

# Mitokondriyal Disfonksiyon ve Otizm

## Mitochondrial Dysfunction and Autism

Mikail Yeniçeri

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü / KIRŞEHİR

Yazışma Adresi / Correspondence:

Mikail Yeniçeri

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, KIRŞEHİR, Türkiye

T: +90 386 280 29 05 E-mail: myeniceri@ahievran.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 11.09.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 09.02.2020

Orcid:

Mikail Yeniçeri <https://orcid.org/0000-0003-1698-6911>

(Sakarya Tıp Dergisi / Sakarya Med J 2020, 10(1):171-182) DOI: 10.31832/smj.618624

### Öz

Otizm, sinir sisteminin gelişimsel bozukluğundan kaynaklanan ve buna bağlı olarak; tekrarlayıcı ve sınırlı davranış bulguları ile kendini gösteren sosyal ilişki ve iletişim yetersizliğidir. Klinik ve genetik heterojeniteye sahip olan bu gruptaki hastalıklar "Otizm Spektrum Bozuklukları" (OSB) başlığı altında toplanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, otizm teşhisi konmuş bireylerin önemli bir çoğunluğunun mitokondriyal hastalık ve enerji üretimindeki anormallikler gibi eşlik eden hastalıklara da sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, otizmin mitokondriyal işlev bozukluğu ile bağlantılı olabileceği hipotezinin oluşmasına yol açmıştır. Yapılan çalışmaların çoğunda, otizmlili bireylerde mitokondriyal elektron taşıma sistem (ETS) kompleksleri ile mitokondriyal genlerin ekspresyonunda azalma olduğu bildirilmiştir. Bununla beraber çalışmaların çoğu küçük bir grupla yapılmış ve kullanılan tekniklerde değişkenlik göstermiştir. Daha sağlıklı bir araştırma ve otizm ile mitokondriyal disfonksiyon arasındaki bağlantıyı daha iyi kurmak için, nöronal aktivitede önemli bir protein olan sitokrom c oksidaz ölçümünün yapılması hayati önem arz etmektedir. Bu derleme çalışmasında otizm ve mitokondriyal disfonksiyon arasındaki bağlantı tartışılmıştır.

Anahtar  
Kelimeler

Otizm; Mitokondri; Mitokondriyal Disfonksiyon

### Abstract

Autism is caused by developmental disorders of the nervous system. repetitive and limited behavioral findings. Diseases in this group with clinical and genetic heterogeneity are grouped under the title of Autism Spectrum Disorders (ASD). Recent studies have shown that the majority of individuals diagnosed with autism also have comorbidities such as mitochondrial disease and abnormalities in energy production. This has led to the hypothesis that autism may be associated with mitochondrial dysfunction. In most studies, it has been reported that mitochondrial electron transport system (ETC) complexes and mitochondrial gene expression decrease in individuals with autism. However, most of the studies were conducted with a small group and the techniques used varied. For a healthier research and better linking between autism and mitochondrial dysfunction, it is vital to measure cytochrome c oxidase, an important protein in neuronal activity. This review discusses the link between autism and mitochondrial dysfunction.

Keywords

Autism; Mitochondria; Mitochondrial Dysfunction

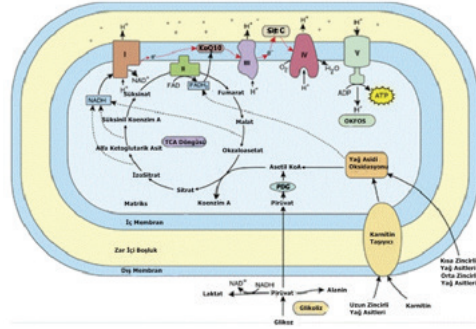
## GİRİŞ

Otizm spektrum bozuklukları (OSB), otizm, Asperger sendromu, yaygın gelişimsel bozuklukları içeren bir grup nöro-gelişimsel bozukluk olarak sınıflandırılmaktadır. OSB, bozulmuş sosyal etkileşim, azalan sözlü ve sözlü olmayan iletişim ve tekrar eden davranışlar gibi davranışsal gözlemler temelinde teşhis edilmektedir. OSB, öncelikle beynin kendisinin atipik gelişiminin bir sonucu olduğu düşünülen davranışsal ve bilişsel özelliklerle karakterize olmakta, bununla birlikte son yıllarda, OSB popülasyonunun önemli bir bölümünün, immün sistemin düzenlenmesindeki mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, gastrointestinal anormallikler gibi komorbiditeler olduğunu gösteren kanıtlar artmaktadır. Bu bağlamda, otizm, tamamen bir nörogelişimsel bozukluk olmaktan ziyade sistemik fizyolojik anormallikleri içerebilmekte veya bunun bir sonucu olabilmektedir.<sup>1</sup>

OSB, Amerika Birleşik Devletleri'nde hızla artmakta ve yaklaşık 68 çocuktan 1'ine bu tanı konmaktadır. Erkekler kadınlardan 4 ila 5 kat daha fazla etkilenmekte ve son birkaç yılda prevalansı her yıl %10 ila 17 artmaktadır. Otizmin halen bir tedavisi yoktur ve tıbbi tedavi yöntemleri davranışsal bozukluk belirtilerini azaltma hedefi ile sınırlı kalmaktadır. Otizmin altında yatan neden bilinmemekle birlikte, en umut verici hipotezler gelişim sırasında kritik dönemlerde genetik yatkınlık, epigenetik modifikasyonlar, beslenme etkileri ve çevresel toksinlere maruz kalma olduğunu göstermektedir. Genetik ve biyokimyasal kanıtlar OSB'nin bozulmuş mitokondriyal fonksiyona bağlı olabileceği hipotezini düşündürmektedir.<sup>2</sup>

Mitokondri, omurgalı ökaryotik hücrelerde aerobik enerji üretiminden sorumlu organeller olup ayrıca kalsiyum homeostasi ve sinyalleşmesinde, apoptozun düzenlenmesi ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunda önemli bir rol oynamaktadırlar. Mitokondri, özellikle nöronal hücrelerin saniyede yaklaşık 4,7 milyar ATP kullandığı beyin gibi yüksek enerji ihtiyacı olan alanlarda önemli organellerdir. ATP üretimi üç ana süreçte gerçekleşmektedir.

