


OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUKLARI VE MİKROBİYATA

Autism Spectrum Disorders And Microbiota

Ferit Durankuş

(Uz.Dr.), Medeniyet Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, e-mail: feritdr35@gmail.com

 ORCID 0000-0002-3337-8419

1. Giriş

Otizm spektrum bozukluğu (OSB) nörogelişimsel bir bozukluk olup, sosyal iletişimde bozulma ve tekrarlayan basmakalıp davranışların varlığı ile karakterize bir hastalıktır. OSB'de davranışsal anormallikler yelpazesine ek olarak, nöbetler, anksiyete, uyku bozukluğu ve metabolik bozukluklar gibi komorbiditeler sık rastlanır (1–3). OSB'deki beyin değişiklikleri şunları içerir: prefrontal kortekste % 67 den fazla nöron miktarında azalma, beyin ağırlığında % 17'den fazla artış ve anormal kortikal desenleme (4–7). Ek olarak, OSB'li yaşayan hastalarda yapılan çeşitli beyin görüntüleme çalışmaları anormal frontal lob bağlantısı, kortikal morfolojide bozulma ve amigdala aktivasyonunda değişiklikler olduğunu göstermişlerdir (8–10).

OSB'nin kesin nedeni halen belirsizliğini korumaktadır; ancak etyolojide genetik ve çevresel faktörlerin kombinasyonunun da olduğu düşünülmektedir. OSB'de De novo mutasyonlarının yaygın olduğu tahmin edilmektedir (11,12). Bu nedenle, birçok çalışma, çevresel risk faktörleri olasılığı ve ilgili çekirdek nöro-davranışa katkıda bulunacak tıbbi komorbiditeler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bağışıklık düzensizliği ve gastrointestinal (GI) rahatsızlıklar OSB'de sık görülen semptomlar olup, OSB'nin periferik sinir sistemi, enterik sinir sistemi ve nöroimmün sistemi etkilediğini öngörmektedir. OSB hastalarının ölüm sonrası beyin çalışmaları serebellumda ve serebral kortekste mikrogliya ve astroglia aktivasyonunun arttığını ve bununla birlikte serebrospinal sıvıda proinflamatuvar sitokinlerin aktivasyonunun yükseldiğini bildirmekteyler (13). Ek olarak, OSB popülasyonlarında GI bozuklukları daha yüksek yaygınlık ortaya koymaktadır. OSB popülasyonlarındaki GI bozuklukların sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu bilinmektedir (14,15). Komorbid GI semptomlar arasında ishal/kabızlık, karın ağrısı ve

mide reflüsü yer alır ve bu durum OSB'li hastalarda bağırsak epitelyum bütünlüğünde bozulma ve artan bağırsak geçirgenliği hipotezlerini desteklemektedir.

Yaklaşık 15.000 OSB hastasının analizinin yapıldığı bir meta-analizde OSB bireylerinin yaklaşık %12'sinde bağırsak bozuklukları olduğu tespit edilmiştir (16). Önceki birçok çalışmaya dayanarak, disbiyozis, obezite ve kardiyovasküler hastalıklar da dahil olmak üzere birçok hastalıkta rollerinin olduğu hem insan hem de hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (17–19). Ek olarak, artan kanıtlar, OSB hastalarında mikrobiyotanın sağlıklı bireylere göre büyük ölçüde farklı olduğu bildirilmiştir (19). Bu bölümde OSB'li hastalarda mikrobiyotanın etyolojide ve tedavideki yeri ile ilgili literatür bilgileri sunulacaktır.

