

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Speciální chemicko-biologické obory
Molekulární biologie a biochemie organismů



Veronika Niederlová

Role imunitního systému ve vzniku autismu
The role of immune system in autism

Bakalářská práce

Školitel: doc. MUDr. Jakub Otáhal, Ph.D.

Praha, 2015

Poděkování:

Tato práce by nemohla vzniknout bez motivace, kterou mi poskytují děti s autismem, s nimiž dlouhodobě pracuji. Užívám si s nimi nezapomenutelné společně strávené chvíle a děkuji jim, že se nevzdávají a vynakládají obrovské úsilí, aby porozuměly našemu světu. Děkuji rodině a svému příteli, kteří mě v práci s dětmi s autismem podporují a děkuji svému školiteli, doc. MUDr. Jakubu Otáhalovi, Ph.D., za možnost naplnit ze začátku nejisté představy o práci, která by mé zájmy spojila s mým studiem.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 1. 8. 2015

Veronika Niederlová

Abstrakt

Autismus je komplexní neurovývojové onemocnění, jehož etiologie nebyla dosud objasněna. Mnoho výzkumů ukazuje u pacientů s autismem změny ve funkci imunitního systému, které by mohly souviset se vznikem onemocnění. Práce shrnuje současné vědecké poznatky o roli imunitního systému ve vzniku autismu. V jednotlivých kapitolách je pojednáno o rodinné anamnéze autoimunitních onemocnění, specifických HLA alelách, nejdůležitějších autoprotilátkách a mateřských protilátkách, snížené aktivitě NK buněk a hladinách cytokinů u pacientů s autismem.

Klíčová slova

autismus, imunitní systém, autoimunitní onemocnění, autoprotilátky, mateřské protilátky, HLA systém

Abstract

Autism is a complex neurodevelopmental disorder with yet unknown etiology. The research point out abnormalities in the immune system of patients with autism, which could be related to the development of the disease. This thesis reviews current scientific knowledge about the role of the immune system in the development of autism. The leading chapters include family history of autoimmune diseases, specific HLA alleles, the most common autoantibodies and maternal antibodies, lowered NK cell activity and cytokine levels in patients with autism.

Key words

autism, immune system, autoimmune diseases, autoantibodies, maternal antibodies, HLA system

Obsah

Seznam zkratek	1
1. Úvod.....	2
2. Autismus	2
2. 1. Prevalence	3
2. 2. Etiologie	4
2. 2. 1. Vliv prostředí na vznik autismu	4
2. 2. 2. Neurologické změny u pacientů s autismem	4
2. 2. 3. Genetické změny u pacientů s autismem.....	5
2. 3. Diagnostika autismu.....	7
3. Rodinná anamnéza autoimunitních onemocnění	7
4. MHC u pacientů s PAS	8
4. 1. MHC I. třídy.....	10
4. 2. MHC II. třídy	11
4. 3. MHC III. třídy	13
4. 3. 1. C4B null allele.....	13
4. 3. 2. Další možná spojení MHCIII s autismem	14
5. Autoprotilátky u jedinců s autismem	14
5. 1. Autoprotilátky proti myelinovému bazickému proteinu (MBP).....	14
5. 2. Autoprotilátky proti folátovým receptorům (FRA).....	15
5. 3. Autoprotilátky proti proteinům 45 kDa a 62 kDa	16
5. 4. Autoprotilátky proti gangliosidu M ₁ (GM ₁).....	16
6. Mateřské autoprotilátky	17
6. 1. Přenos mateřských protilátek přes placentu	18
6. 2. Výzkum patogenity mateřských protilátek v mozku plodu	20
7. Snížená aktivita NK buněk	21
8. Cytokiny u PAS	22
8. 1. Prozánětlivé cytokiny.....	22
8. 2. Protizánětlivé cytokiny.....	25
9. Závěr	25
10. Literatura.....	26

Seznam zkratek

5-MTHF	5-methyltetrahydrofolát
ADHD	„ <i>attention deficit hyperactive disorder</i> “, porucha pozornosti s hyperaktivitou
CFD	„ <i>cerebral folate deficiency</i> “, syndrom cerebrální folátové deficience
CNS	centrální nervová soustava
CNV	„ <i>copy number variance</i> “, variace v počtu kopií
CRMP1	„ <i>collapsin response mediator protein 1</i> “
CRMP2	„ <i>collapsin response mediator protein 2</i> “
eIF4E	eukaryotní iniciační faktor 4E
FRA	„ <i>folate receptor autoantibodies</i> “, autoprotilátky proti folátovým receptorům
HE bariéra	hematoencefalická bariéra
HLA	„ <i>human leukocyte antigen</i> “, lidský leukocytární antigen
HSP	„ <i>heat shock proteins</i> “, proteiny teplotního šoku
IgG	imunoglobulin G
IL	interleukin
KIR	„ <i>killer cell Ig-like receptor</i> “
KO	„ <i>knock out</i> “
LDH	„ <i>lactate dehydrogenase</i> “, laktát dehydrogenáza
LTA	„ <i>lymphotoxin alpha</i> “, lymfotoxin alfa
LTB	„ <i>lymphotoxin beta</i> “, lymfotoxin beta
MAC	„ <i>mother of autistic children</i> “, matka dítěte s autismem
MBP	„ <i>myelin basic protein</i> “, myelinový bazický protein
MHC	„ <i>major histocompatibility complex</i> “, hlavní komplex tkáňové slučitelnosti
NCR	„ <i>natural cytotoxicity receptor</i> “, receptor přirozené cytotoxicity
NK	„ <i>natural killer</i> “, přirozený zabíječ
NKR	„ <i>NK cells receptor</i> “, receptor NK buněk
PAS	poruchy autistického spektra
STIP1	„ <i>stress-induced phosphoprotein 1</i> “, stresem indukovaný fosfoprotein 1
TCR	„ <i>T-cell receptor</i> “, T-buněčný receptor
TNF-α	„ <i>tumor necrosis factor α</i> “, faktor nádorové nekrózy alfa
TNF-β	„ <i>tumor necrosis factor β</i> “, faktor nádorové nekrózy beta
YBX1	„ <i>Y-box-binding protein 1</i> “, Y-box vazebný protein 1

1. Úvod

Slovo autismus nebylo dlouho společnosti příliš známé. Na pozadí informací o vzrůstajícím výskytu této poruchy jej ale skloňujeme stále častěji jak ve vědecké, tak ve společenské rovině. Výzkumu autismu se věnuje čím dál tím více vědeckých laboratoří po celém světě a zatím bohužel bez kýženého úspěchu – objasnění etiologie této poruchy.

Vědecká touha poznat původ nemoci, která komplikuje život stále více rodinám, vyústila během posledních dvaceti let v obrovské množství publikací zabývajících se autismem z různých úhlů pohledu. Ve velké většině se shodují v tom, že příčiny autismu jsou multifaktoriální, rozdělitelné na vlivy genetické a vlivy prostředí. O vlivu prostředí, tedy faktoru, který je zodpovědný za projev genetické výbavy, bylo napsáno mnoho a rozsah (často kontroverzních) teorií je úctyhodný. Bohužel, pro rodiče i veřejnost je v záplavě informací překrucovaných médií téměř nemožné dobrat se podložených a relevantních informací.

Od doby, kdy byla nastíněna souvislost vzniku autismu a rodinné anamnézy autoimunitních onemocnění, se pozornost mnohých vědců pátrajících po příčinách vzniku autismu ubírá směrem výzkumu specifit imunitního systému u jedinců s autismem. Cílem této práce je shrnout poznatky o roli imunitního systému ve vzniku autismu. Vzhledem k tomu, že v češtině se zatím tímto tématem nezabývá žádná odborná literatura, může práce sloužit i jako podklad ke vzniku dalších, úžeji zaměřených, prací.

2. Autismus

Autismus je komplexní neurovývojové onemocnění, které se projevuje obtížemi v komunikaci, problémy v oblasti navazování vztahů, neobvyklými zájmy a silnou citlivostí na změny v okolním prostředí a pravidelném denním režimu jedince. Pojmeme „autismus“ pro účely bakalářské práce rozumíme stavy běžně spadající pod diagnózu „Poruchy autistického spektra“ podle kritérií 5. vydání Diagnostického a statistického manuálu mentálních poruch (American Psychiatric Association, 2013). S autismem se velmi často pojí další závažné poruchy, jako například epilepsie, úzkostné poruchy, spánkové poruchy, ADHD, mentální retardace, syndrom fragilního X chromozomu, snížený svalový tonus a špatné motorické schopnosti, v množství případů také gastrointestinální dysfunkce (shrnuto v Mannion a Leader, 2013).

2. 1. Prevalence

Prevalence autismu je předmětem bouřlivých diskuzí jak mezi odborníky, tak mezi rodiči dětí a v médiích. Informace o tom, že za posledních dvacet let se několikanásobně zvýšil počet rodičů se dětmi s autismem až na prozatím konečné číslo 1 dítě s autismem na 68 narozených dětí (Obr. 1), jsou ale zavádějící. Zaprvé, tato data byla sesbírána pouze ve Spojených Státech, a nedají se tak aplikovat celosvětově (dokonce i autoři studie uvádějí, že čísla udávaná studiiemi v ostatních částech světa jsou výrazně nižší; Centre for Disease Control, 2014). Zadruhé, ve vědeckém světě převažuje názor, že pozorované zvýšení prevalence během posledních několika desetiletí je možné vysvětlit změnou diagnostických kritérií, zvýšeným povědomím odborníků o diagnóze a její častější aplikací nebo rozdíly v metodách používaných v různých studiích stanovujících výskyt autismu (Elsabbagh *et al.*, 2012; Hansen *et al.*, 2015; Wing a Potter, 2002). Tvzení, že zmíněné mechanismy nevysvětlují vzrůst prevalence dostatečně a obavy z růstu jsou opodstatněné (Hertz-Picciotto a Delwiche, 2009; Sullivan, 2005), se v odborné literatuře objevují spíše výjimečně. Jsou ale často interpretovány médii a tím pádem i považovány veřejností za bezpodmínečně platné.



Obrázek 1. Prevalence autismu od roku 2000. Graf zobrazuje zvyšující se prevalenci poruch autistického spektra od roku 2000 (1 dítě s autismem ze 166 dětí) do roku 2010 (1 dítě s autismem z 68 dětí). V grafu jsou využita data z amerického Centra pro kontrolu nemocí (CDC, Centre for Disease Control). Převzato z (Autism Speaks Inc., 2014)

Prevalence autismu byla zatím největší systematickou analýzou celosvětových dat stanovena v roce 2012 na 62 případů z 10 000 narozených dětí (Elsabbagh *et al.*, 2012). Porovnání dat z různých oblastí světa v téže studii nenaznačuje, že by byla prevalence ovlivněna geografickými, etnickými nebo socioekonomickými faktory. Autismus postihuje častěji

chlapce než dívky, a to v konkrétním poměru stanoveném nedávnou systematickou přehledovou studií na 4-5:1 (Lai *et al.*, 2015).

2. 2. Etiologie

Komplexní pátrání po příčinách vzniku autismu začalo téměř ihned po jeho prvním popsání v roce 1943 (Kanner, 1943). Po dobu několika desetiletí byl vznik autismu připisován jen a pouze vlivům výchovy, především nedostatečnému citovému vztahu matky k dítěti. Matky dětí s autismem byly v té době nazývány „matky ledničky“ a byly na základě freudiánského pohledu na vznik psychických poruch viněny z nemoci dítěte (D'Astous *et al.*, 2014).

Milníkem, který změnil vnímání vzniku autismu vědeckým světem, byly studie dvojčat s autismem, objevující se již od 2. poloviny 70. let. Sledování prokázalo v různých studiích u jednovaječných dvojčat konkordanci 60 – 90%, zatímco u dvojvaječných dvojčat byla zjištěna pouze konkordance 0-20% (Bailey *et al.*, 1995; Folstein a Rutter, 1977; Mason-Brothers *et al.*, 1985; Steffenburg *et al.*, 1989). Od té doby nebylo mezi vědci pochyby, že ve vzniku autismu hraje roli genetika, a tento fakt je mezi spoustami zavržených jedním z mála, který si udržel význam až dodnes.

2. 2. 1. Vliv prostředí na vznik autismu

Na konci 70. let se také objevily první studie ukazující na vliv prostředí vedoucí k projevu autistických symptomů – tehdy se hovořilo např. o nízké porodní váze a nízkém Apgar skóre u dětí s autismem, porodu koncem pánevním nebo přítomnosti smolky v plodové vodě (Finegan a Quarrington, 1979). Od 90. let se pak již téměř bezvýhradně mluví o multifaktoriálním vzniku autismu, který zahrnuje genetické vlivy a vlivy prostředí. Vzhledem k velkému počtu studií zabývajících se tímto tématem jsou k důkladnějšímu prostudování vhodné výsledky meta-analýz z let 2009 a 2011 (Gardener *et al.*, 2011, 2009), které shrnují dosavadní studie a jako signifikantní environmentální faktory uvádějí např. vysoký věk matky a otce dítěte, krvácení v průběhu těhotenství, nízkou porodní váhu, nízké Apgar skóre nebo hyperbilirubinemii.

2. 2. 2. Neurologické změny u pacientů s autismem

U jedinců s autismem byly pozorovány četné abnormality v neurologické stavbě. Velké množství pacientů s autismem, cca 20%, vykazuje tzv. makrocefalii, tedy nadprůměrně velký mozek. Makrocefalie není měřitelná při narození dětí, ale je již značná mezi 2-4 rokem věku (Courchesne, 2002; Fombonne *et al.*, 1999).

Dále bylo prokázáno, že v mozku autistických dětí je signifikantně menší množství Purkyňových buněk, přičemž nejvíce je tento jev patrný ve tkáních mozečku. Malé množství Purkyňových buněk bylo u osob s autismem prokázáno bez závislosti na pohlaví, věku, kognitivních schopnostech nebo subtypu diagnózy jedince (Bailey *et al.*, 1998; Duong *et al.*, 1986; Vargas *et al.*, 2005). Další studie také ukázaly, že Purkyňovy buňky jsou u jedinců s autismem menší než u kontrolní populace (Fatemi *et al.*, 2002).

Vargas *et al.* (2005) popsali u osob s autismem aktivaci mikroglíí a astroglíí, která může ukazovat na chronický imunopatologický stav v mozku pacientů s autismem.

Funkční zobrazování magnetickou rezonancí odhalilo, že pacienti s autismem vykazují změněnou aktivaci některých částí mozku účastnících se sociálních interakcí. Tuto skutečnost prokázalo již několik studií sledujících neurologickou aktivitu ve specifických částech mozku při stimulaci podněty spojenými s emocemi (např. sledování obrazů obličejů s různými výrazy; Ashwin *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2015; Philip *et al.*, 2012; Sato *et al.*, 2012).

2. 2. 3. Genetické změny u pacientů s autismem

Množství genomových studií u pacientů s autismem identifikovalo u jedinců s autismem některé mutace, především *de novo* copy number variance (CNV). Mezi nejvýznamnější CNV spojované se vznikem autismu patří mikrolece v 5p14.1 (Ma *et al.*, 2009) duplikace v 15q11-13 (Christian *et al.*, 2008; Miller *et al.*, 2009) nebo mikrolece a mikroduplikace v 16p11 (Weiss *et al.*, 2008), popsáno ale bylo ještě mnoho dalších genových abnormalit (Obr. 2). Genetické změny u pacientů s autismem ovšem vysvětlují příčinu vzniku onemocnění pouze v 10-20% případů a i ty nejčastější genetické abnormality jsou specifické pouze pro 1-2% pacientů (Abrahams a Geschwind, 2008).

Pro studium neurovývojových onemocnění jsou v poslední době stále častěji využívány genetické animální modely, které mohou pomoci při výzkumu klíčových drah účastnících se vzniku onemocnění (shrnuto v Nestler a Hyman, 2010). Ani autismus není v tomto ohledu výjimkou. V uplynulých letech byly fenotypální projevy podobné autismu zkoumány u myši a nehumánních primátů (shrnuto v Watson a Platt, 2012), výzkum klíčových proteinů ovšem probíhal i na rodu *Drosophila* (Banovic *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2012), hád'átku *Caenorhabditis elegans* (Calahorra a Ruiz-Rubio, 2011) a zebřičce *Danio rerio* (Stewart *et al.*, 2014).