1. Sitosolde gerçekleşen glikoliz,
2. Mitokondriyal matrikste trikarboksilik asit (TCA) döngüsü
3. 3İç mitokondriyal zardaki elektron taşıma sistemi (ETS). (Şekil 1)



Şekil 1. Mitokondri'de enerji üretim mekanizmaları<sup>1</sup>

## Mitokondriyal Disfonksiyon ve Biyokimyasal İlişki

Mitokondriyal disfonksiyon iki tipte sınıflandırılmaktadır; birinci tip (birincil işlev bozukluğu), ATP üreten yolla ilişkili bir gende mutasyon sonucu oluşan işlev bozukluğunu ifade etmektedir. İkinci tip (ikincil işlev bozukluğu), mitokondrinin ATP sentezlemesini olumsuz etkileyebilecek diğer genetik, biyokimyasal veya metabolik anormallikler ve eksiklikler nedeniyle meydana gelen işlev bozukluğunu ifade etmektedir. Mitokondriyal disfonksiyonun bu biyokimyasal belirteçleri, hepsi bir miktar solunum aşamasında üretilen "laktat, piruvat, laktat-piruvat oranı, ubikinin, alanin, alanin/lisin oranı ve açıl-karnitin"i içermektedir. OSB'de mitokondriyal fonksiyon bozukluğu kanıtlarını gösteren çalışmalardan elde edilen bulgulardan bazıları, mitokondriyal solunum zinciri komplekslerinin aktivitesinde azalma, oksidatif stres biyobelirteçlerinin varlığı ve mtDNA mutasyonları gibi (silme ve replikasyonlar) bir dizi sonuçları içermektedir (Tablo 1).<sup>1</sup>

**Tablo 1. Otizm ile mitokondriyal disfonksiyon arasındaki bağlantı için yapılan çalışmalar ve bulgular<sup>1</sup>**

Alıntı	OSB Durum/ Kontrol	Metot	Önemli Bulgular
Minshe ve ark.	11/11	Fosfor-31 manyetik rezonans spektroskopisi	OSB grubunda anormal mitokondriyal fonksiyon belirtileri OSB davranışlarıyla ilişkilendirildi
Friedman ve ark.	45/28	Yankı düzlemsel spektroskopi görüntüleme	Tipik olarak gelişmekte olan çocuklara kıyasla OSB grubunda azalmış metabolit N-asetil-aspartat1 (NAA) konsantrasyonları
Palmieri ve ark.	6/6	Gen ekspresyonunun ölçülmesi Western blot Protein ölçümü Genomik DNA dizilimi	OSB grubunda daha yüksek ETS kompleks IV aktivitesi OSB grubu, Brodmann Alanı (BA) BA41/422 veya BA223'te mitokondriyal proteinlere daha yüksek oksidatif hasar tespiti
Giulivi ve ark.	10/10	Gen ekspresyonunun ölçümü (q-PCR) Spektrofotometri Clark tipi elektrotlar kullanılarak oksijen tüketiminin ölçümü	mtDNA delesyonları ve mtDNA replikasyonuna bağlı mitokondriyal disfonksiyonun, OSB grubunda görülme olasılığı daha yüksek
Chauhan ve ark.	8/8	Western blot	OSB grubunda frontal lob, temporal lob ve beyincikte ETS kompleks aktivitesinde azalma
Anitha ve ark.	8/10	Gen ekspresyonunun ölçümü (q-PCR)	OSB grubunda ön singulat korteks, motor korteks ve talamusta mitokondriyal genlerin azalmış ekspresyonu
Ginsberg ve ark.	9/9	Bütün genom gen ekspresyon analizi Genom çapında DNA metilasyonu	Beyincikte ETS kompleks gen ekspresyonu ve OSB grubunda BA194 azalma
Rose ve ark.	15/15	Protein tahlil kiti Yüksek performanslı sıvı kromatografisi Kütle spektrometresi	Beyincikte akonitaz 5 aktivitesinde ve OSB grubunda BA22'de azalma
Smith ve ark.	69/89	Kopya numarası değişimi için mikroarray analizi	Otistik hastalarda kopya sayı varyantları (KSV), mitokondriyal fonksiyon, iyon taşınımı ve sinaptik yapı ve fonksiyonda önemli olan genleri kapsamakta
Anitha ve ark.	8/10	Gen ekspresyonunun ölçümü (q-PCR)	OSB grubunda ön singulat korteks, talamus, motor kortekste ETS genlerinin azaltılmış ekspresyonu (kompleks I, III, IV ve V)
Gu ve ark.	14/12	Protein miktar tayini mtDNA kopya numarası analizi (q-PCR)	OSB grubunda ön lobda azalmış ETS kompleks I ve V aktivitesi OSB grubunda bulunan 3 farklı mitokondriyal gende nükleer DNA ile karşılaştırıldığında daha yüksek mitokondriyal DNA kopya sayısı
Tang ve ark.	20/25	Western blot /mtDNA ölçümü ve değerlendirilmesi (q-PCR ve uzun menzilli PCR) Protein ölçümü	OSB grubunda BA216'da azaltılmış ETS aktivite kompleks I ve IV OSB grubunun BA21'sinde daha yüksek seviyelerde mitokondriyal fizyon proteinleri ve daha düşük seviyelerde mitokondriyal füzyon proteinleri
Chen ve ark.	78/83	mtDNA kopya numarası analizi (q-PCR)	Otizmli çocukların periferik kan hücrelerinde yükseltilmiş mtDNA kopya numarası
Hardan ve ark.	17/17	Proton manyetik rezonans spektroskopisi (1H MRS)	OSB'li çocuklarda NAA'nın fosfokreatin ve kreatine oranındaki azalma
Goldenthal ve ark.	92/68	Protein aktivite seviyelerinin ölçümü (immüno-kaptur deneyleri ve spektrofotometri)	OSB'li çocukların %42'sinde önemli mitokondriyal solunum kompleksi zincir eksikliği

**OSB:** Otizm Spektrum Bozukluğu **mtDNA:** Mitokondriyal DNA  
**ETS:** Elektron Taşıma Sistemi **q-PCR:** Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu  
**BA:** Broadman Alanı **NAA:** N-Asetil Aspartat

Otizmliler hastaların plazmasında oksidatif fosforilasyonda bir defektten kaynaklı yüksek laktat seviyeleri gözlemlenmiş ayrıca otizmliler hastalarda idrarda yüksek laktik asidoz, Krebs devri metabolitleri, plazmada karnitin eksikliği ve beyinde glukoz kullanımını azlığı ile düşük adenosin trifosfat (ATP) düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir. Son 30 yılda, beyindeki plazma, beyin omurilik sıvısı (BOS), idrar, fibroblastlar, iskelet kası ve bukkal (yanak içi) mukozada çeşitli anormal biyobelirteçler tespit edilerek otizmliler çocuklarda biyoenerjetik eksiklik kavramı doğrulanmıştır.<sup>2</sup>

