



Otizm Spektrum Bozukluklarında Epigenetik Değişiklikler: Kısa Kodlamayan RNA'lara Genel Bakış

Epigenetic Changes in Autism Spectrum Disorders: An Overview of Short Noncoding RNAs

✉ Nagihan Cevher Binici¹, ✉ Begüm Şahbudak²

¹İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İzmir, Türkiye

²Manisa Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi, Çocuk ve Genç Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Manisa, Türkiye

ÖZ

Otizm spektrum bozukluğu, sosyal etkileşim ve iletişimde gecikme ya da sapma, sosyal çevreye ilgisizlik, yineleyici-sınırlı-olağandışı davranış ve ilgiler ile aynılığın korunmasında ısrar ile karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur. Otizm etiopatogenezine yönelik çalışmalar son yıllarda daha çok epigenetik değişikliklere yönelmiştir. Epigenetik mekanizmalar içinde protein kodlamayan ve proteine çevrilemeyen RNA transkriptleri olan kodlamayan RNA'lar (ncRNA) araştırmaların yeni odak noktası olmuştur. Kısa ncRNA'lar (sncRNA) özellikle nörogelişimsel bozuklukların etiolojisinde giderek artan bir şekilde ilgi görmektedir. Bu derlemede sncRNA'ların otizm ile ilişkisi, etiyojisi ve tedavide hedef molekül olması tartışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Otizm, etiyojisi, kodlamayan RNA'lar, biomarker, epigenetik

ABSTRACT

Autism spectrum disorder is a neurodevelopmental disorder characterized by delays or deviations in social interaction and communication, lack of interest in the social environment, repetitive-restrictive-anomalous behaviors and interests, and insistence on sameness. In recent years, studies on etiopathogenesis of autism have focused on epigenetic changes. Among epigenetic mechanisms non-coding RNAs (ncRNA) which do not code proteins and lead to transcripts which do not translate into proteins have become the recent focus of research. Interest in short ncRNAs (sncRNA) is increasing especially in the etiology of neurodevelopmental disorders. In this review, our aim was to review the sncRNA, their relationship with autism and values as a target molecule in etiology and treatment.

Keywords: Autism, etiology, non-coding RNAs, biomarker, epigenetics

Giriş

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), sosyal etkileşim ve iletişimde gecikme ya da sapma, sosyal çevreye ilgisizlik, yineleyici-sınırlı-olağandışı davranış ve ilgiler ile aynılığın korunmasında ısrar ile karakterize oldukça heterojen klinik görünümüne sahip nörogelişimsel bir bozukluktur.^{1,2} Yaşam boyu süren, sosyal işlevselliği ve bağımsız yaşam yeterliliğini ciddi şekilde bozan OSB'de temel belirtilere yönelik bireysel planlanan özel eğitim programları etkinliği bilimsel olarak kanıtlanmış tek tedavi yöntemi olmakla beraber, tedavi etkinliği belirtileri hafifletme düzeyinde kalmakta, bozuklukta tam olarak düzelmeye sağlayamamaktadır.³

OSB patofizyolojisinin aydınlatılması, hastalığın belirtileri ortaya çıkmadan önce tanı konulmasını sağlayacak biyobelirteçlerin tanımlanması, yeni ve kişiselleştirilmiş

tedavilerin geliştirilmesini önemli ölçüde destekleyecektir.⁴ OSB'nin karmaşık etiopatolojisi nedeniyle bireylerin ancak %15,0-25,0'inde etiyojistik etmenler tespit edilebilmektedir.⁵

Yapılan çalışmalar OSB'nin kalıtılabilirliğinin yüksek (%70,0-90,0) ve tek bir gen bölgesinden daha çok birbiriyle etkileşen pek çok genle ilişkili, poligenik bir bozukluk olabileceğini göstermektedir.⁶ Son dönemde OSB'nin genetik ve çevre ilişkili karmaşık etkileşimler sonucu ortaya çıkan epigenetik değişimler ile karakterize heterojen klinik görünümde multifaktoriyel bir bozukluk olduğu kabul edilmektedir.⁷ Son yıllarda hastalığın sıklığındaki artışın bu değişimlerle ilişkili olduğu öne sürülmektedir (Şekil 1).⁸

Epigenetik mekanizmalar, doku özelleşmesinin yanı sıra hücre çoğalması ve farklılaşması gibi süreçleri yönlendirerek doğum öncesi gelişimin düzenlenmesinde rol oynar. Epigenetik