Nejdůležitější ze skupin modelů jsou modely sledující deficity v sociálních interakcích, které se podobají deficitům pozorovaným u pacientů s autismem. Sociální interakce jsou nejčastěji vyhodnocovány prostřednictvím sledování chování dvou myších jedinců uzavřených

a mnohých druhů ptáků (Konopka a Roberts, 2015), a ukazuje, že problémy s ultrasonickou vokalizací mají např. myší modely se změnami nebo nulovými mutacemi v genech *Tph2* (Mosienko *et al.*, 2015), *Mecp2* (Ellegood *et al.*, 2015), *Fmr1* (Lai *et al.*, 2014) a *SRPX2* (Sia *et al.*, 2013).

Ačkoli spektrum modelů, na nichž je výzkum PAS prováděn, je velmi široké, doposud nebyl objeven žádný model, který by se alespoň blížil projevům autismu u člověka ve všech ohledech. Některé vlastnosti typické pro poruchy autistického spektra, např. sníženou schopnost empatie nebo neschopnost rozumět emocionální komunikaci se zatím nepodařilo (a vzhledem k jedinečnosti člověka v těchto oblastech možná ani nepodaří) na myších modelech vytvořit (Pasciuto *et al.*, 2015). Je proto nutné propojit poznatky z výzkumu myších modelů s výsledky výzkumu autismu v jiných oblastech, protože samotné modely pravděpodobně bohužel zatím nepomohou komplexní příčinu onemocnění vysvětlit.

2. 3. Diagnostika autismu

Vzhledem k tomu, že doposud neexistuje spolehlivý biologický marker, který by umožnil včasnou diagnostiku poruch autistického spektra, jsou děti s autismem diagnostikovány na základě projevů chování, které jsou většinou pozorovatelné již během prvního roku věku. Změny v chování, které jsou pro diagnózu „poruchy autistického spektra“ typické, zahrnují: obtíže v komunikaci, problémy v oblasti navazování vztahů, neobvyklé zájmy a silnou citlivost na změny v okolním prostředí a pravidelném denním režimu jedince (American Psychiatric Association, 2013).

Děti jsou většinou diagnostikovány do věku 36 měsíců, ovšem v některých případech se objevuje i tzv. autistická regrese, kdy se příznaky autismu objeví později, často po prodělaném traumatu (např. těžké onemocnění) a dojde ke ztrátě již osvojených kognitivních funkcí včetně regrese řečového vývoje až k úplné ztrátě řeči.

3. Rodinná anamnéza autoimunitních onemocnění

Spojitost vzniku autismu s rodinnou anamnézou autoimunitních onemocnění byla prvně nastíněna již v roce 1971 (Money *et al.*, 1971) na příkladu chlapce s dětským autismem, jehož oba dva starší bratři trpěli hypoparatyreózou, Addisonovou chorobou, moniliázou a jeden z nich diabetem mellitem 1. typu.

Studie publikované v následujících desetiletích některé předpoklady, které naznačil Money, potvrdily [souvislost autismu s diabetem mellitem 1. typu potvrdili (Atladóttir *et al.*,

2009; Comi *et al.*, 1999; Freeman *et al.*, 2005; Iafusco *et al.*, 2006)], některé vyvrátily [souvislost autismu s diabetem mellitem 1. typu vyvrací např. (Harjutsalo a Tuomilehto, 2006), souvislost Addisonovy choroby s autismem vyvrací např. (Comi *et al.*, 1999) a souvislost moniliázy či hypoparatyreózy a autismu již nebyla od roku 1970 publikována jiným vědeckým týmem]. Spektrum autoimunitních onemocnění souvisejících s autismem není ale samozřejmě tak úzké, jak ukazovala Moneyho kazuistika, naopak, souvislost byla ukázána i u dalších onemocnění, např. revmatoidní artritida, celiakie (Atladóttir *et al.*, 2009), ulcerózní kolitida (Mouridsen *et al.*, 2007), systémový lupus erythematoses a psoriáza (Keil *et al.*, 2010). Studií je ale velké množství a analýza jejich dosavadních výsledků dlouho chyběla.

V roce 2015 byla provedena metaanalýza studií zabývajících se souvislostí autismu s rodinnou anamnézou autoimunitních onemocnění. Pro metaanalýzu bylo vybráno (z více než 150 záznamů v databázích vědecké literatury) celkem 11 vyhovujících studií zahrnujících 3 kohortové studie, 6 studií případů a kontrol a 2 průřezové studie. Z výsledků metaanalýzy vyplynulo, že výskyt autoimunitního onemocnění v rodinné anamnéze je spojen s o 28% vyšším rizikem vzniku autismu. Hodnoceno bylo i riziko vzniku na základě přítomnosti konkrétních autoimunitních onemocnění v rodinné anamnéze s následujícími výsledky: v případě výskytu hypotyreózy je riziko o 64% vyšší, u lupénky o 59% vyšší, u revmatoidní artritidy o 51% vyšší a u diabetu mellitu 1. typu o 49% vyšší (Wu *et al.*, 2015).

4. MHC u pacientů s PAS

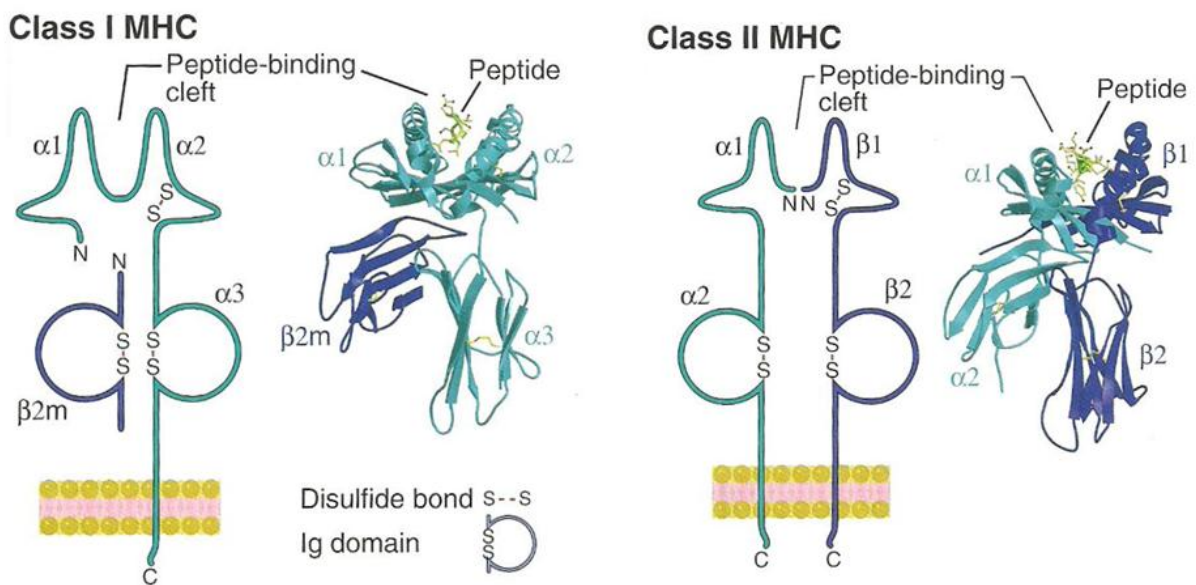
Molekuly MHC (z angličtiny – *major histocompatibility complex*) jsou membránové proteiny prezentující peptidické antigeny na antigen-prezentujících buňkách. Podle objevu MHC jako antigenů leukocytů byly lidské molekuly MHC nazvány HLA (*human leukocyte antigens*). Molekuly MHC jsou kódovány v lokusu MHC, který se u člověka nachází na krátkém raménku 6. chromozomu. Lokus MHC je tradičně dělen na dvě části, které kódují MHC molekuly I. a II. třídy – lokus MHC I. třídy a lokus MHC II. třídy, a na třetí část kódují jiné molekuly, která je většinou nazývána lokus MHC III. třídy (Obr. 3; Abbas *et al.*, 2012). Struktura MHC molekul I. a II. třídy je srovnána na obrázku (Obr. 4).

Geny kódované v lokusu MHC I. a II. třídy jsou značně polymorfní a u různých jedinců tak nacházíme různé HLA alely. Objev spojitosti HLA alel s autoimunitními onemocněními v 60. letech odstartoval kaskádu objevů různých konkrétních alel či haplotypů (sestav alel v daném lokusu) u autoimunitních onemocnění (shrnuto v Thorsby, 1997). Přestože přítomnost

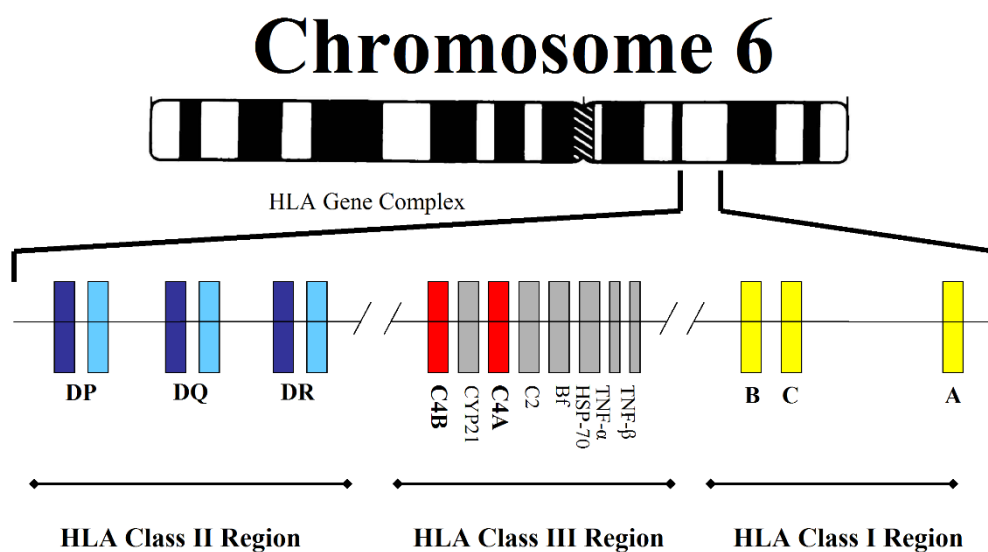
určité alely HLA, která je výzkumem určena jako riziková, ještě neznamená automaticky rozvoj onemocnění, značí většinou přinejmenším jeho zvýšené riziko.

Autismus byl s HLA alelami propojen cca o 20 let později, když upoutalo pozornost vědců zjištění, že u dětí s autismem je výrazně větší pravděpodobnost dědění HLA antigenů rodičů. Studie popisující, že 75% dětí s autismem dědí alespoň jeden rodičovský HLA antigen, oproti 22% u kontrolního vzorku (Stubbs *et al.*, 1985), odstartovala širší výzkum souvislosti HLA alel s autismem.

Ačkoli se z poměrně nejednotných výsledků studií popsaných níže nezdá, že by byly konkrétní HLA alely samy o sobě vnesly zásadní porozumění do komplikovaného procesu vzniku autismu, do budoucna by vyšetřování konkrétních HLA alel mohlo sloužit jako prenatální marker umožňující případnou včasnou lékařskou intervenci.



Obrázek 3. Struktura MHC molekul I. a II. třídy. Schematické (vlevo) a strukturální (vpravo) zobrazení hlavních domén MHC molekul ukazuje na podobnost mezi dvěma typy molekul i na základní odlišnosti. Zatímco molekuly I. třídy jsou tvořeny řetězcem α , který je nekovalentně vázán na $\beta 2m$ mikroglobulin ($\beta 2m$), molekuly II. třídy jsou tvořeny řetězci α a β . Oba typy molekul tvoří „žlábek“, do kterého jsou vázány peptidy. Převzato a upraveno podle (Abbas *et al.*, 2012).



Obrázek 4. Geny lokusu MHC. Schématické zobrazení lidského MHC lokusu (HLA komplexu) na krátkém raménku 6. chromozomu. Zobrazeny jsou hlavní geny kódující molekuly podílející se na imunitních reakcích. Převzato z (Westover *et al.*, 2011).

4. 1. MHC I. třídy

Molekuly MHC I. třídy jsou přítomné na všech jaderných buňkách. Skládají se z řetězce α (kódován v lokusu MHC), který tvoří tři domény a je nekovalentně vázán na protein β_2 -mikroglobulin (je kódován mimo lokus MHC), jak je ukázáno i na obr. 3. Domény α_1 a α_2 tvoří žlábek, ve kterém jsou vystavovány 8-11 aminokyselin dlouhé peptidy - fragmenty proteinů pocházejících z jádra nebo z cytosolu. Peptid spolu s některými částmi žlábků potom reaguje s T-buněčným receptorem (TCR) $CD8^+$ buněk (Abbas *et al.*, 2012). Již poměrně dlouho je znám fakt, že MHC molekuly I. třídy hrají roli nejen v imunitních reakcích, ale také ve vývoji CNS (Corriveau *et al.*, 1998).

Molekuly MHC I. třídy jsou kódovány v lokusu MHC I. třídy. V tomto lokusu se nacházejí geny HLA-A, HLA-B a HLA-C (Abbas *et al.*, 2012), přičemž vysoký polymorfní charakter této oblasti dokazuje fakt, že HLA-B gen byl před více než deseti lety označen jako nejvíce polymorfní gen v lidském organismu (Mungall *et al.*, 2003).

HLA-A2 alela se podle provedené studie (Torres *et al.*, 2006) vyskytuje u pacientů s autismem v 39%, zatímco u kontrolní populace pouze v 28 %. U alely HLA-B nebylo žádné signifikantní zvýšení ani snížení četnosti u pacientů s autismem oproti kontrolám pozorováno. Stejná studie také prokázala, že výskyt HLA-A2-B44 a HLA-A2-B51 haplotypů je u jedinců

s autismem dvakrát častější než u kontrolní populace. Zvláště identifikace haplotypu obsahujícího alelu B44 je důležitá, neboť tuto alelu obsahují i další haplotypy popsané u jedinců s PAS (popsáno blíže v podkapitole 4.2.). Spojení HLA-A2 alely s autismem potvrzuje i jedna z nejnovějších studií (Al-Hakbany *et al.*, 2014) a tvrdí zároveň, že zvýšená četnost se u jedinců s autismem vyskytuje rovněž i u alel HLA-A*01 a HLA-B*07. Spiroski (2015) je zatím jediným autorem, který popisuje spojení autismu s konkrétní HLA-C alelou, a to s alelou HLA-C*03.

4. 2. MHC II. třídy

Molekuly II. třídy jsou přítomny na užším spektru buněk omezeném pouze na dendritické buňky, makrofágy, B lymfocyty, epiteliální buňky v thymu a endoteliální buňky. Na rozdíl od molekul MHC I. třídy jsou tvořeny α a β řetězcem (Obr. 3). Žlábek je tvořený α_1 a β_1 doménami a může vázat peptid o délce 10 – 30 aminokyselin. Doména β_2 obsahuje vazebné místo pro TCR CD4⁺ buněk (Abbas *et al.*, 2012).

Také lokus MHC II. třídy je vysoce polymorfní a nacházejí se v něm geny HLA-DP, HLA-DQ a HLA-DR (Obr. 4).

Výsledky pocházející z výzkumu MHC lokusu II. třídy jsou mnohem více kontroverzní než ty popsané u MHC I. třídy. Největší debaty se ve vědeckém světě vedou ohledně spojení alely HLA-DR4 s autismem, které popsaly některé studie (Johnson *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2002; Warren *et al.*, 1996). Alela HLA-DR4 byla již dříve popsána jako marker autoimunitních onemocnění, např. revmatoidní artritidy (Wordsworth *et al.*, 1989), diabetu mellitu 1. typu a autoimunitní tyreoiditidy (Levin *et al.*, 2004), a tak se zdálo, že její zvýšená četnost může být důležitá i u autismu. Některé studie ale tento popisovaný zvýšený výskyt nepotvrdily (Al-Hakbany *et al.*, 2014; Guerini *et al.*, 2006; Mostafa *et al.*, 2013; Rogers *et al.*, 1999).

Ostatní alely byly spojovány s autismem spíše vzácně a jednotlivé vědecké týmy se v jejich identifikaci příliš neshodují. Vzhledem k velkému množství studií publikujících nejednotné výsledky ohledně spojení alel MHC II. třídy s autismem jsou tyto výsledky shrnuty do tabulky (Tab. 1).

Zvláštní skutečností je, že se přítomnost některých alel pravděpodobně může proti vzniku autismu chránit. Naznačují tomu výzkumy, které prokázaly snížený výskyt alel HLA-DR13 a HLA-DR14 u pacientů s autismem (Torres *et al.*, 2002). V nejnovějších studiích označili Al-Hakbany *et al.* (2014) jako protektivní alely DQB1*0202, DQB1*0302 a DQB1*0501 a Mostafa *et al.* (2013) alelu DRB1*03.