### Mitokondri ile Yapılan Çalışmalar

Oksidatif fosforilasyondaki eksiklikler nedeniyle laktik asidemi, anormal laktat: piruvat oranı, alanin birikimi ile plazma ve idrarda artmış açil-karnitin seviyeleri bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, otizmliler çocukların çeşitli periferik dokularında mitokondriyal fonksiyon bozukluğu bu belirteçler ile tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, 2 ila 40 yaşları arasındaki 60 otizmliler hastanın %8,3'ünde aerobik solunumda anormal biyokimyasal belirteçler bulunmuş, bunlar arasında plazmada yüksek laktat ve alanin seviyeleri ile idrarda 3-metil-glutakonik asit, sitrik asit döngüsü ara maddeleri ve dikarboksilik asit gibi organik asitler olduğu bildirilmiştir. Otizmliler 25 çocuğun tıbbi kayıtlarının retrospektif olarak gözden geçirildiği çalışmada, %76'sında yüksek kan laktatı, %53'ünde piruvat düzeyi yüksekliği, %20'sinde fibroblastlarda laktat: piruvat oranı artışı ve %42'sinde idrarda anormal organik asit miktarı rapor edilmiştir. Periferik dokularda elektron taşıma sistemindeki (ETS) fonksiyon bozukluğunun belirteci olarak, otizmliler olan bir hastanın iskelet kası biyopsisinden izole edilen mitokondride patolojik olarak artmış kompleks I aktivitesi olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan, kompleks I, III, IV ve V'deki kusurlar, hipotoni, epilepsi ve gelişimsel gecikme gösteren otizmliler bir çocuk kohortundan elde edilen iskelet kası mitokondrisinde de tespit edilmiştir. Diğer çalışmalarda ise otizm tanısı konmuş iki çocukta 15q11-q13 ters kromozom ve iskelet kası kompleks III aktivitesinde azalma olduğu gösterilmiştir. Yine yapılan bir başka çalışmada, bozulmuş ETS aktivitesi, OSB'li hastala-

rın iskelet kasındaki kompleks I, II, II+III ve IV'de gösterilmiştir. 25 otizmliler çocuğun kuadriseps kası, cilt fibroblastları ve karaciğer biyopsi örneklerinin retrospektif grafik incelemesinde, hastaların %64'ünde kompleks I defekti, %8'inde kompleks II bozukluğu, %20'sinde kompleks III defekti rapor edilmiştir. Depresif kompleks IV ise çocukların %4'ünde fonksiyon göstermektedir. Diğer çalışmalarda ise, OSB ve mitokondri hastalığı tanısı konan 28 çocukta iskelet kası mitokondri kompleksleri I, I+III, I+III+IV ve V'de eksiklikler bulunmuştur. Bu çalışmalara bakıldığında, kompleks I'in en sık etkilendiği, ardından kompleks IV, kompleks III, kompleks V ve kompleks II gelmektedir.<sup>2,3</sup>

### Beyin Dokusu ile Yapılan Çalışmalar

Postmortem beyin örneklerini değerlendiren çalışmalarda, otizmliler bireylerin beyindeki serebellum bölgesinde kompleks III ve V, frontal korteks bölgesinde kompleks I ve temporal korteks bölgesinde kompleks II, III ve V düzeylerinde azalma olduğu rapor edilmiştir. Ek olarak, OSB'li çocukların beyinciklerinde ve temporal kortekslerinde oksidatif stres belirteçlerin arttığı bildirilmiştir (Parietal ve oksipital korteks gruplarında gruplar arasında ETS kompleks protein ekspresyonu açısından bir fark bulunmadığı ve otizmliler olan yetişkinlerde değişiklik olmadığı gözlenmiştir). Sonuçlar, 4-10 yaş arasındaki otizmliler çocukların beyinde mitokondriyal bozulma olduğunu göstermiştir. Takip çalışmasının yapıldığı çalışmada ise, kompleks I ve V aktivitelerinde %30'dan fazla azalma ve postmortem beyin frontal korteksinde piruvat dehidrojenaz olduğunu göstermişlerdir. Kompleks I veya V aktivitesindeki bu tür kusurlar hastaların %43'ünde tanımlanırken, %29'unda kompleks III'te bozulma olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, beyin örneklerinin %29'unda, birden fazla kompleksi içeren anormal aktiviteler gözlenmiş, %14'ünde tüm ETS komplekslerinde eksiklikler olduğu rapor edilmiştir. Yine çalışmada mitokondriyal gen kopya sayısında artış olduğu bildirilmiştir. Bulgular, otizmliler bireylerin beyinde mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun geliştiğine doğrudan kanıt sağlamaktadır.<sup>2,4</sup>

Doğrulamalı çalışmalarda otizmliler hastaların beyinin lateral temporal lobundaki Brodmann bölgesi 21(BA21) post-mortem örneklerde değerlendirilmiştir. Beynin bu bölgesi işitsel işlemde, dilden ve sosyal algıdan sorumlu olup, otistik fenotipin açığa çıkması ile ilişkilendirilmiştir. Önceki çalışmalara benzer şekilde, otizmliler bireylerin beyininde, kompleks I, III, IV ve V'de protein seviyelerinde azalma ve kompleks I ve IV aktivitelerinde bozulma olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca düşük seviyelerde süperoksit dismutaz (SOD) ve artmış oksidatif DNA hasarı bulmuşlardır. Yine önceki çalışmalarla uyumlu olarak, küçük çocuklarda (10 yaşın altında) mitokondriyal anormalliklerin çoğunun, gelişmekte olan otizmliler bireylerin beyindeki kırılabilirliğe işaret ettiği belirlenmiştir. Bu bulgular bir başka post-mortem analiz çalışmasında da doğrulanmıştır. Yapılan çalışmada, otizmliler bireylerin beyindeki motor korteks, talamus ve singulat girustaki kompleks I, III, IV ve V'in çeşitli alt birimlerinin protein ekspresyonunda kontrol grubuna kıyasla azalma olduğu rapor edilmiştir. Spesifik olarak incelenen tüm beyin bölgelerinde, ATP5A1 (kompleks V), ATP5G3 (kompleks V) ve NDUFA5 (kompleks I) azalma görüldüğü bildirilmiştir.<sup>5,6</sup>

Bir başka çalışmada, mitokondriyal homeostaz için önemli olan 84 genin protein ekspresyonu için post-mortem otizmliler bireylerin beyinleri incelenmiştir. Yapılan çalışmada, MTX2 (mitokondriyal ön proteinler için belirteç reseptörü), NEFL (mitokondriyal morfoloji, füzyon ve motiliteyi düzenleyen) ve SLC25A27 (mitokondriyal ayrışma proteini 4) gibi pek çok farklı genin ekspresyonunun azalmış olduğu rapor edilmiştir. Bu gen ürünleri çok çeşitli mitokondriyal fonksiyonlardan sorumludur ve bulgular, oksidatif fosforilasyonun ötesinde otizmde mitokondri fonksiyonlarının bozulmasında olası bir mekanik rol olduğunu göstermektedir. Otizmliler hastaların beyindeki metabolik anormallikleri belirlemede nöroradyolojik görüntüleme yönteminden faydalanılmıştır. Invazif olmayan bir görüntüleme yöntemi olan proton manyetik rezonans spektroskopisi (1H-MRS), kreatin, fosfokreatin, kolin, miyo-inositol, laktat ve N-asetil aspartat (NAA gibi) spesifik

