



**DOĞU ANADOLU BÖLGESİNDEKİ OTİZMLİ
ÇOCUKLARDA SERUM AMİNO ASİT VE ASİMETRİK
DİMETİLARJİN DÜZEYLERİ**

Mehmet Ali GÜL

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. F. Zühal UMUDUM**

Doktora Tezi-2019

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOĞU ANADOLU BÖLGESİNDEKİ OTİZMLİ
ÇOCUKLARDA SERUM AMİNO ASİT VE ASİMETRİK
DİMETİLARJİNİN DÜZEYLERİ**

Mehmet Ali GÜL

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. F. Zühal UMUDUM**

**ERZURUM
2019**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOĞU ANADOLU BÖLGESİNDEKİ OTİZMLİ ÇOCUKLARDA
SERUM AMİNO ASİT VE ASİMETRİK DİMETİLLERİNİN
DÜZEYLERİ

Mehmet Ali GÜL

Tez Savunma Tarihi : 09.09.2019

Tez Danışmanı : Prof. Dr. F. Zühal UMUDUM (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Nuri BAKAN (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Abdulgani TATAR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. H. Hakan ALP (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Zübeyir HUYUT (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki Jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM - 2019

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Otizmin Tanımı ve Tarihçesi	4
2.2. Otizmin Epidemiyolojisi.....	5
2.3. Otizm Tanı Kriterleri	6
2.4. Otizmin Etiyolojisi.....	7
2.4.1. Genetik Risk Faktörleri.....	8
2.4.2. Çevresel Faktörler	9
2.4.2.1. Prenatal, Perinatal, Postnatal Risk Faktörleri	10
2.4.3. Gen Çevre Etkileşimi.....	11
2.4.4. Otizm ve Cinsiyet	11
2.5. Otizmin Nörobiyolojisi	12
2.6. Otizmin Tedavisi.....	12
2.7. Diyet faktörleri ve Beslenme ile Otizm İlişkisi	13
2.8. Otizmin Potansiyel Biyobelirteçi Olarak Amino Asitler	13
2.8.1. Otizm ve Amino Asitler.....	14
2.9. Amino Asitler	14

2.9.1. Amino Asitlerin Yapı ve Özellikleri.....	14
2.9.2. Amino Asitlerin Sınıflandırılması	16
2.8.3. Bazı Amino Asitlerin Biyosentezi	19
2.9.3.1. α -Ketoglutarattan; Glutamat, Glutamin, Prolin ve Arjininin oluşumu	19
2.9.3.2. 3-Fosfogliserattan; Serin, Glisin ve Sistein Sentezi.....	21
2.9.3.3. Oksaloasetat ve Pirüvattan Sentezlenen Amino Asitler	23
2.9.4. Amino Asitlerin Katabolizması	23
2.10. Asimetrik Dimetilarginin	24
2.10.1. ADMA Sentezi ve Metabolizması.....	25
2.10.2. ADMA'nın Fiziopatolojisi	26
2.10.3. ADMA ve Hastalıklarla İlişkisi	27
2.11. ADMA ve Amino Asit İlişkisi.....	27
3. MATERYAL VE METOT.....	30
3.1. Materyal.....	30
3.1.1. Örnekler	30
3.1.2. Kimyasallar, Cihazlar ve Ekipmanlar	31
3.2. Metot.....	31
3.2.1. LC-MS/MS Analizi.....	32
3.2.2. Amino Asit Testinin Çalışma Prensibi	34
3.2.2.1. Çalışma Prosedürü	36
3.2.3. LC-MS/MS Parametreleri.....	38
3.2.4. Sonuçların Hesaplanması.....	40
3.3. ADMA Düzeylerinin Çalışma Prensibi	40
3.3.1. Testin Çalışma Prensibi	40
3.3.2. Numunelerin Hazırlanması	41

3.3.3. Standartların Hazırlanması	41
3.3.4. ADMA ELISA Testinin Çalışılması.....	42
3.4. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR.....	45
4.1. Grup Bilgileri	45
4.2. Analiz Sonuçları	45
5. TARTIŞMA.....	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	69
7. KAYNAKLAR	71
8. EKLER	90
EK 1. ÖZGEÇMİŞ.....	90
EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU	91
EK 3. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	93

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve bu tezi hazırlamamda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, benden her türlü desteğini, hoşgörüsünü ve karşılaştığım her türlü sorunda yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. F. Zühal UMUDUM'a en derin saygı ve şükranları sunarım.

Eğitimim boyunca her zaman yakın ilgi ve bilimsel desteklerini gördüğüm hocalarım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ebubekir BAKAN'a, Prof. Dr. Nuri BAKAN'a, Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a, Prof. Dr. M. Sait KELEŞ'e, Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e, Dr. Öğr. Üyesi Zafer BAYRAKTUTAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Muhammet ÇELİK'e, emekli öğretim üyemiz Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN'e, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Abdulgani TATAR'a, değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi F. Betül ÖZGERİŞ'e, Dr. Nezahat Kurt'a, Öğr. Gör. Dr. Özge Nur TÜRKERİ'ye ve Dr. Elif POLAT'a, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Hastalıkları Bölümüne, Dr. Bahadır TURAN'a, bölümümüz sekreteri Keriman ERDEN başta olmak üzere Öğr. Gör. Ufuk KUŞKUN, Kadir BAYRAM, Mehmet EZER ve tüm anabilim dalı ve laboratuvar çalışanlarımıza, araştırma görevlilerine, lisansüstü öğrencilerine ve bu çalışmayı 2016/67 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, her zaman yanımda olan ve desteklerini benden esirgemeyen aileme, eşime, kızıma ve oğluma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mehmet Ali GÜL

ÖZET

Doğu Anadolu Bölgesindeki Otizmlı Çocuklarda Serum Amino Asit ve Asimetrik Dimetilarjinin Düzeyleri

Amaç: Otizm spektrum bozukluğu yaşamın erken döneminde başlayan sosyal iletişim, etkileşim ve kısıtlı ve tekrarlayıcı davranışlarla karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur. Görülme sıklığı her geçen gün artmaktadır. OSB genetik, çevresel, immünolojik faktörlerin sebep olduğu multifaktöriyel bir hastalıktır ve sebepleri tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmanın amacı otizmlı çocuklarda amino asit ve asimetrik dimetilarjinin otizmin patogenizindeki rolünü incelemektir.

Materyal ve Metot: Bu çalışmaya 25 OSB olan çocuk ve 20 sağlıklı çocuk dahil edilmiştir. Amino asit düzeyleri LC/MS-MS cihazı ile, ADMA düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür.

Bulgular: OSB grubunda, kontrol grubuna oranla serum alanin, glutamik asit, glisin, histidin, ornitin, prolin, serotonin, triptofan düzeyleri istatistiksel olarak yüksek bulunurken; aspartik asit, beta-aminoizobütirik asit ve GABA düzeyleri istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.005$). ADMA, arjinin, arjinosüksinik asit, anserin, asparajin, beta alanin, sitrülün, glutamin, histamin, hidroksprolin, izolösin, lösin, lizin, metiyonin, fenilalanin, sarkosin, serin, treonin, tirozin, valin serum düzeylerinde istatistiksel olarak fark bulunamamıştır ($p>0.005$).

Sonuç: OSB grubunda, bazı amino asit düzeyleri, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunurken, bazı amino asit düzeyleri de düşük bulunmuştur. ADMA düzeyleri arasında ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Amino asit, asimetrik dimetilarjinin, otizm spektrum bozukluğu

ABSTRACT

Serum Amino Acid and Asymmetric Dimethylarginine Levels in Children with Autism in Eastern Anatolia Region

Aim: Autism spectrum disorder is a neurodevelopmental disorder with an onset early in life. It is characterized by varying deficits in social communication, interaction and restricted and repetitive behaviors. There is recently an increase in the incidence of the disorder. ASD was recently considered a multifactorial disorder caused by the interaction with genetic, environmental, immunological and other factors. The aim of the study is evaluate the serum amino acids and ADMA levels of the children with ASD.

Material and method: This study was carried out in 25 children with ASD and 20 healthy children. Amino acid levels were measured by LC-MS/MS and ADMA levels were measured by ELISA method.

Results: ASD group patients had a significantly higher concentration of: Alanine, glutamic acid, glycine, histidine, ornithine, proline, serotonin, tryptophan levels compared to the control group, whereas aspartic acid, BAIB and GABA levels had statistically lower ($p < 0.005$). ADMA, arginine, argininosuccinate, anserine, asparagine, beta alanine, citrullin, glutamine, histamine, hydroxyproline, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, sarcosine, serine, threonine, tyrosine, valine serum levels were not found statistically significant ($p > 0.005$).

Conclusion: Some amino acid levels were found significantly higher than the control group, while some amino acid levels were found lower. In the group with ASD compared to the control group, no statistically significant difference was found between ADMA levels.

Key Words: Amino acid, asymmetric dimethylarginine, autism spectrum disorder

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADMA	:	Asimetrik dimetilarjinin
ALA	:	Alanin
ARGSUC	:	Arjininosüksinik asit
ASN	:	Asparajin
ASP	:	Aspartik asit
ATP	:	Adenozin trifosfat
BAIB	:	Beta aminoizobütirik Asit
BALA	:	Beta alanin
CAT	:	Katyonik amino asit taşıyıcısı
CIT	:	Sitrülin
DDAH	:	Dimetilarjinin dimetil aminohidrolaz
DSM	:	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
ELISA	:	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
GABA	:	Gamma aminobutirik asit
GLN	:	Glutamin
GLU	:	Glutamik asit
GLY	:	Glisin
GSH	:	Glutatyon
HIS	:	Histidin
HISTA	:	Histamin
HYP	:	Hidroksiprolin
ILEU	:	İzolösin
LCMS/MS	:	Sıvı kromatografisi kütle spektrometresi
LEU	:	Lösin

LYS	:	Lizin
M/Z	:	Kütle/yük
MET	:	Metiyonin
NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrik oksit sentaz
ORN	:	Ornitin
pH	:	Hidrojen gücü
PHE	:	Fenilalanin
PRMT	:	Protein arginin metiltransferaz
PRO	:	Proline
SAR	:	Sarkosin
SDMA	:	Simetrik dimetilarjinin
SER	:	Serin
SRTN	:	Serotonin
THR	:	Treonin
TRP	:	Triptofan
TYR	:	Tirozin
VAL	:	Valin

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Yıllara göre otizm araştırmalarındaki artış grafiği	5
Şekil 2.2. Otizm sebeplerinin yüzdesel dağılımı	8
Şekil 2.3. Amino asitlerin genel yapısı.....	16
Şekil 2.4. Glutamat oluşumu	19
Şekil 2.5. Glutamin oluşumu	20
Şekil 2.6. Prolin sentezi	21
Şekil 2.7. Serin, glisin sentezi.....	22
Şekil 2.6. Asimetrik dimetilarjinin yapısı.....	24
Şekil 2.7. ADMA'nın NOS aktivitesi ve endotelial NO oluşumu	25
Şekil 2.8. ADMA metabolizması	26
Şekil 3.1. Laboratuvarımızdaki Tandem Gold LC-MS/MS cihazı.....	34
Şekil 3.2. Amino asit testinin çalışma prensibi	35
Şekil 3.3. Manuel Numune Hazırlığı.....	37
Şekil 3.4. Standart ELISA grafik eğrisi.....	43
Şekil 4.1. Alanin sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği	49
Şekil 4.2. Asp sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği.....	50
Şekil 4.3. Baib sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği.....	50
Şekil 4.4. GABA sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği.....	51
Şekil 4.5. Glu sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği	51
Şekil 4.6. Gly sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği	52
Şekil 4.7. His sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği.....	52
Şekil 4.8. Orn sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği	53
Şekil 4.9. Pro sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği.....	53

Şekil 4.10. Ser sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği..... 54

Şekil 4.11. Trp sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği 54

Şekil 4.12. ADMA sonuçlarına asit OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği 55



TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Esansiyel ve esansiyel olmayan aminoasitler	15
Tablo 2.2. Polar olmayan amino asitler ve sembolleri.....	17
Tablo 2.3. Aromatik R grubu içeren amino asitler ve sembolleri	17
Tablo 2.4. Polar yüksüz R grubuna sahip amino asitler ve sembolleri	18
Tablo 2.5. Pozitif yüklü R grubuna sahip amino asitler ve sembolleri	18
Tablo 2.6. Negatif yüklü R grubuna sahip amino asitler ve sembolleri.....	19
Tablo 3.1. Kimyasallar ve ticari kitler	31
Tablo 3.2. Cihazlar ve ekipmanlar	31
Tablo 3.3. LC-MS/MS Kit içeriği	35
Tablo 3.4. Kit içeriği dışında temin edilen malzemeler	36
Tablo 3.5. Cihaz parametreleri	38
Tablo 3.6. MS Scan Parametreleri	39
Tablo 3.7. ADMA ELISA kit içeriği	41
Tablo 3.8. Standart seri seyreltme işlemleri.....	42
Tablo 4.1. Gruplara ait yaş kilo boy bilgileri	45
Tablo 4.2. Gruplara ait amino asit ve ADMA sonuçları	45

1. GİRİŞ

Otizm, kısıtlı ve tekrarlayan davranış ve ilgi alanları, sosyal iletişimde zorluklarla karakterize heterojen nörogelişimsel bir durumdur.¹ Otizmin ilk tanımı 1943 yılında Leo Kanner tarafından yapılmıştır. Bir süre boyunca ebeveyn tutumlarının ve çevresel faktörlerin konuşma geriliği, sosyal geri çekilme gibi davranışlardan sorumlu olduğuna inanılmıştır. Daha sonra bozukluğun nörolojik temelli olduğu yönünde kanıtlar bulunmuştur.^{2,3} Son zamanlarda ise bazı gen mutasyonları gibi farklı etiyolojik faktörlere bağlanan nörogelişimsel durumlar bütünü olarak düşünülmektedir.¹ Otizm tanımı zaman içinde değişimlere uğramıştır. Son olarak, psikiyatrik sınıflama sistemi olan DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) ile otizm, otizm spektrum bozukluğu (OSB) çatısı altında kabul edilmiştir.⁴

Günümüzde görülme sıklığı artmakla beraber, mevcut yaygınlığın gelişmiş ülkelerde %1.5 olduğu tahmin edilmektedir.⁵ Artışın sebebi tanı kriterlerinin değişmesi, hastalığa karşı olan farkındalığının artması ile ilişkilendirilse bile hastalığın insidansındaki artış göz ardı edilemez.⁶ Çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır ama bunların hiç biri tek başına otizmin artan prevalansını açıklayamamaktadır.⁷

Hastalığın temelinde yatan sebepler hakkında çok az bilgiye sahip olmamıza rağmen, ciddi bir şekilde konu ile ilgili çalışmalara son zamanlarda başlanmıştır.⁸ Genetik ve çevresel faktörlerin OSB etiyolojisinde payı vardır.⁹ Spesifik otizm risk genlerini tanımlamak için iki temel yöntemle gen çalışmaları yapılmaktadır. Bunlardan birincisi tüm gen bölgesinde polimorfizm çalışmaları diğeri ise spesifik gen bölgeleri çalışmalarıdır.⁸ İkiz bireyler üzerine çalışmalar, birinci dereceden aile çalışmaları, otizmin etiyolojisinde genetiğin önemini desteklemektedir.¹⁰ Kalıtsallığın olduğu belirlenmiş olmasına rağmen, kalıtımın nasıl gerçekleştiği belirlenememiştir.⁸ Erkek çocuklarda kız çocuklara oranla 4 kat daha fazla görülmektedir ve bunun spesifik

sebepleri bilinmemektedir.^{11, 12} Yeni verilere göre çevresel faktörler de hastalığın etiyolojisine katkıda bulunabilmektedir. Bazı çalışmalara göre otizmin etiyolojisinde, genetik faktörlere olduğundan fazla değer verilirken, çevresel faktörlere daha az önem verilmektedir.^{13, 14}

OSB'nin başlangıç nedenlerini bulmak ve tanımlamak, davranışsal tanıyı iyileştirmek ve onaylamak için, biyobelirteçlere büyük ihtiyaç vardır.¹⁵ Biyobelirteçler içerisinde amino asitler de vardır. Serum, plazma, idrar gibi vücut sıvıları, OSB çalışmalarında çok kademeli çalışmalarda araştırma malzemesi olarak kullanılmaktadır. OSB için potansiyel biyobelirteçler olarak kabul edilen organik bileşikler arasında birçok amino asit vardır.¹⁶

Amino asit taşıyıcı bozuklukları, azalan detoksifikasyon, bozulmuş metilasyon ve sülfasyon OSB'de meydana gelen biyomedikal anormallikler arasındadır ve amino asitlerle ilişkilidir. Bununla birlikte, diyetle çeşitli esansiyel amino asitlerin yeterli olup olmadığı dışında, amino asit analizlerinden başka bilgiler elde edilebilir. Önemli olan başka bir durum ise, merkezi sinir sistemi nörotransmitterleri için öncül madde olarak işlev gören nötr amino asitlerin yeterli olup olmadığının belirlenmesidir.¹⁷ Yapılan mevcut çalışmalardaki kısıtlılıklardan dolayı, konu ile ilgili daha çok çalışma yapılması önerilmektedir.¹⁸

Çoğu otizmlili çocuk yemek konusunda titiz ve seçicidir. Çeşitli, farklı yiyeceklerden hoşlanmazlar, yeme problemleri beslenme eksiklikleri için risk faktörleridir.¹⁹ Diyetle alınan amino asitler çok önemlidir. Amino asitler, otizmin tedavisi ve nörobiyolojisinde önemli yere sahiptir. Birçok hastalıkla ve önemli metabolik olaylarla olan önemli ilişkisinden dolayı otizmlili çocukların amino asit düzeylerini araştırmayı ve sağlıklı çocuklarla karşılaştırarak, durumlarını incelemeyi amaçladık.

