autistic disorder. *Pediatr Neurol.* 2003;28:205-211.
27. Rutter M. Aetiology of autism: Findings and questions. *J Intellect Disabil Res.* 2005;49:231-238.
28. Harris SW, Hessel D, Goodlin-Jones B et al. Autism Profiles of Males With Fragile X Syndrome. *Am J Ment Retard.* 2008;113:427-438.
29. Shiina T, Inoko H, Kulski JK. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004. *Tissue Antigens.* 2004;64:631-649.
30. Torres AR, Sweeten TL, Johnson RC et al. Common genetic variants found in HLA and KIR immune genes in autism spectrum disorder. *Front Neurosci.* 2016;10:1-13.
31. Tilburgs T, Evans JH, Crespo AC, Strominger JL. The HLA-G cycle provides for both NK tolerance and immunity at the maternal-fetal interface. *Proc Natl Acad Sci.* 2015;112:13312-13317.
32. Guerini FR, Bolognesi E, Chiappedi M et al. An HLA-G\*14bp insertion/deletion polymorphism associates with the development of autistic spectrum disorders. *Brain Behav Immun.* 2015;44:207-212.
33. Chien YL, Wu YY, Chen CH et al. Association of HLA-DRB1 alleles and neuropsychological function in autism. *Psychiatr Genet.* 2012;22:46-49.
34. Choi GB, Yim YS, Wong H et al. The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science.* 2016;351:933-939.
35. Odell D, Maciulis A, Cutler A et al. Confirmation of the association of the C4B null allele in autism. *Hum Immunol.* 2005;66:140-145.
36. Mostafa GA, Shehab AA. The link of C4B null allele to autism and to a family history of autoimmunity in Egyptian autistic children. *J Neuroimmunol.* 2010;223:115-119.
37. Warren RP, Burger RA, Odell D, Torres AR, Warren WL. Decreased Plasma Concentrations of the C4B Complement Protein in Autism. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1994;148:180-183.
38. Meltzer A, Van De Water J. The Role of the Immune System in Autism Spectrum Disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2017;42:284-298.
39. Vargas DL, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman AW, Pardo CA. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Ann Neurol.* 2005;57:67-81.
40. Pardo CA, Vargas DL, Zimmerman AW. Immunity, neuroglia and neuroinflammation in autism. *Int Rev Psychiatry.* 2005;17:485-495.
41. Masi A, Glozier N, Dale R, Guastella AJ. The Immune System, Cytokines, and Biomarkers in Autism Spectrum Disorder. *Neurosci Bull.* 2017;33:194-204.
42. Croonenberghs J, Wauters A, Devreese K et al. Increased serum albumin, gamma globulin, immunoglobulin IgG, and IgG2 and IgG4 in autism. *Psychol Med.* 2002;32:1457-1463.
43. Wei H, Zou H, Sheikh AM et al. IL-6 is increased in the cerebellum of autistic brain and alters neural cell adhesion, migration and synaptic formation. *J Neuroinflammation.* 2011;8:52.
44. Castellani ML, Conti CM, Kempuraj DJ et al. Autism and immunity: Revisited study. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2009;22:15-19.
45. Jyonouchi H, Sun S, Le H. Proinflammatory and regulatory cytokine production associated with innate and adaptive immune responses in children with autism spectrum disorders and developmental regression. *J Neuroimmunol.* 2001;120:170-179.
46. Jones KL, Croen LA, Yoshida CK et al. Autism with intellectual disability is associated with increased levels of maternal cytokines and chemokines during gestation. *Mol Psychiatry.* 2017;22:273-279.
47. Dipasquale V, Cutrupi MC, Colavita L, Manti S, Cuppari C, Salpietro C. Neuroinflammation in Autism Spectrum Disorders: Role of High Mobility Group Box 1 Protein. *Int J Mol Cell Med.* 2017;6:148-155.