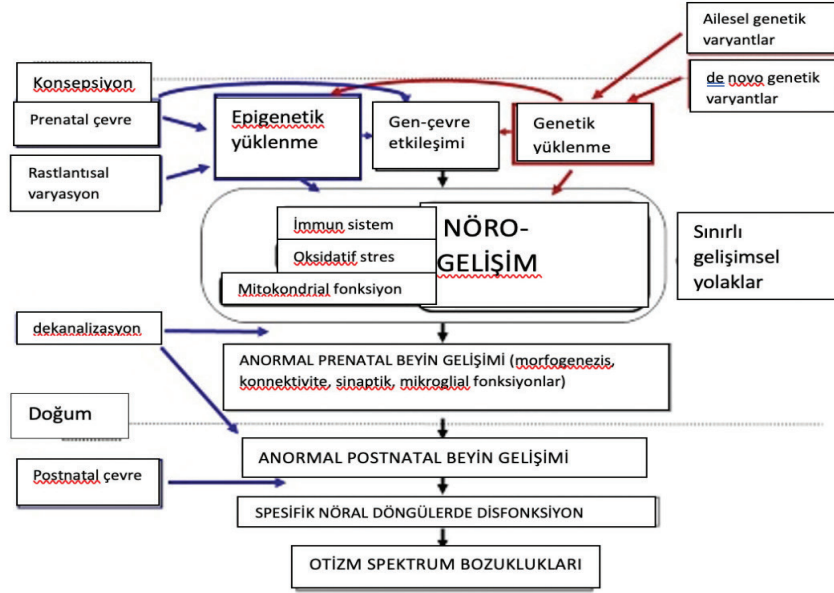
Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Begüm Şahbudak, Manisa Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi, Çocuk ve Genç Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Manisa, Türkiye

Tel.: +90 505 441 16 14 **E-posta:** begumsahbudak@gmail.com **ORCID:** orcid.org/0000-0003-4928-780X

Geliş Tarihi/Received: 17.09.2022 **Kabul Tarihi/Accepted:** 07.01.2023

©Telif Hakkı 2023 Türkiye Çocuk ve Genç Psikiyatrisi Derneği / Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır. Alıntı-GayriTicari-Türetilemez 4.0 Uluslararası (CC BY-NC-ND 4.0) Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.





Şekil 1. Genetik ve epigenetik değişikliklerin otizm etyolojisindeki rolü⁸

değişiklikler kısmen çevresel faktörlere bağlıdır ve gen ekspresyonunu modüle ederek fenotipi etkiler. OSB'nin etiopatolojisi tam anlaşılamadığından epigenetik değişiklikler, gen ekspresyonu açısından çevresel faktörlerin rolünü açıklayabilir.⁹ Bu nedenle epigenetik modülasyonlar, OSB'ye yol açan karmaşık nörobiyolojiyi açıklamak için umut verici adaylardır.

Epigenetik kavramı, DNA nükleotid dizisinde değişim olmadan gen ifadesi ve işlevinde değişikliklere neden olan kromatin yapısı değişikliklerini ifade eder.¹⁰ Organizmanın gelişim sürecinde epigenetik mekanizmalar çevresel etki ile gen ifadesi değişimine neden olur. Bu durum, insan vücudundaki yaklaşık 30.000 genin %99,9'unun tüm bireylerde aynı olmasına rağmen, etkilenen bireylerde 14.000'i aşkın tıbbi görünümün ortaya çıkmasına neden olacak genetik çeşitliliğin bir açıklaması olabilir.¹¹ İnsan genomunun yaklaşık olarak %80,0'inden RNA transkripsiyonu gerçekleşmekte ancak bu transkriptlerin %2,0'sinden azı protein olarak ifade edilmektedir. Kalan transkriptler protein kodlamak yerine gen ifadelerinin değişimine katkıda bulunmaktadır. Bunlara "kodlamayan RNA (ncRNA) adı verilmiştir. Son yıllarda yapılmış çalışmalar ncRNA gibi epigenetik mekanizmaların OSB patogeneğinde önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir.¹²

Kodlamayan RNA

Memeli genomunun yaklaşık %80,0'i, özellikle kodlamayan bölgeler olmak üzere hücreye özgü bir şekilde transkripte edilir. Ancak bu sürecin çok az bir kısmı protein kodlayan mRNA'ları içermektedir.¹³ Açık bir okuma çerçevesi bulunmayan ve proteine çevrilemeyen RNA transkriptleri olan RNA, "ncRNA" olarak adlandırılmaktadır. ncRNA'lar transkripsiyon düzeyinde gen ekspresyonunu, RNA işlemlerini ve translasyonu düzenler.¹⁴ ncRNA'lar nükleotid sayılarına göre sınıflandırılmaktadır: İki yüzün üzerinde nükleotid içerenler uzun-kodlamayan RNA

Tablo 1. Kodlamayan RNA sınıflandırılması

Uzun kodlamayan RNA >200 nükleotit	Kısa kodlamayan RNA ≤200 nükleotit
	miRNA
	piRNA
	YRNA
	tsRNA
	tiRNA
	tRF

(lncRNA) adını alırken, iki yüz ve altında nükleotide sahip olanlar kısa ncRNA (sncRNA) olarak adlandırılır.¹⁵