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), arjinin amino asitinin modifiye olmuş bir analogudur. Bütün insan hücrelerinin sitoplazmasında gerçekleşen sürekli protein dönüşüm süreçlerinin metabolik bir yan ürünüdür.²⁰ ADMA endojen nitrik oksit sentazı (NOS) inhibe eder. L-Argininin hücre içine alınımını ve L-Arjininden nitrik oksit (NO) sentezini engeller.²¹ ADMA'nın kardiyovasküler ve böbrek hastalıkları başta olmak üzere, bazı hastalıkların komplikasyonlarındaki sebeplerine dair elde edilen bulgular vardır.²² ADMA'nın keşfi ve nitrik oksit sentezi üzerindeki in vitro ve in vivo indirgeyici etkilerinin gözlemlenmesi, hastalıklardaki rolünü keşfetmeye çalışan geniş bir araştırma yapısına yol açmıştır.²⁰ NO hücre dışına difüze olduğunda çeşitli nörotransmitterlerin uyarımını sağlar. Bu nörotransmitterler çeşitli psikiyatrik hastalıkların etyopatogenezinde rol oynar. Dolayısıyla NO'in en önemli düzenleyicisi olan ADMA benzer şekilde psikiyatrik hastalıkların etyopatogenezinde rol alabilir.²³ Bizim bilgilerimiz dahilinde, OSB'li hastaların serum örnekleri üzerine üzerine yapılan ADMA çalışması bulunmamaktadır. Oksidatif stres ve otizm arasındaki ilişki bilinmektedir. Bizde bu çalışmamızda oksidatif stresle ilişkili olan ADMA²⁴ ile OSB ve amino asitler arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Bu hastalığın sebeplerinin tam olarak bilinmemesi, yapılan çalışmaların uzun bir geçmişe dayanmaması ve görülme sıklığının gün geçtikçe artması, toplumsal farkındalığın artması, gibi sebeplerden dolayı otizm çalışmalarına günümüzde daha çok önem verilmeye başlamıştır. Yaptığımız çalışmada otizme sebep olabilecek metabolik olayları aydınlatmak istedik.

2. GENEL BİLGİLER

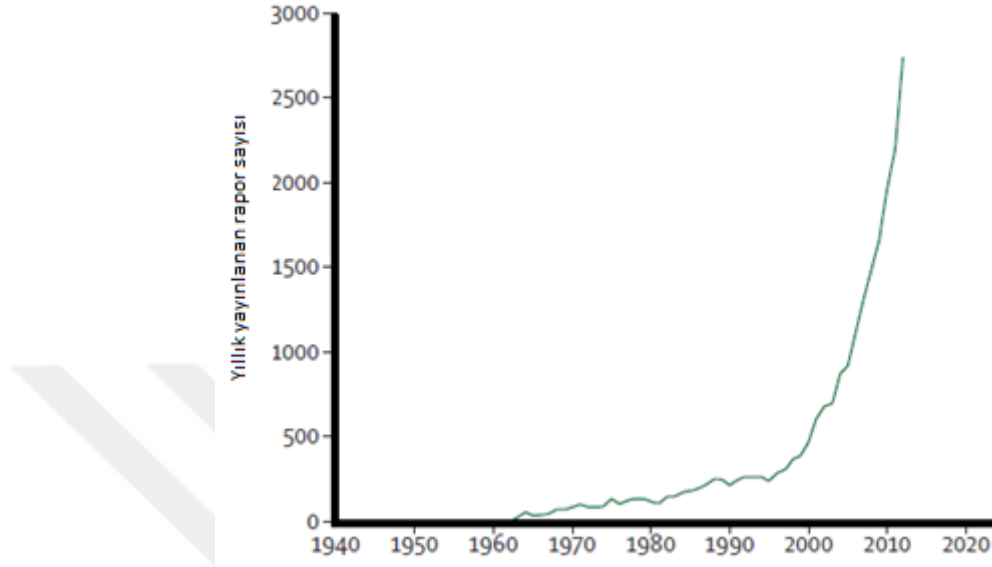
2.1. Otizmin Tanımı ve Tarihçesi

OSB, sosyal etkileşim, iletişim eksikliği, tekrarlayan davranışlarla ve nörogelişimsel bozukluklarla ilişkili bir durumdur.⁸

Günümüzde otizm ya da otizm spektrumu denilen durumun ilk tanımlamasını 1943 yılında Leo Kanner yapmıştır, tanım günümüze kadar oldukça değişime uğramıştır.¹ Leo Kanner 11 çocuk üzerinde yaptığı gözlemlerde, tekrarlayan davranışlar, iletişimde yetersizlik, dil gelişiminde alışılmadık durumlar belirlemiştir.²⁵ Kanner gözlemlerinde bu durumun, bebeklik döneminde mevcut olduğu belirtilerek, bu durumu çocukluk otizmi olarak tanımlamıştır. 1970'lere kadar şizofreni ile aynı grupta tanımlanmış, şizofreninin çocukluk formu olarak düşünülmüştür. Daha sonra, Amerikan Psikiyatri Birliği tarafından yayınlanan, zihinsel hastalıklara tanı koyma kriterlerini belirleyen DSM-3'e kadar bağımsız bir tanımlaması yapılmamıştır.²⁵ 1944'te Hans Asperger, sosyal beceriler ve sözel olmayan iletişimde zorluk çeken çocukları "otistik psikopati" tanımını yaparak açıklamıştır.²⁵

DSM'nin 3. versiyonu olan, DSM-3'te yaygın gelişimsel bozukluklar çatısı altında incelenmiştir ve hastalığın tanısı için 30 aydan önce başlamış olması gerektiğine yer verilmiştir.²⁶ DSM-4 ve hastalıkların uluslararası sınıflandırılmasının 10. revizyonu düzenlemelerinde kısıtlı, tekrarlı davranışlar ve ilgi alanlar, iletişim ve sosyal etkileşimde bozulmalar olarak yaygın gelişimsel bozukluklar altında incelenmiş, Asperger, Rett gibi bozuklukları da bu tanım altına almıştır.²⁷ 2013 yılında yayınlanan DSM-5 ise bu bozuklukların farklı kategorilere ayrılmasını reddeder ve bunun yerine üniter bir yaklaşım olan otizm spektrum bozukluğunu önermektedir. Otistik bozukluk, Asperger bozukluğu ve yaygın gelişimsel bozukluk OSB olarak yer almıştır.⁴ 1990'ların

ortasından bu yana otizm araştırmalarında da hızlı bir artış görölmektedir. Şekil 2.1. de grafik olarak gösterilmiştir.¹



Şekil 2.1. Yıllara göre otizm araştırmalarındaki artış grafiği

Otizmin karmaşık tanımında DSM-3'teki tanımlardan DSM-5'e kadar olumlu yönde sürekli iyileştirmeler olmuştur. OSB tanımı, bu günlerde ise genel anlamda; karmaşık, çoklu heterojen etiyolojiye sahip, yaygın, alt tipleri olan bir bozukluk olarak kabul edilmektedir.²⁵

2.2. Otizmin Epidemiyolojisi

Otizmin görölme sıklığı son yıllarda düşünölenen oldukça fazladır ve görölme sıklığı artmaktadır.⁶ 1980'lerde otizmin az göröldüğu ve bu oranın 5/10.000'den az olduğu düşünöliyordu.²⁸ Yakın zamanlarda yapılan alışmlarda bu oranın çok daha fazla olduğu anlaşılmıştır.⁸ 2010 yılında ise görölme oranının 76/1000 olduğu düşünölmektedir. Bu artışa hastalığın kriterlerinin değişimi, daha kapsamlı örnek metodolojileri ve metodolojik farklılıkların da sebep olduğu düşünölmektedir.²⁹ Günümüzde ise mevcut oranının gelişmiş ölkelerde en az % 1,5 olduğu tahmin

edilmektedir. Ayrıca neredeyse tüm tanımlayıcı epidemiyoloji çalışmaları çocuklar üzerine odaklanmıştır, yetişkinler üzerine çok az çalışma bulunmaktadır.⁵ Amerika Birleşik Devletlerinde son yıllarda OSB olan çocukların görülme sıklığında anlamlı bir artış bulunmaktadır ve 36 çocuktan 1'inde olacak kadar arttığı tahmin edilmektedir.^{30, 31} Görülme sıklığı üzerine yapılan çalışmalarda bulunan farklı sonuçların sebebi olarak metodolojilerin her hangi bir standardizasyonunun olmaması, çalışmaların büyük popülasyonlar içermesi, gösterilebilir.³²

2.3. Otizm Tanı Kriterleri

OSB için güncel DSM-5 tanı kriterleri kısaca aşağıdaki gibi tanımlanmıştır.²⁵

I. Toplumsal iletişim ve toplumsal etkileşimde sürekli yetersizliğin olması.

(şimdi veya geçmişte görülmüş olması)

- a) İkili konuşmada güçlük, duygularını paylaşmada yetersizlik gibi toplumsal, duygusal karşılık vermede yetersizlik.
- b) Yüz ifadesi ve beden dilinde bariz eksikler gibi toplumsal etkileşim için kullanılan, sözel olmayan iletişimsel davranışlarda eksiklik.
- c) Arkadaş edinememe, farklı toplumsal ortamlara uygun davranma gibi ilişkiler kurma, ilişkilerini sürdürme ve ilişkileri anlama yetersizlikleri.

II. Şu an veya geçmişte olan, en az ikisinin varlığı ile ortaya çıkan sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar.

- a) Oyuncakları dizme gibi tekrarlayıcı motor hareketler, obje kullanımı.
- b) Her gün aynı yolu kullanma, aynı yemeği yeme gibi rutinelere tutucu şekilde bağlı olma.
- c) Alışılmadık nesnelere anormal aşırı bağlılık gibi kısıtlı değişiklik göstermeyen sınırlı ilgi alanları.

d) Aşırı ya da az duyarlılık gösterme. Acıya tepkisiz kalma, ışık veya görsel hareketlere aşırı ilgilenme.

III. Gelişimin erken evrelerinde belirtilerin mevcut olması.

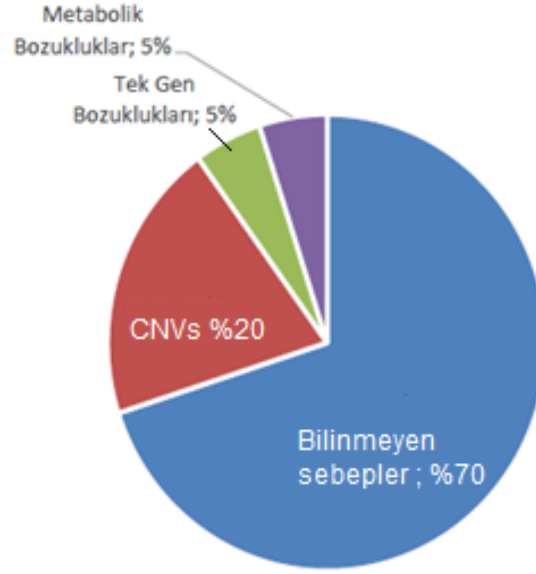
IV. Belirtilerin önemli derecede hayata, iş hayatına, sosyal yaşama klinik olarak etki etmesi.

V. Zihinsel yetersizlik veya genel gelişimsel gerilik sebebi ile gözükmemesi.

Bahsedilen tanı kriterleri batılı ülkelerde yaşayan katılımcı kültürlerine göre belirlenmiştir. Bu kriterlerin oluşturulmasında ağırlıklı olarak biyolojik faktörlerden yararlanılmış olmasına rağmen, sosyal ve kültürel faktörlerin bu kriterlerin kabul edilebilirliğini etkilediği düşünülmektedir.³³ Batı kültüründe hastalığın kriteri olabilecek bir durum, başka bir kültürde normal bir davranış olarak kabul edilebilmektedir.²⁵ Bu durum da kriterlerin dünya çapında kullanılabilirliğini sorgulamaktadır.