beyin metabolizma markörlerinin in vivo olarak nicelenmesinde kullanılmıştır. Ek olarak, farklı ancak bu tekniklerle ilişkili bir teknik olan fosfor-31 manyetik rezonans spektroskopisi (31P-MRS), adenosin trifosfat (ATP), adenosin difosfat (ADP), fosfokreatin ve yüksek enerjili inorganik fosfatların invazif olmayan ölçümünü sağlamaktadır.<sup>7</sup> Ayrıca yapılan bir başka çalışmada da kullanılan Fosfor-31 manyetik rezonans spektroskopisi (31P-MRS) ile mitokondriyal enerji metabolizmasında anormallikler bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmada otizmliler ergenlerin dorsal prefrontal korteksindeki beyin enerjisi ve fosfolipid metabolizması, sırasıyla fosfokreatin, ADP, ATP, inorganik fosfat ve fosfomonoesterlere, fosfodiesterlere bakılarak araştırılmıştır. Çalışmada, OSB'li grupta hem beyin enerjisi hem de fosfolipid metabolizması için anormal metabolit seviyeleri olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, bu metabolit seviyeleri aynı gruptaki dil ve zekâ testlerinden alınan puanlarla karşılaştırılmış, çalışmada otizmliler grupta düşük zekâ ve dil puanları ile anormal metabolit düzeyleri arasında kontrollere kıyasla pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir.<sup>1</sup>

Yapılan bu tür nöroradyolojik değerlendirmeler, OSB'den etkilenen çocuklarda sağlıklı kontrollere kıyasla beyindeki NAA, kreatin, fosfokreatin, kolin ve miyo-inositol seviyelerinde tutarlı düşüşler olduğunu göstermiştir. Bu metabolik markörlerin değişken seviyeleri OSB'li erişkinlerde farklı beyin bölgelerinde tanımlanmıştır. Ayrıca MRS verilerinin yorumlanmasının sınırlamaları olduğu ve incelenen deneklerin fenotiplerinde yöntem ve değişkenlik ile tutarsızlıklar nedeniyle karmaşık olabileceği belirtilmiştir. Bununla birlikte, bir bütün olarak, invazif olmayan görüntüleme elde edilen veriler otizmliler beyinde metabolik fonksiyon bozukluğu olduğunu göstermektedir.<sup>2,7-9</sup>

Beyin metabolik belirteci "N-asetil-aspartat" (NAA) için de kullanılan aynı teknikte benzer durumlar ortaya çıkmıştır. NAA önemli bir beyin metabolitidir ve mitokondriyal disfonksiyon için bir belirteçtir. Yalnızca nöronal mitokondri tarafından sentezlenir ve ana fonksiyonlarından biri enerji üretimine katkıda bulunmaktır. Yapılan bir

çalışmada, NAA konsantrasyonlarının davranışı etkilediği rapor edilmiştir. Otizmliler ve yetişkinleri içeren bir çalışmada, otizmliler çocukların beyininin beyaz ve gri maddelerinde önemli derecede düşük NAA seviyeleri bulunduğu rapor edilmiştir. Bu arada, çalışmada serebellumun gri maddesinde, anterior singulat korteks ve parietal korteks'te önemli ölçüde düşük NAA seviyeleri bildirilmiştir.<sup>1,10</sup>

Otizmliler çocukların sol talamusunda azalmış NAA, fosfokreatin ve kreatin seviyeleri bildirilmiştir. Fosfor kreatin ve kreatin, yüksek dalgalı enerji ihtiyacı olan dokularda özellikle önemli bir role sahip olan hücresel enerji metabolizması hakkında bilgi sağlamaktadır. Ayrıca, proton spektroskopisini kullanılan bir çalışmada, otizmliler çocukların ön beyaz maddede NAA'nın fosfokreatin (PCr) ve kreatin (Cr) oranının azaldığı rapor edilmiştir.<sup>1</sup>

#### Genetik Bağlantı ve Mitokondriyal DNA Anomalileri

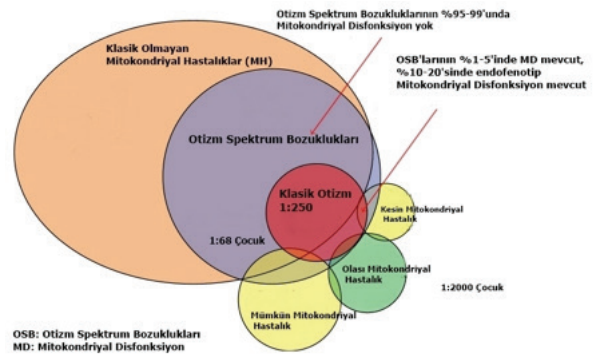
Her bir mitokondri, matriksindeki mitokondriyal genomun (mtDNA) çoklu kopyalarına sahiptir. mtDNA, ETS enzimlerinin 13 temel alt birimini (kompleksler I, III, IV ve V), 22 transfer RNA'larını (tRNA'lar) ve 2 tip ribozomal RNA'yı (rRNA) kodlamaktadır. Kalan ETS kompleks alt birimleri nükleer deoksiribonükleik asit (nDNA) tarafından kodlanır. Ayrıca mitokondri, çeşitli ETS'nde olmayan enzimleri, membran proteinleri ve homeostaz ile mitokondriyal fonksiyonun korunması için gerekli olan diğer moleküler bileşenleri içermektedir. Bu proteinler ve enzimler, nDNA tarafından da kodlanmaktadır. Bu nedenle, mtDNA veya nDNA'daki genetik mutasyonlar, mitokondriyal disfonksiyona neden olma potansiyeline sahiptirler. Amerika Birleşik Devletleri'nde doğan 2000 çocuktan 1'inin genetik tabanlı mitokondriyal bir hastalık geliştireceği tahmin edilmektedir. Bunların %15'i mtDNA'daki bir mutasyondan kaynaklanırken, %85'i DNA'daki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır.<sup>2,11</sup>

Mitokondriyal disfonksiyonun alzheimer ve kanser gibi birçok hastalıkta ortaya çıkmasından dolayı, mitokondri-

yal genetik ve epigenetik alanlarında da çalışmalar yapılmaktadır. Otizmliler bireylerde, solunum zinciri enzimlerinde mitokondriyal gen ekspresyonunun varyasyonunu araştırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan, 9 otizmliler ve 9 kontrol grubu birey ile yapılan çalışmada, mortem sonrası beyin dokusunda, serebellar ve oksipitalde genom çapında genotipleme ve DNA metilasyon dizilimi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, ETS kompleks I ve III'ü, ATP sentazı kodlayan genlerin regülasyonunda düşüş olduğu bildirilmiştir.<sup>1,12</sup>