İnsan genomundaki ncRNA'ların tam sayısı bilinmemekte ancak alandaki çalışmaların artışıyla bildirilen ncRNA'ların sayısı giderek artış göstermektedir. ncRNA'ların nörogelişimsel bozukluklarda değişen gen ekspresyonları ve hastalığın seyri ile ilişki göstermesi nedeniyle yeni ilaç geliştirme çalışmalarının hedef moleküllerinden biri olabileceği düşünülmektedir. ncRNAlar ile OSB arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmaların çoğunluğu lncRNalara odaklanmıştır. lncRNAların OSB nörobiyolojisindeki rolü değerlendirildiğinde; OSB'de lncRNA değişimleri bireylerin kanı, postmortem beyin dokuları, otistik fenotip gösteren hayvan modellerinde gösterilmiş ve lncRNAların OSB patolojisinde işlevsel rolüne dikkat çekilmiştir.¹⁶⁻²⁰

sncRNAlar

MikroRNA (miRNA, microRNA)

sncRNAlardan biri olan 20-24 nükleotit uzunluğundaki miRNAlar hedef gen üzerinde mRNA translasyonunu sessizleştirerek veya post-translasyonel inhibisyon ile etki

gösterir. Post-transkripsiyonel gen regülasyonu ile ilişkili olan miRNAlar OSB tanıılı bireylerin tükürük sıvısında, periferik lenfoblast kültüründe, postmortem beyin sıvısında çalışılmış; OSB patogeneğinde hedef moleküller olabileceği düşünülmüştür.²¹⁻²⁶

miRNAların sosyal davranış ve anksiyete ilişkili davranışın düzenlenmesinde rol aldığı hayvan modelleme çalışmalarında gösterilmiş ancak etki mekanizmaları tam olarak anlaşılammıştır.²⁷ Bir çalışmada fare nöronlarında iki farklı miRNAnın OSB ile ilişkisi olduğu bilinen *PTEN* (Phosphatase and Tensin Homolog) ve *MeCP2* (methyl-CpG binding protein) genlerini regüle ettiği bildirilmiştir.²⁸ Bunun dışında *miR-188* isimli miRNA'nın OSB için aday genlerden biri olan *neuropilin-2*'yi inhibe ederek dendritik çıkıntılarının formasyonunu desteklediği bulunmuştur.²⁹

OSB tanıılı çocukların periferik kanında yüksek olarak saptanan *miR-197-5p*, *miR-328-3p*, *miR-424-5p*, *miR-619-5p*, *miR-500a-5p*, *miR-313-5a*, *miR-365a-3p* ve *miR-664a-3p* isimli miRNA'ların OSB için potansiyel biyobelirteç olabileceği düşünülmüştür.³⁰ OSB tanıılı bireylerin serumlarında, lenfoblastoid hücrelerde ve serebellar kortekste anormal düzeyde saptanan *miR-132*, *miR-23a*, *miR-93*, *miR-106b*, *miR-146b* ve *miRNA-148b* miRNA ile OSB arasındaki nedensel ilişkiyi açıklayabilir.^{21,31-33} OSB tanıılı çocuklarda tükürük sıvısında farklı eksprese edilen 14 farklı miRNA'ya da dikkat çekilmiştir.²⁵ Bununla birlikte OSB belirti şiddeti ile korele olarak artış gösteren bazı miRNA'lar bildirilmiştir.³⁴

P-element induced Wimpy testis (PIWI) ile etkileşen RNA (PIWI interacting RNA, piRNA)

piRNA 24-31 nükleotit uzunluğunda sncRNA'lardandır. Embriyo gelişiminde rol aldıkları ve transpozonları sessizleştirdikleri düşünülmektedir. Argonaut protein ailesi grubundan PIWI proteinlerini spesifik gen lokusuna yönlendirerek gen ekspresyonunu düzenlerler.³⁵ piRNAlar birçok vücut sıvısında bulunması, RNAazlar ile kolayca degrade olmaması, hücre membranlarını kolayca geçebilmesi nedeniyle diğer ncRNAlardan farklılık gösterir ve biyomarker olarak değer taşıyabilir.³⁶ Birçok çalışmada kanserde ve nörolojik hastalıklardan amyotrofik lateral sklerozda biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir OSB tanıılı 6-17 yaş aralığındaki çocukların fekal piRNA düzeylerini değerlendiren bir pilot çalışmada; piRNA düzeyleri kontrollere benzer bulunmuştur.³⁷ Konu ile ilgili yapılmış bir gözden geçirme çalışmasında on araştırma makalesi değerlendirilmiş; mikrobiyota-sncRNA ve OSB ilişkisi için eldeki verilerin anlamlı olmadığı bildirilmiştir.³⁸