2.4. Otizmin Etiyolojisi

Otizmin sebepleri henüz tam aydınlatılamamıştır. Kompleks ve multifaktöriyel olması dışında henüz çok az şey bilinmektedir.³⁴ Otizm üzerine yapılan ciddi çalışmalara son yıllarda önem vermeye başlamıştır. Yapılan çalışmalarda hastalıkla ilgili bazı risk faktörleri, nörobiyolojik, genetik temelle ilgili ilişkiler tanımlanmıştır.^{5, 8} Otizm genetik ve genetik olmayan risk faktörlerinden kaynaklanan karmaşık bir bozukluktur. İkizler üzerine yapılan klinik çalışmada, OSB gelişme riskinin % 35-40 genetik değişkenlere, geri kalanının ise doğum öncesi, doğum sırası ve doğum sonrası çevresel faktörlere bağlı olduğu belirlenmiştir.^{35, 36} Bilinen sebepler ve bilinmeyen sebeplerin yüzdesel dağılımı Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.³⁷



Şekil 2.2. Otizm sebeplerinin yüzdesel dağılımı

2.4.1. Genetik Risk Faktörleri

Otizmin etiolojisinde genetiğin önemli bir yeri vardır ve yapılan çalışmalar hastalığın yüksek derecede genetik heterojenite gösterdiğini ileri sürmektedir.³⁸ Aynı zamanda otizmin basit bir genetik kalıtım şeklini takip etmediği ve monogenik bir mekanizma ile açıklanmasının zor olduğu düşünülmektedir.³⁹ Genetik yapı büyük ölçüde değişkenlik göstermektedir, tek bir penetrant mutasyonu da, binlerce düşük riskli alellerin birikimi de, OSB'ye sebep olabilir.⁴⁰

OSB vakalarının en az %70'nin genetik etiolojisi halen bilinmemektedir.³⁷ Son çalışmalar, sadece beyin gelişiminin sınırlı biyolojik yollarını etkileyen çok sayıda genetik değişiklikten kaynaklandığını düşündürmektedir.⁴¹ OSB'nin, zihinsel engelli ve nöropsikiyatri bozukluklar ile ilgili genleri içermesi, etiolojisinde genetik varyantların yer almasının kanıtı olarak düşünülmektedir.⁴² OSB'de yer alan çok sayıda genin, nöronal ve sinaptik hemeostaziye etkileyen yollarda yer aldığı ve temel gelişme yollarında önemli görev aldığı düşünülmektedir.⁴³ Örneğin, sinaptik bir (iskele) protein

olan SHANK3'ün tek bir kopyasının mutasyonu, OSB'li bireylerde dil ve iletişim bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir.^{25, 44}

OSB'dan sorumlu olabilecek genlerin araştırılması için, tam-genom (whole-genome) tarama testlerinde OSB yatkınlık genleri araştırılmaktadır. Gen analizi çalışmalarında, 20 farklı kromozomda otizm lokusu için kanıt bulunmuştur, birden çok çalışma, 1p, 5q, 7q, 15q, 16p, 17q, 19p, ve Xq kromozom bölgeleri dahil olmak üzere birden fazla ilgili bölgeleri içerdiğini göstermiştir.^{38, 45} Yapılan farklı çalışmalarda, sık ve güçlü bir bağlantı kanıtı bulunan en ilginç bölgeler, 2q ve 7q kromozomları üzerinde bulunan bölgelerdir. Bu kromozomal bölgelerde, belirli aday genleri belirleme girişimleri üzerine yapılan çalışmalarda, 2q24–q33'de bulunan, mitokondriyal aspartat/glutamat taşıyıcı SLC25A12 ve CMYA3 genleri arasında pozitif ilişki bulunmuştur.⁴⁵

Otizme yatkınlığa sebep olduğu düşünülen gen sayısının 400-1000 civarında olduğu tahmin edilmektedir.^{25, 46} OSB tanısı alan kişilerin yaklaşık %10'unda genetik hastalık vardır, yaygın olarak OSB vakalarının %1-2'sinde Fragile-X sendromu, %1'inde tüberoskleroz, %0,5'inde Rett Sendromu görülmektedir.⁴⁷ Az görülen kromozomal anormallikler de mevcuttur (genel popülasyonda <% 5 minör allel sıklığı). En çok görülen sitogenetik anormallik %1 ile %3 oranında, Prader-Willi/Angelman sendromu bölgesinin 15q11-q13 duplikasyonunda belirlenmiştir.⁴⁸

2.4.2. Çevresel Faktörler

Otizmin risk faktörleri insan ve hayvan çalışmaları ile belirlenmeye çalışılmaktadır. Bazı hayvan modeli çalışmalarının, insanlardaki otizm ile ilişkilendirilmesinin doğru olup olmadığı tartışmaları devam etmektedir. Ama çoğu araştırmacı, çevresel risk faktörlerinin hayvan modelleri ile belirlenebileceğini kabul etmektedir.⁷

Arsenik, civa, kadmiyum gibi sülfhidril rekatif metaller otizm prevalansı ve riski ile ilişkilidir. Otizmlili ve sağlıklı çocuklardan alınan saç örneklerinde, sülfhidril reaktif metal düzeylerinin otizmlili çocuklarda sağlıklı çocuklara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.⁴⁹

Kızamık kabakulak, kızamıkçık aşıları ve otizm arasında her hangi bir ilişki bulunamamıştır.⁵⁰

Yapılan çalışmalarda gebelik sırasında alkol ve sigara kullanımının doğrudan otizmle ilişkili olmadığı gösterilmiştir.⁵¹

2.4.2.1. Prenatal, Perinatal, Postnatal Risk Faktörleri

Prenatal dönem otizm risk faktörleri açısından oldukça önemlidir. Embriyogenez sırasında, otizmi arttırdığı bilinen risk faktörlerinin kritik etki dönemleri vardır.⁵² Yapılan çalışmalarda; doğum öncesi, maternal rubella enfeksiyonu; etanol, thalidomide, valproic acid, misoprostol gibi etkenlere maruziyetlerin OSB riskini arttırdığı belirlenmiştir.⁵²

Dış çevresel faktörlerin dışında, fetüsü çevreleyen çeşitli biyolojik koşullar, doğum öncesi uterustaki koşullar, OSB gelişimi için risk faktörleridir. Hamilelik öncesi vücut kitle indeksi 35'ten büyük aşırı obez kişilerin çocuklarında otizm riskinin arttığı gösterilmiştir.⁵³ Obezite, hipertansiyon, önceden var olan tip II diyabet veya gestasyonel diabetes mellitus gibi annenin metabolik durumlarının, OSB dahil, çocuklarda nörogelişimsel bozuklukların görülme riskinin artması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁵⁴ OSB'si olan 3,388 çocuğu içeren büyük retrospektif kohort çalışması, 26 hafta veya daha önce teşhis edilen maternal gestasyonel diabetes mellitusun, çocuklar için OSB için önemli bir risk faktörü olduğunu göstermektedir.⁵⁵

Doğum, OSB dahil, atipik nörogelişimin ortaya çıkması için kritik bir dönem olabilir.⁵⁶ Doğum travması, kordon bağı komplikasyonları, düşük doğum ağırlığı (<1,5 kg) güçlü OSB riski ile ilişkilendirilmiştir.⁵⁷

Yaşadığı ülkeden başka bir ülkeye doğum için giden annelerin çocuklarında potansiyel olarak OSB risk faktöründe artma belirtilmiştir.⁵⁸ İskandinav ülkelerde yapılan çalışmalarda, doğum için yurt dışına giden, doğumu yurt dışında yapan annelerin çocuklarında OSB riskinin arttığı gösterilmiştir.⁵⁹

Uterus, postnatal ve erken çocukluk döneminde vitamin D düşüklüğü, özellikle OSB olmak üzere, nörogelişimsel bozukluklar için bir risk faktörü olarak varsayılmaktadır.⁶⁰

2.4.3. Gen Çevre Etkileşimi

Gen ve çevre etkileşimlerinin ikisi de otizme sebep olabilirken, tek başına otizme yeterli sebep değildir. Az seviyede kimyasala maruz kalma, genetik etkenler tarafından da etkilenen aynı moleküler, hücresel ve davranışsal sonuçlara tesir edebilir. Yapılan çalışmalarda, doğuştan gelen genetik zafiyetlerin varlığı, OSB için genetik risk sebebi olan durumlarda, çevresel faktörlerin etkisinin eşğini azaltabilir. Bu durum da farklılaşan çevrenin etkisine genetik zemin hazırlayabileceği gösterilmiştir.^{61, 62}

2.4.4. Otizm ve Cinsiyet

OSB'un sebebi tam açıklanamayan ama en iyi belgelenen özelliklerinden biri cinsiyet dağılımı arasındaki farktır. OSB erkeklerde kızlara göre 4 kat daha fazla görülmektedir, hastalığın en iyi kanıtlanmış ama açıklanamayan sebebi cinsiyet dağılımıdır.⁶³ Cinsiyete dayalı genetik ve hormonal faktörler bu dağılımın sebebi olabilir.⁶⁴ Cinsiyet dağılımını açıklamak için çeşitli teoriler önerilmiştir. Bunlardan birisi de otizmi erkek profilinin uç noktası olarak kabul eden “aşırı erkek beyni” teorisidir. Bu teorisinin potansiyel mekanizmasının özeti ise, sonradan OSB teşhisi konan

erkeklerde, amniyotik sıvı steroid hormonlarının (seks steroidlerinin) yükselmesidir.^{65, 66} Genetik çalışmalardan elde edilen sonuçlara dayanan bir “kadın koruyucu model” önerilmiştir. Yapılan genetik çalışmada, aynı belirtilerle başvuran erkeklere kıyasla kızların, kopya sayısı varyantları, tek nükleotid varyantları da dahil olmak üzere, aynı semptomlarla başvuran erkeklerden daha fazla nörogelişimsel olarak ilişkili genetik mutasyonlara sahip olma olasılıklarından dolayı, genetik olarak dayanıklılık gösterebilecekleri belirtilmiştir.^{67 25}

2.5. Otizmin Nörobiyolojisi

Limbik sistem anormallikleri olduğuna dair kanıtlar, nöropsikolojik kadar nöropatolojik bulgulara da dayanmaktadır.⁶⁸ Bilişsel beyin mekanizmaları üzerine yapılan araştırmalar, bilişsel bozukluklar da dahil olmak üzere, otizmin birçok belirti ve bulgusu için merkezi bir açıklama olarak serebellar işlev bozukluğuna işaret etmektedir, bu durum beyinciği (serebellum) anormal olarak gösteren nöropatolojik ve nörogörüntüleme bulguları ile vurgulanmaktadır.⁶⁹ Beyin sapı, beyincik ve kortekste gözlenen anormal nöronal göç, otizmde beyin lezyonlarının fetal gelişimde çok erken olduğunu göstermektedir.⁶⁸

Frontal kortekste piramidal nöronların kaybı, limbik sistem anormallikleri ve serebellumdaki önemli Purkinje hücreleri kaybı otizimli bireylerde gösterilmiştir ve halen araştırılmaya devam edilmektedir.⁷⁰

2.6. Otizmin Tedavisi

Otizmin tam bir tedavisi günümüzde mevcut değildir. Hastalığın semptomlarını iyileştirmek için sınırlı tedavi yolları vardır. Çevresel, genetik, bilişsel, sosyal etkiler, tedavinin potansiyel etkinliğini azaltabilmektedir ve en etkili tedavinin tanımlanmasını zorlaştırmaktadır.⁷¹

Yoğun erken davranışsal müdahale, OSB ile ilişkili davranışsal semptomlar için mevcut altın standart tedavi olarak kabul edilir.⁷² Bu yöntem pahalıdır ve tüm OSB'li çocuklara ulaşamamaktadır. Sinirlilik semptomları için risperidon, basmakalıp davranış ve hiperaktivite semptomları için aripiprazol OSB tedavisinde kullanılan bazı ilaçlardır.^{25, 73}

2.7. Diyet faktörleri ve Beslenme ile Otizm İlişkisi

Araştırmalar, OSB olan bireylerin besinsel olarak duyarlı olduklarını belirtmektedir. Çünkü beslenmede, kısıtlı alımlara eğilimli veya seçici bir yeme modeli ve duyuşal duyarlılık sergiledikleri gözlemlenmiştir.⁷⁴ Otizmliler çocukların beslenme ve metabolik durumu ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır, ancak her biri sadece birkaç biyobelirteç üzerinde çalışılmıştır. Bazı çalışmalar, otizmliler çocuklarda metilasyonun bozulduğunu, glutasyon ve oksidatif stresin azaldığını göstermiştir.¹⁸

Tipik olarak gelişmekte olan çocuklarla karşılaştırıldığında, OSB olan önemli sayıda kişinin yetersiz kalsiyum, demir, çinko, A vitamini, D vitamini, E vitamini, riboflavin, C vitamini, B-12 vitamini, folik asit ve kolin alımına sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.⁷⁴

2.8. Otizmin Potansiyel Biyobelirteçi Olarak Amino Asitler

Biyobelirteç araştırmaları çok yönlüdür ve bir dizi analitik platforma dayanır. OSB'nin erken dönem durumun sebeplerini saptamak ve belirlemek, tanı koyma kriterlerini kolaylaştırmak ve onaylamak için biyobelirteçlere büyük ihtiyaç vardır. OSB için potansiyel biyobelirteçler olarak kabul edilen organik bileşikler arasında birçok amino asit vardır.¹⁶

OSB'li bireylerde amino asitler üzerine çalışmalar yapılmıştır ancak çalışmalardaki kısıtlılıklar ve farklı gelen sonuçlar, yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.¹⁸

2.8.1. Otizm ve Amino Asitler

Amino asitler ve türevlerinin; enerji metabolizmasında, detoksifikasyon ve nörotransmisyon süreçlerinde önemli görevleri vardır. Otizmde görülen nörolojik bozukluklar bozulmuş biyokimyasal homeostaziye düşündürmektedir.⁷⁵ Amino asit analizleri birçok biyokimyasal bilgi verir. Farklı çalışmalar periferik amino asitlerle merkezi beyin fonksiyonları arasında bağlantı olabileceğini ve amino asit değişikliklerinin veya metabolizmasının psikiyatrik hastalıkların patogeneğinde rol alabileceğini göstermiştir.⁷⁶ Hücre içi ve plazma amino asit seviyeleri, protein metabolizmasının ve beslenme durumunun değerlendirilmesinin erken göstergeleridir.

2.9. Amino Asitler

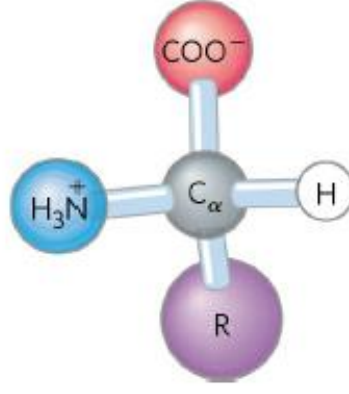
2.9.1. Amino Asitlerin Yapı ve Özellikleri

Amino asitler yalnızca proteinlerin temel yapısal birimleri değildir. Nörotransmitter, porfirin, nitrik oksit, poliaminler gibi çok önemli metabolitlerin öncül kaynağı olarak görev yaparlar. Aynı zamanda enerji kaynaklarıdır.⁷⁷ Bir amino asit yapısında alfa karbonuna bağlı bir amino grubu, bir karboksil grubu, bir hidrojen ve bir de R grubu içerir. Bunlardan 20 tanesi vücut proteinleri sentezi için gerekli olan standart amino asitlerdir. Bu 20 amino asitten vücutta sentezlenebilenlere esansiyel olmayan amino asitler, vücutta sentezlenemeyen ve besinlerle alınması gereken amino asitlere esansiyel amino asitler denir. Tablo 2.1.'de esansiyel ve esansiyel olmayan amino asitler gösterilmiştir. Protein sentezi için gerekli amino asitler besinlerle protein formunda sindirim kanalına alınırlar. Proteolitik enzimlerle amino asitlere parçalanırlar, bu amino asitler bağırsaktan emilerek portal dolaşıma verilir ve amino asit havuzuna katılırlar. Bu amino asitler esansiyel amino asitlerdir.⁷⁸

Tablo 2.1. Esansiyel ve esansiyel olmayan aminoasitler

Esansiyel Amino Asitler	Esansiyel Olmayan Amino Asitler
Arjinin (yarı esansiyel)	Alanin
Histidin (yarı esansiyel)	Asparajin
İzolösin	Aspartat
Lösin	Sistein
Lizin	Glutamat
Metinyonin	Glutamin
Fenilalanin	Glisin
Treonin	Prolin
Triptofan	Serin
Valin	Tirozin

Vücutta protein yapısına girmeyen fakat metabolizma sırasında oluşan, DNA tarafından kodlanmayan ama proteinlerin yapısına katılan aminoasitlere de standart dışı amino asitler denir.⁷⁹



Şekil 2.3. Amino asitlerin genel yapısı

Glisin hariç tüm amino asitler asimetrik karbon atomuna sahiptir, alfa karbonu 4 farklı gruba bağ yapmış durumdadır. Glisin yan zincir olarak H atomuna sahip olduğu için asimetrik karbon atomuna sahip değildir, D ve L formlarından bahsedilemez.⁷⁹ Amino asitler; alfa karbon atomuna bağlı olan amino grubu molekülün sol tarafında ise L, sağ tarafında ise D olarak isimlendirilir. Protein yapısındaki amino asitler L konumunda iken bazı antibiyotik ve bakteri hücre duvarında ise D amino asitler bulunur. Posttranslasyonel mekanizmalarla bazı amino asitler L formunda sentezlendikten sonra D formuna dönüştürülürler.⁸⁰

Amino asitler çözünürlük olarak farklılık gösterirler. Sistin, lözin, tirozin dışındakiler suda kolay çözülürken, prolin, hidroksiprolin dışındakiler alkolde belli ölçüde çözünmektedirler. Katı halde, renksiz ve kiristal haldedirler.⁸⁰

Amino asitler birçok reaksiyon ve yapıya katılırlar. Karbonhidrat yapımında, üre ve amonyak sentezinde, enerji elde edilmesinde, enzim ve hormonların yapısında, diğer amino asitlerin sentezinde kullanılırlar.⁸⁰

2.9.2. Amino Asitlerin Sınıflandırılması

Standart amino asitlerin kimyasal özellikleri, biyokimyanın anlaşılmasında önemli yere sahiptir. R gruplarının özelliklerine göre sınıflandırılabilir. R grupları hidrofilitik özellikten, hidrofobik özelliğe kadar geniş aralığa sahiptir.