1.1. Bağırsak mikrobiyomuna genel bakış

Diğer memeliler de dahil olmak üzere insanlar üzerinde bulunan çok sayıda mikroorganizma ile ilişki vücutlarının açıkta ve iç yüzeyleri birlikte evrimsel olarak yaşarlar. Mikropların toplanması ve genetik materyalleri mikrobiyom olarak adlandırılır. İnsan GI yolu yaklaşık 1000 çeşit ve 10^{14} bakteri içerir. Komensal mikrobiyom sayısı, insan somatik genomundan en az 100 kat daha fazladır (20). Sağlıklı bir yetişkinin GI yoluna en çok Bacteroidetes ve Firmicutes filumları hakimdir (her ikisi de toplam bakterilerin %70-90'ını oluşturur) Bu iki filumu Aktinobakteriler, Proteobacteria ve Verrucomicrobia takip eder (21). Bu simbiyotik mikrobiyotalar bağırsakta yaşamaktadırlar. Sindirilemeyen diyet bileşiklerini metabolize ederek besin rekabeti ile fırsatçı patojen kolonizasyonuna ve antimikrobiyal madde üretimine karşı bağırsaklara epitelyal bariyerinin bütünlüğüne katkıda bulunurlar (21). Ayrıca bağırsaklık sistemindeki bozukluklarla ilgili çalışmalarda barsak mikrobiyomu bulunmayan farelerde önemli immün zayıflıklar olduğu gösterilmiştir (22). Bağırsak bakteriyel kolonizasyonun, konakçı adaptif bağırsaklık sisteminin matürasyonu için gerekli olduğu bilinmektedir (23).

Bağırsak mikrobiyomu ve ev sahibi arasındaki faydalı ortaklık bağırsaklık sistemi normal ev sahibi homeostazına hayat boyunca büyük katkı sağlar. Bağırsak mikrobiyomunun dengeli bir bileşiminin bozulması irritabl bağırsak sendromu (IBS) ve hatta birkaç kanser türüne neden olabilir (23). Ek olarak, değiştirilmiş bağırsak mikrobiyomu ayrıca mikrobiyotadan türetilmiş ürünleri ve metabolitleri de etkiler (24). Ancak Bifidobacteria ve Lactobacillus gibi probiyotikler, bağırsak mikrobiyomunun bileşimi ve bağırsak mikrobiyaline fayda sağlayarak, bağırsak inflamasyonunun iyileştirilmesine veya önlenmesini sağlayabilir (25).

1.2. Mikrobiyom, bağırsak ve beyin arasındaki iletişim

Bağırsak-beyin eksenini terimi önerildiğinden ve ilk iletişimi ortaya çıkaran klinik öncesi çalışmaların yayınlanması sonrasında bu konuyu odak alan çalışmalar hızlı bir şekilde çoğalmaya başlamıştır (26). Bağırsak-beyin eksenini, çift yönlü biyokimyasal iletişime sahiptir. Bu karşılıklı yolak, otonomik sinir sistemi, enterik sinir sistemi, hipotalamik hipofiz adrenal eksenini, bağırsak mikrobiyomu ve vagustan oluşur (27). Geçtiğimiz birkaç yılda, bağırsakların rollerini araştıran pek çok hayvanlar çalışmasında beyin fonksiyonlarını modüle etmede mikrobiyomun önemini orta çıkarmaya odaklanmıştır. Deneysel çalışmalardan birincisi, bağırsağın bakteriyel kolonizasyonunun hem SSS hem de ESS'nin olgunlaşması için hayati derecede önemli olduğunu göstermiştir. İkincisi bağırsak mikrobiyomu, serotonin, GABA ve BDNF nörotransmitterlerin üretimi ve döngüsünde oldukça önemlidir. Bağırsak mikrobiyomu bağırsak bariyerinin bütünlüğü ve bağlantılarına katkıda bulunarak HPA eksenini fonksiyonları üzerine etki gösterirler Üçüncüsü, bazı probiyotik türleri enterik afferentlerin ve ESD'nin aktivitelerini modüle ederler. Dördüncüsü, bağırsak mikrobiyomu bakteri kaynaklı ve/veya ko-metabolitler yoluyla, serotonin ve kynurenine üretimini etkileyerek beyin üzerinde etkiler yaratabilir. Son olarak, bağırsak-beyin eksenindeki immünolojik yolakların (sistemik ve mukozal immün) düzenlenmesinde bağırsak mikrobiyomu önemli roller oynamaktadır (19).