Studie sourozeneckých dvojic zahrnující 40 sardinských dětí a dalších 95 jejich rodinných příslušníků nenalezla žádné signifikantní spojení konkrétní HLA alely s autismem. Je tedy nejvýznamnější opONENTSKOU studií, ovšem vzhledem k použité metodologii nevylučují ani sami autoři možnost existence slabších propojení některých alel se vznikem autismu (Rogers *et al.*, 1999).

Tabulka 1. Kontroverzní výsledky studií prošetřujících spojení HLA alel II. třídy se vznikem autismu. V tabulce jsou uvedeny nejdůležitější studie sledující výskyt konkrétních HLA alel u pacientů s autismem. V prvním sloupci je uveden tým, který provedl studii, v druhém sloupci jsou postupně uvedené výsledky (+ linked značí pozitivní spojení, not linked značí, že spojení alely s autismem nebylo nalezeno, a – linked značí negativní spojení. V třetím a čtvrtém sloupci jsou uvedeny studie podporující, resp. vyvracející tyto výsledky.

STUDIE	VÝSLEDKY PUBLIKOVANÉ VE STUDII	STUDIE PODPORUJÍCÍ TYTO VÝSLEDKY	STUDIE V KONFLIKTU S TĚMITO VÝSLEDKY
Al-Hakbany <i>et al.</i> , 2011	DRB1*1104 + linked DRB1*04 not linked DRB1*03 DQB1*0202 - linked DQB1*0302 DQB1*0501	Mostafa and Al-Ayadhi, 2013	Rogers <i>et al.</i> , 1999 Guerini <i>et al.</i> , 2006 Torres <i>et al.</i> , 2002
Spiroski, 2015	DRB1*01 + linked	žádné	Guerini <i>et al.</i> , 2006 Rogers <i>et al.</i> , 1999
Mostafa and Al-Ayadhi, 2013	DRB1*11 + linked DRB1*04 not linked DRB1*03 - linked	Al-Hakbany <i>et al.</i> , 2014	Guerini <i>et al.</i> , 2006 Rogers <i>et al.</i> , 1999
Torres <i>et al.</i> , 2002	DRB1*04 + linked DRB1*13 - linked DRB1*14	Lee <i>et al.</i> , 2006 Warren <i>et al.</i> , 1996	Mostafa and Al-Ayadhi, 2013 Al-Hakbany <i>et al.</i> , 2014 Guerini <i>et al.</i> , 2006 Rogers <i>et al.</i> , 1999
Guerini <i>et al.</i> , 2006	žádné spojení konkrétních HLA alel se vznikem autismu	Rogers <i>et al.</i> , 1999	Al-Hakbany <i>et al.</i> , 2014 Spiroski, 2015 Mostafa and Al-Ayadhi, 2013 Torres <i>et al.</i> , 2002 Warren <i>et al.</i> , 1996 Lee <i>et al.</i> , 2006
Warren <i>et al.</i> , 1996	DRB1*04 + linked	Lee <i>et al.</i> , 2006 Torres <i>et al.</i> , 2002	Mostafa and Al-Ayadhi, 2013 Al-Hakbany <i>et al.</i> , 2014 Guerini <i>et al.</i> , 2006 Rogers <i>et al.</i> , 1999
Rogers <i>et al.</i> , 1999	žádné spojení konkrétních HLA alel se vznikem autismu*	Guerini <i>et al.</i> , 2006	Al-Hakbany <i>et al.</i> , 2014 Spiroski, 2015 Mostafa and Al-Ayadhi, 2013 Torres <i>et al.</i> , 2002 Warren <i>et al.</i> , 1996 Lee <i>et al.</i> , 2006
Lee <i>et al.</i> , 2006	DRB1*0401 + linked DRB1*0404 + linked	Warren <i>et al.</i> , 1996	Mostafa and Al-Ayadhi, 2013 Al-Hakbany <i>et al.</i> , 2014 Guerini <i>et al.</i> , 2006 Rogers <i>et al.</i> , 1999

* vzhledem k použité metodologii autoři nevylučují možnost existence slabých interakcí

Lee *et al.* (2006) přinesli zajímavou hypotézu ve vysvětlení kontroverzních výsledků studií HLA regionu u různých vědeckých týmů. Ve své studii sledovali výskyt DRB1*04 alely jednak u pacientů s autismem a matek pouze z východní části Tennessee, jednak u pacientů a matek z různých míst ve Spojených Státech a oba výsledky porovnávali se stejným kontrolním vzorkem (jedinci z celých Spojených Států). Zatímco u jedinců z Tennessee se ukázalo propojení alely DRB1*04 se vznikem autismu, u jedinců z celých Spojených Států nikoli. Tento fakt naznačuje, že v různých regionech mohou být četnosti HLA alel různé a tím pádem se studie zjišťující četnost alel u pacientů s autismem nemohou v různých regionech shodovat.

Další hypotézou, která by mohla vysvětlit neshody ve výsledcích studií, je spojitost vzniku autismu nikoli s konkrétní HLA alelou, nýbrž s konkrétním haplotypem. Jako první popsal možnost souvislosti autismu s konkrétním haplotypem Warren *et al.* (1992), a to u haplotypu B44-SC30-DR4. Tento haplotyp obsahuje jak DR4 alelu, jejíž možný význam ve vzniku autismu byl popsán výše, tak i C4B nulovou alelu, jejíž spojení s autismem popisuje vícero vědeckých týmů (podrobněji popsáno v podkapitole 4. 3. 1.). Hypotézu podporují i některé další studie (Guerini *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2006; Warren *et al.*, 1996).

4. 3. MHC III. třídy

V lokusu MHC III. třídy nejsou kódovány molekuly MHC, nýbrž jiné molekuly spojené s imunitním systémem, například složky komplementu (konkrétně C2 a C4), cytokiny (TNF- α , TNF- β , LTA, LTB) nebo HSP (proteiny teplotního šoku). I některé geny v tomto lokusu jsou propojené s autoimunitními onemocněními, např. revmatoidní artritidou nebo systémovým lupus erythematoses (Horton *et al.*, 2004).

4. 3. 1. C4B nulová alela

V mnoha autoimunitních onemocněních se projevuje defekt v tvorbě C4 složky komplementu vznikající v případě, že je přítomna nulová C4A nebo C4B alela (C4AQ0 nebo C4BQ0; Hauptmann *et al.*, 1988).

Warren *et al.* (1991) publikovali již začátkem 90. let studii, která upozorňuje na prokazatelně vyšší četnost nulové alely C4B u pacientů s autismem a u jejich matek. Přestože studie byla založena na poměrně malém vzorku populace, její výsledky byly potvrzeny i dalšími vědeckými týmy (Corbett *et al.*, 2006; Mostafa a Shehab, 2010; Odell *et al.*, 2005).

4. 3. 2. Další možná spojení MHCIII s autismem

Přestože doposud nebyly provedeny žádné studie, které by testovaly možné spojení autismu s geny kódujícími TNF- α , TNF- β , nález zvýšeného výskytu TNF- α v mozkomíšním moku, krvi i mozkové tkáni pacientů s autismem (Chez *et al.*, 2007; Vargas *et al.*, 2005) naznačuje možné změny i v těchto genech. Je tedy žádoucí další výzkum v tomto směru, obzvláště proto, že tyto nové studie se ve výsledcích liší od studie předchozí (Singh, 1996), která zvýšený výskyt TNF- α u pacientů s autismem neprokázala (viz též podkapitola 8. 1.).

U dalších genů třídy III. nejsou doposud žádné objevy vedoucí k možnému spojení se vznikem autismu, a tak není ani důvod provádět v blízké budoucnosti jejich výzkum.

5. Autoprotilátky u jedinců s autismem

Přítomnost autoprotilátek v krevním séru je jedním z hlavních znaků autoimunitních onemocnění. Sama o sobě však ještě neznačí závažný patologický stav – naopak, autoprotilátky jsou v určité míře přirozenou součástí krevního séra zdravých jedinců. U autoprotilátek, které jsou níže uvedeny jako významné u pacientů s autismem, ovšem byly naměřeny hodnoty výrazně vyšší než u běžné populace.

Žádná ze studií uvedených níže však neshledává zvýšenou hladinu autoprotilátek u všech sledovaných jedinců, a tak lze předpokládat, že imunitní reakce vedoucí ke vzniku autismu je hlavní příčinou pouze u určité, zatím blíže nespecifikované, části pacientů s autismem.

5. 1. Autoprotilátky proti myelinovému bazickému proteinu (MBP)

Prvními popsány autoprotilátkami u pacientů s autismem byly autoprotilátky proti myelinovému bazickému proteinu (MBP; Singh *et al.*, 1993 cit. dle Wills *et al.*, 2007). MBP je druhým nejvýznamnějším proteinem myelinu v CNS, tvoří 30% jeho hmotnosti. Je zodpovědný za udržování struktury a tvaru myelinu a podle některých výzkumů hraje také určitou roli v buněčné signalizaci (Boggs, 2006). Zvýšená hladina autoprotilátek proti MBP byla zjištěna u pacientů s roztroušenou sklerózou – autoimunitním onemocněním způsobeným nedostatečnou myelinizací buněk CNS. Výzkumy potvrdily, že se anti-MBP autoprotilátky významným způsobem podílí na patologii tohoto onemocnění (Hedegaard *et al.*, 2009), což podporuje hypotézu, že by mohly hrát roli i ve vzniku dalších autoimunitních onemocnění včetně autismu.

Studie prokazující, že u pacientů s autismem je pozorovatelná zvýšená hladina anti-MBP autoprotilátek (Connolly *et al.*, 2006; Gupta *et al.*, 1996 cit. dle Gupta, 2000; Mostafa a Al-

Ayadhi, 2011a; Vojdani *et al.*, 2002), potvrdily Singhův objev z roku 1993, přestože jedna studie hovořila i o opaku (Silva *et al.*, 2004).

V současné době se výzkumu zvýšené hladiny anti-MBP autoprotilátek věnují Mostafa a Al-Ayadhi, kteří ve všech studiích od roku 2010 potvrzují zvýšené hladiny těchto protilátek u osob s autismem. Zároveň objevili, že hladina anti-MBP autoprotilátek je vyšší zaprvé u autistických jedinců s přítomností alergických reakcí než u jedinců bez nich (Mostafa a Al-Ayadhi, 2013) a zadruhé u autistických jedinců se zvýšenou hladinou rtuti v krvi (Al-Ayadhi a Mostafa, 2015).

5. 2. Autoprotilátky proti folátovým receptorům (FRA)

V roce 2004 byl popsán nový neurometabolický syndrom nazvaný deficiencie cerebrálního folátu (CFD). Tento syndrom je charakteristický sníženou hladinou 5-methyltetrahydrofolátu (5-MTHF) v mozkomíšním moku, která signalizuje změny v metabolismu folátu v CNS, zatímco metabolismus v perifériích probíhá beze změn. CFD byl popsán u značného množství pacientů s autismem (Ramaekers a Blau, 2004).

Jednou z prokázaných příčin CFD je přítomnost autoprotilátek proti folátovým receptorům (FRA), které blokují přenos folátů z krevní plazmy do mozkomíšního moku. Přítomnost FRA byla u jedinců s autismem pozorována již v několika studiích (Frye *et al.*, 2013; Ramaekers *et al.*, 2013, 2007) a to nikoli pouze u pacientů, jimž byl zároveň s autismem diagnostikován CFD.

CFD je jedním z mála neurovývojových syndromů, který lze léčit pouhým perorálním podáním nedostatkového metabolitu – v tomto případě kyseliny listové nebo jejích derivátů. Efekt léčby byl potvrzen již několika studiemi (Frye *et al.*, 2013; Moretti *et al.*, 2005; Ramaekers *et al.*, 2007, 2005; Ramaekers a Blau, 2004) a obzvláště u pediatrických pacientů, u nichž byla terapie zahájena do 4. roku života, se podařilo nečekané – byli vyléčeni od všech příznaků autismu. Ze skvělých výsledků léčby může ovšem i do budoucna těžit jen skupina pacientů s autismem, u kterých jsou pozorovatelné zvýšené hladiny FRA. Je tedy do budoucna žádoucí, aby bylo u dětí s autismem zvaženo provedení stanovení 5-MTHF (případně přímá stanovení FRA) a v případě jeho významného snížení (resp. zvýšení) byla zahájena odpovídající léčba.

5. 3. Autoprotilátky proti proteinům 45 kDa a 62 kDa

Jak bylo uvedeno, přítomnost autoprotilátek proti mozkové tkáni byla v historii vyšetřována již vícekrát, ovšem objevily se studie, které nedovedly identifikovat konkrétní protein, se kterým protilátky reagují (Rossi *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2004). Wills *et al.* (2009) provedli studii, která ukázala, že 21% z testovaných vzorků pacientů s autismem sdílí protilátky proti specifickému cerebrálnímu proteinu o velikosti 52 kDa, které jsou přítomné pouze u 1% kontrolních vzorků. V novější studii (Goines *et al.*, 2011) opravil stejný vědecký tým při použití jiné metodologie výsledky následovně: existují dva cerebrální proteiny o velikostech 45 kDa a 62 kDa, proti nimž mají pacienti s autismem protilátky. Zatímco přítomnost protilátek proti 45 kDa proteinu je specifická pro jedince s diagnózou autismu, přítomnost 62 kDa proteinu byla pozorována i u jedinců s širšími diagnózami „poruchy autistického spektra“ a „pervazivní vývojové poruchy“. Proteinem o velikosti 52 kDa pozorovaným v dřívější studii byl podle závěrů týmu ve skutečnosti protein 45 kDa (Goines *et al.*, 2011).

Souvislost protilátek proti 45 kDa a 62 kDa proteinům s autistickými projevy potvrdila i studie srovnávající přítomnost těchto protilátek u dětí s autismem a jejich zdravých sourozenců (Piras *et al.*, 2014). Přítomnost protilátek se ale nepotvrdila při pokusu o zopakování studie na jiném populačním vzorku – konkrétně u dětí ze Španělska, zatímco původní vzorek pocházel z Kalifornie (Rossi *et al.*, 2013).

Přítomnost těchto specifických protilátek k mozkové tkáni má pravděpodobně souvislost i s neurologickými abnormalitami pozorovanými u dětí s autismem, především makrocefalií (Sacco *et al.*, 2010). Je tedy jisté, že další výzkumy těchto autoprotilátek budou následovat.

5. 4. Autoprotilátky proti gangliosidu M₁ (GM₁)

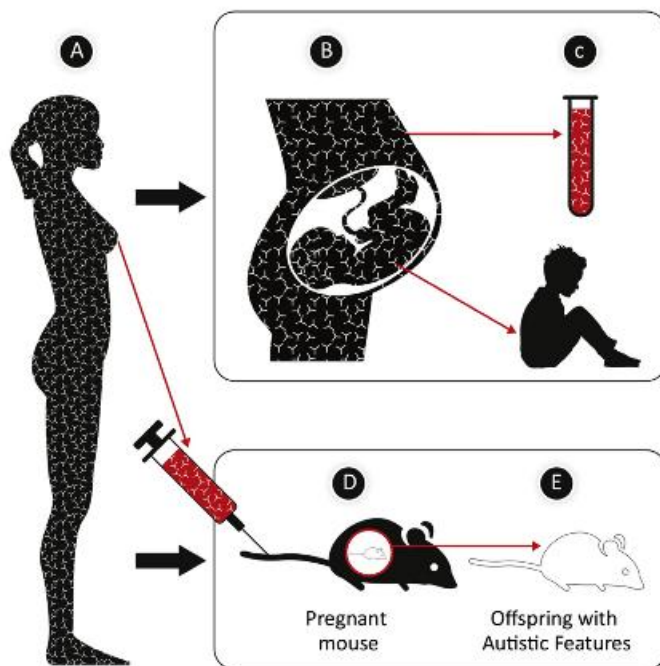
Gangliosidy můžeme chemicky popsat jako glykosfingolipidy, které obsahují zbytky kyseliny sialové v různých množstvích, v případě GM₁ se jedná o jeden zbytek kyseliny sialové. Gangliosidy jsou ukotvené ve vnější vrstvě plazmatické membrány buněk všech obratlovců (nejhojnější jsou v nervové soustavě) a jejich funkce je spojena s neurogenézí, synaptogenézí, synaptickým přenosem a buněčnou proliferací (shrnuto v Kolter, 2012). Autoprotilátky proti GM₁ hrají významnou roli v neuropatologii některých autoimunitních onemocnění, například Guillain-Barrého syndromu (Kusunoki a Kaida, 2011).