Polar olmayan alifatik R grubuna sahip amino asitler: Bu sınıftaki amino asitlerin R grupları polar değildir ve hidrofobiktir, tablo 2.2.'de gösterilmiştir. Proteinlerde alanin, valin, lösin ve izolösin hidrofobik etkileşimlerle biraraya gelip kümeleşerek protein yapısını sabitleyler.^{81(s.72-81)}

Tablo 2.2. Polar olmayan amino asitler ve sembolleri

Polar Olmayan Amino Asitler	Sembolleri
Glisin	Gly, G
Alanin	Ala, A
Prolin	Pro, P
Valin	Val, V
Lösin	Leu, L
İzolösin	Ile, I
Metiyonin	Met, M

Aromatik R grubuna sahip amino asitler: Fenilalanin, tirozin, triptofan aromatik yan zincirli amino asitlerdir. Tablo 2.3.'te gösterilmiştir. Tirozin yapısındaki hidroksil grubuyla enzimler için önemli işlevsel özellikleri olan hidrojen bağı yapabilir. Tirozin ve triptofan ve bir dereceye kadar fenilalanin ultraviyole ışığı absorblar bu durum birçok proteinin 280 nm dalga boyunda ışığı absorblamasını açıklamaktadır.^{81(s.72-81)}

Tablo 2.3. Aromatik R grubu içeren amino asitler ve sembolleri

Aromatik Amino Asitler	Sembolleri
Fenilalanin	Phe, F
Tirozin	Tyr, Y
Triptofan	Trp, W

Polar yüksüz R grubuna sahip amino asitler: Treonin, serin, prolin sistein, asparajin ve glutamini kapsamaktadır. Tablo 2.4.'te gösterilmiştir. Hidrofilik

özelliğindedirler ve suyla hidrojen bağı yaptıkları için polar olmayan amino asitlere göre suda daha çok çözünebilirler. Prolin yapısında imino grubu bulundurulur, proteinlerde esnekliği azaltıp katı formasyon oluşumuna sebep olur. Treonin ve serin hidroksil gruplarıyla, sistein sülfidril grubuyla, glutamin ve asparajin amit gruplarıyla polarite sağlarlar. İki sistein kalıntısının disülfür bağlarıyla bağlanmasıyla sistin oluşur ve bu yapı proteinlerin kovalent bağ yapmasını sağlayarak yapısal özellik kazandırır.^{81(s.72-81)}

Tablo 2.4. Polar yüksüz R grubuna sahip amino asitler ve sembolleri

Polar Yüksüz Amino Asitler	Sembolleri
Serin	Ser, S
Treonin	Thr, T
Sistin	Cys, C
Asparajin	Asn, N
Glutamin	Gln, Q

Pozitif yüklü R grubuna sahip amino asitler: Lizin, arjinin, histidin pH 7'de pozitif yüklü R grubuna sahiptirlerdir. Tablo 2.5.'te gösterilmiştir.

Tablo 2.5. Pozitif yüklü R grubuna sahip amino asitler ve sembolleri

Pozitif Yüklü Amino Asitler	Sembolleri
Lizin	Lys, K
Histidin	His, H
Arjinin	Arg, R

Negatif yüklü R grubuna sahip amino asitler: İkinci karboksil grubuna sahip aspartat ve glutamat, pH 7'de negatif yüklü R grubu içerirler, tablo 2.6.'da gösterilmiştir.^{81(s.72-81)}

Tablo 2.6. Negatif yüklü R grubuna sahip amino asitler ve sembolleri

Negatif Yüklü Amino Asitler	Sembolleri
Aspartat	Asp, D
Glutamat	Glu, E

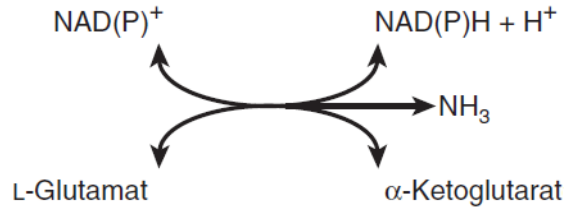
2.8.3. Bazı Amino Asitlerin Biyosentezi

Öncüllerine göre amino asit biyosentezi altı gruba ayrılabilir. Amino asitler sitrik asit çevrimi, pentoz fosfat yolu veya glikoliz yollarının ara ürünlerinden türetilirler.

81(s.860-882)

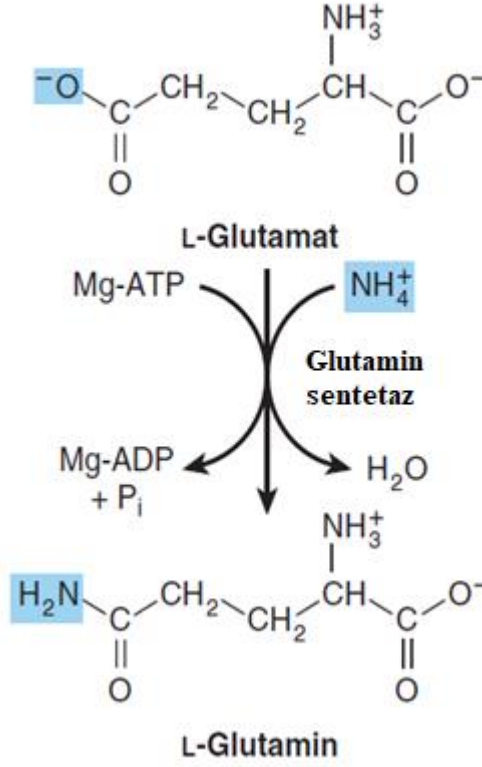
2.9.3.1. α -Ketoglutarattan; Glutamat, Glutamin, Prolin ve Arjininin oluşumu

Glutamat: Glutamat ailesinin biyosentezinin birinci basamağını oluşturur. Şekil 2.4.'de gösterildiği gibi glutamat dehidrojenaz ile katalizlenen reaksiyonla α -ketoglutaratın indirgenmesiyle oluşur.⁸²



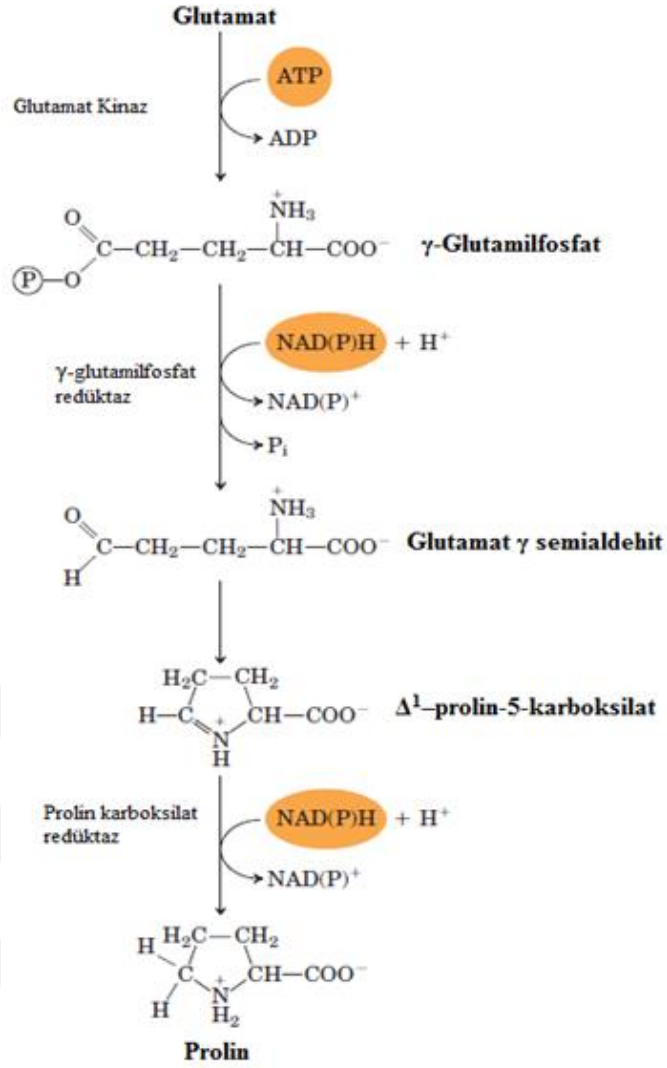
Şekil 2.4. Glutamat oluşumu

Glutamin: Glutamin sentetaz tarafından glutamatın glutamine amidasyonu ile sentezlenir. ATP (Adenozin trifosfat) ve glutamat bağlanır, ADP ve γ -glutamil fosfat ara ürünü oluşur. NH_4^+ bağlanır ve γ -glutamil fosfata NH_3 olarak saldırır, tetrahedral bir ara bileşik oluşur. İnorganik fosfat (Pi) ve proton salınarak glutamin oluşumu hızlanır.⁸² Şekil 2.5.'de gösterilmiştir.⁸²



Şekil 2.5. Glutamin oluşumu

Prolin ve Arjinin: Hayvanlarda üre ve ornitin çevrimiyle glutamattan sentezlenir. Arjinaz tarafından, arjinin ornitin ve üreye dönüştürülür. Ornitin, ornitin δ -aminotransferaz enzimi ile glutamat- γ -semialdehite dönüştürülür. Semialdehit halkalaşarak Δ^1 -prolin-5-karboksilata dönüşür, bu yapıdan prolin oluşur. Diyetten veya protein dönüşümünden gelen arjinin yeterli olmadığında, ornitin δ -aminotransferaz reaksiyonu ornitin yönünde yürüyerek, ornitin sitrülün ve arjinine çevrilir. Şekil 2.6.'da gösterilmiştir.^{81(s.860-882)}



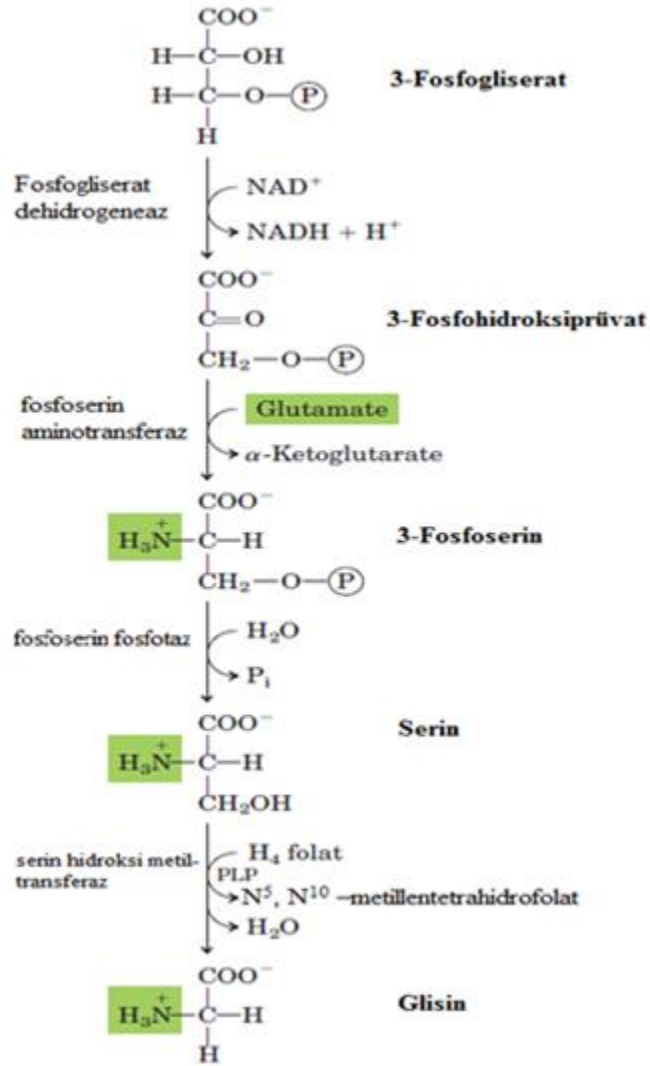
Şekil 2.6. Prolin sentezi

2.9.3.2. 3-Fosfogliserattan; Serin, Glisin ve Sistein Sentezi

Serin: Serin sentezinin ana yolağı tüm organizmalarda aynıdır. İnsanlarda karaciğer ve böbrekte 3-fosfogliserattan sentezlenebilir. 3-fosfogliserat dehidrogenaz aracılığı ile α-hidroksil grubunun oksidasyonu ile 3-fosfohidroksiprüvata dönüşür, sonrasında transaminasyon ve defosforilasyon ile serin oluşur.^{81(s.860-882)}

Glisin: Serinden bir karbon atomu uzaklaştırılması ile glisin oluşur. Serinin β karbonu (C-3), tetrahidrofolat ile alınır, alınan bu karbon ile N-5 ve N-10 arasında

metilen köprüsü oluşturulur. N^5, N^{10} -metilentetrahidrofolat ve glisin meydana gelir. Reaksiyon için pridoksal fosfat da gereklidir. Şekil 2.7.'de gösterilmiştir.^{81(s.860-882)}



Şekil 2.7. Serin, glisin sentezi

Sistein: Sistein metiyonin ve serin amino asitlerinden sentezlenir. Metiyonin kükürt atomunu, serin ise karbon iskeletini verir. Metiyonin önce S-adenosilmetiyonine çevrilir. S-adenosilmetiyonin metil grubunu kaybederek S-adenosilhomosisteine dönüşür. S-adenosilhomosistein hidroliz olarak serbest homosistein oluşturur. Homosistein serin ile sistatyonini oluşturur. Son basamakta sistatyonin γ -liyaz ile amonyak uzaklaştırılır ve sistatyonin parçalanarak sistein oluşur.^{81(s.860-882)}

2.9.3.3. Oksaloasetat ve Pirüvattan Sentezlenen Amino Asitler

Alanin, Aspartat ve Asparajin: Esansiyel olmayan amino asitlerdir, sentez reaksiyonları tüm organizmalarda gerçekleşir. Alanin piruvattan, aspartat ise oksaloasetattan, glutamatın transaminasyonu ile sentezlenir. Aspartatın asparajin sentaz enzimi ve amitlenmesiyle de asparajin sentezlenir.^{81(s.860-882)}

Metiyonin, Treonin ve Lizin: Esansiyel amino asitlerdir. Aspartattan sentezlenirler.^{81(s.860-882)}

Fenilalanin ve Tirozin Sentezi: Esansiyel amino asit olan fenilalanin özellikle karaciğerde, fenilalanin hidroksilaz ile tirozine dönüşür.