48. Onore C, Careaga M, Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain Behav Immun.* 2012;26:383-392.
49. Smith DA, Germolec DR. Introduction to immunology and autoimmunity. *Environ Health Perspect.* 1999;107:661-665.
50. Edmiston E, Ashwood P, Van de Water J. Autoimmunity, Autoantibodies, and Autism Spectrum Disorder. *Biol Psychiatry.* 2017;81:383-390.
51. Nadeem A, Ahmad SF, Bakheet SA et al. Toll-like receptor 4 signaling is associated with upregulated NADPH oxidase expression in peripheral T cells of children with autism. *Brain Behav Immun.* 2017;61:146-154.
52. Bedard K, Krause K-H. The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev.* 2007;87:245-313.
53. Yu B, Meng F, Yang Y, Liu D, Shi K. NOX2 antisense attenuates hypoxia-induced oxidative stress and apoptosis in cardiomyocyte. *Int J Med Sci.* 2016;13:646-652.
54. Sorce S, Stocker R, Seredenina T et al. NADPH oxidases as drug targets and biomarkers in neurodegenerative diseases: What is the evidence? *Free Radic Biol Med.* 2017;112:387-396.
55. Lucas K, Maes M. Role of the toll like receptor (TLR) radical cycle in chronic inflammation: Possible treatments targeting the TLR4 pathway. *Mol Neurobiol.* 2013;48:190-204.
56. Enstrom AM, Onore CE, Van de Water JA, Ashwood P. Differential monocyte responses to TLR ligands in children with autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun.* 2010;24:64-71.

57. Le Belle JE, Sperry J, Ngo A et al. Maternal inflammation contributes to brain overgrowth and autism-associated behaviors through altered redox signaling in stem and progenitor cells. *Stem Cell Reports*. 2014;3:725–734.
58. Ashwood P, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen R, Pessah I, Van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain Behav Immun*. 2011;25:40-45.
59. Gadiant RA, Patterson PH. Leukemia inhibitory factor, interleukin 6, and other cytokines using the GP130 transducing receptor: Roles in inflammation and injury. *Stem Cells*. 1999;17:127-137.
60. Garbett K, Ebert PJ, Mitchell A et al. Immune transcriptome alterations in the temporal cortex of subjects with autism. *Neurobiol Dis*. 2008;30:303-311.
61. Siniscalco D, Schultz S, Brigida AL, Antonucci N. Inflammation and neuro-immune dysregulations in autism spectrum disorders. *Pharmaceuticals*. 2018;11:1-14.
62. Onore C, Enstrom A, Krakowiak P et al. Decreased cellular IL-23 but not IL-17 production in children with autism spectrum disorders. *J Neuroimmunol*. 2009;216:126-129.
63. Ashwood P, Enstrom A, Krakowiak P et al. Decreased transforming growth factor beta1 in autism: A potential link between immune dysregulation and impairment in clinical behavioral outcomes. *J Neuroimmunol*. 2008;204:149-153.
64. Gupta S, Aggarwal S, Heads C. Dysregulated immune system in children with autism - Beneficial effects of intravenous immune globulin on autistic characteristics. *J Autism Dev Disord*. 1996;26:439-452.
65. Gupta S. Immunological treatments for autism. *J Autism Dev Disord*. 2000;30:475-479.
66. Yates A. Autism: the case for left hemispheric damage. *Ariz Med*. 1984;41:395-397.
67. Rojas DC, Bawn SD, Benkers TL, Reite ML, Rogers SJ. Smaller left hemisphere planum temporale in adults with autistic disorder. *Neurosci Lett*. 2002;328:237-240.
68. Theoharides TC, Alysandratos KD, Angelidou A et al. Mast cells and inflammation. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2012;1822:21-33.
69. Bengier M, Kinali M, Mazarakis ND. Autism spectrum disorder: Prospects for treatment using gene therapy. *Mol Autism*. 2018;9:1-10.