Bir başka çalışmada ise mitokondriyal solunum zinciri komplekslerini kodlayan 84 gen üzerinde gen ekspresyon analizi çalı

unda solunum zincir enzimlerini kodlayan birkaç gende, spesifik olarak kompleks I'i kodlayan 11 gende, kompleks III ve IV'ü kodlayan 5 gende ve kompleks V'i kodlayan 7 gende gen ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar, otizmde mitokondriyal disfonksiyonun rolü olduğunu göstermektedir (Şekil 2).<sup>2,5</sup>



Şekil 2. Mitokondriyal disfonksiyon ve otizm ilişkisi<sup>2</sup>

mtDNA'daki bozukluklar, otizm ve mitokondriyal hastalığın bir arada olduğu çocuk bireylerde gösterilmiştir. mtDNA mutasyonlarının ve mitokondriyal hastalıkların birçoğu iyi bi-

linmekte ve ayrıntılı bir şekilde sınıflandırılmış olsa da, bazıları iyi anlaşılmamıştır ve henüz tanımlanmamıştır. Örneğin, mtDNA mutasyonları, hipotoni, epilepsi, otizm ve gelişimsel gecikmeden muzdarip çocuk kohortunda tanımlanmıştır. Bu hasta grubu önceden tanımlanmış bir mitokondriyal hastalık kategorisine alınamamasına rağmen, otistik özellikler göstermiş ve ~ %50 büyük ölçekli mtDNA delesyonları barındırmaktadır. Genel olarak, bu tür çalışmalarda sınırlandırılma olmaktadır. Bu nedenle, bu raporların birçoğu ile sadece mtDNA mutasyonu ve otizm arasındaki bir ilişki çıkarılabilmekle beraber, bazı çalışmalar mitokondriyal hastalığın otistik fenotipe fonksiyonel olarak katkıda bulunduğunu göstermektedir.<sup>2,3</sup>

Yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda otizmlili bireylerde mitokondriyal DNA kopya sayısına bakmak için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (q-PCR) tekniği kullanılmıştır. DNA kopya sayısı varyasyonu, DNA'nın yapısal çeşitlerinin bir şeklidir (ab) DNA'nın bir veya daha fazla bölümünün kopya sayısında normal varyasyonla sonuçlanmaktadır. Yapılan bir başka çalışmada ise, eksik ETS kompleksleri ve azalmış piruvat dehidrojenaz aktivitesi bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca, mitokondriyal solunum zinciri genlerinin kopya sayı (GKS) varyasyonları araştırılmış ve "GKS'lerin, insan genomundaki en yaygın yapısal varyasyon tipleri olduğu bildirilmiştir". Buna göre yapılan çalışma sonucunda, kompleks I ve III alt birimlerini kodlayan 3 solunum zinciri geninde artan gen kopya sayısının, OSB'li bireylerin lenfositlerinde ve periferik kan hücrelerinde mtDNA kopya sayısının önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir.<sup>2</sup>

ETS'nin ATP üretiminde hayati bir rolü olduğu için, birçok çalışma fonksiyon, gen ekspresyon düzeyleri ve aktivite seviyeleri için solunum zincir komplekslerini araştırmıştır. Ölüm sonrası beyin dokularındaki farklı alanlardaki (frontal, temporal, pariyetal ve oksipital korteks) ETS komplekslerinin seviyeleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, 4-10 yaş arası OSB grubundaki bireylerin frontal, temporal korteks ve beyincikteki solunum zincir

komplekslerinin seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. Yapılan daha ileri araştırmalarda, beyincikte ETS kompleks III ve V seviyelerinin azalmış olduğu, frontal korteksteki tüm solunum zincir kompleksleri seviyelerinde düşüş olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlar 14-39 yaşları arasındaki OSB grubunda bulunmadığından, otizmlili çocuklarda solunum zinciri komplekslerinde beyin bölgesine özgü gelişimsel değişiklikler olduğunu düşündürmektedir.<sup>1</sup>

Ölüm sonrası temporal lob beyin dokusunda, otizmlili 10 yaşın altındaki çocuklarda tüm ETS komplekslerinin (kompleks II hariç) azalmış seviyeleri ile yüksek oranda ETS bozukluğu gözlemlenmiştir. Çalışmada ayrıca kompleks I ve IV'de düşük enzim aktivitesi bulunmuştur.<sup>5</sup> 14 otizmlili bireyde ölüm sonrası ön korteks dokusunda solunum zinciri kompleksleri ve piruvat dehidrojenaz aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, OSB grubunda kompleks I ve V aktivitesinde azalma ile birlikte, piruvat dehidrojenaz aktivitesinde önemli ölçüde (%35 azalma) azalma olduğu bildirilmiştir.<sup>4</sup> Piruvat dehidrojenaz, piruvatın asetil-CoA'ya dönüşümünde rol oynayan kilit bir enzim olup, aktivitesinin azalması durumunda, TCA döngüsü için gerekli piruvat ve laktat miktarında azalma olacağından, oluşan ATP miktarı yetersiz olacaktır. Bu çalışmanın sonuçları, mitokondriyal disfonksiyonda, anormal piruvat ve laktat seviyelerinin, otizmle ilişkisini bildirmiş olan diğer çalışmaları da desteklemektedir. Mitokondriyal ETS komplekslerinin beyin dışındaki dokulardaki aktivitesini araştırmak için yapılan başka çalışmada ise otizmlili 10 çocukta ve 10 kontrol grubunda lenfositlerdeki mitokondriyal disfonksiyon araştırılmış, sonuçta, OSB grubunda bozulmuş ETZ kompleks I gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise OSB grubundaki bireylerde, piruvat dehidrojenaz aktivitesinin önemli ölçüde (%50) azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca otizmlili çocukların bukal bezlerinde mitokondriyal enzim eksikliğinin araştırıldığı bir çalışmada, OSB grubundaki bireylerin %42'sinde yaygın ETS anormallikleri bildirilmiştir.<sup>1,10</sup>