Pürin Biyosentezi Öncülleri ile Histidin Sentezi: Glutamin, ATP ve PRPP histidin sentezinin öncülleridir. Beş karbon PRPP'den, histidin halkasındaki azotlardan biri ve bir karbonu ATP'nin pürin halkasından, halkadaki ikinci azot glutaminden gelir.^{81(s.860-882)}

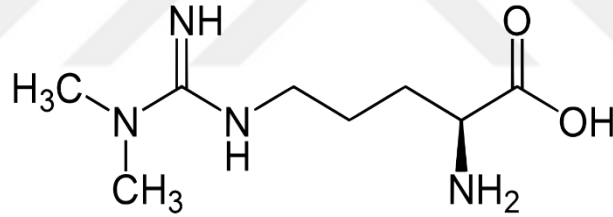
2.9.4. Amino Asitlerin Katabolizması

Glutamin, glutamat ve aspartat dahil olmak üzere birkaç esansiyel olmayan amino asit ve standart bir diyetle bulunan amino asitlerin neredeyse hepsi portal vene girmez, memelilerin ince bağırsağının emici epitel hücreleri (enterositleri) tarafından geniş ölçüde okside edilir. İnce bağırsak, glutamini hem arteriyel dolaşım hem de bağırsak lümeninden kullanırken, glutamat ve aspartatı sadece bağırsak lümeninden alır.⁸³ Diyetle alınan esansiyel amino asitlerin yaklaşık olarak yarısı ince bağırsağı ilk geçişi sırasında katabolize edilir.^{84, 85} Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda diyetle alınan bazı amino asitlerin yaklaşık beşte birinin ilk geçiş sırasında bağırsak mukozal protein sentezi için kullanıldığı gösterilmiştir.⁸⁴ Bağırsaklarda amino asit katabolizmasında oluşan amonyak ya portal vene girer ya da üre sentezi için lokal olarak kullanılır. Enterositlerdeki üre döngüsü, memelilerde amonyak toksisitesine karşı

ilk savunma görevi görür.⁸⁶ Lizin, histidin, metiyonin, fenilalanin ve treoninin geleneksel olarak bağırsak mukozası tarafından katabolize edilmediği düşünülmekteydi, fakat yapılan çalışmalarda elde edilen in vivo bulgular bağırsakta esansiyel aminoasitlerin aşırı oksidasyonunu göstermektedir.⁸⁵

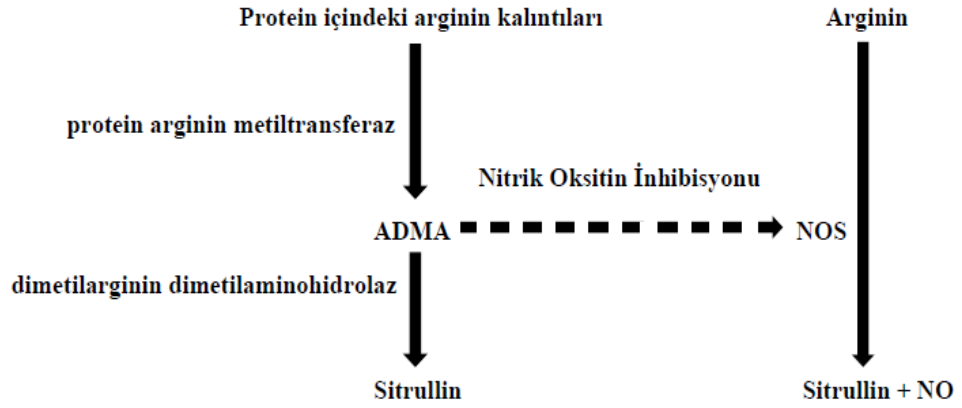
2.10. Asimetrik Dimetilarjinin

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), protein turnover sırasında tüm hücrelerde üretilen, translasyon sonrası modifiye bir arjinin formudur, arjinin kalıntılarının metilasyonu ile elde edilir.⁸⁷ Şekil 2.6.'da gösterilmiştir. İlk olarak 1970 yılında insan idrarında tanımlanmıştır. ADMA'nın endojen nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olarak biyolojik önemi vardır.⁸⁸ ADMA'nın oluşumu ve metabolizması için biyokimyasal yol ve ADMA'nın NOS aktivitesi ve endotelial NO oluşumu ile ilişkisi, Şekil 2.7.'de şematik olarak gösterilmiştir.⁸⁹



Şekil 2.6. Asimetrik dimetilarjinin yapısı

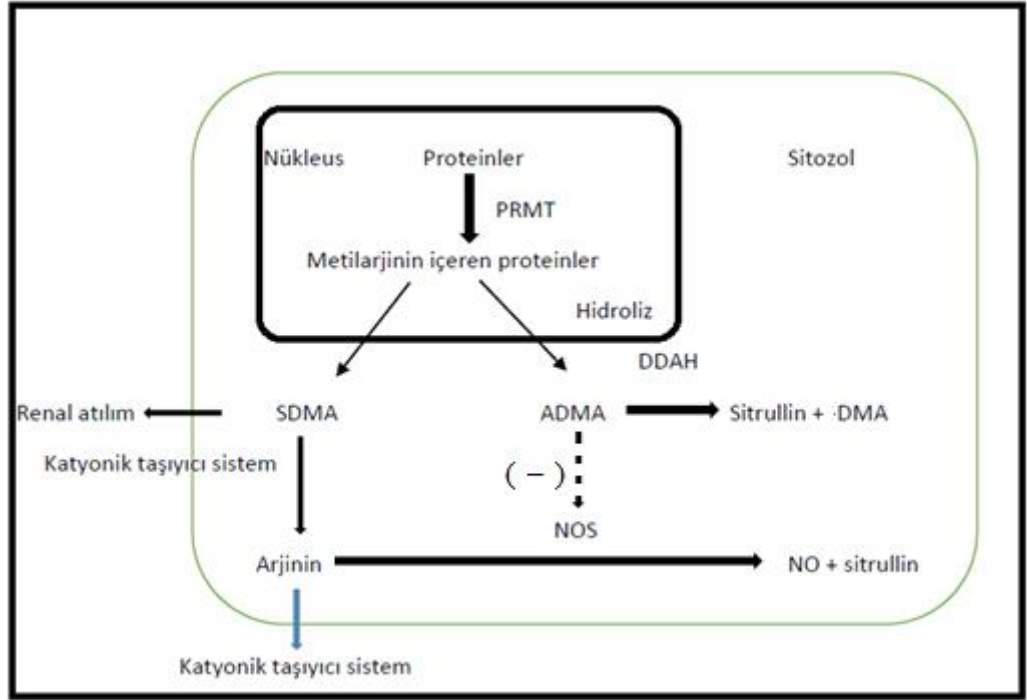
Ortaya çıkan klinik ve deneysel bulgular, ADMA'nın oksidatif stres, inflamasyon, endotelial disfonksiyon, ateroskleroz, apoptoz, otofaji ve bozulmuş immünolojik fonksiyonun patofizyolojisinde yer aldığını göstermektedir.⁸⁸



Şekil 2.7. ADMA'nın NOS aktivitesi ve endotelial NO oluşumu

2.10.1. ADMA Sentezi ve Metabolizması

Serbest ADMA, proteinlerin arjinin kalıntılarının metilasyonu ile meydana gelir, sonrasında bu proteinlerin proteolizi ile oluşur. Protein arjinin metil transferaz (PRMT) enzimi ile proteindeki arjinin kalıntılarına metil grupları eklenir. PRMT enziminin iki türü vardır, ikisi de metilleme yapabilir ama oluşacak ürün PRMT enziminin türüne bağlıdır. Tip-1 PRMT enzimi aynı guanidino azotunu (NG) dimetilleyerek NG,NG-dimetil-L-arjininin sentezini katalizlerken, tip-2 PRMT iki guanidino azotunu monometilleyerek NG,NG'-dimetil-L-arjinin (simetrik dimetilarjinin = SDMA) sentez reaksiyonunu katalizler.^{88, 90} S-adenozilmetiyonin (SAM) metil vericisidir. SAM, metil grubunu verdikten sonra S-adenozilhomosisteine (SAH) dönüşür. Ortaya çıkan homosistein metabolize edilir ya da metillenerek metiyonine dönüşür. ADMA sitrüllin ve dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi ile yıkılır.⁸⁷ Şekil 2.8.'de sitrüllin ve dimetil arjinin (DMA) oluşumu gösterilmiştir.⁹¹



Şekil 2.8. ADMA metabolizması

İnsanlarda yaklaşık olarak günde 300 μmol ADMA oluşur. Bunun %10'luk kısmı idrar ile atılır. SDMA ise doğrudan idrar ile atılır ve şimdiye kadar tanımlanmış metabolik atılım yolu yoktur. İki tip DDAH tanımlanmıştır. DDAH-1 öncelikli olarak nöronal nitrik oksit sentazı (nNOS) eksprese eden dokularda, ADMA metabolizmasına en çok katkıda bulunan karaciğer, böbrek korteksi, akciğer gibi dokularda bulunur. DDAH-2 esas olarak kardiyovasküler sistemin endotel ve düz kas hücrelerinde baskındır ve endotelial NOS (eNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS) izoformlarını eksprese eden dokularda bulunur. DDAH-1 öncelikli olarak plazma ADMA konsantrasyonunun düzenlenmesinde rol oynarken DDAH-2 lokal ADMA düzenlenmesinde rol almaktadır.⁹²

2.10.2. ADMA'nın Fiziopatolojisi

ADMA 1990'ların başında biyolojik numunelerden tanımlanmış olmasına rağmen, çeşitli patofizyolojik durumları göstermektedir. İlk olarak son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda, artmış ADMA konsantrasyonunun, kronik böbrek

yetmezliği ile ilişkili hipertansiyon ve immün disfonksiyondan sorumlu olabileceği düşünölmüştür.⁹³

2.10.3. ADMA ve Hastalıklarla İlişkisi

Koroner arter hastalıklarında ADMA düzeylerinin yükseldiği en belirgin durum olup risk faktörü olarak kabul edilmektedir. ADMA düzeyleri üzerine çalışmalar devam etmektedir. Diabetes mellitus, kronik böbrek yetmezliği, insülin rezistansı ve metabolik sendrom, multiple organ yetmezlikleri yükseldiği durumlardan bazılarıdır.⁹⁴ Tip 1, tip 2 diyabet ve diyabet oluşturulmuş hayvan modellerinde ADMA düzeyleri çalışılmıştır. Hayvan modellerindeki ADMA düzeylerinde 10 kata kadar artış bulunmuştur.⁹⁵ Erken insülinopenik diyabetik sıçanların artan ADMA plazma seviyeleri ile birlikte renal anjiyotensin II konsantrasyonlarında %50'lik bir artış olduğu bildirilmiştir.⁹⁶

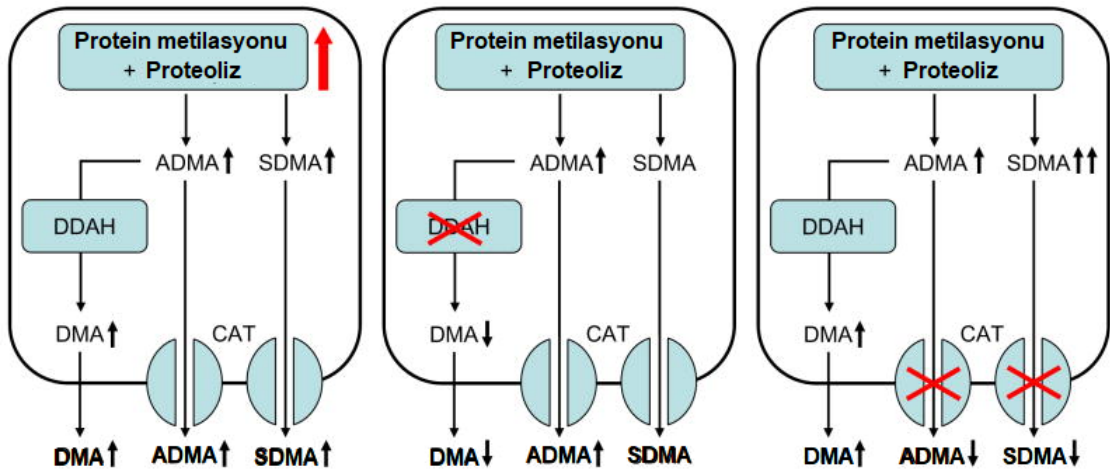
Tip 2 diyabetli hastalarda yapılan çalışmalarda hem artmış hem de azalmış plazma ADMA düzeyleri bildirilmiştir. Bu durum, insülin ve glukozun ADMA metabolizması üzerindeki farklı etkileriyle ilişkili olabilir. Yüksek glukoz seviyeleri, oksidatif stresi indükleyerek, DDAH aktivitesini bozabilir, hücre içi ADMA seviyelerinin artmasına yol açabilir.^{97, 98}

2.11. ADMA ve Amino Asit İlişkisi

ADMA risk altındaki kişilerde serumda birikir ve NOS ve katyonik amino asit transportunu inhibe eder, bu yüzden kardiyovasküler ve böbrek hastalıklarının patofizyolojik bir efektörü olarak konumlandırılır. Ayrıca vasküler ve organ hastalıklarının kökeninde olan endotel disfonksiyonuna ve mikrovasküler oksidatif stres oluşumuna katılabilir.^{99, 100} Katyonik amino asit taşıyıcı (CAT) molekülleri memeli amino asit taşıyıcıları arasındadır, birden fazla alt kümeleri vardır. CAT-1, CAT-2A ve CAT-2B, memelilerde arjinin ve ADMA'nın transmembran taşınması için en uygun olanlardır.⁹⁷

CAT aktivitesi, amino asitlerin hücreler ve plazma arasındaki dinamik dengesini sürdürür. Bu dengenin bozulması CAT tarafından amino asitlerin salınmasına ve dokuların yüksek miktarda amino asit alımına sebep olur. Yüksek bir arjinin veya lizin dozunun 30 dakikalık bir infüzyonu sırasında, bu amino asitlerin plazma seviyeleri neredeyse 100 kat artar, ancak daha sonra seviyeleri çok hızlı bir şekilde düşer ve 30 dakika sonra % 50 azaltılır.¹⁰¹

Şekil 2.9. hücre içi ve hücre dışı ADMA hakkında bilgi vermektedir. Serbest ADMA, protein arjinin metil transferazlar, protein metilasyonunun ardışık süreçleri ve proteoliz ile oluşturulur. DDAH enzimi ile yıkılarak veya CAT tarafından hücreden çıkarılarak ADMA hücreden uzaklaştırılır. PRMT'lerin alınımının artması veya artmış proteolitik aktivite hücre içi ADMA'yı artıracaktır. CAT sisteminin doymamış olduğu varsayıldığında, hücre içi ADMA seviyelerinin artması, ADMA'nın dışarıya çıkarılmasını teşvik edecek ve böylece hücre dışı ADMA'yı arttıracaktır. ADMA'nın dışı atılımının azalması hücre içi ADMA seviyesini artıracaktır ancak hücre dışı ADMA seviyesi, azalmış DDAH aktivitesinin veya azalmış CAT aktivitesinin söz konusu olup olmamasına da bağlı olabilecektir.⁹⁷ CAT aktivitesi Şekil 2.9.'da gösterilmiştir.¹⁰² CAT trasportu sodyumdan bağımsızdır. Dibazik özelliği olan arjinin, lizin ve ornitin gibi amino asitler nötr pH'da net bir pozitif yüke sahiptir ve CAT-1 ve CAT-2B ile taşınır.¹⁰²



Şekil 2.9. ADMA'nın metabolizması

3. MATERYAL VE METOT

Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Ofisi tarafından Proje No:2016/67 ile desteklenen, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Toplantı Sayısı:7, Karar No:12 ile etik kurul onayı alan bu çalışmanın analiz işlemleri Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.1. Materyal

Bu çalışmaya Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Hastalıkları Bölümünde DSM 5 tanı kriterlerine göre sınıflandırılan, OSB tanısı konulmuş Doğu Anadolu Bölgesinde yaşayan; 25 otizmlili çocuk (23 erkek, 2 kız) ve hasta grubunun yaş, kilo ve boy dağılımına benzer 20 sağlıklı çocuk (14 erkek, 6 kız) dahil edildi.