70. Mendell JR, Zaidy S Al, Shell R et al. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med*. 2017;377:1713–1722.
71. Matagne V, Ehinger Y, Saidi L et al. A codon-optimized Mecp2 transgene corrects breathing deficits and improves survival in a mouse model of Rett syndrome. *Neurobiol Dis*. 2017;99:1-11.
72. Tillotson R, Selfridge J, Koerner M V. et al. Radically truncated MeCP2 rescues Rett syndrome-like neurological defects. *Nature*. 2017;550:398-401.
73. Robinson L, Guy J, McKay L et al. Morphological and functional reversal of phenotypes in a mouse model of Rett syndrome. *Brain*. 2012;135:2699–2710.
74. Gadalla KKE, Vudhironarit T, Hector RD et al. Development of a Novel AAV Gene Therapy Cassette with Improved Safety Features and Efficacy in a Mouse Model of Rett Syndrome. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2017;5:180-190.
75. Kole R, Krainer AR, Altman S. RNA therapeutics: Beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11:125-140.
76. Sztainberg Y, Chen HM, Swann JW et al. Reversal of phenotypes in MECP2 duplication mice using genetic rescue or antisense oligonucleotides. *Nature*. 2015;528:123-126.
77. Meng L, Ward AJ, Chun S, Bennett CF, Beaudet AL, Rigo F. Towards a therapy for Angelman syndrome by targeting a long non-coding RNA. *Nature*. 2015;518:409-412.
78. Wang Y, Kasper LH. The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain Behav Immun*. 2014;38:1-12.
79. Carabotti M, Scirocco A, Antonietta M, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. 2015;28:203–209.
80. Yang Y, Tian J, Yang B. Targeting gut microbiome: A novel and potential therapy for autism. *Life Sci*. 2018;194:111-119.
81. Nithianantharajah J, Balasuriya GK, Franks AE, Hill-Yardin EL. Using Animal Models to Study the Role of the Gut–Brain Axis in Autism. *Curr Dev Disord Reports*. 2017;4:28-36.
82. Grubišić V, Parpura V. The second brain in autism spectrum disorder: could connexin 43 expressed in enteric glial cells play a role? *Front Cell Neurosci*. 2015;9:1-5.
83. Zhu X, Han Y, Du J, Liu R, Jin K, Yi W. Microbiota-gut-brain axis and the central nervous system. *Oncotarget*. 2017;8:53829–53838.
84. Wu WL. Association Among Gut Microbes, Intestinal Physiology, and Autism. *EBioMedicine*. 2017;25:11–12.
85. Kudret Adiloğlu A, Kudret Adiloğlu D. The Interaction of Diet, Microbiota, and Antimicrobial Peptides in the Gastrointestinal Ecosystem. *Niche*. 2014;3:28-32.
86. Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9:286-294.
87. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*. 2012;13:701-712.
88. Ho P, Ross DA. More Than a Gut Feeling: The Implications of the Gut Microbiota in Psychiatry. *Biol Psychiatry*. 2017;81:e35-37.
89. Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:478-485.
90. Horvath K, Perman JA. Autistic disorder and gastrointestinal disease. *Curr Opin Pediatr*. 2002;14:583-587.
91. Hsiao EY. Gastrointestinal issues in autism spectrum disorder. *Harv Rev Psychiatry*. 2014;22:104-111.

92. Cao X, Lin P, Jiang P, Li C. Characteristics of the gastrointestinal microbiome in children with autism spectrum disorder: a systematic review. *Shanghai Arch psychiatry*. 2013;25:342-353.
93. Molloy CA, Manning-Courtney P. Prevalence of chronic gastrointestinal symptoms in children with autism and autistic spectrum disorders. *Autism*. 2003;7:165-171.
94. Jolanta Wasilewska J, Klukowski M. Gastrointestinal symptoms and autism spectrum disorder: links and risks-a possible new overlap syndrome. *Pediatr Heal Med Ther*. 2015;6:153-166.
95. Nikolov RN, Bearss KE, Lettinga J et al. Gastrointestinal symptoms in a sample of children with pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord*. 2009;39:405-413.