Y-RNA

Y-RNA'lar yaklaşık 110 nükleotit uzunluğunda sncRNA'lardandır. DNA replikasyonu üzerinden epigenetik mekanizmalar ile etki gösterir. Y-RNA; DNA replikasyonun başlamasında, RNA stabilitesi ve strese hücresel yanıtta önemli role sahiptir.³⁹ Bir çalışmada şiddetli belirtileri olan OSB hastalarında belirgin olarak düzeyi farklılık gösteren sncRNA ve Y-RNA'ların olduğu gösterilmiştir. Sadece OSB'de değil OSB

belirtileri gösteren diğer nörogelişimsel bozukluklarda da bazı Y-RNA'ların farklılık gösterebileceği düşünülmüştür.³⁴

Taşıyıcı Kökenli küçük RNA (tsRNA)

TsRNA'ların bir genetik kod ile evrim sürecinde önemli etki eden protein translasyonunda moleküler replikasyon içeren bilinen en eski molekül olduğu düşünülmektedir.⁴⁰ Olgun veya öncül tRNA'dan diferansiyasyon, gelişim süreçleri veya çevresel etkilerle tsRNA'lar meydana gelir. Elli nükleotitten kısa, çoğunluğu 18-40 nükleotid uzunluğunda olan bu sncRNA'lar diğerlerine göre daha yakın zamanda tanımlanmıştır. Gen ekspresyonu ve epigenetik regülasyondan sorumludur.^{41,42} Diyet, stres ve enflamasyon gibi çevresel etmenler tsRNA üzerinde değişiklikler ile sonraki kuşaklarda fenotip değişimine neden olur.^{43,44} Çevresel stresörlerin tsRNA oluşumu, modifikasyonu ve işlevleri üzerinde etkilerinin olduğunu gösterilmiştir.⁴⁵⁻⁴⁸ tsRNA'lar, tRF'ler (tRNA kökenli parçacıklar, tRNA kökenli fragments) ve tiRNA yarımları (tRNA kökenli yarımlar) olmak üzere ikiye ayrılır. tiRNA'lar aynı zamanda stresin indüklediği tRNA olarak da bilinir. tiRNA'lar 31-40 nükleotid nükleotit uzunluğundadır ve 3' ve 5' olmak üzere ikiye ayrılır. Hipokampus, prefrontal korteks ve serebellumda en çok bulunan tsRNA, 5'tiRNA'dır. Örneğin primat hipokampusunda çok miktarda bulunan 5'tiRNA'nın nöronlarda regülasyonu sağladığı düşünülmektedir.⁴⁹ tRF'ler olgun ve öncül tRNA'lardan üretilen, 14-30 nükleotit uzunluğunda tsRNA'lardandır. Üç alt sınıfı vardır; tRF-1, tRF-3 ve tRF-5. tRF-1 öncül RNA'dan üretilirken diğerleri olgun tRNA'lardan üretilirler.⁵⁰ tRF-5 hücre çekirdeğinde yer alırken diğerleri sitoplazmada yer alır. tRNA'ların klasik işlevi genetik koddan protein sentezlenmesi sırasında aminoasit taşınmasına aracılık etmektir. tRNA'lar klasik olmayan işlevlerini ise tRF'ler aracılığı ile yapar. Bu işlevler; translasyon inhibisyonu, gen sessizleştirme, Retro-elementlerin (RNA'da transkripte edilen ve DNA'da ters transkripsiyon ile genomda yeni lokasyona yerleşen elementler) kontrolü, immün yanıt ve hücre ölümünün regülasyonunu sağlamaktır.⁵¹ tRF'ler aynı zamanda mRNA'yı hedefleyerek gen ekspresyonunu etkileyerek miRNA gibi davranabilir. Hipokampal nöronlarda tRF-5 de nöronal aktivite ile ilişkilidir.⁵² Bazı tRF'ler viral enfeksiyon gibi stres ve doğal bağışıklık yanıtında yer alan RNAaz'lar ile indüklenerek tRNA antikodon sarmalından yarıklanarak meydana gelmektedir. 1970'li yıllarda tümör dokusunda tRNA'ların degradasyonu ile tsRNA'ların meydana geldiği bu RNA'ların kanserde biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir.^{53,54} Sonraki yıllarda tRF'lerin tümör dokusunda hiperekspresyonu, kanser tanısında biyobelirteç özelliği, olası onkolojik tedaviler için çalışılmıştır.⁵⁵⁻⁵⁹ Çoğu tRF'nin ayrıntılı biyolojik işlevleri tam olarak aydınlatılmamış olsa da bunların gen ekspresyonu, apoptoz, epigenetik kalıtım ve RNA bozunması ile stabilitesini düzenlediklerine dair kanıtlar giderek artmaktadır. tRF ilişkili bilimsel kanıtlar çoğunlukla kanser araştırmalarından gelmektedir.^{60,61} tRF üretiminin viral enfeksiyonlar ve doğal bağışıklık yanıtında görevli RNAaz'lar ile indüklediği farklı çalışmalarda gösterilmiştir.^{41-43,53,54} Viral mimetik enjeksiyonu ve maternal immün aktivasyon ile gerçekleştirilmiş bir hayvan modellemesinde OSB ilişkili fenotip gösteren farelerde tRF'lerin,