### Mitokondriyal Disfonksiyon ve Oksidatif Stres

Mitokondri, hücre içerisinde üretilen başlıca reaktif oksijen tür kaynağıdır. Mitokondri içinde oluşan başlıca serbest radikal olan süperoksit, kompleks I ve III tarafından oksidatif fosforilasyonun bir yan ürünü olarak üretilmektedir. Düşük reaktif oksijen tür seviyelerinin fizyolojik sinyalizasyon ve homeostaz için gerekli olduğu ve vasküler tonun düzenlenmesi, eritropoietin üretimi ve programlanmış hücre ölümü gibi süreçlerde kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. Bununla birlikte, patolojik olarak üretildiğinde, reaktif oksijen türlerinin, DNA'ya, hücrel proteinlere ve membran lipidlerine geri dönüşümsüz zarar verebilmektedir. Bu oksidatif stresin çeşitli nörodejeneratif hastalık durumlarında da ortaya çıktığı rapor edilmiştir.<sup>2</sup> Bir başka ifade ile reaktif oksijen türleri veya serbest radikaller, elektron taşıma zinciri olan oksidatif fosforilasyon bölgesinde oksijenin metabolizması sırasında üretilmektedir. Eşleşmemiş bir elektron içeren ve bu nedenle oldukça reaktif ve kararsız olan moleküllerdir. Kalsiyum homeostasisi için belirli serbest radikal seviyesi gerekli olsa da, serbest radikaller protein ve lipid gibi önemli makro moleküllere saldırarak, hücreye vermiş olduğu hasarlar sonunda, kanser ve alzheimer gibi çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Reaktif oksijen tür toksisitesini dengelemek ve sitoproteksiyon sağlamak için hücreler, glutatyon (GSH), SOD (Süperoksit Dismutaz), glutatyon peroksidaz, katalaz, askorbik asit, a-tokoferol ve  $\beta$ -karoten gibi çeşitli antioksidanlar içermektedir. Bunlara ek olarak, mitokondriyal matristeki manganez bağımlı süperoksit dismutaz (MnSOD) ve intermembran alanda bakır-çinko süperoksit dismutaz (CuZnSOD) gibi kendi antioksidan enzimlerini içermektedir. Mitokondriyal disfonksiyon, özellikle solunum zinciri komplekslerindeki eksiklikler, reaktif oksijen türü seviyesinin yükselmesine neden olmakta ve böylece reaktif oksijen türü üretim/antioksidan savunma dengesizliğine yol açarak oksidatif strese neden olabilmektedir. Bu nedenle, endojen antioksidanlar, oksidatif stres ve hücrel hasarı önlemek için hücrenin süperoksit oluşumu ve aerobik enerji üretimi arasında bir denge kurmasını sağlamak için önemlidir. Aşırı reaktif oksijen türlerinin olu-

şumu ve oksidan hasar, ETS aktivitesinin bozulmasından, antioksidan içerik ve fonksiyonundaki bozukluklardan veya bunların kombinasyonundan kaynaklanabilmektedir. Ayrıca serbest radikaller, solunum zincir bütünlüğünü değiştirebileceklerinden, bu durum daha fazla süperoksit üretimine yol açabilmektedir. Bu nedenle mitokondriyal disfonksiyonun oksidatif strese neden olabileceği rapor edilmiştir.<sup>11-14</sup>

Yapılan çalışmalarda, otizmlili bireylerde, redoks regülasyonunda oksidatif stres veya anormalliklerin göstergelerinde artış gözlemlendiği, otistik fenotipin ortaya çıkmasında reaktif oksijen türlerinin mekanik bir rolü olduğu fikrini desteklediğini göstermektedir. DNA, protein ve lipidlerde oksidatif hasarın arttığına dair bu kanıt, otistik bireylerden kan, idrar ve ölüm sonrası beyin örneklerinde tanımlanmıştır. Çalışmada, metilasyon kapasitesindeki azalma ve oksidatif stresin artmasının belirtileri olarak, otizmlili çocukların plazmasında, düşük S-adenosilmometiyonin-S-adenosilhomosistein oranları ve düşük glutatyon-oksidize edilmiş glutatyonun (GSH/GSSG) düşük redoks oranları gibi belirteçlerin bulunduğu rapor edilmiştir. İdrardaki biyobelirteçler ile ilgili olarak, otizmlili çocuklarda lipid peroksidasyon biyobelirteci olan 8-izoprostan-F2 $\alpha$  seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir. Bu sonuçları destekleyici çalışmalarda, otizmlili 26 çocukta idrarda izoprostan F2 $\alpha$ -VI, 2,3-dinor-tromboksan B2 (trombosit aktivasyonunun bir belirteci) ve 6-keto-prostaglandin F1 $\alpha$  (endotel aktivasyonunun bir belirteci) düzeylerinde artış olduğu rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada, otizmlili çocuklarda plazma malondialdehit (bir yağ asidi peroksidasyon belirteci) seviyesinde belirli bir artış olduğu ayrıca a-tokoferol ile GSH seviyelerindeki düşüşle ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Eritrosit SOD, eritrosit ve plazma glutatyon peroksidaz, serum transferrin ve serum seruloplazmin gibi diğer antioksidan enzimlerin seviyeleri de otizmde tanımlanmıştır. Çalışmalarda otizmlili çocuklarda antioksidanların düşük seviyelerinin dil becerisi kaybı ile aralarında bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir.<sup>2,3-11</sup>



Ölüm sonrası yapılan analizlerde, redoks homeostasisinden sorumlu enzimlerdeki anormalliklerin otistik beyin içindeki proteinlere, lipidlere ve DNA'da oksidatif hasar oluşturduğu tespit edilmiştir.<sup>2,4-11</sup> Bir çalışmada, azalmış MnSOD aktivitesi ve oksidatif olarak hasar almış DNA'nın bir belirteci olan 8-hidroksi-2 -deoksiguanozin artışı otistik deneklerin temporal lobun Brodmann bölgesinde tanımlanmıştır.<sup>5</sup> Otizmlili bireylerin beyin serebellumunda glutatyon peroksidad, glutatyon-S-transferaz ve glutamat sistein ligaz aktivitesinde azalma olduğu rapor edilmiştir.<sup>4</sup> Yapılan son çalışmalarda, otizmlili çocukların ölüm sonrası beyin dokularında mitokondriyal anormalliklerin ve oksidatif stresin birlikte ortaya çıktığı bildirilmiştir. ETS komplekslerinde beyin bölgesine özgü eksiklikler olduğu ayrıca, solunum zinciri kompleksi eksikliklerinin bulunduğu aynı beyin bölgelerinde reaktif oksijen türü seviyelerinin yüksek olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde, bir başka çalışmada ise, daha önce ETS kompleks eksikliklerinin gözlemlendiği aynı beyin bölgesi olan otizmlili grubun temporal korteksinde yüksek seviyelerde oksidatif stres biyobelirteçleri bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada, otizmlili çocuk grubunda reaktif oksijen türüne karşı savunma mekanizmalarında önemli rol oynayan antioksidan enzim süperoksit dismutaz 2'nin aktivitesinde önemli ölçüde bir azalma olduğu bildirilmiştir. Otizmlili çocuklarda kontrol grubuna kıyasla antioksidan hidrojen peroksit oranlarının arttığını bildirmişlerdir.<sup>1,5</sup>

Bir başka çalışmada ise otizmlili bireylerin serebellum, temporal lob ve Brodmann bölgesinde düşük GSH, GSSG ile GSH/GSSG oranlarında azalma olduğu rapor edilmiştir. Otizmlili hastaların beyninin farklı bölgelerinde, dil alanlarında, serebellumda, orbitofrontal korteks Wernicke bölgesinde, serebellar vermis, pons, Brodmann bölgesi ile beyincik serebellumunda, hipokampusunda ve geçici kortekste lipid peroksidasyonun ile protein oksidasyonun bir belirteci olan 3-nitrotirosin seviyelerinin artmış olduğu bildirilmiştir. Bu durum, otizmin proksidan bir durum ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Mitokondriyal disfonksiyon oksidatif strese neden olsa da, OSB'ye bağlı oksidan

hasarının etiyojisi ve azalmış anti-oksidan savunma sistemlerinin mekanizmaları belirsizliğini korumaktadır. Ayrıca, beyinde spesifik oksidatif stresin, otizmdeki semptomların ortaya çıkmasında önemli olup olmadığı ya da hastalık fenotipine katkıda bulunup bulunmadığı bilinmemektedir.<sup>1,2</sup>