96. Parracho HMRT, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol*. 2005;54:987-991.
97. Meyza KZ, Defensor EB, Jensen AL et al. The BTBR T(+)/tf/J mouse model for autism spectrum disorders-in search of biomarkers. *Behav Brain Res*. 2013;251:25-34.
98. Golubeva A V., Joyce SA, Moloney G et al. Microbiota-related Changes in Bile Acid & Tryptophan Metabolism are Associated with Gastrointestinal Dysfunction in a Mouse Model of Autism. *EBioMedicine*. 2017;24:166-178.
99. Malkova N V., Yu CZ, Hsiao EY, Moore MJ, Patterson PH. Maternal immune activation yields offspring displaying mouse versions of the three core symptoms of autism. *Brain Behav Immun*. 2012;26:607-616.
100. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*. 2013;155:1451-1463.
101. Krajmalnik-Brown R, Lozupone C, Kang D-W, Adams JB. Gut bacteria in children with autism spectrum disorders: challenges and promise of studying how a complex community influences a complex disease. *Microb Ecol Heal Dis*. 2015;26:26914.
102. Guhathakurta S, Ghosh S, Sinha S et al. Serotonin transporter promoter variants: Analysis in Indian autistic and control population. *Brain Res*. 2006;1092:28-35.
103. Muller CL, Anacker AMJ, Veenstra-VanderWeele J. The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to animal models. *Neuroscience*. 2016;321:24-41.
104. Sodhi MSK, Sanders-Bush E. Serotonin and brain development. *Int Rev Neurobiol*. 2004;59:111-174.
105. Rex A, Fink H. Neurotransmitter and Behaviour : Serotonin and Anxiety. *Psychiatr Disord Trends Dev*. 2007;19:468-470.
106. Slattery JA, Page AJ, Dorian CL, Brierley SM, Blackshaw LA. Potentiation of mouse vagal afferent mechanosensitivity by ionotropic and metabotropic glutamate receptors. *J Physiol*. 2006;577:295-306.
107. Thibault K, Van Steenwinckel J, Brisorgueil MJ et al. Serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor involvement and Fos expression at the spinal level in vincristine-induced neuropathy in the rat. *Pain*. 2008;140:305-322.
108. Warren RP, Margaretten NC, Pace NC, Foster A. Immune abnormalities in patients with autism. *J Autism Dev Disord*. 1986;16:189-197.
109. Whyte A, Jessen T, Varney S, Carneiro AMD. Serotonin transporter and integrin beta 3 genes interact to modulate serotonin uptake in mouse brain. *Neurochem Int*. 2014;73:122-126.
110. Tordjman S, Gutknecht L, Carlier M et al. Role of the serotonin transporter gene in the behavioral expression of autism. *Mol Psychiatry*. 2001;6:434-439.
111. Şener EF, Korkmaz K, Öztop DB, Zararsız G, Özkul Y. Investigation of SLC6A4 gene expression in autism spectrum disorders. *J Clin Exp Investig*. 2015;6:165-169.
112. Huang CH, Santangelo SL. Autism and serotonin transporter gene polymorphisms: A systematic review and meta-analysis. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet*. 2008;147B:903-913.
113. Bernier R, Golzio C, Xiong B et al. Disruptive CHD8 mutations define a subtype of autism early in development. *Cell*. 2014;158:263-276.
114. Margolis KG, Li Z, Stevanovic K, et al. Serotonin transporter variant drives preventable gastrointestinal abnormalities in development and function. *J Clin Invest*. 2016;126:2221-2235.
115. Heredia DJ, Gershon MD, Koh SD, Corrigan RD, Okamoto T, Smith TK. Important role of mucosal serotonin in colonic propulsion and peristaltic reflexes: In vitro analyses in mice lacking tryptophan hydroxylase 1. *J Physiol*. 2013;591:5939-5957.
116. Mawe GM, Hoffman JM. Serotonin signalling in the gut-functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10:473-486.