miRNA'lar ile birlikte veya tek başlarına nörogelişimsel değişimlere neden olabilecekleri gösterilmiştir. Bu moleküllerin maternal immün aktivasyon sonrasında fetal-maternal doku karşılaşmasını regüle edebilecekleri düşünülmüştür.⁴⁴ 5'tRF birikimi ile protein translasyon oranları azalır ve stres yolları aktive olur. Bu aktivasyon ile birlikte hücre boyutu küçülür. Kortikal, hipokampal ve striatal nöronlarda apoptoz artar. Drosophilalarda *NSUN2* isimli RNA metiltransferaz enzimi yokluğunda 5'tRNA parçacıklarının biriktiği ve kısa süreli hafıza sorunlarına neden olduğu gösterilmiştir. tRF'lerin aynı zamanda iskemik inme sonrası damar oluşumunu inhibe ettiği hayvan çalışmalarında gösterilmiş, insanlarda inme sonrası periferik kanda arttıkları da bildirilmiştir.^{62,63} Periferik kanda yüksek bulunan tRF-5'in epilepsi için öncül bir belirteç olabileceği bildirilmiştir.⁵² Bu nedenle tRF'lerin nörodejeneratif hastalıklar yanında zihinsel yetersizlik gibi nörogelişimsel bozukluklarda da rol oynayacağı düşünülmüştür.^{64,65}

Yapılan çalışmalar; tRF'lerin epigenetik etkileşimler ile OSB'ye neden olabileceğini, hastalığın tanısında bir biyobelirteç ve tedavi hedeflenirken uygun birer molekül olabileceğini akla getirmektedir. Literatürde tRF'ler ile OSB ilişkisini inceleyen insan çalışmaları bulunmamaktadır. Giderek artan kanıtlar nörodejeneratif hastalıklar yanında nörogelişimsel bozukluklar için anne karnında başlayan süreçleri işaret etmekle birlikte tsRNA'ların etyopatogenezdeki rolü hala çalışılmamış bir alandır.

Sonuç

sncRNA'lar beyin gelişimi ve işlevlerinde önemli düzenleyiciler olarak öne çıkan kompleks yapılardır. Sayıları giderek artan ve etkileri henüz tam bilinmeyen sncRNA'lar nörogelişimsel bozukluklar ve nörodejeneratif hastalıklarda dikkat çekmekle birlikte etki mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu alanda yapılan çalışmalar ile sncRNA'ların etkileri, gebelik süreci veya doğum sırasında OSB'nin erken tanısı ve tedavisinin mümkün olabileceğini akla getirmektedir. Etiyopatolojisi hala anlaşılammış ve ciddi işlev kayıpları ile giden OSB için sncRNA'lar ile ilgili daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Etik

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Konsept: N.G.B., B.Ş., Dizayn: N.G.B., B.Ş., Veri Toplama veya İşleme: N.G.B., B.Ş., Analiz veya Yorumlama: N.G.B., B.Ş., Literatür Arama: N.G.B., B.Ş., Yazan: N.G.B., B.Ş.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