U pacientů s autismem pozorovali zvýšenou hladinu anti-GM₁ autoprotilátek Mostafa a Al-Ayadhi (2011b; 2010), ovšem tyto výsledky záhy zpochybnili Moeller *et al.* (2013), a tak je velmi žádoucí, aby se další vědecké týmy pokusily studie zopakovat.

Kromě výše detailněji popsaných autoprotilátek byly u pacientů s autismem pozorovány i autoprotilátky proti neuron-axon filamentárnímu proteinu (Fabry *et al.*, 1994; Singh *et al.*, 1997) a gliálnímu acidickému filamentárnímu proteinu (Singh *et al.*, 1997), jejichž výsledky ale nebyly potvrzeny novějšími studiemi, a dále autoprotilátky proti buněčnému jádru (Mostafa a Kitchener, 2009). Tato studie ale ještě nebyla žádným vědeckým týmem zopakována.

6. Mateřské autoprotilátky

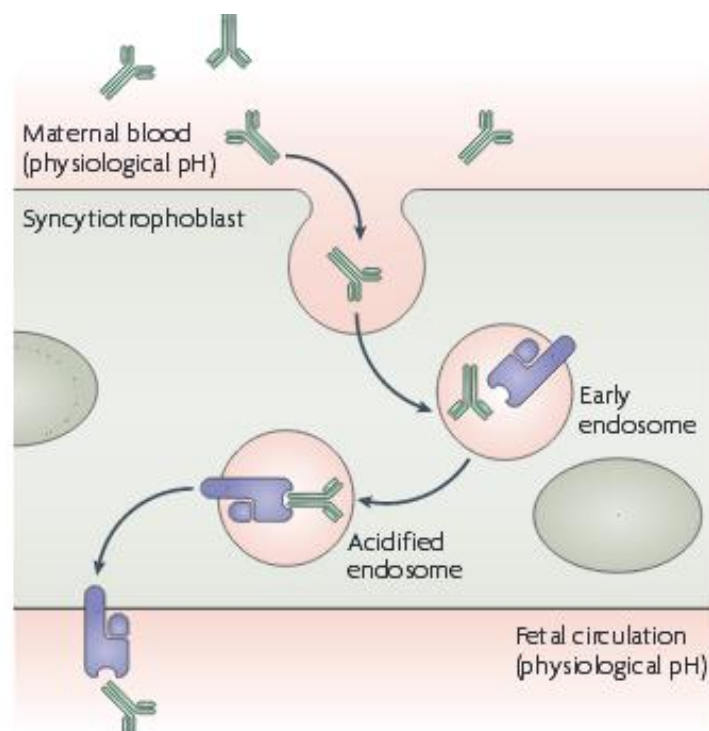
Kromě studií zaměřených na autoprotilátky u dětí s autismem existuje také výzkumná linie zabývající se mateřskými protilátkami. Jak bude konkrétněji uvedeno dále, ukazuje se, že přítomnost některých protilátek je specifická pro krevní sérum matek dětí s autismem a že pokud je toto sérum vpraveno do březích myši či opic, potomci vykazují některé znaky typické pro poruchy autistického spektra (Obr. 5). Přestože výsledky studií jsou značně nejednotné, ukazují, že autoimunitní mechanismy hrají pravděpodobně důležitou roli v patogenezi autismu u určité, zatím nespecifikované, podskupiny jedinců.



Obrázek 5. Projev protilátek matek dětí s autismem u myších modelů. A – Sérum matek dětí s autismem obsahuje specifické protilátky, které nenacházíme u matek zdravých dětí. B – Tyto protilátky prochází skrz placentu do krevního oběhu plodu. C – Odebereme-li sérum matek dětí s autismem a (D.) aplikujeme-li jej do těla březí myši, (E.) potomci této myši budou vykazovat autistické projevy. Převzato z (Gesundheit *et al.*, 2013).

6. 1. Přenos mateřských protilátek přes placentu

Již velmi dlouho je známo, že plod, jehož imunitní systém není v raných vývojových fázích ještě plně vyvinut, je proti infekcím částečně chráněn mateřskými IgG protilátkami, z nichž nejnáze jsou přenášeny IgG₁ a IgG₄, nejméně snadno pak IgG₂. K přenosu IgG protilátek přes placentu dochází prostřednictvím FcRn receptorů mechanismem přiblíženým na obrázku (Obr. 6). Na druhou stranu, stejným mechanismem může dojít i k přenosu specifických mateřských IgG protilátek, které u plodu vyvolávají patologickou reakci (shrnutí v Palmeira *et al.*, 2012).



Obrázek 6. Přenos IgG protilátek přes placentu prostřednictvím FcRn receptoru. FcRn receptor – modře, IgG protilátka – zeleně. Převzato z (Roopenian and Akilesh, 2007).

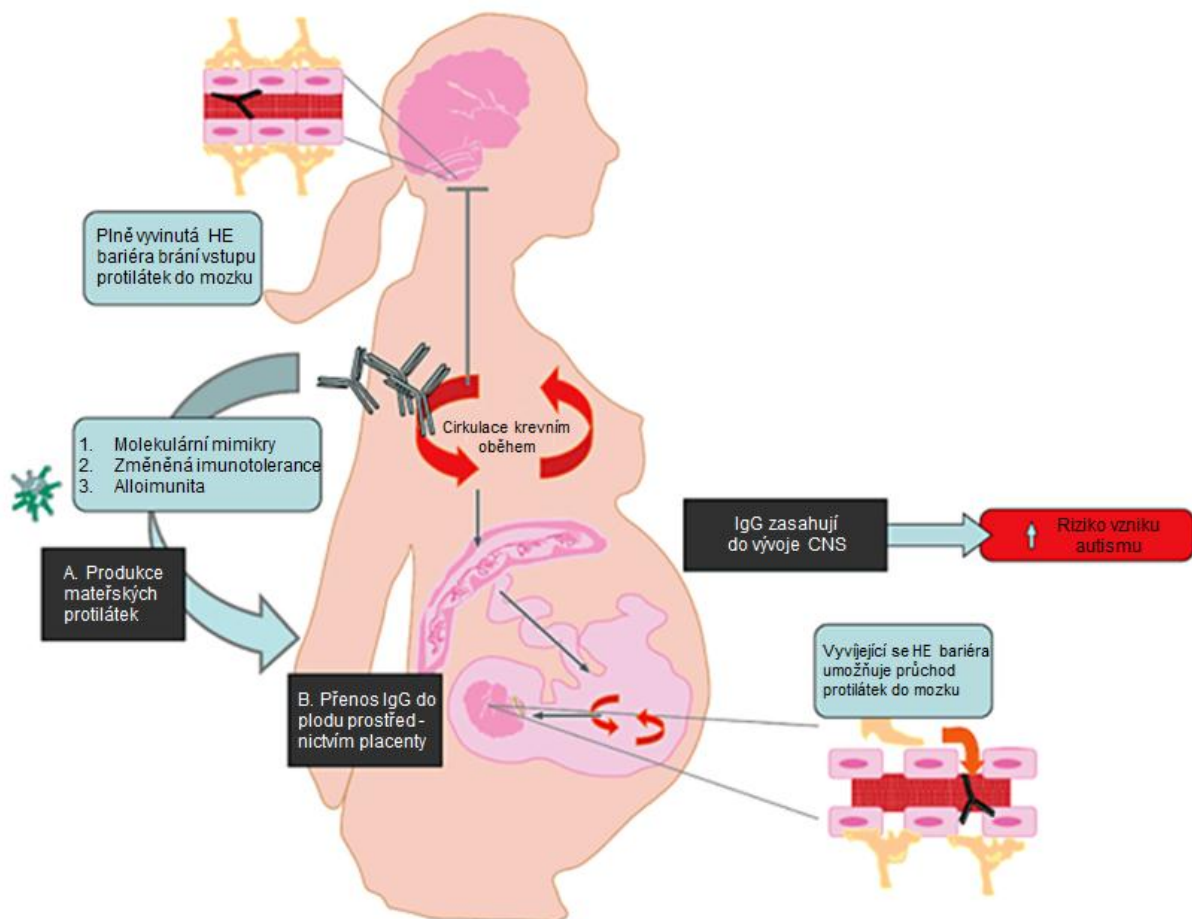
U matek dětí s autismem brání vstupu protilátek do mozku HE bariéra, která ovšem u plodu ještě není plně vyvinuta, a tak se mohou mateřské protilátky bez potíží dostat do mozku plodu a blokovat funkci některých proteinů významných ve vývoji CNS (Obr. 7).

Na doposud největším vzorku (téměř 2500 matek dětí s autismem) potvrdili Brimberg *et al.* (2013) zvýšený výskyt protilátek proti mozkové tkáni u matek dětí s autismem. Zároveň ukázali, že tyto protilátky zůstávají v séru matek i několik let po prodělaném těhotenství a mohou tak ukazovat na chronický imunopatologický stav v těle matky.

Významnými konkrétními protilátkami u matek dětí s autismem se ukázaly být protilátky proti proteinům o velikostech 37, 39 a 73 kDa. Nejprve byly objeveny v roce 2008 pouze protilátky proti 37 kDa a 73 kDa, a to u 11,5% matek dětí s autismem. U matek typicky se

vyvíjejících dětí ani u matek dětí s jinými vývojovými poruchami než autismus nebyly tyto protilátky pozorovány (Braunschweig *et al.*, 2008).

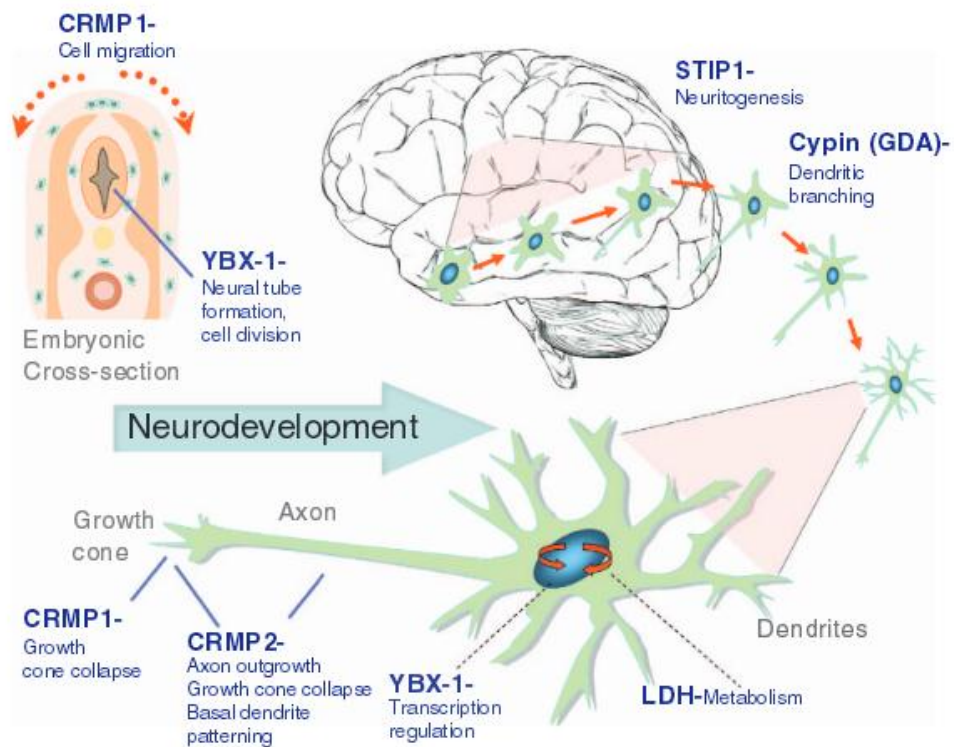
Tyto protilátky jsou navíc velmi pravděpodobně spojeny i s rozvojem makrocefalie, poměrně častým neurologickým jevem u dětí s autismem, jak bylo již popsáno výše (Nordahl *et al.*, 2013).



Obrázek 7. Schéma působení mateřských protilátek na vznik autismu. A. Mateřské protilátky vážící se na proteiny v mozku plodu mohou vzniknout různými, dosud nepotvrzenými mechanismy. B. Placenta umožňuje aktivní transport mateřských IgG do krevního oběhu plodu, a vzhledem k nevyvinuté HE bariéře i do mozku plodu. Převzato a upraveno podle (Braunschweig and Van de Water, 2012).

Za doposud největší úspěch výzkumu protilátek MAC je možné považovat identifikaci konkrétních mozkových proteinů, které reagují s mateřskými protilátkami (Braunschweig *et al.*, 2013). Jsou to proteiny LDH (laktát dehydrogenáza), YBX1 (*Y-box-binding protein 1*), cypin, STIP1 (*stress-induced phosphoprotein 1*), CRMP1 a CRMP2 (*collapsin response mediator proteins 1 a 2*), které se všechny účastní vývoje mozku. Funkce těchto proteinů je vysvětlena na obrázku (Obr. 8.)

Specifická reakce na kombinace těchto proteinů byla zaznamenána u 23% matek dětí s autismem a pouze u 1% kontrolních vzorků. Pro tuto formu autismu byl zaveden termín MAR-autismus (*maternal antibodies related autism*) a objev prvních specifických biomarkerů pro jednu z forem autismu, již může předpovědět s více než 99% přesností, byl vědeckým týmem také patentován.



Obrázek 8. Funkce proteinů reagujících s protilátkami MAC. Schematické zobrazení funkcí proteinů, které reagují s protilátkami MAC, ve vývoji nervové soustavy. Proteiny CRMP, collapsin response mediator protein, zastávají funkci v buněčné migraci a růstu axonu. YBX1, Y-box binding protein, je regulátorem transkripce. LDH, laktát dehydrogenáza, hraje důležitou roli v metabolismu. STIP1, stress-induced phosphoprotein 1 je potřebný během vývoje neuronů. Cypin je důležitý pro větvení dendritů. Převzato a upraveno z (Braunschweig et al., 2013).

6. 2. Výzkum patogenity mateřských protilátek v mozku plodu

První studií popisující projev mateřských protilátek (MAC IgG) v těle zvířat byla studie Daltona *et al.* (2003), kteří vpravili sérum matky dvou dětí s neurovývojovými poruchami (jedno z dětí bylo diagnostikováno PAS, druhé opožděným řečovým vývojem) do těla březí myši. Oproti kontrolám vykazovala dospělá myš s MAC IgG menší rozumové schopnosti. Mateřské protilátky se také ukázaly být reaktivními s Purkyňovými buňkami dospělých myši (Dalton *et al.*, 2003). Změněné chování myši s některými rysy typickými pro poruchy autistického spektra pozorovali vědci i v dalších studiích.

Tuto hypotézu posléze potvrdily výsledky studie (Zimmerman *et al.*, 2007) srovnávající reaktivitu séra získaného od matek dětí s autismem směrem k mozkovým buňkám potkanů a to ve třech stádiích – k buňkám nenarozených mláďat, k buňkám mláďat těsně po porodu a k buňkám dospělých jedinců. Z uvedených stadií reagovaly MAC IgG pouze s buňkami prenatálního stadia.

V roce 2008 provedli Martin *et al.* (2008) studii srovnávající chování makaků, kteří byli prenatálně vystaveni IgG protilátkám izolovaným ze séra matek dětí s autismem, s chováním těch, kteří byli vystaveni IgG protilátkám matek zdravých dětí. U makaků vystaveným působení MAC IgG pozorovali významné abnormální změny v chování nepřítomné u druhé skupiny makaků, charakteristické především stereotypickými motivy přecházení klece tam a zpět a otáčení se kolem vlastní osy prostřednictvím salt vzad.

Taktéž v roce 2008 pozorovali Braunschweig *et al.* specifické mateřské protilátky reagující s proteiny o velikostech 37 kDa a 73 kDa u 11,5% matek dětí s autismem. U matek typicky se vyvíjejících dětí ani u matek dětí s jinými vývojovými poruchami než autismus nebyly tyto protilátky pozorovány (Braunschweig *et al.*, 2008). Tyto protilátky byly v jiné studii (Bauman *et al.*, 2013) izolovány a vpraveny do těla březích samic makaků. Oproti kontrolním jedincům vykazovali makaci narození matkám s protilátkami proti 37 kDa a 73 kDa proteinům změny v sociálním chování.