117. Newell C, Bomhof MR, Reimer RA, Hittel DS, Rho JM, Shearer J. Ketogenic diet modifies the gut microbiota in a murine model of autism spectrum disorder. *Mol Autism*. 2016;7:37.
118. Klein MS, Newell C, Bomhof MR, et al. Metabolomic Modeling to Monitor Host Responsiveness to Gut Microbiota Manipulation in the BTBR T(+)/tf/j Mouse. *J Proteome Res*. 2016;4:1143-1150.
119. Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G. Kynurenine pathway metabolism and the microbiota-gut-brain axis. *Neuropharmacology*. 2017;112:399-412.
120. Lieu T, Jayaweera G, Bunnett NW. GPBA: A GPCR for bile acids and an emerging therapeutic target for disorders of digestion and sensation. *Br J Pharmacol*. 2014;171:1156-1166.
121. Alemi F, Poole DP, Chiu J et al. The receptor TGR5 mediates the prokinetic actions of intestinal bile acids and is required for normal defecation in mice. *Gastroenterology*. 2013;144:145-154.
122. Sayin SI, Wahlström A, Felin J et al. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab*. 2013;17:225-235.
123. Inagaki T, Moschetta A, Lee Y-K et al. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. *Proc Natl Acad Sci*. 2006;103:3920-3925.
124. Joyce SA, MacSharry J, Casey PG et al. Regulation of host weight gain and lipid metabolism by bacterial bile acid modification in the gut. *Proc Natl Acad Sci*. 2014;111:7421-7426.

125. Williams PG, Sears LL, Allard A. Sleep problems in children with autism. *J Sleep Res.* 2004;13:265-268.
126. Rossignol, DA; Frye R. Melatonin in autism spectrum disorders: A systematic review and meta-analysis. *Dev Med Child Neurol.* 2011;53:783-792.
127. Melke J, Goubran Botros H, Chaste P et al. Abnormal melatonin synthesis in autism spectrum disorders. *Mol Psychiatry.* 2008;13:90-98.
128. Simonneaux V. Generation of the Melatonin Endocrine Message in Mammals: A Review of the Complex Regulation of Melatonin Synthesis by Norepinephrine, Peptides, and Other Pineal Transmitters. *Pharmacol Rev.* 2003;55:325-395.
129. Andersen IM, Kaczmarek JA, McGrew SG, Malow BA. Melatonin for insomnia in children with autism spectrum disorders. *J Child Neurol.* 2008;23:482-485.
130. Toma C, Rossi M, Sousa I et al. Is ASMT a susceptibility gene for autism spectrum disorders? A replication study in European populations. *Mol Psychiatry.* 2007;12:977-979.
131. Zerbo O, Qian Y, Yoshida C, Grether JK, Van de Water J, Croen LA. Maternal Infection During Pregnancy and Autism Spectrum Disorders. *J Autism Dev Disord.* 2015;45:4015-4025.
132. Lee BK, Magnusson C, Gardner RM et al. Maternal hospitalization with infection during pregnancy and risk of autism spectrum disorders. *Brain, Behav Immun.* 2015;44:100-105.
133. Ceylani T, Jakubowska-Doğru E, Gurbanov R, Teker HT, Gozen AG. The effects of repeated antibiotic administration to juvenile BALB/c mice on the microbiota status and animal behavior at the adult age. *Heliyon.* 2018;4:e00644.
134. Bolte ER. Autism and clostridium tetani. *Med Hypotheses.* 1998;51:133-144.
135. Niehus RCL. Early medical history of children with autism spectrum disorders. 2006;27:120-127.
136. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *PNAS.* 2011;108:4554-4561.
137. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER et al. Short-Term Benefit From Oral Vancomycin Treatment of Regressive-Onset Autism. *J Child Neurol.* 2000;15:429-435.
138. Shaw W. *Biological Treatments for Autism and PDD.* 3rd revise. (Shaw W, ed). USA: Sunflower Pub; 2008.
139. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol.* 2015;14:20-32.
140. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009;9:313-323.
141. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 1995;125:1401-1412.
142. Strati F, Cavalieri D, Albanese D et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome.* 2017;5:24.
143. De Angelis M, Piccolo M, Vannini L et al. Fecal Microbiota and Metabolome of Children with Autism and Pervasive Developmental Disorder Not Otherwise Specified. *PLoS One.* 2013;8:e76993.
144. Grimaldi R, Cela D, Swann JR et al. In vitro fermentation of B-GOS: Impact on faecal bacterial populations and metabolic activity in autistic and non-autistic children. *FEMS Microbiol Ecol.* 2016;93:fiw233.
145. Finegold SM, Molitoris D, Song Y et al. Gastrointestinal Microflora Studies in Late-Onset Autism. *Clin Infect Dis.* 2002;35:S6-S16.
146. Kang DW, Park JG, Ilhan ZE et al. Reduced Incidence of Prevotella and Other Fermenters in Intestinal Microflora of Autistic Children. *PLoS One.* 2013;8:e68322.
147. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Increased abundance of Sutterella spp. and Ruminococcus torques in feces of children with autism spectrum disorder. *Mol Autism.* 2013;4:42.
148. Argou-Cardozo I, Zeidán-Chuliá F. Clostridium Bacteria and Autism Spectrum Conditions: A Systematic Review and Hypothetical Contribution of Environmental Glyphosate Levels. *Med Sci.* 2018;6:E29.
149. Finegold SM, Summanen PH, Downes J, Corbett K, Komoriya T. Detection of Clostridium perfringens toxin genes in the gut microbiota of autistic children. *Anaerobe.* 2017;45:133-137.
150. Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, Foster JA. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil.* 2011;23:255-264.
151. Desbonnet L, Clarke G, Traplin A et al. Gut microbiota depletion from early adolescence in mice: Implications for brain and behaviour. *Brain Behav Immun.* 2015;48:165-173.
152. Kang DW, Adams JB, Gregory AC et al. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: An open-label study. *Microbiome.* 2017;5:10.
153. Kang D-W, Adams JB, Coleman DM et al. Long-term benefit of Microbiota Transfer Therapy on autism symptoms and gut microbiota. *Sci Rep.* 2019;9:5821.
154. Kang DW, Ilhan ZE, Isern NG et al. Differences in fecal microbial metabolites and microbiota of children with autism spectrum disorders. *Anaerobe.* 2018;49:121-131.
155. Tabouy L, Getselter D, Ziv O et al. Dysbiosis of microbiome and probiotic treatment in a genetic model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun.* 2018;73:310-319.
156. Kaluzna-Czaplińska J, Błaszczuk S. The level of arabinitol in autistic children after probiotic therapy. *Nutrition.* 2012;28:124-126.
157. Grossi E, Melli S, Dunca D, Terruzzi V. Unexpected improvement in core autism spectrum disorder symptoms after long-term treatment with probiotics. *SAGE Open Med Case Reports.* 2016;4:2050313X16666231.
158. Hughes HK, Rose D, Ashwood P. The Gut Microbiota and Dysbiosis in Autism Spectrum Disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2018;18:81.

159. Gurbanov R, Uzun C. Bağırsak Mikrobiyotası Ekseninde Multipl Skleroz: Probiyotiklerin Rolü. In: Oğuz Ö, Lüleyap Ü, Aksu F, eds. Güncel Temel Tıp Bilimleri Çalışmaları I. 1st ed. Ankara, Türkiye: Akademisyen Kitabevi; 2019:83-97.

**Correspondence Address / Yazışma Adresi**

Rafiq Gurbanov  
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,  
Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi,  
Bilecik, Turkey  
e-mail: rafiq.gurbanov@bilecik.edu.tr

**Geliş tarihi/ Received:** 26.11.2018**Kabul tarihi/Accepted:** 13.06.2019