1. Volkmar FR, Reichow B. Autism in DSM-5: progress and challenges. *Mol Autism*. 2013;4:13.
2. Knopf A. Autism prevalence increases from 1 in 60 to 1 in 54: CDC, The Brown University Child and Adolescent Behavior Letter. 2020;36:4. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbl.30470>
3. Le Couteur A, Szatmari P. Autism spectrum disorder. Rutter's child and adolescent psychiatry. 2015;6:665-683.
4. Frye RE, Vassall S, Kaur G, Lewis C, Karim M, Rossignol D. Emerging biomarkers in autism spectrum disorder: a systematic review. *Ann Transl Med*. 2019;7:792.
5. Ziats MN, Rennert OM. The Evolving Diagnostic and Genetic Landscapes of Autism Spectrum Disorder. *Front Genet*. 2016;7:65.
6. Tick B, Bolton P, Happé F, Rutter M, Rijdsdijk F. Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *J Child Psychol Psychiatry*. 2016;57:585-595.
7. Saxena R, Babadi M, Namvarhaghghi H, Roulet FI. Role of environmental factors and epigenetics in autism spectrum disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2020;173:35-60.
8. Loke YJ, Hannan AJ, Craig JM. The Role of Epigenetic Change in Autism Spectrum Disorders. *Front Neurol*. 2015;6:107.
9. Yoon SH, Choi J, Lee WJ, Do JT. Genetic and Epigenetic Etiology Underlying Autism Spectrum Disorder. *J Clin Med*. 2020;9:966.
10. Felsenfeld G. A brief history of epigenetics. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6:a018200.
11. Cavalli G, Heard E. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*. 2019;571:489-499.
12. Constantin L. The Role of MicroRNAs in Cerebellar Development and Autism Spectrum Disorder During Embryogenesis. *Mol Neurobiol*. 2017;54:6944-6959.
13. Djebali S, Davis CA, Merkel A, Dobin A, Lassmann T, Mortazavi A, Tanzer A, Lagarde J, Lin W, Schlesinger F, Xue C, Marinov GK, Khaitun J, Williams BA, Zaleski C, Rozowsky J, Röder M, Kokocinski F, Abdelhamid RE, Alioto T, Antoshechkin I, Baer MT, Bar NS, Batut P, Bell K, Bell I, Chakraborty S, Chen X, Chrest J, Curado J, Derrien T, Drenkow J, Dumais E, Dumais J, Duttagupta R, Falconnet E, Fastuca M, Fejes-Toth K, Ferreira P, Foissac S, Fullwood MJ, Gao H, Gonzalez D, Gordon A, Gunawardena H, Howald C, Jha S, Johnson R, Kapranov P, King B, Kingswood C, Luo OJ, Park E, Persaud K, Preall JB, Ribeca P, Risk B, Robyr D, Sammeth M, Schaffer L, See LH, Shahab A, Skancke J, Suzuki AM, Takahashi H, Tilgner H, Trout D, Walters N, Wang H, Wrobel J, Yu Y, Ruan X, Hayashizaki Y, Harrow J, Gerstein M, Hubbard T, Reymond A, Antonarakis SE, Hannon G, Giddings MC, Ruan Y, Wold B, Carninci P, Guigó R, Gingeras TR. Landscape of transcription in human cells. *Nature*. 2012;489:101-108.
14. Cech TR, Steitz JA. The noncoding RNA revolution-trashing old rules to forge new ones. *Cell*. 2014;157:77-94.
15. Hung T, Chang HY. Long noncoding RNA in genome regulation: prospects and mechanisms. *RNA Biol*. 2010;7:582-585.
16. Wang P, Mokhtari R, Pedrosa E, Kirschenbaum M, Bayrak C, Zheng D, Lachman HM. CRISPR/Cas9-mediated heterozygous knockout of the autism gene CHD8 and characterization of its transcriptional networks in cerebral organoids derived from iPS cells. *Mol Autism*. 2017;8:11.
17. Wang Y, Zhao X, Ju W, Flory M, Zhong J, Jiang S, Wang P, Dong X, Tao X, Chen Q, Shen C, Zhong M, Yu Y, Brown WT, Zhong N. Genome-wide differential expression of synaptic long noncoding RNAs in autism spectrum disorder. *Transl Psychiatry*. 2015;5:e660.
18. Ziats MN, Rennert OM. Aberrant expression of long noncoding RNAs in autistic brain. *J Mol Neurosci*. 2013;49:589-593.
19. Kerin T, Ramanathan A, Rivas K, Grepo N, Coetzee GA, Campbell DB. A noncoding RNA antisense to moesin at 5p14.1 in autism. *Sci Transl Med*. 2012;4:128ra40.