7. Snížená aktivita NK buněk

NK buňky jsou poddruhem lymfocytů a hrají významnou roli v přirozené imunitě. U člověka tvoří cca 15 % všech lymfocytů (Cooper *et al.*, 2001). Jejich úkolem je rozeznávat infikované buňky a zabít je prostřednictvím vlastních cytotoxických mechanismů nebo prostřednictvím syntézy a sekrece IFN- γ , který poté slouží jako aktivátor makrofágů požírajících mikroby (Abbas *et al.*, 2012, p. 35).

Receptory NK buněk (NKR) jsou dvojího typu: inhibiční a aktivační. Zatímco inhibiční NKR rozpoznávají vlastní MHC molekuly I. třídy a brání NK buňkám v zabíjení takto označených vlastních buněk, aktivační NKR slouží k rozpoznávání virově nebo bakteriálně infikovaných buněk, buněk poškozených stresem nebo maligně transformovaných buněk (Abbas *et al.*, 2012, p. 35). U člověka jsou hlavními skupinami inhibičních receptorů **KIR** (*killer cell Ig-like receptor*), které rozeznávají HLA-A, -B a -C molekuly a **C-lektinové receptory**, které rozeznávají HLA-E, a z aktivačních receptorů potom např. **receptory přirozené cytotoxicity** (NCR - *natural cytotoxicity receptors*) (Cooper *et al.*, 2001).

Ukázalo se, že změněná aktivita NK buněk hraje roli ve vzniku několika neurobiologických onemocnění, např. Tourettova syndromu (Lit *et al.*, 2007) a roztroušené sklerózy (Benczur *et al.*, 1980; Kastrukoff *et al.*, 1998) i některých autoimunitních onemocnění, např. diabetu mellitu 1. typu (Rodacki *et al.*, 2007), systémového lupus erythematoses a sklerodermie (Pellett *et al.*, 2007).

Sníženou aktivitu NK buněk u pacientů s autismem prokázalo již vícero studií (Enstrom *et al.*, 2009; Warren *et al.*, 1987), z nichž zatím největší studií byla studie z roku 2008 (Vojdani *et al.*, 2008), která porovnávala více než 1000 vzorků od pacientů s autismem z 10 různých světových klinik se 113 kontrolními vzorky. Výrazně sníženou aktivitu NK buněk (aktivita < 5,1 lytických jednotek) pozorovali autoři studie u 45% jedinců s autismem oproti 8% kontrolních vzorků.

Změněnou aktivitu NK buněk u pacientů s autismem dokazují také studie zaměřující se na změny v genové expresi u pacientů s autismem. Změněná exprese byla u pacientů s autismem prokázána právě u genů spojených s receptory NK buněk a s dráhou cytotoxicity NK buněk (Enstrom *et al.*, 2009; Gregg *et al.*, 2008).

8. Cytokiny u PAS

Cytokiny jsou signální proteiny, které fungují jako mediátory v imunitních a zánětlivých odpovědích. Jsou sekretovány různými typy imunitních buněk, např. dendritickými buňkami, makrofágy, žírnými buňkami a dalšími.

Na zvýšené cytokiny u osob s autismem poprvé upozornil Singh (1996), který u pacientů s autismem pozoroval zvýšené hladiny IL-12 a IFN- γ v plazmě. Následovaly další studie, které prokázaly u osob s autismem signifikantně zvýšenou (resp. sníženou) produkci různých cytokinů. Zdá se tedy, že u osob s autismem jsou nadměrně aktivovány Th1 i Th2 větve adaptivní imunity. Souhrn příslušných cytokinů následuje níže.

8. 1. Prozánětlivé cytokiny

Z cytokinů (příp. chemokinů) podporujících zánětlivou reakci byly u osob s autismem pozorovány IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ , IL-17A, a TNF- α .

IL-1 β je významný cytokin hrající roli v přenosu imunitní odpovědi, diferenciaci a proliferaci různých buněčných typů a apoptóze. Je produkován aktivovanými makrofágy ve formě neaktivního prekurzoru, který je na funkční formu přeměněn kaspázou 1. Zvýšenou hladinu IL-1 β u osob s autismem pozorovali vědci již v několika studiích (Ashwood a

Wakefield, 2006; Molloy *et al.*, 2006; Zimmerman *et al.*, 2005), zároveň byla pozorována i u modelu BTBR myši (Heo *et al.*, 2011; obr. 9).

Zvýšená hladina **IL-6**, cytokinu sekretovaného makrofágy a T buňkami, byla taktéž pozorována u osob s autismem (Hongen Wei *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2009; Vargas *et al.*, 2005). Zvýšené hladiny IL-6 jsou u pacientů s autismem poměrně očekávané, neboť IL-6 působí jako inhibitor IL-1 a TNF- α , které byly mnohými studiemi zjištěny u autistických pacientů jako zvýšené. Hongen Wei *et al.* (2011) tvrdí, že IL-6 může být u pacientů s autismem zodpovědný za některé neuropatologické projevy. Zároveň byly provedeny studie myších modelů sledujících chování narozených myši poté, co byly jejich matky injikovány IL-6. Ukázalo se, že oproti kontrolním myším a IL-6 KO myším vykazovaly myši vystavené prenatalnímu působení IL-6 změny v sociálním chování (Hsiao a Patterson, 2011; Smith *et al.*, 2007).

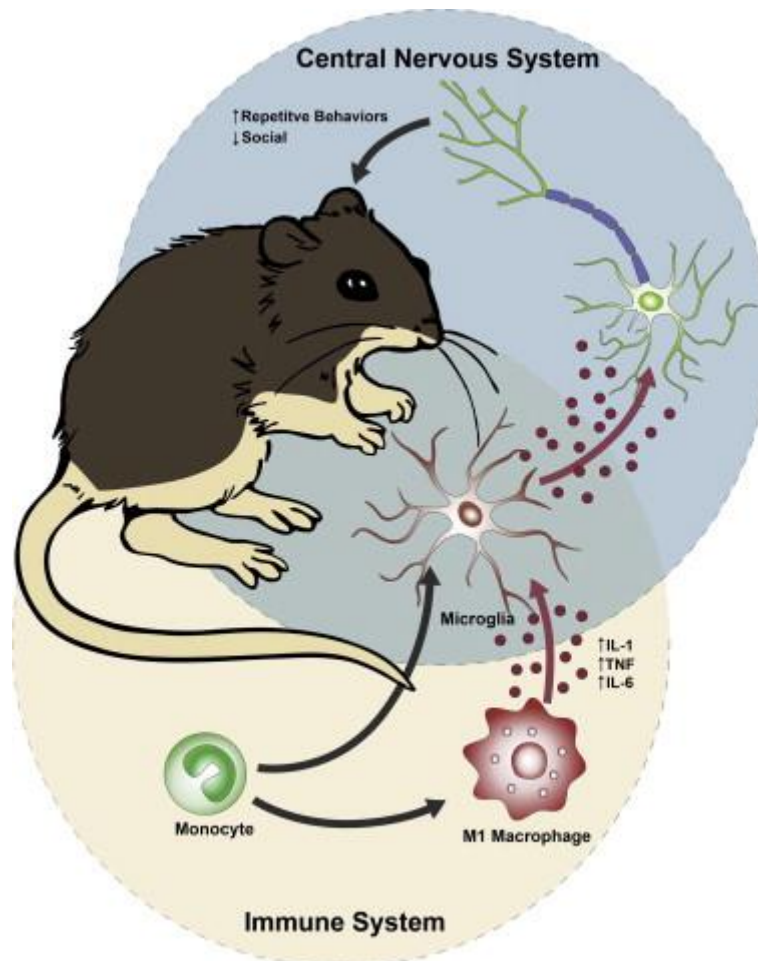
IL-8 je chemokinem produkovaným makrofágy a dalšími buněčnými typy, např. endoteliálními a epiteliálními buňkami. Působí jako hlavní chemotaktická látka pro neutrofilů a jeho zvýšené hladiny u osob s autismem pozorovali vědci již v několika studiích (Ashwood *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2009; Vargas *et al.*, 2005).

IL-12 je důležitým cytokinem produkovaným makrofágy a dendritickými buňkami. Jeho funkcí je působení na NK buňky a T buňky a vyvolání produkce **IFN- γ** společně se zvýšením jejich cytotoxické aktivity, u T buněk navíc indukuje diferenciaci. Zvýšenou hladinu IL-12 popsaly již mnohé studie (Ashwood *et al.*, 2011; Ashwood a Wakefield, 2006; Singh, 1996; Zimmerman *et al.*, 2005), ve většině případů společně se zvýšenou hladinou IFN- γ , což vyplývá z výše popsaného mechanismu působení. Další studie popsaly zvýšenou hladinu IFN- γ , ovšem bez přítomnosti zvýšené hladiny IL-12 (Li *et al.*, 2009; Molloy *et al.*, 2006). Některé výzkumy navíc ukazují, že hladina těchto prozánětlivých cytokinů pozitivně koreluje s vážností projevů autismu, především v oblastech komunikace a problémového chování (Ashwood *et al.*, 2011).

Mostafa a Al-Ayadhi (2012) upozorňují na zvýšenou hladinu **IL-17A** v séru pacientů s autismem a podobně jako u předchozích výzkumů prokazují také korelaci mezi hodnotami hladiny IL-17A a vážností projevů autismu. Stejně výsledky publikoval také Suzuki *et al.* (2011). Podle jedné studie je možné, že by zvýšená hladina IL-17 mohla souviset s maternální infekcí, již dříve popsaným rizikovým faktorem ve vzniku autismu. Myši, narozené matkám vystaveným infekci, vykazovaly signifikantně zvýšenou hladinu IL-17 oproti kontrolním myším (Hsiao *et al.*, 2012). Zvýšené hladiny IL-17A byly již dříve pozorovány u autoimunitních onemocnění (shrnuje Gaffen, 2011).

Zvýšenou hladinu **TNF- α** u osob s autismem prokázaly mnohé studie (Chez *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2009; Molloy *et al.*, 2006; Vargas *et al.*, 2005; Zimmerman *et al.*, 2005), zvýšená hladina byla nalezena i u BTBR modelu myši (Heo *et al.*, 2011; obr. 9). TNF- α je produkován za určitých podmínek širokým spektrem buněčných typů, např. makrofágy, monocyty, endoteliálními buňkami či neutrofily a je významným regulátorem dalších cytokinů, růstových faktorů nebo receptorů. Vzhledem k tomu, že TNF- α může být produkován i aktivovanými astrocyty, mohou jeho zvýšené hladiny souviset s neuropatologií autismu (Chez *et al.*, 2007).

Molloy *et al.* (2006) upozorňuje, že výsledky některých studií sledujících hladiny cytokinů mohou být ovlivněny medikací používanou u zahrnutých pacientů, protože některé léky (především antipsychotika) předepisované u osob s autismem zvyšují hladiny cytokinů. Je tedy třeba, aby případné další studie s tímto faktem počítaly, a pacienti s touto medikací byli ze studií vyřazeni.



Obrázek 9. Zvýšené hladiny prozánětlivých cytokinů u BTBR myši. U BTBR myši byl pozorován chronický zánět CNS, který je pravděpodobně spuštěn přeměnou monocytů na M1 makrofágy, které produkují IL-1, IL-6 a TNF- α . Tyto cytokiny pravděpodobně mohou negativně ovlivňovat vývoj CNS přímým působením na neurony nebo prostřednictvím mikroglíí. Převzato a upraveno z (Careaga *et al.*, 2015).

8. 2. Protizánětlivé cytokiny

Zvýšené hladiny cytokinu **IL-4**, který indukuje zrání T0 buněk (přeměnu z Th0 na Th2), pozoroval Molloy *et al.* (2006), ovšem další studie tyto výsledky nepotvrdily.

Velmi kontroverzní výsledky jsou publikovány ohledně hladiny **IL-10**. IL-10 je důležitým regulačním cytokinem, který snižuje produkci cytokinů Th1 větve imunitní odpovědi. Vzhledem ke zvýšeným hladinám prozánětlivých cytokinů poněkud neodpovídají předpokladům pozorované snížené (Ashwood a Wakefield, 2006) nebo nezměněné (Li *et al.*, 2009; Molloy *et al.*, 2006) hladiny IL-10. Pouze jedna studie (Vargas *et al.*, 2005) popsala u IL-10 i zvýšené hladiny.

9. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo zmapovat roli imunitního systému ve vzniku autismu. Během psaní práce se ukázalo, že problematika je mnohem širší, než by se mohlo na první pohled zdát, a zahrnuje množství studií ubírajících se různými směry, z nichž zatím ale bohužel žádný dostatečně neobjasňuje hledanou příčinu onemocnění. Výzkum imunologických specifit u jedinců s autismem je velmi aktuální a věnuje se mu čím dál tím více vědeckých týmů, což dokazuje i množství studií publikovaných během posledních dvou let a zahrnutých v této práci.

Výsledky studií jsou ve značném množství případů nejednotné, některé studie jsou založené na příliš malém počtu pacientů a problémem je i poměrně široká diagnóza „Poruchy autistického spektra“, která může být příčinou nejednotných výsledků. Do výzkumů jsou zařazováni jedinci, kteří sice sdílí stejnou diagnózu, ale projevy poruchy jsou u nich značně odlišné – pod diagnózu PAS mohou například spadat jak jedinci s mentální retardací, tak i jedinci s výrazně nadprůměrnou inteligencí.

Na rozdíl od diagnostického trendu aplikace jedné široké diagnózy se téměř všechny aktuální studie shodují, že příčiny autismu jsou různé, a tak by bylo spíše než o „autismu“ vhodnější hovořit o „autismech“. Některé formy autismu by tak bylo možné vysvětlit genetickými vlivy, některé vlivem mateřských IgG protilátek poškozujících vyvíjející se CNS plodu, ale rozhodně není možné aplikovat tyto mechanismy na všechny pacienty.

Velkým přínosem vědeckých výzkumů je, že byly objeveny skupiny protilátek, které by mohly v budoucnu sloužit jako biomarker autismu, a na identifikaci dalších takových markerů (např. genetické abnormality, přítomnost specifických HLA alel) se soustředí pozornost vědců z laboratoří po celém světě. Včasná diagnóza autismu by umožnila okamžitou aplikaci příslušné terapie, která dosahuje tím lepších výsledků, čím dříve je zahájena. Zdá se, že u některých typů

autismu by bylo možné při včasném podání medikace dosáhnout i úplného vymizení autistických symptomů.

Úvahy o vyléčení autismu, stejně jako ty o porozumění komplikované etiologii všech typů autistických poruch, jsou ale zatím pouze hudbou budoucnosti. Nezbyvá tedy, než se prostřednictvím malých kroků jednotlivých dílčích vědeckých výzkumů z různých oblastí přibližovat k cíli a doufat, že jednou se i tak spleťtý proces jako vznik autismu podaří rozklíčovat.