OSB ve kontrol grubu için olgu seçiminde, nörolojik (tuberoz skleroz v.b.), metabolik (fenilketonuri v.b.) hastalığı olmayan, otoimmün hastalık tanısı olmayan olgular çalışmaya dahil edilmiştir.

3.1.1. Örnekler

Çalışmaya dahil edilen çocuklardan antikoagulan içermeyen biyokimya tüplerine en az 5 mL olacak şekilde venöz kan örnekleri alındı. Yavaşça alt üst edildi. 30 dakika beklendikten sonra 20 dakika 2000 rpm'de santrüfuj edildi. Dikkatlice ayrılan serum, önceden hazırlanan ve numaralandırılan ependorf tüplere alınarak alikotlandı. Çalışma gününe kadar -80 °C derin dondurucuda saklandı. Çalışma gününden bir gün önce +4 °C derece buzdolabına kaldırıldı. Çalışmaya başlamadan önce buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi beklenildi.

3.1.2. Kimyasallar, Cihazlar ve Ekipmanlar

Çalışmada kullanılan kimyasallar, kitler ve alındığı firmalar Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan cihaz ve ekipmanlar bilgisi Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Kimyasallar ve ticari kitler

Kimyasallar ve Kitler	Firma
Biyolojik Sıvılarda Amino Asit	Zivak Teknolojileri
LC-MS/MS Analiz Kiti	
ADMA ELISA Kit	Sunred Bio

Tablo 3.2. Cihazlar ve ekipmanlar

Cihaz/Alet	Firma
LC-MS/MS Tandem Gold	Zivak Teknolojileri
-80°C Derin dondurucu	Sanyo
Santrifüj Cihazı	Beckman
Vortex	VELP Scientifica
Mikroplate okuyucu spektrofotometre	BioTek Powerwave XS
+4°C Buzdolabı	Ariston
1,5 mL ependorf tüpler	Ependorf
Pipetler (2-20 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL)	Ependorf
Distile su cihazı	Mes mp Minipure

3.2. Metot

Amino asit analizleri LC-MS/MS Tandem Gold (Sıvı kromatografisi kütle spektrometrisi) cihazında çalışılmıştır, ADMA analizi ise ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile yapılmıştır.

3.2.1. LC-MS/MS Analizi

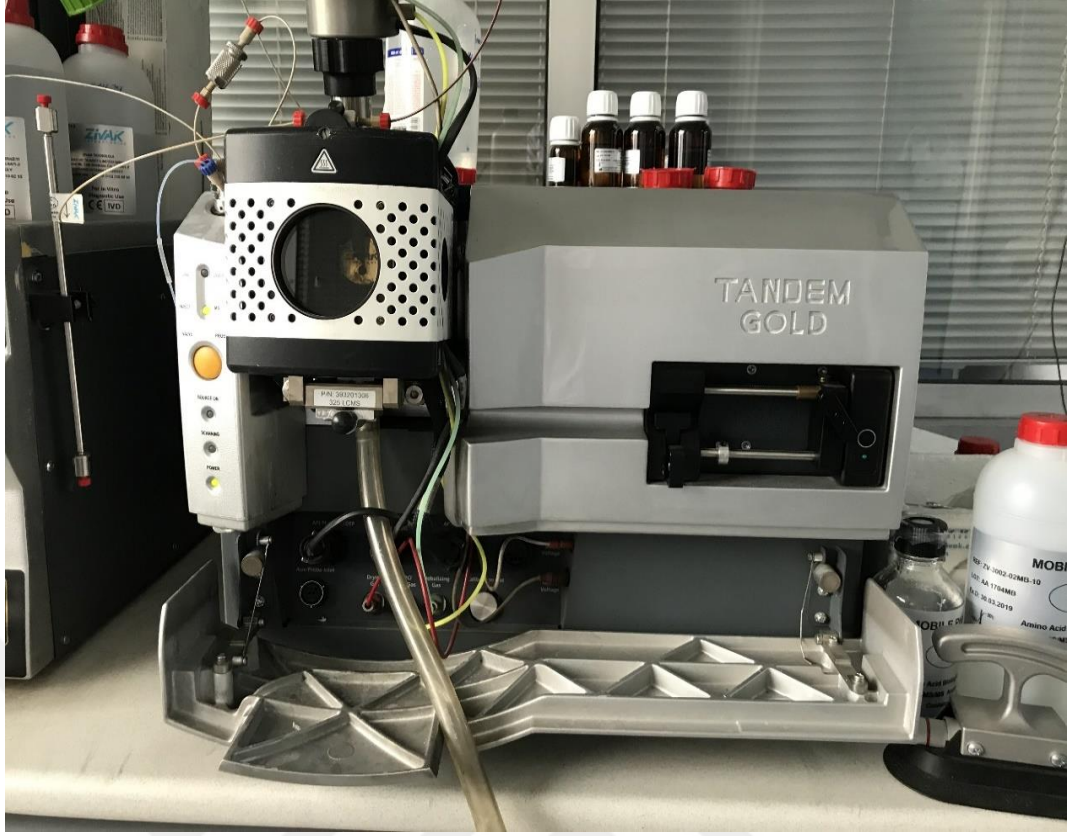
Amino asitlerin biyolojik sıvılarda ölçümünde geliştiren floresans tespiti, yüksek performanslı sıvı kromatografisi gibi teknikler mevcuttur. Vücut sıvılarının içerdiği yüksek matris etkisinden kaynaklı ölçüm zorlukları mevcuttur. Klinik araştırmalarda ayırma teknikleri önemlidir. Amino asitlerin kendi yapılarından dolayı da ölçümler zorlaşmaktadır. Bundan dolayı başarılı sonuçlar elde etmek için uygun teknik ve yöntemin seçilmesi gerekmektedir.^{16, 103} Vücut sıvılarında amino asitleri analiz etmek için, genellikle ayırma yöntemlerinin yanı sıra türevlendirme ve ekstraksiyon yöntemlerine ihtiyaç vardır.¹⁰⁴

Özellikle kütle spektrometrisi ile entegre edilmiş kromatografik teknikler, biyobelirteçlerin belirlenmesinde, duyarlılık ve seçiciliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Kromatografik teknikler içinde, gaz kromatografisi ve sıvı kromatografisi, özellikle yüksek performanslı sıvı kromatografisi, klinik çalışmalarda kullanılmaktadır.¹⁰³ Son yıllarda fizyolojik sıvılarda serbest amino asitlerin analizlerinde kütle spektrometresi yöntemi kullanımıyla büyük ilerlemeler görülmektedir. Çünkü kütle spektrometrisi sadece duyarlılıktaki optik algılamayı eşleştirmekle kalmaz, aynı zamanda üstün seçicilik sunar.⁷⁷

Kütle spektrometreleri manyetik veya elektriksel bir alan yardımıyla, hareket eden yüklü partikülleri kütle/yük (m/z) oranlarına göre analiz eden cihazlardır. Kütle spektrometresi 4 temel bölümden oluşur. Bu bölümler; giriş sistemi, iyon kaynağı, kütle analizörü ve veri işlemcisidir. Analitler, ilgili molekülün karşılık gelen külesinin saptanması ile tanımlanır. Aslında, bir kütle yük oranı ölçülür. Sonuçlar, x ekseninde kütle yük oranını ve y ekseninde molekülün nispi miktarını gösteren kütle spektrumu olarak sunulur. Elde edilen sonuçlar kimyasal maddelerin tanımlanmasına, karakterizasyonuna ve miktarının belirlenmesinde kullanılabilir. Kromatografik

teknikler kütle spektrometresinin giriş sisteminin önce hassasiyeti artırmak ve izomerik maddeleri ayırmak için kullanılabilir. Biyolojik yapıların yüksek karmaşık yapılarından dolayı öncelikli olarak kromatografik olarak kolonla ayırma işlemi yapılır. Yüklü olmayan partiküller iyonlaştırma işlemi ile iyonize moleküller haline dönüştürülürler. Stabil olmayan yüklü moleküller çarpıştıkları zaman parçalanırlar, fragmentlerine ayrılırlar. Farklı m/z oranına sahip iyonlar kütle analizörü ile karakterize edilerek özgüllük sağlanır. Birden fazla MS sistemi ile seçicilik ve özgüllük artırılır. Dedektöre ulaşan iyonlar ölçülebilir sinyallere çevrilir. Moleküle ait m/z oranları spektrum grafikleri şeklinde verilir.¹⁰⁵





Şekil 3.1. Laboratuvarımızdaki Tandem Gold LC-MS/MS cihazı

3.2.2. Amino Asit Testinin Çalışma Prensibi

Bu çalışmada serum amino asit analizlerinde, serum için uygun olan Zivak serbest amino asit LC-MS/MS analiz kiti Zivak Tandem Gold LC-MS/MS sisteminde kullanılmıştır. Kit içeriği ise Tablo 3.3.'de gösterilmiştir. Kit içeriği dışında temin edilen malzemeler Tablo 3.4.'de gösterilmiştir. Testin çalışma prensibi Şekil 3.2.' de özetlenmiştir.

Serbest amino asitlerin deproteinizasyonu ve asidik ekstraksiyonu ile numunelerden

ekstraksiyonu



Ekstrakte edilen analitlerin reaktifler ile türevlendirilmesi



Türevlendirilmiş amino asitlerin kuruyana kadar uçurulması



Tekrar reaktif eklenerek çözülüp LC-MS/MS sistemine yüklenmesi

Şekil 3.2. Amino asit testinin çalışma prensibi

Tablo 3.3. LC-MS/MS Kit içeriği

Sipariş Kodu	Hacim	Bilgiler	
ZV-3002-02R1-10	1 x 20 mL	Reaktif 1,	R1
ZV-3002-02R2-10	1 x 40 mL	Reaktif 2,	R2
ZV-3002-02R3-10	1x 40 mL	Reaktif 3,	R3
ZV-3002-02R4-10	1 x 40 mL	Reaktif 4,	R4
ZV-3002-02R5-10	2 x 30 mL	Reaktif 5,	R5
	4 x 30 mL		
ZV-3002-02MA-10	1 x 1 L	Mobil Faz A,	MA
ZV-3002-02MB-10	1 x 1 L	Mobil Faz B,	MB
ZV-3002-02WB-10	1 x 1 L	Yıkama	WB
		Solüsyonu	
ZS-2ML-8-1001	2x100 ad	2 mL cam vial	
ZS-9004-0100-00	2x100 ad	2 mL cam vial	

Tablo 3.4. Kit içeriği dışında temin edilen malzemeler

Sipariş Kodu	Hacim	Bilgiler
ZV-3002-02S1-10	1 x 3 mL	Kalibratör
ZV-3002-02S3-10	1 x 3 mL	Kalibratör seviye 3
ZV-3002-02S4-10	1 x 2 mL	Kalibratör seviye 4
ZV-3002-02K1-10	1 x 3 mL	Kalibratör seviye 1
ZV-3002-02K2-10	1 x 3 mL	Kalibratör seviye 2

3.2.2.1. Çalışma Prosedürü

LC-MS/MS amino asit analiz kiti çalışma prosedürleri belirtildiği gibi izlenerek yapıldı. Pipetleme hacimleri, inkübasyon zamanları, hazırlık aşamaları tam olarak belirtilen miktarlarda ve talimatlara uygun şekilde yapıldı. Kalibre edilmiş pipetler ve cihazlar kullanıldı. Teste başlanıldığı zaman, herhangi bir kesintiye uğratılmadan tamamlandı. Çalışmaya başlamadan önce bütün reaktifler ve numuneler oda sıcaklığına (18 - 25 °C) getirildi. Sıvı reaktifler ve örnekler kullanılmadan önce hafifçe karıştırıldı. Reaktifler, pipetler ve numune tüplerinde kirlilik ve bulaşma olamamasına dikkat edildi. Her reaktif, standart ve numune için farklı ve yeni pipet ucu kullanıldı. Kullanılmadığı zaman vial kapakları kapalı tutuldu ve kendi aralarında değiştirilmedi. Bütün numune hazırlık işlemleri belirtilen sırada ve sürede yapıldı.

Numune hazırlamada uygulanan işlem basamakları

100 μ L hasta numunesi (veya kalibratör ve kontroller) durhaim cam

hazırlık tüpüne alındı.



100 μ L Reaktif 1 eklenir ve 10 saniye boyunca vortekslendi



200 μ L Reaktif 2 eklenir ve 10 saniye boyunca vortekslendi



200 μ L Reaktif 3 eklenir ve 10 saniye boyunca vortekslendi.2 dakika
süresince beklenip tekrar 10 sn vortekslendi



200 μ L Reaktif 4 eklenir ve 10 saniye boyunca vortekslendi.1 dakika
kadar beklendi



5000 x rpm'de 3 dakika boyunca santrifüj edildi



100 μ L üst faz bir viale alındı



3 μ L LC-MS/MS sistemine enjekte edildi

Şekil 3.3. Manuel Numune Hazırlığı

3.2.3. LC-MS/MS Parametreleri

Kütle spektrometresi ile ilgili ayarlar, kit içeriğinde bildirildiği gibi cihaza uygulanmıştır.

Tablo 3.5. Cihaz parametreleri

İlgili kısım	Açıklama
Cihaz	Zivak Tandem Gold LC-MS/MS Sistemi
Kolon	Zivak-AA Kolonu
Enjeksiyon Hacmi	3 µL
Gradyant	00.00 dk 38% B 12:00 dk 65% B 12:01 dk 95% B 14:00 dk 95% B 14:01 dk 38% B 20:00 dk 38% B
Akış	0,25 mL/dk
Iyonizasyon Modu:	ESI positif
CID Gaz	2,2mTorr
API Nebulizing Gaz	55 psi
Tarama Süresi	0,900 sn
SIM Width	1,5 amu
Drying Gaz	35 psi
Drying Gaz Sıcaklığı	350 °C
İğne Voltajı	5000V
Shield voltajı	600V
Kapiler voltaj	50V
Dedektör	1500 V

Tablo 3.6. MS Scan Parametreleri

Analit	MH+	MS/M	Capillary	CE	RT
	(m/z)	S	(eV)	(eV)	(Min)
Alanin (ALA)	(+)218	130	50V	10V	6,8
Anserin	(+)369	309	50V	20V	8,6
Arjinin	(+)303	156	50V	20V	3,6
Arginosüksinik asit	(+443)	383	50V	20V	6,4
Asparajin	(+)243	115	50V	15V	5,0
Aspartik Asit (ASP)	(+)304	216	50V	15V	9,8
Beta alanin (BALA)	(+)218	98	50V	15V	6,5
Beta-aminoizobütirik Asit (BAIB)	(+)232	172	50V	10V	7,8
Sitrülin (cit)	(+)304	156	50V	15V	4,5
Gama-aminobütirik Asit (GABA)	(+)232	172	50V	10V	7,2
Glutamik Asit (GLU)	(+)318	172	50V	15V	10,3
Glutamin (GLN)	(+)275	172	50V	15V	10,4
Glisin (GLY)	(+)204	76	50V	8V	5,6
Histamin (HISTA)	(+)284	138	50V	15V	7,2
Histidin (HIS)	(+)370	196	50V	15V	9,9
Hidroksiprolin (HYP)	(+)260	172	50V	10V	5,4
İzolösin (ILEU)	(+)260	130	50V	10V	12,4
Lösin (LEU)	(+)260	172	50V	10V	11,9
Lizin (LYS)	(+)361	170	50V	15V	9,9
Metiyonin (MET)	(+)278	142	50V	15V	9,0
Ornitin (ORN)	(+)347	156	50V	15V	8,6
Fenilalanin (PHE)	(+)294	164	50V	15V	12,1
Prolin (PRO)	(+)244	156	50V	15V	8,8
Sarkosin (SAR)	(+)218	116	50V	8V	7,3
Serine (SER)	(+)234	104	50V	15V	5,1
Serotonin (SRTN)	(+)349	203	50V	10V	10,1
Treonin (THR)	(+)248	74	50V	15V	5,8
Triptofan (TRP)	(+)333	245	50V	15V	10,8
Tirozin (TYR)	(+)396	222	50V	15V	14,8
Valin (VAL)	(+)246	158	50V	15V	10,1

3.2.4. Sonuçların Hesaplanması

Cihazdan alınan sonuçlarda standartın piklerine karşı standart konsantrasyonu grafiği çizildi. Standart eğrisi lineer regresyon veya ağırlıklı lineer regresyon fonksiyonu ile hesaplandı.