20. Wang K, Zhang H, Ma D, Bucan M, Glessner JT, Abrahams BS, Salyakina D, Imielinski M, Bradfield JP, Sleiman PM, Kim CE, Hou C, Frackelton E, Chiavacci R, Takahashi N, Sakurai T, Rappaport E, Lajonchere CM, Munson J, Estes A, Korvatska O, Piven J, Sonnenblick LI, Alvarez Retuerto AI, Herman EI, Dong H, Hutman T, Sigman M, Ozonoff S, Klin A, Owley T, Sweeney JA, Brune CW, Cantor RM, Bernier R, Gilbert JR, Cuccaro ML, McMahon WM, Miller J, State MW, Wassink TH, Coon H, Levy SE, Schultz RT, Nurnberger JI, Haines JL, Sutcliffe JS, Cook EH, Minshew NJ, Buxbaum JD, Dawson G, Grant SF, Geschwind DH, Pericak-Vance MA, Schellenberg GD, Hakonarson H. Common genetic variants on 5p14.1 associate with autism spectrum disorders. *Nature*. 2009;459:528-533.
21. Sarachana T, Zhou R, Chen G, Manji HK, Hu VW. Investigation of post-transcriptional gene regulatory networks associated with autism spectrum disorders by microRNA expression profiling of lymphoblastoid cell lines. *Genome Med*. 2010;2:23.
22. Caharamani Seno MM, Hu P, Gwadry FG, Pinto D, Marshall CR, Galalio G, Scherer SW. Gene and miRNA expression profiles in autism spectrum disorders. *Brain Res*. 2011;1380:85-97.
23. Ander BP, Barger N, Stamova B, Sharp FR, Schumann CM. Atypical miRNA expression in temporal cortex associated with dysregulation of immune, cell cycle, and other pathways in autism spectrum disorders. *Mol Autism*. 2015;6:37.
24. Mor M, Nardone S, Sams DS, Elliott E. Hypomethylation of miR-142 promoter and upregulation of microRNAs that target the oxytocin receptor gene in the autism prefrontal cortex. *Mol Autism*. 2015;6:46.
25. Hicks SD, Carpenter RL, Wagner KE, Pauley R, Barros M, Tierney-Aves C, Barns S, Greene CD, Middleton FA. Saliva MicroRNA Differentiates Children With Autism From Peers With Typical and Atypical Development. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2020;59:296-308.
26. Hicks SD, Middleton FA. A Comparative Review of microRNA Expression Patterns in Autism Spectrum Disorder. *Front Psychiatry*. 2016;7:176.
27. Narayanan R, Schrott G. miRNA regulation of social and anxiety-related behaviour. *Cell Mol Life Sci*. 2020;77:4347-4364.
28. Lyu JW, Yuan B, Cheng TL, Qiu ZL, Zhou WH. Reciprocal regulation of autism-related genes MeCP2 and PTEN via microRNAs. *Sci Rep*. 2016;6:20392.
29. Lee K, Kim JH, Kwon OB, An K, Ryu J, Cho K, Suh YH, Kim HS. An activity-regulated microRNA, miR-188, controls dendritic plasticity and synaptic transmission by downregulating neuropilin-2. *J Neurosci*. 2012;32:5678-5687.
30. Kichukova TM, Popov NT, Ivanov IS, Vachev TI. Profiling of Circulating Serum MicroRNAs in Children with Autism Spectrum Disorder using Stem-loop qRT-PCR Assay. *Folia Med (Plovdiv)*. 2017;59:43-52.
31. Mundalil Vasu M, Anitha A, Thanseem I, Suzuki K, Yamada K, Takahashi T, Wakuda T, Iwata K, Tsujii M, Sugiyama T, Mori N. Serum microRNA profiles in children with autism. *Mol Autism*. 2014;5:40.
32. Talebizadeh Z, Butler MG, Theodoro MF. Feasibility and relevance of examining lymphoblastoid cell lines to study role of microRNAs in autism. *Autism Res*. 2008;1:240-250.
33. Abu-Elneel K, Liu T, Gazzaniga FS, Nishimura Y, Wall DP, Geschwind DH, Lao K, Kosik KS. Heterogeneous dysregulation of microRNAs across the autism spectrum. *Neurogenetics*. 2008;9:153-161.
34. Salloum-Asfar S, Elsayed AK, Elhag SF, Abdulla SA. Circulating Non-Coding RNAs as a Signature of Autism Spectrum Disorder Symptomatology. *Int J Mol Sci*. 2021;22:6549.
35. Mohn F, Handler D, Brennecke J. Noncoding RNA. piRNA-guided slicing specifies transcripts for Zucchini-dependent, phased piRNA biogenesis. *Science*. 2015;348:812-817.
36. Vychytilova-Faltejskova P, Stitkovcova K, Radova L, Sachlova M, Kosarova Z, Slaba K, Kala Z, Svoboda M, Kiss I, Vyzula R, Cho WC, Slaby O. Circulating PIWI-Interacting RNAs piR-5937 and piR-28876 Are Promising Diagnostic Biomarkers of Colon Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2018;27:1019-1028.
37. Chiappori F, Cupaioli FA, Consiglio A, Di Nanni N, Mosca E, Licciulli VF, Mezzelani A. Analysis of Faecal Microbiota and Small ncRNAs in Autism: Detection of miRNAs and piRNAs with Possible Implications in Host-Gut Microbiota Cross-Talk. *Nutrients*. 2022;14:1340.
38. Xu Y, Wang Y, Xu J, Song Y, Liu B, Xiong Z. Leveraging Existing 16SrRNA Microbial Data to Define a Composite Biomarker for Autism Spectrum Disorder. *Microbiol Spectr*. 2022;10:e0033122.
39. Kowalski MP, Krude T. Functional roles of non-coding Y RNAs. *Int J Biochem Cell Biol*. 2015;66:20-29.
40. Kühnlein A, Lanzmich SA, Braun D. tRNA sequences can assemble into a replicator. *Elife*. 2021;10:e63431.
41. Anderson P, Ivanov P. tRNA fragments in human health and disease. *FEBS Lett*. 2014;588:4297-4304.
42. Kumar P, Kuscü C, Dutta A. Biogenesis and Function of Transfer RNA-Related Fragments (tRFs). *Trends Biochem Sci*. 2016;41:679-689.
43. Rechavi O. Guest list or black list: heritable small RNAs as immunogenic memories. *Trends Cell Biol*. 2014;24:212-220.
44. Chan JC, Nugent BM, Bale TL. Parental Advisory: Maternal and Paternal Stress Can Impact Offspring Neurodevelopment. *Biol Psychiatry*. 2018;83:886-894.
45. Sheng J, Xu Z. Three decades of research on angiogenin: a review and perspective. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2016;48:399-410.
46. Thompson DM, Parker R. Stressing out over tRNA cleavage. *Cell*. 2009;138:215-219.
47. Nawrot B, Sochacka E, Döchler M. tRNA structural and functional changes induced by oxidative stress. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68:4023-4032.
48. Huang HY, Hopper AK. Multiple Layers of Stress-Induced Regulation in tRNA Biology. *Life (Basel)*. 2016;6:16.
49. Jehn J, Tremel J, Wulsch S, Ottum B, Erb V, Hewel C, Kooijmans RN, Wester L, Fast I, Rosenkranz D. 5' tRNA halves are highly expressed in the primate hippocampus and might sequence-specifically regulate gene expression. *RNA*. 2020;26:694-707.
50. Xie Y, Yao L, Yu X, Ruan Y, Li Z, Guo J. Action mechanisms and research methods of tRNA-derived small RNAs. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5:109.
51. Su Z, Wilson B, Kumar P, Dutta A. Noncanonical Roles of tRNAs: tRNA Fragments and Beyond. *Annu Rev Genet*. 2020;54:47-69.
52. Hogg MC, Raoof R, El Naggar H, Monsefi N, Delanty N, O'Brien DF, Bauer S, Rosenow F, Henshall DC, Prehn JH. Elevation in plasma tRNA fragments precede seizures in human epilepsy. *J Clin Invest*. 2019;129:2946-2951.
53. Speer J, Gehrke CW, Kuo KC, Waalkes TP, Borek E. tRNA breakdown products as markers for cancer. *Cancer*. 1979;44:2120-2123.
54. Borek E, Baliga BS, Gehrke CW, Kuo CW, Belman S, Troll W, Waalkes TP. High turnover rate of transfer RNA in tumor tissue. *Cancer Res*. 1977;37:3362-3366.
55. Park J, Ahn SH, Shin MG, Kim HK, Chang S. tRNA-Derived Small RNAs: Novel Epigenetic Regulators. *Cancers (Basel)*. 2020;12:2773.
56. Chiou NT, Kageyama R, Ansel KM. Selective Export into Extracellular Vesicles and Function of tRNA Fragments during T Cell Activation. *Cell Rep*. 2018;25:3356-3370.e4.
57. Sun C, Fu Z, Wang S, Li J, Li Y, Zhang Y, Yang F, Chu J, Wu H, Huang X, Li W, Yin Y. Roles of tRNA-derived fragments in human cancers. *Cancer Lett*. 2018;414:16-25.
58. Balatti V, Pekarsky Y, Croce CM. Role of the tRNA-Derived Small RNAs in Cancer: New Potential Biomarkers and Target for Therapy. *Adv Cancer Res*. 2017;135:173-187.
59. Kim HK, Fuchs G, Wang S, Wei W, Zhang Y, Park H, Roy-Chaudhuri B, Li P, Xu J, Chu K, Zhang F, Chua MS, So S, Zhang QC, Sarnow