### **İmmün Disfonksiyon, İnflamasyon ve Kalsiyum Homeostasi**

Beyindeki nöroinflamasyon, nöropatoloji ve nörodejenereyona neden olabilmektedir.<sup>14</sup> Otizm teşhisi konmuş 12 çocukta, konakçı hücre bağışıklık sistemi ile yapılan çalışmada, etkilenen çocuklardan elde edilen lenfositlerde fitohemaglutinin'e yanıtın azaldığı ve otizmde olumsuz savunma mekanizmalarının olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise, otizmlili hastalarda dolaşımdaki CD4+T hücrelerinde, doğal öldürücü hücre aktivitesinde ve Th1/Th2 yardımcı hücre oranlarında azalma ve ayrıca gastrointestinal sistem gibi dokularda T lenfositlerin anormal birikimi olduğu rapor edilmiştir.<sup>2,15</sup> Postmortem beyin dokusunda, plazmada ve hatta otizmlili hastalarının amniyotik sıvısında proinflamatuvar proton düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.<sup>16,17</sup> Çoklu postmortem çalışmalar ve pozitron emisyon tomografisi (PET) kullanılarak yapılan bir in vivo çalışmada, mikroglia ve astroglia aktivite-lerinde artış olduğu, otizmlili bireylerde beyin bölgelerinin çoğunda belirgin nöroinflamasyon olduğu bildirilmiştir.<sup>2,18</sup>

Hücre sinyalizasyonunda rol oynayan ikincil bir haberci olan kalsiyum, hücre metabolizma açısından önemli olup, homeostasi bozulduğunda çok çeşitli hücre süreçleri olumsuz yönde etkilemektedir. Mitokondrinin hücre içerisinde kalsiyum tutulumunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Mitokondride aşırı kalsiyum yüklenmesi, elektrokimyasal proton gradyanını etkileyerek, biyoenerjetik yetersizliğe ve nekrotik hücre ölümüne yol açabilmektedir. Bu nedenle, kalsiyum homeostasindeki bozukluklar; mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, oksidatif stres ve sitotoksisite ile sonuçlanabilmektedir. Ayrıca kalsiyum, nöronlarda sinyal gönderimi için önemli olup, kalsiyum

homeostasisindeki anormallikler, otizmde gözlenen oksidatif stres ve nöroinflamasyona neden olabilmektedir.<sup>19-21</sup>

#### **Otizm Tedavisinde Yapılan Mitokondriyal Çalışmalar**

Genellikle mitokondriyal hastalıkların tedavisi için kullanılan diyet takviyeleri, otizmliler için tedavi etmek için kullanılmıştır. Bu takviyeler arasında L-karnitin, koenzim Q10, ubiquinol, B vitamini içeren multivitaminler, askorbik asit, a-tokoferol ve N-asetil-L-sistein bulunmaktadır. Mitokondriyal zar boyunca yağ asidi taşınması için önemli olan temel bir besin maddesi olan L-karnitin tedavisinin, birkaç kontrollü çalışmada deneysel olarak otizm semptomlarını iyileştirdiği bildirilmiştir.<sup>22,23</sup>

Diğer yapılan çalışmalarda, N-asetil-L-sistein (glutatyonun öncüsü), koenzim Q10, ubikinol, askorbik asit, a-tokoferol, metilkobalamin ve karnosin gibi antioksidanlarla yapılan takviyeler ile otizmle ilişkili davranışsal semptomlarda iyileşme gözlemlendiği bildirilmiştir. Randomize olarak yapılan çift-kör plasebo kontrollü bir çalışmada, mineral takviyeleri ile birleştirilmiş çok vitaminli bir formülasyonun (çoklu mitokondriyal kofaktörler, vitaminler ve antioksidanlar içeren) otizmlilerde ve erişkinlerde genel davranış, hiperaktivite, öfke nöbetleri ve alıcı dili geliştirdiği rapor edilmiştir.<sup>22,23</sup> Folik asit, redoks metabolizması, metilasyon ve mitokondriyal homeostasi için önemli bir B grubu vitamindir.<sup>2,24</sup> Folat eksikliğinde folat reseptörü  $\alpha$  aktivitesi bozulduğundan, MSS (Merkezi Sinir Sistemi)'nde otoantikörler ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu meydana gelmekte ve otizm ile sonuçlanmaktadır.<sup>22</sup>

#### **Sonuç ve Tartışma**

Otizm, davranışlarla karakterize edilen bir psikiyatrik hastalık olarak sınıflandırılmaktadır. Ancak yapılan son çalışmalarda, otizmde sistemik fizyolojik anormalliklerin olduğuna dair kanıtlar bulunmuştur. Yapılan çalışmalara bakıldığında, mitokondriyal disfonksiyon ile otizmin davranışsal fenotipi arasındaki bağlantı fikrini desteklemektedir. Bu bağlantının çeşitli potansiyel yönlerini araştır-

mak için yapılan çalışmalarda farklı teknikler kullanılmış ve mitokondriyal gen ekspresyonunun azalma, elektron taşıma zinciri komplekslerinin aktivitesinde düşme ve mitokondriyal fonksiyonun periferik belirteçlerinin seviyelerinde belirgin azalma olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, kullanılan tekniklerin çeşitliliği ve tutarsızlığı, incelenen çalışmaları sınırlandırmış olup, bu sınırlamalar, mitokondriyal disfonksiyonun, otizmlilerde tüm bireylerin bir özelliği olup olmadığını, bunun otizmin bir nedeni mi yoksa bir etkisi mi olduğunu ve bu işlev bozukluklarının beyin belirli bölgeleri ile sınırlandırılmış olup olmadığını belirlemeyi zorlaştırmaktadır. Ayrıca bu bilgiler ışığında bile, mitokondriyal hastalığın otizmle genel olarak bağlantılı olabileceği ve beyin fonksiyonundaki anormalliklerin otizme neden olan yolda kritik olabileceğini gösteren farklı çalışma ve yöntemlerde tutarlı verilerde bulunmaktadır. Bu verilerin kontrolü için daha fazla çalışma yapılması gerekmekte, ancak yapılan birçok çalışmada çocuklardaki mitokondriyal anormallikler ile otizm arasında bir ilişki olduğu bildirilmiş, böylece nedensel bir rol için dolaylı destek sağlanmıştır.