Regresyon eğrisini hesaplamak için, her bir standarda karşılık gelen sinyal değeri grafiğe alındı. Bilinmeyen konsantrasyonu regresyon eğrisinin fonksiyonundan direk olarak okundu.

3.3. ADMA Düzeylerinin alışma Prensipleri

Serum ADMA düzeyleri SunRed, katalog no: 201-12-1888, Human ADMA ELISA Kiti ile çalışma prosedürleri kit içeriğindeki talimatlar izlenerek çalışıldı.

3.3.1. Testin alışma Prensipleri

Test kiti numunelerde ADMA seviyesini bulmak için double-antibody sandiviç ELISA yöntemini kullanmaktadır. İnsan ADMA monoklonal antibody ile önceden kaplanmış olan monoklonal antikor enzim kuyusuna ADMA eklenir, inkübe edilir, sonra, biotin ile etiketlenmiş ADMA antibodyleri eklenir ve komplekse dönmesi için Streptavidin-HRP ile kombine edilir. İnkübe edilir, kombine olmamış enzimleri uzaklaştırmak için yıkanır. Kromojen A, B özeltisi eklenir renk maviye döner, asit ilavesi ile renk sarıya döner. Renk şiddeti ile ADMA konsantrasyonu pozitif orantılı olarak değerlendirilir.

Tablo 3.7. ADMA ELISA kit içeriği

İçerik	Miktarı
Standart (4.8 nmol/mL)	0.5 mL
Standart dilüent	3 mL
Mikroelisa Strip plate	12*8
Str-HRP-Konjugant	6 mL
30*Yıkama Çözeltisi	20 mL
Biotin-ADMA Ab	1 mL
Kromojen Çözeltisi A	6 mL
Kromojen Çözeltisi B	6 mL
Durdurma Çözeltisi	6 mL
Plate kapatma membranı	2
Kapalı zarf	1

3.3.2. Numunelerin Hazırlanması

Alınan venöz kan örnekleri oda sıcaklığında 10 - 20 dakika bekletildi. 20 dakika 2000 rpm'de santrüfuj edildi. Elde edilen serumlar alikotlanarak çalışma gününe kadar -80 °C derin dondurucuda saklandı. Çalışma gününden 24 saat önce +4 °C derece buzdolabına alındı. Çalışmaya başlamadan oda sıcaklığına getirildi.

3.3.3. Standartların Hazırlanması

Standartlar Tablo 3.8.'de gösterildiği gibi kit içeriğinde bulunan standart kullanılarak, seri seyreltme işlemleri ile hazırlanmıştır.

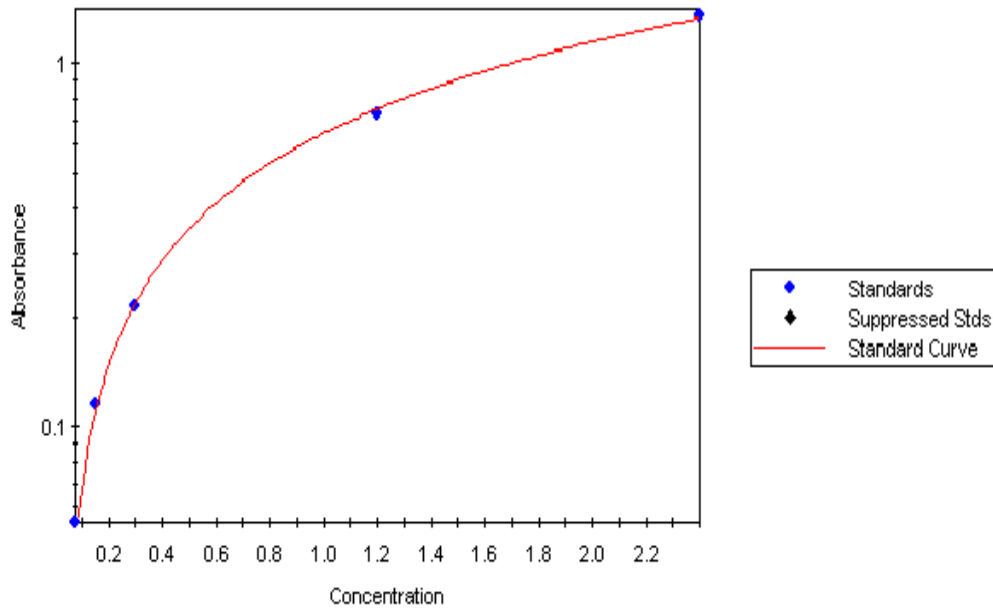
Tablo 3.8. Standart seri seyreltme işlemleri

	Standartlar	İşlemler
2.4 nmol/mL	Standart No. 5	120 µL orijinal standart + 120 µL standart dilüenti
1.2 nmol/mL	Standart No. 4	120 µL Standart5 + 120 µL standart dilüenti
0.6 nmol/mL	Standart No. 3	120 µL Standart 4 + 120 µL standart dilüenti
0.3 nmol/mL	Standart No. 2	120 µL Standart 3 + 120 µL standart dilüenti
0.15nmol/mL	Standart No. 1	120 µL Standart 2 + 120 µL standart dilüenti

3.3.4. ADMA ELISA Testinin Çalışılması

1. Standart, numune ve kör için ayrılmış kuyucuklar belirlendi. Kör için ayrılmış kuyucuklara sadece kromojen A, B ve stop çözelti eklendi.
2. Tabloda belirtildiği gibi standartlar hazırlandı. Hazırlanan standartlardan 50 µL, ve Streptavidin-HRP'den 50 µL eklendi. Standartlar antikor ile hazırlandıkları için fazladan anti bodi eklenmedi.
3. Numune kuyucuklarına 40 µL numune, 10 µL ADMA-antikor ve 50 µL Streptevadin-HRP eklendi. Koruyucu zarf ile kaplandı, nazikçe karıştırıldı ve 1 saat 37 °C'de inkübe edildi.
4. Konsantre yıkama solüsyonu 30 kat seyreltildi.
5. Koruyucu zarf dikkatli şekilde açıldı, plate içeriği boşaltıldı. 0.35 mL yıkama solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi, 1-2 dakika beklenildi. Bu işlem 5 kez tekrarlandı.

6. 50 µL kromojen A solüsyonu eklendi, daha sonra 50 µL kromojen B solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi. Nazikçe karıştırıldı, 10 dakika 37 °C’de karanlıkta inkübe edildi.
7. Tüm kuyucuklara 50 µL stop solüsyonu eklendi.
8. 450 nm’de okutularak, absorbasnlar elde edildi.
9. Standart grafik çizildi. Stadart grafikten absorbansa karşı konsantrasyonlar hesaplandı. Çalışmamıza ait standart eğri ekran görüntüsü şekil 3.4 te verilmiştir.



Şekil 3.4. Standart ELISA grafik eğrisi

3.4. İstatistiksel Analiz

Mevcut çalışmadaki verilerin istatistiksel analizleri Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 20.0 programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan veriler için parametrik testlerden Student’s T testi, normal dağılıma uymayan veriler için ise nonparametrik testlerden Mann Whitney U testi uygulandı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak verildi ve 0.05’ in altındaki p değerleri

istatistiksel açıdan anlamlı, 0.001'in altındaki p değerleri ise çok anlamlı olarak kabul edildi. Bazı parametrelere ait bilgiler box plot grafiği şeklinde gösterildi.



4. BULGULAR

4.1. Grup Bilgileri

0-18 yaş aralığında yer alan, OSB olan ve sağlıklı kontrol grubunda yer alan çocukların serumlarında bazı amino asitler ve ADMA parametreleri ölçüldü. Gruplar arası ilişki istatistiksel olarak değerlendirildi. Tablo 4.1.'de çalışmada yer alan çocuklara ait yaş, boy, kilo bilgileri gösterilmiştir. Tablo 4.2.'de amino asit ve ADMA sonuçları gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Gruplara ait yaş kilo boy bilgileri

Gruplar		N	Mean	Sig. (2-tailed)
Yaş	OSB	25	9,08 ± 3,415	0,115
(Yıl)	Kontrol	20	7,50 ± 3,086	0,111
Boy	OSB	25	131,00 ± 15,365	0,135
(cm)	Kontrol	20	123,250 ± 18,741	0,144
Kilo	OSB	25	31,160 ± 10,624	0,293
(kg)	Kontrol	20	27,750 ± 10,764	0,295

4.2. Analiz Sonuçları

Tablo 4.2. Gruplara ait amino asit ve ADMA sonuçları

Testler	OSB grubu (X ± SD nmol/mL)	Kontrol grubu (X ± SD nmol/mL)	P değeri
Ala	515,157 ± 143,966	371,848 ± 101,802	0,001
Arg	84,144 ± 29,314	75,015 ± 17,084	0,224
Argsuc	0,346 ± 0,152	0,350 ± 0,237	0,942
Ans	20,327 ± 7,827	17,082 ± 5,491	0,124
Asn	98,646 ± 15,835	95,419 ± 25,264	0,603
Asp	22,220 ± 7,400	38,475 ± 9,793	0,000
Baib	2,535 ± 1,061	3,583 ± 1,070	0,002
Bala	2,860 ± 1,070	2,458 ± 0,649	0,148
Cit	23,397 ± 6,198	19,653 ± 5,892	0,046

GABA	1,112 ± 1,126	7,291 ± 5,468	0,000
Gln	304,004 ± 64,873	322,799 ± 89,190	0,418
Glu	171,999 ± 76,410	90,678 ± 27,867	0,000
Gly	377,188 ± 110,551	278,080 ± 54,646	0,001
His	98,257 ± 21,953	61,084 ± 11,612	0,000
Hista	0,016 ± 0,014	0,017 ± 0,013	0,722
Hyp	24,515 ± 7,885	21,391 ± 8,265	0,203
Ileu	69,845 ± 22,247	64,781 ± 13,869	0,379
Leu	144,935 ± 47,622	120,341 ± 18,699	0,035
Lys	152,126 ± 44,664	130,982 ± 32,810	0,084
Met	33,172 ± 9,208	30,3678 ± 5,887	0,244
Orn	164,249 ± 61,424	96,335 ± 25,361	0,000
Phe	100,487 ± 32,361	85,799 ± 18,490	0,078
Pro	234,699 ± 63,352	175,690 ± 48,667	0,001
Sar	2,535 ± 2,602	1,6076 ± 1,237	0,150
Ser	169,108 ± 39,398	154,552 ± 38,685	0,221
Srtn	10,790 ± 5,209	5,3013 ± 3,914	0,000
Thr	158,378 ± 42,689	150,484 ± 42,281	0,539
Trp	46,898 ± 8,490	30,5347 ± 7,241	0,000
Tyr	66,904 ± 16,782	59,446 ± 13,659	0,116
Val	213,547 ± 49,559	195,693 ± 39,352	0,196
ADMA	1,1141 ± 0,543	1,3080 ± 0,906	0,379

Mevut çalışmada yapılan analizler sonucunda elde edilen serum alanin düzeyleri, OSB grubunda ($515,157 \pm 143,966$ nmol/mL), kontrol grubuna ($371,848 \pm 101,802$ nmol/mL) göre, istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0.005$). Şekil 4.1.'de OSB ve kontrol gruplarında alanin sonuçlarına ait box plot grafiği gösterilmiştir.

OSB grubunda glutamik asitte ($171,999 \pm 76,410$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($90,678 \pm 27,867$ nmol/mL), istatistiksel olarak çok anlamlı yüksek tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Şekil 4.5.'de OSB ve kontrol gruplarında glutamik asit değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

OSB grubunda glisin seviyelerinde ($377,188 \pm 110,551$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($278,080 \pm 54,64$ nmol/mL), istatistiksel olarak çok anlamlı yüksek görülmüştür ($p < 0.001$). Şekil 4.6.'de OSB ve kontrol gruplarında glisine asit değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

OSB grubunda histidin seviyeleri ($98,257 \pm 21,953$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($61,084 \pm 11,612$ nmol/mL), istatistiksel olarak çok anlamlı yüksek görülmüştür ($p < 0.001$). Şekil 4.7.'de OSB ve kontrol gruplarında histidine ait değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

OSB grubunda ornitin seviyeleri ($164,249 \pm 61,424$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($96,3356 \pm 25,361$ nmol/mL), istatistiksel olarak çok anlamlı yüksek görülmüştür ($p < 0.001$). Şekil 4.8.'de OSB ve kontrol gruplarında ornitin değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

OSB grubunda, prolin seviyeleri ($234,699$ nmol/mL \pm $63,352$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($175,690 \pm 48,667$ nmol/mL), istatistiksel olarak çok anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Şekil 4.9.'da OSB ve kontrol gruplarında prolin değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

OSB grubunda, triptofan seviyeleri ($46,898 \pm 8,490$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($30,534 \pm 7,241$ nmol/mL) istatistiksel olarak çok anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Şekil 4.11.'de OSB ve kontrol gruplarında triptofan değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

OSB grubunda, GABA seviyeleri ($1,112$ nmol/mL \pm $1,126$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($7,291 \pm 5,468$ nmol/mL) istatistiksel olarak çok anlamlı düşük tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Şekil 4.4.'de OSB ve kontrol gruplarında GABA değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

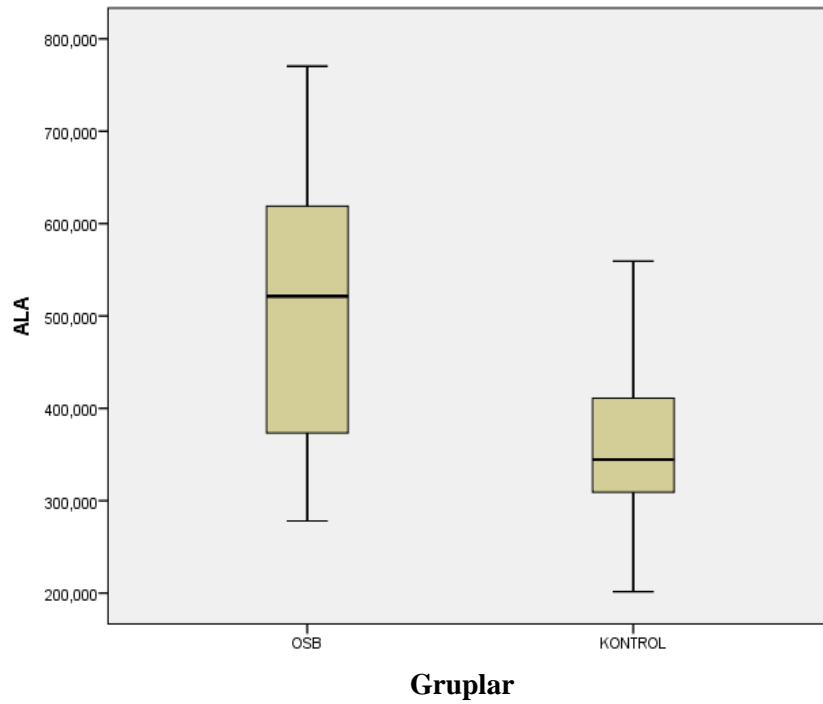
OSB grubunda aspartik asit seviyeleri ($22,220 \pm 7,400$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($38,475$ nmol/mL $\pm 9,793$ nmol/mL) istatistiksel olarak çok anlamlı düşük bulunmuştur ($p < 0.001$). Şekil 4.2.'de OSB ve kontrol gruplarında aspartik asit değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

OSB grubunda, beta-aminoizobütirik asit seviyelerinin ($2,535 \pm 1,061$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($3,583 \pm 1,070$ nmol/mL) istatistiksel olarak çok anlamlı düşük olduğu görülmüştür ($p < 0.001$). Şekil 4.3.'de OSB ve kontrol gruplarında beta-aminoizobütirik asit değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.