- P, Kay MA. A transfer-RNA-derived small RNA regulates ribosome biogenesis. *Nature*. 2017;552:57-62.
60. Keam SP, Hutvagner G. tRNA-Derived Fragments (tRFs): Emerging New Roles for an Ancient RNA in the Regulation of Gene Expression. *Life (Basel)*. 2015;5:1638-1651.
61. Kumar P, Anaya J, Mudunuri SB, Dutta A. Meta-analysis of tRNA derived RNA fragments reveals that they are evolutionarily conserved and associate with AGO proteins to recognize specific RNA targets. *BMC Biol*. 2014;12:78.
62. Winek K, Lobentanzer S, Nadorp B, Dubnov S, Dames C, Jagdmann S, Moshitzky G, Hotter B, Meisel C, Greenberg DS, Shifman S, Klein J, Shenhar-Tsarfaty S, Meisel A, Soreq H. Transfer RNA fragments replace microRNA regulators of the cholinergic poststroke immune blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117:32606-32616.
63. Li Q, Hu B, Hu GW, Chen CY, Niu X, Liu J, Zhou SM, Zhang CQ, Wang Y, Deng ZF. tRNA-Derived Small Non-Coding RNAs in Response to Ischemia Inhibit Angiogenesis. *Sci Rep*. 2016;6:20850.
64. Abbasi-Moheb L, Mertel S, Gonsior M, Nouri-Vahid L, Kahrizi K, Cirak S, Wiczorek D, Motazacker MM, Esmaeeli-Nieh S, Cremer K, Weißmann R, Tzschach A, Garshasbi M, Abedini SS, Najmabadi H, Ropers HH, Sigrist SJ, Kuss AW. Mutations in NSUN2 cause autosomal-recessive intellectual disability. *Am J Hum Genet*. 2012;90:847-855.
65. Bednářová A, Hanna M, Durham I, VanCleave T, England A, Chaudhuri A, Krishnan N. Lost in Translation: Defects in Transfer RNA Modifications and Neurological Disorders. *Front Mol Neurosci*. 2017;10:135.