Yapılan çalışmaların çoğunda otizmlilerde ölüm sonrası beyin dokusu incelenmiş, ancak bu çalışmalarda ki sonuçlar, in vivo şartlarda yapılacak olan çalışmaların sunacağı verilerin yerine mitokondriyal disfonksiyon ve otizm arasındaki potansiyel bir bağlantı olabileceği görüşünü yansıtmamaktadır. Ancak yakın kızılötesi spektroskopisi (NIRS) serebral oksijenasyon değişikliklerinin ölçümünü sağlamak için kullanılan kromofor konsantrasyon değişikliklerinin in vivo ölçümüne izin veren optik bir görüntüleme tekniğidir. NIRS görüntüleme tekniğindeki son gelişmeler, oksidatif fosforilasyonda rol oynayan mitokondriyal elektron taşıma zinciri enzimi sitokrom-c-oksidadaz kaynaklanan beyindeki değişikliklerin ölçülerek mitokondriyal fonksiyon bozukluklarının in vivo araştırılmasına izin vermektedir. Bu yeni NIRS sistemlerini otizmlilerde çocuklarda kullanılmak üzere uyarlamak, otizmde mitokondriyal fonksiyonun rolüne ilişkin faydalı bilgiler sağlayarak, mitokondriyal disfonksiyonun otizmin neden-

sel bir etkisi olup olmadığını ve otizmlide gelişiminin nasıl ortaya çıktığını keşfetme fırsatı sağlayabilecektir.

#### Kaynaklar

1. Siddiqui MF, Elwell C, and Johnson MH. Mitochondrial Dysfunction in Autism Spectrum Disorders. *Europe PMC* 2016; 6(5): 1000190.
2. Griffiths KK and Levy RJ. Evidence of Mitochondrial Dysfunction in Autism: Biochemical Links, Genetic-Based Associations, and Non-Energy-Related Mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017; 2017:1-12.
3. Legido A, Jethva R and Goldenthal MJ. Mitochondrial dysfunction in autism, *Seminars in Pediatric Neurology* 2013; 20(3): 163-175.
4. Gu F, Chauhan V and Chauhan A. Impaired synthesis and antioxidant defense of glutathione in the cerebellum of autistic subjects: alterations in the activities and protein expression of glutathione-related enzymes. *Free Radical Biology & Medicine* 2013; 65: 488-496.
5. Tang G, Gutierrez PR, Kuo SH, Akman HO, Rosoklija G, Tanji K, Dwork A, Schon EA, Dimauro S, Goldman J, Sulzer D. Mitochondrial abnormalities in temporal lobe of autistic brain. *Neurobiology of Disease* 2013; 54: 349-361.
6. Anitha A, Nakamura K, Thanseem I, Matsuzaki H, Miyachi T, Tsujii M, Iwata Y, Suzuki K, Sugiyama T, Mori N. Downregulation of the expression of mitochondrial electron transport complex genes in autism brains. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)* 2013; 23(3): 294-302.
7. Ford TC and Crewther DP. A comprehensive review of the (1)H-MRS metabolite Spectrum in autism Spectrum disorder. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 2016; 9:14.
8. Corrigan NM, Shaw DW, Estes AM, Richards TL, Munson J, Friedman SD, Dawson G, Artru AA, Dager SR. Atypical developmental patterns of brain chemistry in children with autism spectrum disorder. *JAMA Psychiatry* 2013; 70(9): 964-974.
9. Goji A, Ito H, Mori K, Harada M, Hisaoka S, Toda Y, Mori T, Abe Y, Miyazaki M, Kagami S. Assessment of anterior cingulate cortex (ACC) and left cerebellar metabolism in Asperger's syndrome with proton magnetic resonance spectroscopy (MRS). *PLoS One* 2017; 12(1): e0169288, 2017.
10. Goldenthal MJ, Damle S, Sheth S, Shah N, Melvin J, Jethva R, Hardison H, Marks H, Legido A. Mitochondrial enzyme dysfunction in autism spectrum disorders; a novel biomarker revealed from buccal swab analysis. *Biomarkers in Medicine* 2015; 9(10): 957-965.
11. Wallace DC and Chalkia D. Mitochondrial DNA genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2013; 5(11): a021220.
12. Devall M, Roubroeks J, Mill J, Weedon M, Lunnon K. Epigenetic regulation of mitochondrial function in neurodegenerative disease: New insights from advances in genomic technologies. *Neurosci Lett.* 2016; 625:47-55.
13. Rossignol DA and Frye RE. Evidence linking oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and inflammation in the brain of individuals with autism. *Frontiers in Physiology* 2014; 5: 150.
14. Wen SL, Zhang F, Fenn S. Decreased copy number of mitochondrial DNA: A potential diagnostic criterion for gastric cancer. *Oncol Lett.* 2013; 6:1098-1102.
15. Guo C, Sun L, Chen X and Zhang D. Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research* 2013; 8(21): 2003-2014.
16. Zorov DB, Juhaszova M and Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological Reviews* 2014; 94(3): 909-950.
17. Chen WW, Zhang X and Huang WJ. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (review). *Molecular Medicine Reports* 2016; 13(4): 3391-3396.
18. Bjorklund G, Saad K, Chirumbolo S, Kern JK, Geier DA, Geier MR, Urbina MA. Immune dysfunction and neuroinflammation in autism spectrum disorder. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 2016; 76(4): 257-268.
19. Abdallah MW, Larsen N, Grove J, Nørgaard-Pedersen B, Thorsen P, Mortensen EL, Hougaard DM. Amniotic fluid inflammatory cytokines: potential markers of immunologic dysfunction in autism spectrum disorders. *The World Journal of Biological Psychiatry* 2013; 14(7): 528-538.
20. Al-Ayadi LY and Mostafa GA. Elevated serum levels of macrophage-derived chemokine and thymus and activation-regulated chemokine in autistic children. *Journal of Neuroinflammation* 2013; 10(1): 72.
21. Suzuki K, Sugihara G, Ouchi Y, Nakamura K, Futatsubashi M, Takebayashi K, Yoshihara Y, Omata K, Matsumoto K, Tsuchiya KJ, Iwata Y, Tsujii M, Sugiyama T, Mori N. Microglial activation in young adults with autism spectrum disorder. *JAMA Psychiatry* 2013; 70(1): 49-58.
22. Brini M, Cali T, Ottolini D and Carafoli E. Intracellular calcium homeostasis and signaling. *Metal Ions in Life Sciences* 2013; 12: 119-168.
23. Ivannikov MV and Macleod GT. Mitochondrial free ca2(+) levels and their effects on energy metabolism in drosophila motor nerve terminals. *Biophysical Journal* 2013; 104(11): 2353-2361.
24. Lindberg D, Shan D, Ayers-Ringler J, Oliveros A, Benitez J, Prieto M, McCullumsmith R, Choi DS. Purinergic signaling and energy homeostasis in psychiatric disorders. *Current Molecular Medicine* 2015; 15(3): 275-295.