10. Literatura

* sekundární citace jsou označeny hvězdičkou

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S., 2012. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. Elsevier Health Sciences. ISBN: 978-1-4557-0707-2
- Abrahams, B.S., Geschwind, D.H., 2008. Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nat. Rev. Genet.* 9, 341–355. doi:10.1038/nrg2346
- Al-Ayadhi, L.Y., Mostafa, G.A., 2015. The Possible Association between Elevated Levels of Blood Mercury and the Increased Frequency of Serum Anti-myelin Basic Protein Auto-antibodies in Autistic Children. *J. Clin. Cell. Immunol.* 2015. doi:10.4172/2155-9899.1000310
- Al-Ayadhi, L.Y., Mostafa, G.A., 2012. Elevated serum levels of interleukin-17A in children with autism. *J. Neuroinflammation* 9, 158. doi:10.1186/1742-2094-9-158
- Al-Hakbany, M., Awadallah, S., Al-Ayadhi, L., 2014. The Relationship of HLA Class I and II Alleles and Haplotypes with Autism: A Case Control Study. *Autism Res. Treat.* 2014, e242048. doi:10.1155/2014/242048
- American Psychiatric Association, 2013. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5®)*. American Psychiatric Pub. ISBN: 978-0-89042-557-2
- Ashwin, C., Baron-Cohen, S., Wheelwright, S., O’Riordan, M., Bullmore, E.T., 2007. Differential activation of the amygdala and the “social brain” during fearful face-processing in Asperger Syndrome. *Neuropsychologia, The Perception of Emotion and Social Cues in Faces* 45, 2–14. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2006.04.014
- Ashwood, P., Krakowiak, P., Hertz-Picciotto, I., Hansen, R., Pessah, I., Van de Water, J., 2011. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain. Behav. Immun.* 25, 40–45. doi:10.1016/j.bbi.2010.08.003
- Ashwood, P., Wakefield, A.J., 2006. Immune activation of peripheral blood and mucosal CD3+ lymphocyte cytokine profiles in children with autism and gastrointestinal symptoms. *J. Neuroimmunol.* 173, 126–134. doi:10.1016/j.jneuroim.2005.12.007
- Atladóttir, H.Ó., Pedersen, M.G., Thorsen, P., Mortensen, P.B., Deleuran, B., Eaton, W.W., Parner, E.T., 2009. Association of Family History of Autoimmune Diseases and Autism Spectrum Disorders. *Pediatrics* 124, 687–694. doi:10.1542/peds.2008-2445

- Autism Speaks Inc., 2014. Autism Prevalence Since 2000 [WWW Document]. URL:https://www.autismspeaks.org/sites/default/files/docs/prevalence_graph_68_no_logo_3.jpg (accessed 29.07.15).
- Bailey, A., Le Couteur, A., Gottesman, I., Bolton, P., Simonoff, E., Yuzda, E., Rutter, M., 1995. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol. Med.* 25, 63–77. doi:10.1017/S0033291700028099
- Bailey, A., Luthert, P.J., Dean, A., Harding, B., Janota, I., Montgomery, M., 1998. A clinicopathological study of autism. *Brain J. Neurol.* 121, 889–905. ISSN: 0006-8950
- Banovic, D., Khorramshahi, O., Oswald, D., Wichmann, C., Riedt, T., Fouquet, W., Tian, R., Sigrist, S.J., Aberle, H., 2010. Drosophila neuroligin 1 promotes growth and postsynaptic differentiation at glutamatergic neuromuscular junctions. *Neuron* 66, 724–738. doi:10.1016/j.neuron.2010.05.020
- Bauman, M.D., Iosif, A.-M., Ashwood, P., Braunschweig, D., Lee, A., Schumann, C.M., Van de Water, J., Amaral, D.G., 2013. Maternal antibodies from mothers of children with autism alter brain growth and social behavior development in the rhesus monkey. *Transl. Psychiatry* 3, e278. doi:10.1038/tp.2013.47
- Benczur, M., Petrányi, G.G., Pálffy, G., Varga, M., Tálas, M., Kotsy, B., Földes, I., Hollán, S.R., 1980. Dysfunction of natural killer cells in multiple sclerosis: a possible pathogenetic factor. *Clin. Exp. Immunol.* 39, 657–662. ISSN: 0009-9104
- Boggs, J.M., 2006. Myelin basic protein: a multifunctional protein. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 63, 1945–1961. doi:10.1007/s00018-006-6094-7
- Bozdagi, O., Sakurai, T., Papapetrou, D., Wang, X., Dickstein, D.L., Takahashi, N., Kajiwar, Y., Yang, M., Katz, A.M., Scattoni, M.L., Harris, M.J., Saxena, R., Silverman, J.L., Crawley, J.N., Zhou, Q., Hof, P.R., Buxbaum, J.D., 2010. Haploinsufficiency of the autism-associated Shank3 gene leads to deficits in synaptic function, social interaction, and social communication. *Mol. Autism* 1, 15. doi:10.1186/2040-2392-1-15
- Braunschweig, D., Ashwood, P., Krakowiak, P., Hertz-Picciotto, I., Hansen, R., Croen, L.A., Pessah, I.N., Van de Water, J., 2008. Autism: maternally derived antibodies specific for fetal brain proteins. *Neurotoxicology* 29, 226–231. doi:10.1016/j.neuro.2007.10.010
- Braunschweig, D., Krakowiak, P., Duncanson, P., Boyce, R., Hansen, R.L., Ashwood, P., Hertz-Picciotto, I., Pessah, I.N., Van de Water, J., 2013. Autism-specific maternal autoantibodies recognize critical proteins in developing brain. *Transl. Psychiatry* 3, e277. doi:10.1038/tp.2013.50
- Braunschweig, D., Van de Water, 2012. Maternal autoantibodies in autism. *Arch. Neurol.* 69, 693–699. doi:10.1001/archneurol.2011.2506
- Brimberg, L., Sadiq, A., Gregersen, P.K., Diamond, B., 2013. Brain-reactive IgG correlates with autoimmunity in mothers of a child with an autism spectrum disorder. *Mol. Psychiatry* 18, 1171–1177. doi:10.1038/mp.2013.101
- Calahorra, F., Ruiz-Rubio, M., 2011. *Caenorhabditis elegans* as an experimental tool for the study of complex neurological diseases: Parkinson's disease, Alzheimer's disease and autism spectrum disorder. *Invert. Neurosci.* 11, 73–83. doi:10.1007/s10158-011-0126-1

- Careaga, M., Schwartz, J., Ashwood, P., 2015. Inflammatory profiles in the BTBR mouse: How relevant are they to autism spectrum disorders? *Brain. Behav. Immun.* 43, 11–16. doi:10.1016/j.bbi.2014.06.006
- Centre for Disease Control, 2014. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2010. *Morb. Mortal. Wkly. Rep. Surveill. Summ.* 63. URL:http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss6302a1.htm?s_cid=ss6302a1_w
- Chen, Y.-C., Lin, Y.Q., Banerjee, S., Venken, K., Li, J., Ismat, A., Chen, K., Duraine, L., Bellen, H.J., Bhat, M.A., 2012. *Drosophila* neuroligin 2 is required presynaptically and postsynaptically for proper synaptic differentiation and synaptic transmission. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 16018–16030. doi:10.1523/jneurosci.1685-12.2012
- Chez, M.G., Dowling, T., Patel, P.B., Khanna, P., Kominsky, M., 2007. Elevation of Tumor Necrosis Factor-Alpha in Cerebrospinal Fluid of Autistic Children. *Pediatr. Neurol.* 36, 361–365. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2007.01.012
- Christian, S.L., Brune, C.W., Sudi, J., Kumar, R.A., Liu, S., Karamohamed, S., Badner, J.A., Matsui, S., Conroy, J., McQuaid, D., Gergel, J., Hatchwell, E., Gilliam, T.C., Gershon, E.S., Nowak, N.J., Dobyns, W.B., Cook, E.H., 2008. Novel submicroscopic chromosomal abnormalities detected in autism spectrum disorder. *Biol. Psychiatry* 63, 1111–1117. doi:10.1016/j.biopsych.2008.01.009
- Comi, A.M., Zimmerman, A.W., Frye, V.H., Law, P.A., Peeden, J.N., 1999. Familial Clustering of Autoimmune Disorders and Evaluation of Medical Risk Factors in Autism. *J. Child Neurol.* 14, 388–394. doi:10.1177/088307389901400608
- Connolly, A.M., Chez, M., Streif, E.M., Keeling, R.M., Golumbek, P.T., Kwon, J.M., Riviello, J.J., Robinson, R.G., Neuman, R.J., Deuel, R.M.K., 2006. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Autoantibodies to Neural Antigens in Sera of Children with Autistic Spectrum Disorders, Landau-Kleffner Syndrome, and Epilepsy. *Biol. Psychiatry* 59, 354–363. doi:10.1016/j.biopsych.2005.07.004
- Cooper, M.A., Fehniger, T.A., Caligiuri, M.A., 2001. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol.* 22, 633–640. doi:10.1016/S1471-4906(01)02060-9
- Corbett, B.A., Kantor, A.B., Schulman, H., Walker, W.L., Lit, L., Ashwood, P., Rocke, D.M., Sharp, F.R., 2006. A proteomic study of serum from children with autism showing differential expression of apolipoproteins and complement proteins. *Mol. Psychiatry* 12, 292–306. doi:10.1038/sj.mp.4001943
- Corriveau, R.A., Huh, G.S., Shatz, C.J., 1998. Regulation of Class I MHC Gene Expression in the Developing and Mature CNS by Neural Activity. *Neuron* 21, 505–520. doi:10.1016/S0896-6273(00)80562-0
- Courchesne, E., 2002. Abnormal early brain development in autism. *Mol. Psychiatry* 7 Suppl 2, S21–23. doi:10.1038/sj.mp.4001169
- Dalton, P., Deacon, R., Blamire, A., Pike, M., McKinlay, I., Stein, J., Styles, P., Vincent, A., 2003. Maternal neuronal antibodies associated with autism and a language disorder. *Ann. Neurol.* 53, 533–537. doi:10.1002/ana.10557

- D'Astous, V., Manthorpe, J., Lowton, K., Glaser, K., 2014. Retracing the Historical Social Care Context of Autism: A Narrative Overview. *Br. J. Soc. Work* bcu131. doi:10.1093/bjsw/bcu131
- Duong, T., Robinson, H., Ritvo, A., 1986. Lower Purkinje cell counts in the cerebella of four autistic subjects: initial findings of the UCLA-NSAC Autopsy Research Report. *Am. J. Psychiatry* 143, 862–866. doi:10.1176/ajp.143.7.862
- Ellegood, J., Anagnostou, E., Babineau, B.A., Crawley, J.N., Lin, L., Genestine, M., DiCiccio-Bloom, E., Lai, J.K.Y., Foster, J.A., Peñagarikano, O., Geschwind, D.H., Pacey, L.K., Hampson, D.R., Laliberté, C.L., Mills, A.A., Tam, E., Osborne, L.R., Kouser, M., Espinosa-Becerra, F., Xuan, Z., Powell, C.M., Raznahan, A., Robins, D.M., Nakai, N., Nakatani, J., Takumi, T., van Eede, M.C., Kerr, T.M., Muller, C., Blakely, R.D., Veenstra-VanderWeele, J., Henkelman, R.M., Lerch, J.P., 2015. Clustering autism: using neuroanatomical differences in 26 mouse models to gain insight into the heterogeneity. *Mol. Psychiatry* 20, 118–125. doi:10.1038/mp.2014.98
- Elsabbagh, M., Divan, G., Koh, Y.-J., Kim, Y.S., Kauchali, S., Marcín, C., Montiel-Nava, C., Patel, V., Paula, C.S., Wang, C., Yasamy, M.T., Fombonne, E., 2012. Global Prevalence of Autism and Other Pervasive Developmental Disorders. *Autism Res.* 5, 160–179. doi:10.1002/aur.239
- Enstrom, A.M., Lit, L., Onore, C.E., Gregg, J.P., Hansen, R.L., Pessah, I.N., Hertz-Picciotto, I., Van de Water, J.A., Sharp, F.R., Ashwood, P., 2009. Altered gene expression and function of peripheral blood natural killer cells in children with autism. *Brain. Behav. Immun.* 23, 124–133. doi:10.1016/j.bbi.2008.08.001
- Fabry, Z., Raine, C.S., Hart, M.N., 1994. Nervous tissue as an immune compartment: the dialect of the immune response in the CNS. *Immunol. Today* 15, 218X. doi:10.1016/0167-5699(94)90247-X
- Fatemi, S.H., Halt, A.R., Realmuto, G., Earle, J., Kist, D.A., Thuras, P., Merz, A., 2002. Purkinje Cell Size Is Reduced in Cerebellum of Patients with Autism. *Cell. Mol. Neurobiol.* 22, 171–175. doi:10.1023/A:1019861721160
- Finegan, J.-A., Quarrington, B., 1979. Pre-, Peri-, and Neonatal Factors and Infantile Autism. *J. Child Psychol. Psychiatry* 20, 119–128. doi:10.1111/j.1469-7610.1979.tb00492.x
- Folstein, S., Rutter, M., 1977. Infantile Autism: A Genetic Study of 21 Twin Pairs. *J. Child Psychol. Psychiatry* 18, 297–321. doi:10.1111/j.1469-7610.1977.tb00443.x
- Fombonne, E., Rogé, B., Claverie, J., Courty, S., Frémolle, J., 1999. Microcephaly and Macrocephaly in Autism. *J. Autism Dev. Disord.* 29, 113–119. doi:10.1023/A:1023036509476
- Freeman, S.J., Roberts, W., Daneman, D., 2005. Type 1 Diabetes and Autism Is there a link? *Diabetes Care* 28, 925–926. doi:10.2337/diacare.28.4.925
- Frye, R.E., Sequeira, J.M., Quadros, E.V., James, S.J., Rossignol, D.A., 2013. Cerebral folate receptor autoantibodies in autism spectrum disorder. *Mol. Psychiatry* 18, 369–381. doi:10.1038/mp.2011.175
- Gaffen, S.L., 2011. Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Curr. Opin. Immunol., Special section: Cytokines/Immunogenetics and transplantation* 23, 613–619. doi:10.1016/j.coi.2011.07.006

- Gardener, H., Spiegelman, D., Buka, S.L., 2011. Perinatal and Neonatal Risk Factors for Autism: A Comprehensive Meta-analysis. *Pediatrics* 128, 344–355. doi:10.1542/peds.2010-1036
- Gardener, H., Spiegelman, D., Buka, S.L., 2009. Prenatal Risk Factors for Autism: A Comprehensive Meta-analysis. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* 195, 7–14. doi:10.1192/bjp.bp.108.051672
- Gesundheit, B., Rosenzweig, J.P., Naor, D., Lerer, B., Zachor, D.A., Procházka, V., Melamed, M., Kristt, D.A., Steinberg, A., Shulman, C., Hwang, P., Koren, G., Walfisch, A., Passweg, J.R., Snowden, J.A., Tamouza, R., Leboyer, M., Farge-Bancel, D., Ashwood, P., 2013. Immunological and autoimmune considerations of Autism Spectrum Disorders. *J. Autoimmun.* 44, 1–7. doi:10.1016/j.jaut.2013.05.005
- Gkogkas, C.G., Khoutorsky, A., Ran, I., Rampakakis, E., Nevarko, T., Weatherill, D.B., Vasuta, C., Yee, S., Truitt, M., Dallaire, P., Major, F., Lasko, P., Ruggero, D., Nader, K., Lacaille, J.-C., Sonenberg, N., 2013. Autism-related deficits via dysregulated eIF4E-dependent translational control. *Nature* 493, 371–377. doi:10.1038/nature11628
- Goines, P., Haapanen, L., Boyce, R., Duncanson, P., Braunschweig, D., Delwiche, L., Hansen, R., Hertz-Picciotto, I., Ashwood, P., Van de Water, J., 2011. Autoantibodies to cerebellum in children with autism associate with behavior. *Brain. Behav. Immun.* 25, 514–523. doi:10.1016/j.bbi.2010.11.017
- Gregg, J.P., Lit, L., Baron, C.A., Hertz-Picciotto, I., Walker, W., Davis, R.A., Croen, L.A., Ozonoff, S., Hansen, R., Pessah, I.N., Sharp, F.R., 2008. Gene expression changes in children with autism. *Genomics* 91, 22–29. doi:10.1016/j.ygeno.2007.09.003
- Guerini, F.R., Manca, S., Sotgiu, S., Tremolada, S., Zanzottera, M., Agliardi, C., Zanetta, L., Saresella, M., Mancuso, R., De Silvestri, A., Fois, M.L., Arru, G., Ferrante, P., 2006. A Family Based Linkage Analysis of HLA and 5-HTTLPR Gene Polymorphisms in Sardinian Children with Autism Spectrum Disorder. *Hum. Immunol.* 67, 108–117. doi:10.1016/j.humimm.2006.02.033
- Gupta, S., 2000. Immunological Treatments for Autism. *J. Autism Dev. Disord.* 30, 475. ISSN: 01623257
- *Gupta, S., Aggarwal, S., Heads, C., 1996. Brief report: Dysregulated immune system in children with autism: Beneficial effects of intravenous immune globulin on autistic characteristics. *J. Autism Dev. Disord.* 26, 439–452. doi:10.1007/BF02172828
- Hansen, S.N., Schendel, D.E., Parner, E.T., 2015. Explaining the increase in the prevalence of autism spectrum disorders: The proportion attributable to changes in reporting practices. *JAMA Pediatr.* 169, 56–62. doi:10.1001/jamapediatrics.2014.1893
- Harjutsalo, V., Tuomilehto, J., 2006. Type 1 Diabetes and Autism: Is there a link? Response to Freeman et al. *Diabetes Care* 29, 484–485. doi:10.2337/diacare.29.02.06.dc05-1552
- Hauptmann, G., Tappeiner, G., Schifferli, J.A., 1988. Inherited deficiency of the fourth component of human complement. *Immunodef. Rev.* 1, 3–22. ISSN: 0893-5300
- Hedegaard, C.J., Chen, N., Sellebjerg, F., Sørensen, P.S., Leslie, R.G.Q., Bendtzen, K., Nielsen, C.H., 2009. Autoantibodies to myelin basic protein (MBP) in healthy individuals and in patients with multiple sclerosis: a role in regulating cytokine responses to MBP. *Immunology* 128, e451–e461. doi:10.1111/j.1365-2567.2008.02999.x