Hayvan araştırmalarından elde edilen kanıtlar, çeşitli sosyal stresörlerin mukus salgısı ve bileşimini ve ek olarak bağırsak mikrobiyotasının toplam biyokütlesini etkilediklerini göstermiştir. Elde edilen kanıtlar, beyin-bağırsak-mikrobiyom sinyalinin beyin fonksiyonlarının regülasyonunda önemli bir rol oynadığını öne sürmektedir. Nöronlar, immün ve enterokromafin hücreleri tarafından kontrol edilen bu sinyalin serbest bırakılması beyin mikrobiyomunu doğrudan etkileyebilir. Bağırsak mikrobiyota bileşimi ve fonksiyon beyin tarafından bağırsak geçirgenliği, epitel boyunca bazı patojenler bırakarak ve mukozadaki bağırsıklık tepkisini aktive etmek suretiyle düzenlenebilir (27).

2. Bağırsak mikrobiyomu ve OSB

OSB'de gastrointestinal (GI) semptomlar belirgindir (28). Wang ve ark. OSB'li çocuklarda kabızlık (% 20) ve ishal (% 19) oranlarının etkilenmemiş kardeşlerine göre (sırasıyla% 42'ye karşı % 23) daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (29). Bir meta-analizde OSB'li çocuklarda benzer sonuçlar olduğunu göstermişlerdir (30). GI semptomları gösteren OSB'li hastalar kaygı, kendine zarar verme gibi önemli davranışsal belirtiler ve saldırganlığın daha yüksek olduğu gösterilmiştir (31). Çalışmalar bağırsak mikrobiyotasının doğrudan veya dolaylı olarak OSB

semptomları ile ilişkili olduğunu desteklemektedir (32,33). OSB'li hastalarda bağırsak geçirgenliğinin etkilenmemiş kardeşlerine göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bağırsak geçirgenliğinde artış, gastrointestinal kaynaklı daha yüksek antijenik yükü ile sonuçlanır. Lenfositler ve OSB ile ilişkili sitokinler, örneğin interlökin-1b (IL-1b), IL-6, interferon-g (IFN-g) ve tümör nekroz faktörü-a (TNF-a) dolaşımında bulunur ve kan-beyin bariyerini (BBB) geçerler. Daha sonra IL-1B ve TNF-alfa beyin endotel hücrelerine bağlanır ve beyindeki bağışıklık sistemini uyarır (28). OSB'li hastalarda ve OSB'nin hayvan modellerinde bağırsağın bileşimindeki mikrobiyota değişiklikleri yaygın olarak gözlenmektedir (28). Hsiao ve ark. OSB'nin özelliklerini gösteren fare modeli çalışmasında gastrointestinal bariyer kusurları ve mikrobiyota değişikliklerinin otizmin karakteristik bir bulgusu olduğunu öne sürmüşlerdir (34). OSB'siz çocukların bağırsak mikrobiyotası ile OSB'li çocukların bağırsak mikrobiyotası karşılaştırıldığında, OSB'li çocukların bağırsak mikrobiyotasının daha az çeşitli ve daha düşük Bifidobacterium ve Firmicutes seviyeleri ve daha yüksek Lactobacillus, Clostridium, Bacteroidetes, Desulfovibrio, Caloramator ve Sarcina seviyeleri sergilediği gösterilmiştir (32). OSB'li çocuklardan alınan dışkı örneklerinde ayrıca Clostridium histolyticum grubunun (Clostridium küme II ve I) sağlıklı örneklerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu bulunmuştur. Clostridium ailesi, nörotoksinler üretir ve sistemik etkiler gösterebilir (35). Clostridium'un miktarının azalması ile OSB'li çocuklarda gelişmeler olduğu ileri sürülmüştür. Ek olarak, OSB'li çocuklar Bifidobacterium, Prevotella ve Sutterella seviyeleri de normal kontrollere göre değişkenlik gösterir (28). Sezaryen (CS) ile doğan çocuklarda OSB gelişme riski, vajinal yolla doğan bebeklere göre daha yüksektir (olasılıklar 1.23 oranı) (36). OSB'li çocukların önemli ölçüde daha fazla antibiyotik kullanma öyküsü vardır (37). Ancak, bazı çalışmalar OSB ile bağırsak mikrobiyotası arasında ilişki olmadığını iddia etmektedir.

Candida'nın yüzdesinin mikrobiyatada artması OSB'li bireylerde gösterilmiştir. Bu durum ise disbiyozu kötüleştirebilir ve anormal davranışları tetikler. Bağırsaklardaki mantar yüzdesinin rolü ile OSB arasındaki ilişkileri açıklayacak daha büyük örneklemli çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.1. Gut Mikrobiyota Aracılı Metabolitler

Kısa zincirli yağlar gibi bağırsak mikrobiyotasının aracılık ettiği metabolitler (SCFA'lar), fenol bileşikler ve serbest amino asitler (FAA), vagal yollarla ASD benzeri davranışları etkiler.

Asetik asit (AA), propionik asit (PPA), bütirat, izobütirik asit, valerik asit ve izovalerik asit, dahil olmak üzere SCFA'lar, sindirilemeyen

karbonhidratların bağırsak bakteriyel fermantasyonu ile oluşan temel ürünleridir. Bu ürünler kan glikoz ve enerji hemostazı, kolon kanserinde riski azaltma gibi etkileri ile konağa faydalar sağlar. Birkaç araştırmaya göre, SCFA'lar, OSB'li hastalarda kritik bir rol oynar. PPA, kısa zincirli bir yağdır esas olarak Clostridia, Bacteroidetes ve Desulfovibrio tarafından üretilir. PPA kan beyin bariyerini geçebilir ve OSB benzeri davranışları tetikleyebilir (28). Thomas ve arkadaşlarının çalışmasında farelere intraserebroventriküler yüksek dozda PPA uygulamış ve otistik davranışların ortaya çıktığı gösterilmiştir (38). PPA dopamin ve serotonin gibi nörotransmitterleri değiştirerek sosyal davranışı bozabilir. Butirat, tirozin hidroksilaz geni ekspresyonunu değiştirerek dopamin norepinefrin ve epinefrin sentezini modüle edebilir. Butirat ayrıca histon deasetilazları inhibe eder ve antiinflamatuvar etkileri değiştirebilir. FAA, proteinlerin ve peptitlerin hidrolizinden elde edilmektedir ve OSB ile ilişkili olduğu bulunmuştur. De Angelis ve ark. otizmli çocukların dışkı örneklerinde toplam FAA düzeyinin çocuklarda olması gerektiğinden daha yüksek olduğu bulmuştur (32).

2.2. Tedavi Yaklaşımları

OSB için halihazırda etkili bir tedavi yoktur. Ebeveynler sık sık çocuklarını özel ihtiyaçlar doğrultusunda müdahale almaya götürür. OSB'de risksiz ve etkili tedavi arayışları sürmektedir. Kanıta dayalı tıp ışığında, bağırsak mikrobiyotasının OSB'li çocuklarda potansiyel bir tedavi olabileceği düşünülmektedir. Bu potansiyel tedaviler probiyotikler, prebiyotikler, fekal mikrobiyota nakli (FMT) ve diyetten oluşur. Probiyotikler bağırsak işlevlerini, sıkı bağlantı protein ekspresyonunu ve bariyer işlevini düzenler. Isı ile öldürülmüş probiyotiklerin kullanımı olumsuz etkileri en aza indirirken terapötik fayda sağlayabilir.

2.3. Probiyotikler ve Prebiyotikler

Laktik asit üreten bakterilere ait probiyotikler olan Lactococcin, Lactobacilli, Bifidobacteria ve Saccharomycetes'e, yeterli miktarlarda sağlandığında konakçı için faydalı olduğu bilinmektedir. Birçok çalışma, probiyotiklerin obezite, depresyon, kolorektal kanser gibi çeşitli hastalıkları önleyebileceğini ve tedavi edebileceğini göstermiştir (28). Probiyotik/prebiyotik bağırsak mikrobiyotasını normalleştirebilir, bağırsak bariyerini güçlendirir. OSB benzeri davranışların probiyotik/prebiyotik tedavileri ile düzelme gösterdiği bildirilmiştir. Hsiao ve ark'ı., Bacteroides fragilis ile tedavisi ile azaltılmış bağırsak geçirgenliğini sağladıklarını ve bağırsak mikrobiyotasının bileşimini değiştirdiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda OSB benzeri davranışlarda azalma olduğu gösterilmiştir ¹ Bir kohort çalışmasına göre, 2 ay boyunca günde iki kez Lactobacillus acidophiluslu oral takviye ile