- Heo, Y., Zhang, Y., Gao, D., Miller, V.M., Lawrence, D.A., 2011. Aberrant Immune Responses in a Mouse with Behavioral Disorders. *PLoS ONE* 6, e20912. doi:10.1371/journal.pone.0020912
- Hertz-Picciotto, I., Delwiche, L., 2009. The Rise in Autism and the Role of Age at Diagnosis. *Epidemiol. Camb. Mass* 20, 84–90. doi:10.1097/EDE.0b013e3181902d15
- Hongen Wei, Hua Zou, Sheikh, A.M., Malik, M., Dobkin, C., Brown, W.T., Xiaohong Li, 2011. IL-6 is increased in the cerebellum of autistic brain and alters neural cell adhesion, migration and synaptic formation. *J. Neuroinflammation* 8, 52–61. doi:10.1186/1742-2094-8-52
- Horton, R., Wilming, L., Rand, V., Lovering, R.C., Bruford, E.A., Khodiyar, V.K., Lush, M.J., Povey, S., Talbot Jr., C.C., Wright, M.W., Wain, H.M., Trowsdale, J., Ziegler, A., Beck, S., 2004. Gene map of the extended human MHC. *Nat. Rev. Genet.* 5, 889–899. doi:10.1038/nrg1489
- Hsiao, E.Y., McBride, S.W., Chow, J., Mazmanian, S.K., Patterson, P.H., 2012. Modeling an autism risk factor in mice leads to permanent immune dysregulation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 12776–12781. doi:10.1073/pnas.1202556109
- Hsiao, E.Y., Patterson, P.H., 2011. Activation of the maternal immune system induces endocrine changes in the placenta via IL-6. *Brain. Behav. Immun.* 25, 604–615. doi:10.1016/j.bbi.2010.12.017
- Iafusco, D., Vanelli, M., Songini, M., Chiari, G., Cardella, F., Fifi, A., Lombardo, F., Marinaro, A., Melia, A., Marsciani, A., Vaccà, A., Prisco, F., 2006. Type 1 Diabetes and Autism Association Seems to Be Linked to the Incidence of Diabetes. *Diabetes Care* 29, 1985–1986. doi:10.2337/dc06-0842
- Johnson WG, Buyske S, Mars AE, et al, 2009. HLA-dr4 as a risk allele for autism acting in mothers of probands possibly during pregnancy. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 163, 542–546. doi:10.1001/archpediatrics.2009.74
- Kanner, L., 1943. Autistic Disturbances of Affective Contact. *Nerv. Child* 2, 217–250.
- Kastrukoff, L.F., Morgan, N.G., Zecchini, D., White, R., Petkau, A.J., Satoh, J., Paty, D.W., 1998. A role for natural killer cells in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 86, 123–133. doi:10.1016/S0165-5728(98)00014-9
- Keil, A., Daniels, J.L., Forssen, U., Hultman, C., Cnattingius, S., Söderberg, K.C., Feychting, M., Sparen, P., 2010. Parental autoimmune diseases associated with autism spectrum disorders in offspring. *Epidemiology* 21, 805–808. doi:10.1097/EDE.0b013e3181f26e3f
- Kim, S.-Y., Choi, U.-S., Park, S.-Y., Oh, S.-H., Yoon, H.-W., Koh, Y.-J., Im, W.-Y., Park, J.-I., Song, D.-H., Cheon, K.-A., Lee, C.-U., 2015. Abnormal Activation of the Social Brain Network in Children with Autism Spectrum Disorder: An fMRI Study. *Psychiatry Investig.* 12, 37–45. doi:10.4306/pi.2015.12.1.37
- Kolter, T., 2012. *Ganglioside Biochemistry*. ISRN Biochem. 2012. doi:10.5402/2012/506160
- Konopka, G., Roberts, T.F., 2015. Animal Models of Speech and Vocal Communication Deficits Associated with Psychiatric Disorders. *Biol. Psychiatry*. doi:10.1016/j.biopsych.2015.07.001

- Kusunoki, S., Kaida, K., 2011. Antibodies against ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and related disorders. *J. Neurochem.* 116, 828–832. doi:10.1111/j.1471-4159.2010.07029.x
- Lai, J.K.Y., Sobala-Drozdzowski, M., Zhou, L., Doering, L.C., Faure, P.A., Foster, J.A., 2014. Temporal and spectral differences in the ultrasonic vocalizations of fragile X knock out mice during postnatal development. *Behav. Brain Res.* 259, 119–130. doi:10.1016/j.bbr.2013.10.049
- Lai, M.-C., Lombardo, M.V., Auyeung, B., Chakrabarti, B., Baron-Cohen, S., 2015. Sex/Gender Differences and Autism: Setting the Scene for Future Research. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 54, 11–24. doi:10.1016/j.jaac.2014.10.003
- Lee, L.-C., Zachary, A.A., Leffell, M.S., Newschaffer, C.J., Matteson, K.J., Tyler, J.D., Zimmerman, A.W., 2006. HLA-DR4 in Families With Autism. *Pediatr. Neurol.* 35, 303–307. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2006.06.006
- Levin, L., Ban, Y., Concepcion, E., Davies, T.F., Greenberg, D.A., Tomer, Y., 2004. Analysis of HLA genes in families with autoimmune diabetes and thyroiditis. *Hum. Immunol.* 65, 640–647. doi:10.1016/j.humimm.2004.02.026
- Lit, L., Gilbert, D.L., Walker, W., Sharp, F.R., 2007. A subgroup of Tourette’s patients overexpress specific natural killer cell genes in blood: A preliminary report. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 144B, 958–963. doi:10.1002/ajmg.b.30550
- Li, X., Chauhan, A., Sheikh, A.M., Patil, S., Chauhan, V., Li, X.-M., Ji, L., Brown, T., Malik, M., 2009. Elevated immune response in the brain of autistic patients. *J. Neuroimmunol.* 207, 111–116. doi:10.1016/j.jneuroim.2008.12.002
- Ma, D., Salyakina, D., Jaworski, J.M., Konidari, I., Whitehead, P.L., Andersen, A.N., Hoffman, J.D., Slifer, S.H., Hedges, D.J., Cukier, H.N., Griswold, A.J., McCauley, J.L., Beecham, G.W., Wright, H.H., Abramson, R.K., Martin, E.R., Hussman, J.P., Gilbert, J.R., Cuccaro, M.L., Haines, J.L., Pericak-Vance, M.A., 2009. A Genome-wide Association Study of Autism Reveals a Common Novel Risk Locus at 5p14.1. *Ann. Hum. Genet.* 73, 263–273. doi:10.1111/j.1469-1809.2009.00523.x
- Mannion, A., Leader, G., 2013. Comorbidity in autism spectrum disorder: A literature review. *Res. Autism Spectr. Disord.* 7, 1595–1616. doi:10.1016/j.rasd.2013.09.006
- Martin, L.A., Ashwood, P., Braunschweig, D., Cabanlit, M., Van de Water, J., Amaral, D.G., 2008. Stereotypies and hyperactivity in rhesus monkeys exposed to IgG from mothers of children with autism. *Brain. Behav. Immun.* 22, 806–816. doi:10.1016/j.bbi.2007.12.007
- Mason-Brothers, A., Mo, A., Ritvo, A., 1985. Concordance for the syndrome of autism in 40 pairs of afflicted twins. *Am. J. Psychiatry* 142, 74–77. doi:10.1176/ajp.142.1.74
- Miller, D.T., Shen, Y., Weiss, L.A., Korn, J., Anselm, I., Bridgemohan, C., Cox, G.F., Dickinson, H., Gentile, J., Harris, D.J., Hegde, V., Hundley, R., Khwaja, O., Kothare, S., Luedke, C., Nasir, R., Poduri, A., Prasad, K., Raffalli, P., Reinhard, A., Smith, S.E., Sobeih, M.M., Soul, J.S., Stoler, J., Takeoka, M., Tan, W.-H., Thakuria, J., Wolff, R., Yusupov, R., Gusella, J.F., Daly, M.J., Wu, B.-L., 2009. Microdeletion/duplication at 15q13.2q13.3 among individuals with features of autism and other neuropsychiatric disorders. *J. Med. Genet.* 46, 242–248. doi:10.1136/jmg.2008.059907

- Moeller, S., Lau, N.M., Green, P.H.R., Hellberg, D., Higgins, J.J., Rajadhyaksha, A.M., Alaedini, A., 2013. Lack of association between autism and anti-GM1 ganglioside antibody. *Neurology* 81, 1640–1641. doi:10.1212/WNL.0b013e3182a9f3dd
- Molloy, C.A., Morrow, A.L., Meinzen-Derr, J., Schleifer, K., Dienger, K., Manning-Courtney, P., Altaye, M., Wills-Karp, M., 2006. Elevated cytokine levels in children with autism spectrum disorder. *J. Neuroimmunol.* 172, 198–205. doi:10.1016/j.jneuroim.2005.11.007
- Money, D.J., Bobrow, N.A., Clarke, F.C., 1971. Autism and autoimmune disease: A family study. *J. Autism Child. Schizophr.* 1, 146–160. doi:10.1007/BF01537954
- Moretti, P., Sahoo, T., Hyland, K., Bottiglieri, T., Peters, S., del Gaudio, D., Roa, B., Curry, S., Zhu, H., Finnell, R.H., Neul, J.L., Ramaekers, V.T., Blau, N., Bacino, C.A., Miller, G., Scaglia, F., 2005. Cerebral folate deficiency with developmental delay, autism, and response to folinic acid. *Neurology* 64, 1088–1090. doi:10.1212/01.WNL.0000154641.08211.B7
- Mosienko, V., Beis, D., Alenina, N., Wöhr, M., 2015. Reduced isolation-induced pup ultrasonic communication in mouse pups lacking brain serotonin. *Mol. Autism* 6, 13. doi:10.1186/s13229-015-0003-6
- Mostafa, G.A., Al-Ayadhi, L.Y., 2013. The possible relationship between allergic manifestations and elevated serum levels of brain specific auto-antibodies in autistic children. *J. Neuroimmunol.* 261, 77–81. doi:10.1016/j.jneuroim.2013.04.003
- Mostafa, G.A., Al-Ayadhi, L.Y., 2011a. A lack of association between hyperserotonemia and the increased frequency of serum anti-myelin basic protein auto-antibodies in autistic children. *J. Neuroinflammation* 8, 71. doi:10.1186/1742-2094-8-71
- Mostafa, G.A., Al-Ayadhi, L.Y., 2011b. Increased serum levels of anti-ganglioside M1 auto-antibodies in autistic children: relation to the disease severity. *J. Neuroinflammation* 8, 39. doi:10.1186/1742-2094-8-39
- Mostafa, G.A., Kitchener, N., 2009. Serum Anti-Nuclear Antibodies as a Marker of Autoimmunity in Egyptian Autistic Children. *Pediatr. Neurol.* 40, 107–112. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2008.10.017
- Mostafa, G.A., Shehab, A.A., 2010. The link of C4B null allele to autism and to a family history of autoimmunity in Egyptian autistic children. *J. Neuroimmunol.* 223, 115–119. doi:10.1016/j.jneuroim.2010.03.025
- Mostafa, G.A., Shehab, A.A., Al-Ayadhi, L.Y., 2013. The link between some alleles on human leukocyte antigen system and autism in children. *J. Neuroimmunol.* 255, 70–74. doi:10.1016/j.jneuroim.2012.10.002
- Mouridsen, S.E., Rich, B., Isager, T., Nedergaard, N.J., 2007. Autoimmune diseases in parents of children with infantile autism: a case-control study. *Dev. Med. Child Neurol.* 49, 429–32. ISSN: 00121622
- Mungall, A.J., Palmer, S.A., Sims, S.K., Edwards, C.A., Ashurst, J.L., Wilming, L., Jones, M.C., Horton, R., Hunt, S.E., Scott, C.E., Gilbert, J.G.R., Clamp, M.E., Bethel, G., Milne, S., Ainscough, R., Almeida, J.P., Ambrose, K.D., Andrews, T.D., Ashwell, R.I.S., Babbage, A.K., Bagguley, C.L., Bailey, J., Banerjee, R., Barker, D.J., Barlow, K.F., Bates, K., Beare, D.M., Beasley, H., Beasley, O., Bird, C.P., Blakey, S., Bray-Allen, S., Brook, J., Brown, A.J., Brown, J.Y., Burford, D.C., Burrill, W., Burton, J., Carder, C., Carter, N.P., Chapman,

- J.C., Clark, S.Y., Clark, G., Clee, C.M., Clegg, S., Copley, V., Collier, R.E., Collins, J.E., Colman, L.K., Corby, N.R., Coville, G.J., Culley, K.M., Dhimi, P., Davies, J., Dunn, M., Earthrowl, M.E., Ellington, A.E., Evans, K.A., Faulkner, L., Francis, M.D., Frankish, A., Frankland, J., French, L., Garner, P., Garnett, J., Ghorji, M.J.R., Gilby, L.M., Gillson, C.J., Glithero, R.J., Grafham, D.V., Grant, M., Gribble, S., Griffiths, C., Griffiths, M., Hall, R., Halls, K.S., Hammond, S., Harley, J.L., Hart, E.A., Heath, P.D., Heathcote, R., Holmes, S.J., Howden, P.J., Howe, K.L., Howell, G.R., Huckle, E., Humphray, S.J., Humphries, M.D., Hunt, A.R., Johnson, C.M., Joy, A.A., Kay, M., Keenan, S.J., Kimberley, A.M., King, A., Laird, G.K., Langford, C., Lawlor, S., Leongamornlert, D.A., Leversha, M., Lloyd, C.R., Lloyd, D.M., Loveland, J.E., Lovell, J., Martin, S., Mashreghi-Mohammadi, M., Maslen, G.L., Matthews, L., McCann, O.T., McLaren, S.J., McLay, K., McMurray, A., Moore, M.J.F., Mullikin, J.C., Niblett, D., Nickerson, T., Novik, K.L., Oliver, K., Overton-Larty, E.K., Parker, A., Patel, R., Pearce, A.V., Peck, A.I., Phillimore, B., Phillips, S., Plumb, R.W., Porter, K.M., Ramsey, Y., Ranby, S.A., Rice, C.M., Ross, M.T., Searle, S.M., Sehra, H.K., Sheridan, E., Skuce, C.D., Smith, S., Smith, M., Spraggon, L., Squares, S.L., Steward, C.A., Sycamore, N., Tamlyn-Hall, G., Tester, J., Theaker, A.J., Thomas, D.W., Thorpe, A., Tracey, A., Tromans, A., Tubby, B., Wall, M., Wallis, J.M., West, A.P., White, S.S., Whitehead, S.L., Whittaker, H., Wild, A., Willey, D.J., Wilmer, T.E., Wood, J.M., Wray, P.W., Wyatt, J.C., Young, L., Younger, R.M., Bentley, D.R., Coulson, A., Durbin, R., Hubbard, T., Sulston, J.E., Dunham, I., Rogers, J., Beck, S., 2003. The DNA sequence and analysis of human chromosome 6. *Nature* 425, 805–811. doi:10.1038/nature02055
- Nakatani, J., Tamada, K., Hatanaka, F., Ise, S., Ohta, H., Inoue, K., Tomonaga, S., Watanabe, Y., Chung, Y.J., Banerjee, R., Iwamoto, K., Kato, T., Okazawa, M., Yamauchi, K., Tanda, K., Takao, K., Miyakawa, T., Bradley, A., Takumi, T., 2009. Abnormal Behavior in a Chromosome-Engineered Mouse Model for Human 15q11-13 Duplication Seen in Autism. *Cell* 137, 1235–1246. doi:10.1016/j.cell.2009.04.024
- Nestler, E.J., Hyman, S.E., 2010. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat. Neurosci.* 13, 1161–1169. doi:10.1038/nn.2647
- Nordahl, C.W., Braunschweig, D., Iosif, A.-M., Lee, A., Rogers, S., Ashwood, P., Amaral, D.G., Van de Water, J., 2013. Maternal autoantibodies are associated with abnormal brain enlargement in a subgroup of children with autism spectrum disorder. *Brain. Behav. Immun.* 30, 61–65. doi:10.1016/j.bbi.2013.01.084
- Odell, D., Maciulis, A., Cutler, A., Warren, L., McMahon, W.M., Coon, H., Stubbs, G., Henley, K., Torres, A., 2005. Confirmation of the association of the C4B null allele in autism. *Hum. Immunol.* 66, 140–145. doi:10.1016/j.humimm.2004.11.002
- Palmeira, P., Quinello, C., Silveira-Lessa, A.L., Zago, C.A., Carneiro-Sampaio, M., 2012. IgG Placental Transfer in Healthy and Pathological Pregnancies. *Clin. Dev. Immunol.* 1–13. doi:10.1155/2012/985646
- Pasciuto, E., Borrie, S.C., Kanellopoulos, A.K., Santos, A.R., Cappuyns, E., D'Andrea, L., Pacini, L., Bagni, C., 2015. Autism Spectrum Disorders: Translating human deficits into mouse behavior. *Neurobiol. Learn. Mem.* doi:10.1016/j.nlm.2015.07.013
- Pearson, B.L., Pobbe, R.L.H., Defensor, E.B., Oasay, L., Bolivar, V.J., Blanchard, D.C., Blanchard, R.J., 2011. Motor and cognitive stereotypies in the BTBR T+tf/J mouse model of autism. *Genes Brain Behav.* 10, 228–235. doi:10.1111/j.1601-183X.2010.00659.x