OSB'li çocukların idrarındaki D-arabinitol seviyelerinin azaldığı ve yönergeleri takip etme becerilerini geliştirdiği bildirilmiştir (39). Yakın zamanda yapılan bir klinik çalışmada, 100 okul öncesi ASD'li çocuk probiyotikler veya plasebo ile tedavi edilmiş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. 6 ay sonunda probiyotik tedavi alan grupta klinik ve nörofizyolojik bulgularda değişiklik olduğu bildirilmiştir (40).

Probiyotik tedavilerin normalleştirme yetenekleri kanıtlanmış olmasına rağmen mikrobiyota prebiyotikler için mevcut kanıtlar eksiktir. Prebiyotikler ile ilgili deneysel çalışmaların sonuçları umut vericidir. Bununla birlikte, probiyotiklerin veya prebiyotiklerin olumlu rolleri halen tartışmalıdır. Özetle, probiyotik ve prebiyotiklerin OSB hastalarının tedavilerinde kullanılması için çok merkezli, geniş örneklemlili, randomize ve kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.4. Fekal Mikrobiyata Transplantasyonu

Fekal Mikrobiyata Transplantasyonu (FMT) sağlıklı bir bireyin dışkı mikrobiyotasının disbiyotik bağırsak mikrobiyotalı hastalara verilmesini ifade eder. FMT geleneksel Çin tıbbında dördüncü yüzyıldan bu zaman kullanılmaktadır. Tekrarlayan Clostridium difficile enfeksiyon tedavisinde oldukça etkilidir. FMT, Spekülatif olmakla birlikte, IBD ve IBS tedavisinde FMT'nin kabızlığı tamamen iyileştirdiği bildirilmektedir (% 100) (41). Bu sonuçlar göz önüne alındığında, OSB'nin tedavisinde FMT giderek ilgi çekmeye başlamıştır. Bununla birlikte, FMT'nin potansiyel yan etkileri olan ishal, karın krampları, kısa vadede geçirme, hafif karın rahatsızlığı / şişkinlik ve geçici düşük dereceli ateş dikkat edilmesi gereken hususlardır.

2.5. Mikrobiyata Transfer Tedavisi

Mikrobiyata Transfer Tedavisi (MMT) değiştirilmiş bir FMT protokolüdür. 14 günlük antibiyotik tedavisi ve ardından bağırsak temizliği sonrasında yüksek bir başlangıç dozunun uygulanması ile 7-8 hafta boyunca standartlaştırılmış insan bağırsak mikrobiyotası verilmesi prensiplerine dayanır. Bu konuyu araştıran bir klinik çalışma, MTT'nin hem GI semptomları hem de ASD ile ilgili semptomlar ve normalize ettiğini bildirmiştir (42).