- Peça, J., Feliciano, C., Ting, J.T., Wang, W., Wells, M.F., Venkatraman, T.N., Lascola, C.D., Fu, Z., Feng, G., 2011. Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction. *Nature* 472, 437–442. doi:10.1038/nature09965
- Pellett, F., Siannis, F., Vukin, I., Lee, P., Urowitz, M.B., Gladman, D.D., 2007. KIRs and autoimmune disease: studies in systemic lupus erythematosus and scleroderma. *Tissue Antigens* 69, 106–108. doi:10.1111/j.1399-0039.2006.762_6.x
- Philip, R.C.M., Dauvermann, M.R., Whalley, H.C., Baynham, K., Lawrie, S.M., Stanfield, A.C., 2012. A systematic review and meta-analysis of the fMRI investigation of autism spectrum disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36, 901–942. doi:10.1016/j.neubiorev.2011.10.008
- Piras, I.S., Haapanen, L., Napolioni, V., Sacco, R., Van de Water, J., Persico, A.M., 2014. Anti-brain antibodies are associated with more severe cognitive and behavioral profiles in Italian children with Autism Spectrum Disorder. *Brain. Behav. Immun.* 38, 91–99. doi:10.1016/j.bbi.2013.12.020
- Ramaekers, V., Blau, N., Sequeira, J.M., Nassogne, M.-C., Quadros, E.V., 2007. Folate receptor autoimmunity and cerebral folate deficiency in low-functioning autism with neurological deficits. *Neuropediatrics* 38. doi:10.1055/s-2008-1065354
- Ramaekers, V., Quadros, E.V., Sequeira, J.M., 2013. Role of folate receptor autoantibodies in infantile autism. *Mol. Psychiatry* 18, 270–271. doi:10.1038/mp.2012.22
- Ramaekers, V.T., Blau, N., 2004. Cerebral folate deficiency. *Dev. Med. Child Neurol.* 46, 843–51. ISSN: 00121622
- Ramaekers, V.T., Rothenberg, S.P., Sequeira, J.M., Opladen, T., Blau, N., Quadros, E.V., Selhub, J., 2005. Autoantibodies to Folate Receptors in the Cerebral Folate Deficiency Syndrome. *N. Engl. J. Med.* 352, 1985–1991. doi:10.1056/NEJMoa043160
- Rodacki, M., Svoren, B., Butty, V., Besse, W., Laffel, L., Benoist, C., Mathis, D., 2007. Altered Natural Killer Cells in Type 1 Diabetic Patients. *Diabetes* 56, 177–185. doi:10.2337/db06-0493
- Rogers, T., Kalaydjieva, L., Hallmayer, J., Petersen, P.B., Nicholas, P., Pingree, C., McMahon, W.M., Spiker, D., Lotspeich, L., Kraemer, H., McCague, P., Dimiceli, S., Nouri, N., Peachy, T., Yang, J., Hinds, D., Risch, N., Myers, R.M., 1999. Exclusion of Linkage to the HLA Region in Ninety Multiplex Sibships with Autism. *J. Autism Dev. Disord.* 29, 195–201. doi:10.1023/A:1023075904742
- Roopenian, D.C., Akilesh, S., 2007. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 715–725. doi:10.1038/nri2155
- Rossi, C.C., Fuentes, J., Water, J.V. de, Amaral, D.G., 2013. Brief Report: Antibodies Reacting to Brain Tissue in Basque Spanish Children with Autism Spectrum Disorder and Their Mothers. *J. Autism Dev. Disord.* 44, 459–465. doi:10.1007/s10803-013-1859-y
- Rossi, C.C., Van de Water, J., Rogers, S.J., Amaral, D.G., 2011. Detection of plasma autoantibodies to brain tissue in young children with and without autism spectrum disorders. *Brain. Behav. Immun.* 25, 1123–1135. doi:10.1016/j.bbi.2011.02.011
- Sacco, R., Curatolo, P., Manzi, B., Militerni, R., Bravaccio, C., Frolli, A., Lenti, C., Saccani, M., Elia, M., Reichelt, K.-L., Pascucci, T., Puglisi-Allegra, S., Persico, A.M., 2010. Principal pathogenetic components and biological endophenotypes in autism spectrum disorders. *Autism Res.* 3, 237–252. doi:10.1002/aur.151

- Samaco, R.C., McGraw, C.M., Ward, C.S., Sun, Y., Neul, J.L., Zoghbi, H., 2013. Female *Mecp2*(+/-) mice display robust behavioral deficits on two different genetic backgrounds providing a framework for pre-clinical studies. *Hum. Mol. Genet.* 22, 96–109. doi:10.1093/hmg/dds406
- Santini, E., Huynh, T.N., MacAskill, A.F., Carter, A.G., Pierre, P., Ruggero, D., Kaphzan, H., Klann, E., 2013. Exaggerated translation causes synaptic and behavioural aberrations associated with autism. *Nature* 493, 411–415. doi:10.1038/nature11782
- Sato, W., Toichi, M., Uono, S., Kochiyama, T., 2012. Impaired social brain network for processing dynamic facial expressions in autism spectrum disorders. *BMC Neurosci.* 13, 99. doi:10.1186/1471-2202-13-99
- Sia, G.M., Clem, R.L., Haganir, R.L., 2013. The Human Language–Associated Gene *SRPX2* Regulates Synapse Formation and Vocalization in Mice. *Science* 342, 987–991. doi:10.1126/science.1245079
- Silva, S.C., Correia, C., Fesel, C., Barreto, M., Coutinho, A.M., Marques, C., Miguel, T.S., Ataíde, A., Bento, C., Borges, L., Oliveira, G., Vicente, A.M., 2004. Autoantibody repertoires to brain tissue in autism nuclear families. *J. Neuroimmunol.* 152, 176–182. doi:10.1016/j.jneuroim.2004.03.015
- Singh, V.K., 1996. Plasma increase of interleukin-12 and interferon-gamma. Pathological significance in autism. *J. Neuroimmunol.* 66, 143–145. doi:10.1016/0165-5728(96)00014-8
- Singh, V.K., Warren, R., Averett, R., Ghaziuddin, M., 1997. Circulating autoantibodies to neuronal and glial filament proteins in autism. *Pediatr. Neurol.* 17, 88–90. doi:10.1016/S0887-8994(97)00045-3
- *Singh, V.K., Warren, R.P., Odell, J.D., Warren, W.L., Cole, P., 1993. Antibodies to Myelin Basic Protein in Children with Autistic Behavior. *Brain. Behav. Immun.* 7, 97–103. doi:10.1006/brbi.1993.1010
- Smith, S.E.P., Li, J., Garbett, K., Mirnics, K., Patterson, P.H., 2007. Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 10695–10702. doi:10.1523/jneurosci.2178-07.2007
- Spiroski, M., 2015. Immunological and Immunogenetic Changes in Children with Autistic Disorder in Republic of Macedonia. *South East Eur. J. Immunol.* 2015, 8. doi:10.3889/seejim.2015.20003
- Steffenburg, S., Gillberg, C., Hellgren, L., Andersson, L., Gillberg, I.C., Jakobsson, G., Bohman, M., 1989. A Twin Study of Autism in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden. *J. Child Psychol. Psychiatry* 30, 405–416. doi:10.1111/j.1469-7610.1989.tb00254.x
- Stewart, A.M., Nguyen, M., Wong, K., Poudel, M.K., Kalueff, A.V., 2014. Developing zebrafish models of autism spectrum disorder (ASD). *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 50, 27–36. doi:10.1016/j.pnpbp.2013.11.014
- Stubbs, E.G.M.D., Ritvo, E.R.M.D., Mason-Brothers, A.B.A., 1985. Autism and Shared Parental HLA Antigens. *J. Am. Acad. Child Psychiatry* 24, 182–185.
- Sullivan, M.G., 2005. Autism Increase Not a Result of Reclassification. *Clin. Psychiatry News* 33, 68, 2005.

- Sungur, A.Ö., Vörckel, K.J., Schwarting, R.K.W., Wöhr, M., 2014. Repetitive behaviors in the Shank1 knockout mouse model for autism spectrum disorder: Developmental aspects and effects of social context. *J. Neurosci. Methods, Measuring Behavior* 234, 92–100. doi:10.1016/j.jneumeth.2014.05.003
- Suzuki, K., Matsuzaki, H., Iwata, K., Kamenno, Y., Shimmura, C., Kawai, S., Yoshihara, Y., Wakuda, T., Takebayashi, K., Takagai, S., Matsumoto, K., Tsuchiya, K.J., Iwata, Y., Nakamura, K., Tsujii, M., Sugiyama, T., Mori, N., 2011. Plasma Cytokine Profiles in Subjects with High-Functioning Autism Spectrum Disorders. *PLoS ONE* 6, e20470. doi:10.1371/journal.pone.0020470
- Thorsby, E., 1997. Invited anniversary review: HLA associated diseases. *Hum. Immunol.* 53, 1–11. doi:10.1016/S0198-8859(97)00024-4
- Torres, A.R., Maciulis, A., Stubbs, E.G., Cutler, A., Odell, D., 2002. The transmission disequilibrium test suggests that HLA-DR4 and DR13 are linked to autism spectrum disorder. *Hum. Immunol.* 63, 311–316. doi:10.1016/S0198-8859(02)00374-9
- Torres, A.R., Sweeten, T.L., Cutler, A., Bedke, B.J., Fillmore, M., Stubbs, E.G., Odell, D., 2006. The Association and Linkage of the HLA-A2 Class I Allele with Autism. *Hum. Immunol.* 67, 346–351. doi:10.1016/j.humimm.2006.01.001
- Vargas, D.L., Nascimbene, C., Krishnan, C., Zimmerman, A.W., Pardo, C.A., 2005. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Ann. Neurol.* 57, 67–81. doi:10.1002/ana.20315
- Vojdani, A., Campbell, A.W., Anyanwu, E., Kashanian, A., Bock, K., Vojdani, E., 2002. Antibodies to neuron-specific antigens in children with autism: possible cross-reaction with encephalitogenic proteins from milk, Chlamydia pneumoniae and Streptococcus group A. *J. Neuroimmunol.* 129, 168–177. doi:10.1016/S0165-5728(02)00180-7
- Vojdani, A., Mumper, E., Granpeesheh, D., Mielke, L., Traver, D., Bock, K., Hirani, K., Neubrandner, J., Woeller, K.N., O'Hara, N., Usman, A., Schneider, C., Hebroni, F., Berookhim, J., McCandless, J., 2008. Low natural killer cell cytotoxic activity in autism: The role of glutathione, IL-2 and IL-15. *J. Neuroimmunol.* 205, 148–154. doi:10.1016/j.jneuroim.2008.09.005
- Warren, R.P., Foster, A., Margaretten, N.C., 1987. Reduced Natural Killer Cell Activity in Autism. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 26, 333–335. doi:10.1097/00004583-198705000-00008
- Warren, R.P., Odell, J.D., Warren, W.L., Burger, R.A., Maciulis, A., Daniels, W.W., Torres, A.R., 1996. Strong association of the third hypervariable region of HLA-DRβ1 with autism. *J. Neuroimmunol.* 67, 97–102. doi:10.1016/0165-5728(96)00052-5
- Warren, R.P., Singh, V.K., Cole, P., Odell, J.D., Pingree, C.B., Warren, W.L., DeWitt, C.W., McCullough, M., 1992. Possible association of the extended MHC haplotype B44-SC30-DR4 with autism. *Immunogenetics* 36, 203–207. doi:10.1007/BF00215048
- Warren, R.P., Singh, V.K., Cole, P., Odell, J.D., Pingree, C.B., Warren, W.L., White, E., 1991. Increased frequency of the null allele at the complement C4b locus in autism. *Clin. Exp. Immunol.* 83, 438–440. doi:10.1111/j.1365-2249.1991.tb05657.x

- Watson, K.K., Platt, M.L., 2012. Of mice and monkeys: using non-human primate models to bridge mouse- and human-based investigations of autism spectrum disorders. *J. Neurodev. Disord.* 4, 21. doi:10.1186/1866-1955-4-21
- Weiss, L.A., Shen, Y., Korn, J.M., Arking, D.E., Miller, D.T., Fossdal, R., Saemundsen, E., Stefansson, H., Ferreira, M.A.R., Green, T., Platt, O.S., Ruderfer, D.M., Walsh, C.A., Altshuler, D., Chakravarti, A., Tanzi, R.E., Stefansson, K., Santangelo, S.L., Gusella, J.F., Sklar, P., Wu, B.-L., Daly, M.J., Autism Consortium, 2008. Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism. *N. Engl. J. Med.* 358, 667–675. doi:10.1056/NEJMoa075974
- Westover, J.B., Sweeten, T.L., Benson, M., Torres, P.B.-W. and A.R., 2011. Immune Dysfunction in Autism Spectrum Disorder. doi:10.5772/22318
- Wills, S., Cabanlit, M., Bennett, J., Ashwood, P., Amaral, D.G., Van de Water, J., 2009. Detection of autoantibodies to neural cells of the cerebellum in the plasma of subjects with autism spectrum disorders. *Brain. Behav. Immun.* 23, 64–74. doi:10.1016/j.bbi.2008.07.007
- Wills, S., Cabanlit, M., Bennett, J., Ashwood, P., Amaral, D., Van De Water, J., 2007. Autoantibodies in Autism Spectrum Disorders (ASD). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1107, 79–91. doi:10.1196/annals.1381.009
- Wing, L., Potter, D., 2002. The epidemiology of autistic spectrum disorders: is the prevalence rising? *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 8, 151–161. ISSN: 10804013
- Won, H., Lee, H.-R., Gee, H.Y., Mah, W., Kim, J.-I., Lee, J., Ha, S., Chung, C., Jung, E.S., Cho, Y.S., Park, S.-G., Lee, J.-S., Lee, K., Kim, D., Bae, Y.C., Kaang, B.-K., Lee, M.G., Kim, E., 2012. Autistic-like social behaviour in Shank2-mutant mice improved by restoring NMDA receptor function. *Nature* 486, 261–265. doi:10.1038/nature11208
- Wordsworth, B.P., Lanchbury, J.S., Sakkas, L.I., Welsh, K.I., Panayi, G.S., Bell, J.I., 1989. HLA-DR4 subtype frequencies in rheumatoid arthritis indicate that DRB1 is the major susceptibility locus within the HLA class II region. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86, 10049–10053.
- Wu, S., Ding, Y., Wu, F., Li, R., Xie, G., Hou, J., Mao, P., 2015. Family history of autoimmune diseases is associated with an increased risk of autism in children: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 55, 322–332. doi:10.1016/j.neubiorev.2015.05.004
- Zimmerman, A.W., Connors, S.L., Matteson, K.J., Lee, L.-C., Singer, H.S., Castaneda, J.A., Pearce, D.A., 2007. Maternal antibrain antibodies in autism. *Brain. Behav. Immun.* 21, 351–357. doi:10.1016/j.bbi.2006.08.005
- Zimmerman, A.W., Jyonouchi, H., Comi, A.M., Connors, S.L., Milstien, S., Varsou, A., Heyes, M.P., 2005. Cerebrospinal Fluid and Serum Markers of Inflammation in Autism. *Pediatr. Neurol.* 33, 195–201. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2005.03.014