3. Sonuç

Elde edilen veriler ışığında mikrobiyatanın OSB rolünün önemli olduğu görülmektedir. Tedavi alanında da çalışmalar olmakla birlikte, günümüzde OSB'de tavsiye edilebilecek standart bir tedavi yaklaşımı yoktur. Bu konu ile ilgili geniş örneklemlili ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Vuong HE, Hsiao EY. Emerging Roles for the Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder. *Biol Psychiatry*. 2017;81(5):411-423. doi:10.1016/j.biopsych.2016.08.024
2. Bercum FM, Rodgers KM, Benison AM, et al. Maternal Stress Combined with Terbutaline Leads to Comorbid Autistic-Like Behavior and Epilepsy in a Rat Model. *J Neurosci*. 2015;35(48):15894-15902. doi:10.1523/JNEUROSCI.2803-15.2015
3. Antshel KM, Zhang-James Y, Wagner KE, Ledesma A, Faraone S V. An update on the comorbidity of ADHD and ASD: a focus on clinical management. *Expert Rev Neurother*. 2016;16(3):279-293. doi:10.1586/14737175.2016.1146591
4. Courchesne E, Mouton PR, Calhoun ME, et al. Neuron Number and Size in Prefrontal Cortex of Children With Autism. *JAMA*. 2011;306(18):2001. doi:10.1001/jama.2011.1638
5. Voineagu I, Wang X, Johnston P, et al. Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature*. 2011;474(7351):380-384. doi:10.1038/nature10110
6. Chow ML, Pramparo T, Winn ME, et al. Age-Dependent Brain Gene Expression and Copy Number Anomalies in Autism Suggest Distinct Pathological Processes at Young Versus Mature Ages. Gibson G, ed. *PLoS Genet*. 2012;8(3):e1002592. doi:10.1371/journal.pgen.1002592
7. Broek JAC, Guest PC, Rahmoune H, Bahn S. Proteomic analysis of post mortem brain tissue from autism patients: evidence for opposite changes in prefrontal cortex and cerebellum in synaptic connectivity-related proteins. *Mol Autism*. 2014;5(1):41. doi:10.1186/2040-2392-5-41
8. Catani M, Dell'Acqua F, Budisavljevic S, et al. Frontal networks in adults with autism spectrum disorder. *Brain*. 2016;139(2):616-630. doi:10.1093/brain/awv351
9. Yang DYJ, Beam D, Pelphrey KA, Abdullahi S, Jou RJ. Cortical morphological markers in children with autism: a structural magnetic resonance imaging study of thickness, area, volume, and gyrification. *Mol Autism*. 2016;7(1):11. doi:10.1186/s13229-016-0076-x

10. Ha S, Sohn I-J, Kim N, Sim HJ, Cheon K-A. Characteristics of Brains in Autism Spectrum Disorder: Structure, Function and Connectivity across the Lifespan. *Exp Neurobiol*. Published online 2015. doi:10.5607/en.2015.24.4.273
11. Gaugler T, Klei L, Sanders SJ, et al. Most genetic risk for autism resides with common variation. *Nat Genet*. 2014;46(8):881-885. doi:10.1038/ng.3039
12. Iossifov I, Levy D, Allen J, et al. Low load for disruptive mutations in autism genes and their biased transmission. *Proc Natl Acad Sci*. 2015;112(41):E5600-E5607. doi:10.1073/pnas.1516376112
13. 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(1):67-81. doi:10.1002/ana.20315
14. Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism – comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol*. 2011;11(1):22. doi:10.1186/1471-230X-11-22
15. Williams BL, Hornig M, Parekh T, Lipkin WI. Application of Novel PCR-Based Methods for Detection, Quantitation, and Phylogenetic Characterization of *Sutterella* Species in Intestinal Biopsy Samples from Children with Autism and Gastrointestinal Disturbances. Biron C, ed. *MBio*. 2012;3(1). doi:10.1128/mBio.00261-11
16. Kohane IS, McMurry A, Weber G, et al. The Co-Morbidity Burden of Children and Young Adults with Autism Spectrum Disorders. Smalheiser NR, ed. *PLoS One*. 2012;7(4):e33224. doi:10.1371/journal.pone.0033224
17. Blumberg R, Powrie F. Microbiota, Disease, and Back to Health: A Metastable Journey. *Sci Transl Med*. 2012;4(137):137rv7-137rv7. doi:10.1126/scitranslmed.3004184
18. DeGruttola AK, Low D, Mizoguchi A, Mizoguchi E. Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(5):1137-1150. doi:10.1097/MIB.0000000000000750
19. Yang Y, Tian J, Yang B. Targeting gut microbiome: A novel and potential therapy for autism. *Life Sci*. 2018;194:111-119.

doi:10.1016/j.lfs.2017.12.027

20. Belkaid Y, Naik S. Compartmentalized and systemic control of tissue immunity by commensals. *Nat Immunol.* 2013;14(7):646-653. doi:10.1038/ni.2604
21. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(1):20-32. doi:10.1038/nrmicro3552
22. Falk PG, Hooper L V., Midtvedt T, Gordon JI. Creating and Maintaining the Gastrointestinal Ecosystem: What We Know and Need To Know from Gnotobiology. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998;62(4):1157-1170. doi:10.1128/MMBR.62.4.1157-1170.1998
23. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(5):313-323. doi:10.1038/nri2515
24. Lopez CA, Kingsbury DD, Velazquez EM, Bäumlner AJ. Collateral Damage: Microbiota-Derived Metabolites and Immune Function in the Antibiotic Era. *Cell Host Microbe.* 2014;16(2):156-163. doi:10.1016/j.chom.2014.07.009
25. Hemarajata P, Versalovic J. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap Adv Gastroenterol.* 2013;6(1):39-51. doi:10.1177/1756283X12459294
26. Collins SM, Bercik P. The Relationship Between Intestinal Microbiota and the Central Nervous System in Normal Gastrointestinal Function and Disease. *Gastroenterology.* 2009;136(6):2003-2014. doi:10.1053/j.gastro.2009.01.075
27. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol.* Published online 2015.
28. Li Q, Han Y, Dy ABC, Hagerman RJ. The Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorders. *Front Cell Neurosci.* 2017;11. doi:10.3389/fncel.2017.00120
29. Wang LW, Tancredi DJ, Thomas DW. The Prevalence of Gastrointestinal Problems in Children Across the United States With Autism Spectrum Disorders From Families With Multiple Affected Members. *J Dev Behav Pediatr.* 2011;32(5):351-360.

doi:10.1097/DBP.0b013e31821bd06a

30. McElhanon BO, McCracken C, Karpen S, Sharp WG. Gastrointestinal Symptoms in Autism Spectrum Disorder: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2014;133(5):872-883. doi:10.1542/peds.2013-3995
31. Buie T, Fuchs GJ, Furuta GT, et al. Recommendations for Evaluation and Treatment of Common Gastrointestinal Problems in Children With ASDs. *Pediatrics*. 2010;125(Supplement 1):S19-S29. doi:10.1542/peds.2009-1878D
32. De Angelis M, Piccolo M, Vannini L, et al. Fecal Microbiota and Metabolome of Children with Autism and Pervasive Developmental Disorder Not Otherwise Specified. Heimesaat MM, ed. *PLoS One*. 2013;8(10):e76993. doi:10.1371/journal.pone.0076993
33. Mead J, Ashwood P. Evidence supporting an altered immune response in ASD. *Immunol Lett*. 2015;163(1):49-55. doi:10.1016/j.imlet.2014.11.006
34. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, et al. Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders. *Cell*. 2013;155(7):1451-1463. doi:10.1016/j.cell.2013.11.024
35. 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(10):987-991. doi:10.1099/jmm.0.46101-0
36. Curran EA, O'Neill SM, Cryan JF, et al. Research Review: Birth by caesarean section and development of autism spectrum disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. *J Child Psychol Psychiatry*. 2015;56(5):500-508. doi:10.1111/jcpp.12351
37. Niehus R, Lord C. Early medical history of children with autism spectrum disorders. *J Dev Behav Pediatr*. Published online 2006. doi:10.1097/00004703-200604002-00010
38. Thomas RH, Meeking MM, Mepham JR, et al. The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: further development of a rodent model of autism spectrum disorders. *J Neuroinflammation*. 2012;9(1):695.

doi:10.1186/1742-2094-9-153

39. Kałużna-Czaplińska J, Błaszczyk S. The level of arabinitol in autistic children after probiotic therapy. *Nutrition*. 2012;28(2):124-126. doi:10.1016/j.nut.2011.08.002
40. Santocchi E, Guiducci L, Prosperi M, et al. Effects of Probiotic Supplementation on Gastrointestinal, Sensory and Core Symptoms in Autism Spectrum Disorders: A Randomized Controlled Trial. *Front Psychiatry*. 2020;11. doi:10.3389/fpsy.2020.550593
41. Aroniadis OC, Brandt LJ. Fecal microbiota transplantation. *Curr Opin Gastroenterol*. 2013;29(1):79-84. doi:10.1097/MOG.0b013e32835a4b3e
42. Kang D-W, 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(1):10. doi:10.1186/s40168-016-0225-7