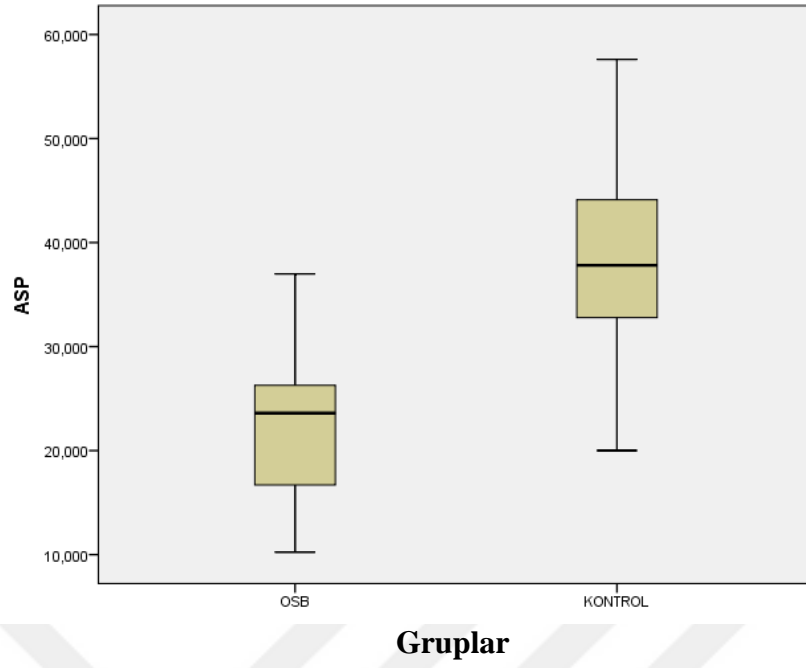
OSB grubunda serum arjinin seviyelerinde ($84,144 \pm 29,314$ nmol/mL), kontrol grubuna göre ($75,015 \pm 17,084$ nmol/mL) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Aynı şekilde OSB grubunda arjininosüksinat ($0,346 \pm 0,152$ nmol/mL), anserin ($20,327 \pm 7,827$ nmol/mL), asparajin ($98,646 \pm 15,835$ nmol/mL), beta alanin ($2,860 \pm 1,070$ nmol/mL), sitrülün ($23,397 \pm 6,198$ nmol/mL), glutamin ($304,004 \pm 64,873$ nmol/mL), histamin ($98,257 \pm 21,953$ nmol/mL), hidroksiprolin ($24,515 \pm 7,885$ nmol/mL), izolösin ($69,845 \pm 22,247$ nmol/mL), lösin ($144,935 \pm 47,622$ nmol/mL), lizin ($152,126 \pm 44,664$ nmol/mL), metiyonin ($33,172 \pm 9,208$ nmol/mL), fenilalanin ($100,487 \pm 32,361$ nmol/mL), sarkosin ($2,535 \pm 2,602$ nmol/mL), serin ($169,108 \pm 39,398$ nmol/mL), treonin ($0,728 \pm 0,769$ nmol/mL), tirozin ($66,904 \pm 16,782$ nmol/mL), valin ($213,547 \pm 49,559$ nmol/mL) değerleri ile, kontrol grubunda bulunan arjininosüksinat ($0,350 \pm 0,237$ nmol/mL), anserin ($17,082 \pm 5,491$ nmol/mL), asparajin ($95,419 \pm 25,264$ nmol/mL), beta alanin ($2,458 \pm 0,649$ nmol/mL), sitrülün ($19,653 \pm 5,892$ nmol/mL), glutamin ($322,799 \pm 89,190$ nmol/mL), histamin ($61,084 \pm 11,612$ nmol/mL), hidroksiprolin ($21,391 \pm 8,265$ nmol/mL), izolösin ($64,7811 \pm 13,869$ nmol/mL), lösin ($120,341 \pm 18,699$), lizin ($130,982 \pm 32,810$), metiyonin ($30,367 \pm 5,887$ nmol/mL), fenilalanin ($85,799 \pm 18,490$ nmol/mL), sarkosin ($1,607 \pm 1,237$

nmol/mL), serin ($154,552 \pm 38,685$ nmol/mL), treonin ($0,108 \pm 0,107$ nmol/mL), tirozin ($59,446 \pm 13,659$ nmol/mL), valin ($195,693 \pm 39,352$ nmol/mL) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,005$).

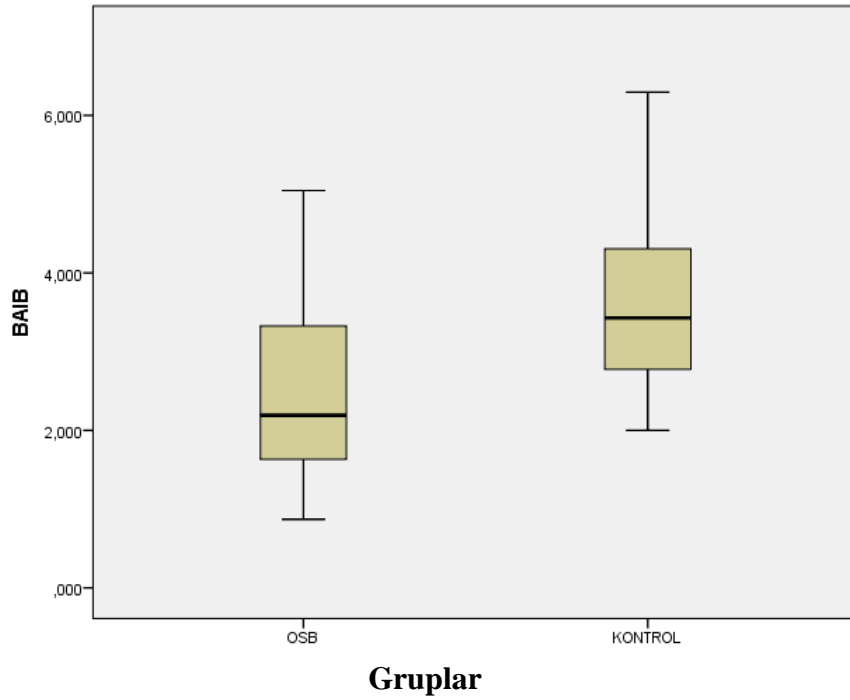
OSB ($1,1141 \pm 0,54$ nmol/mL) ve kontrol ($1,3080 \pm 0,906$ nmol/mL) grubu serum ADMA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Şekil 4.12.'de OSB ve kontrol gruplarında beta-aminoizobütirik asit değerlerinin box plot grafiği gösterilmiştir.



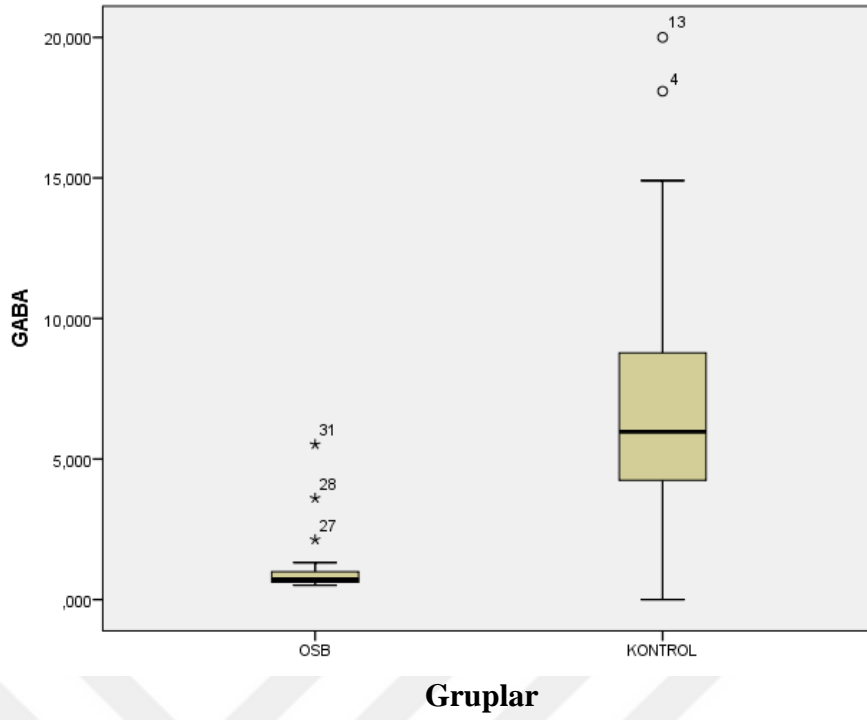
Şekil 4.1. Alanin sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



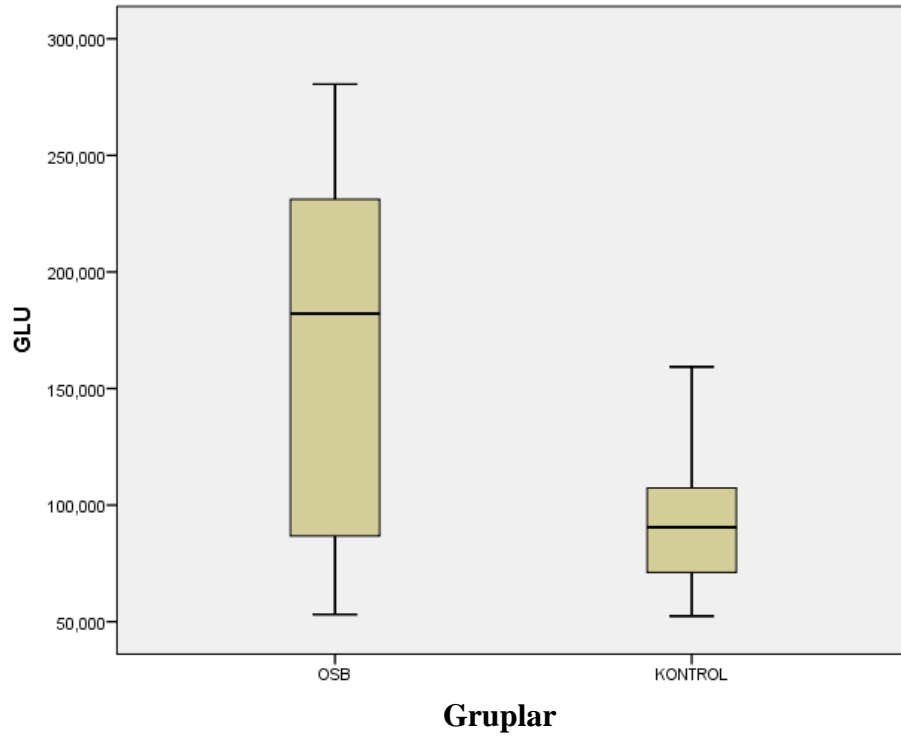
Şekil 4.2. Asp sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



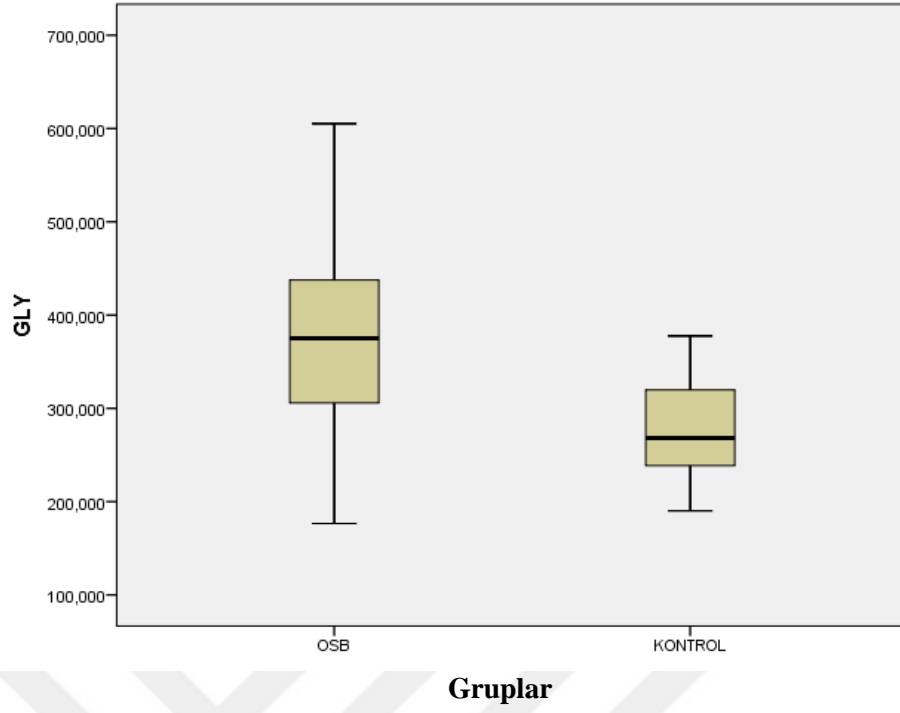
Şekil 4.3. Baib sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



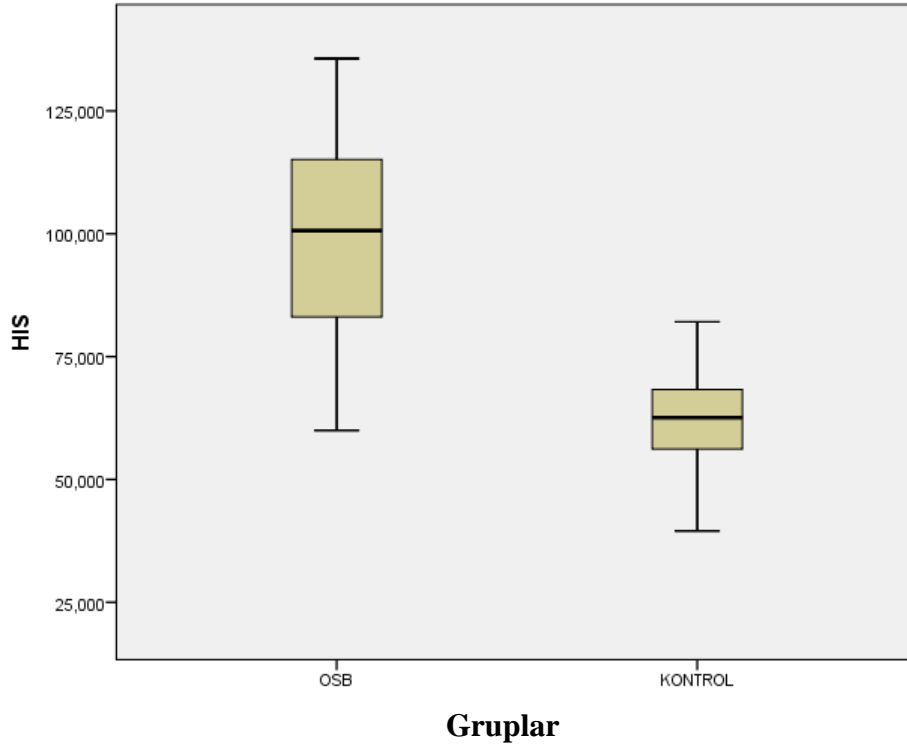
Şekil 4.4. GABA sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



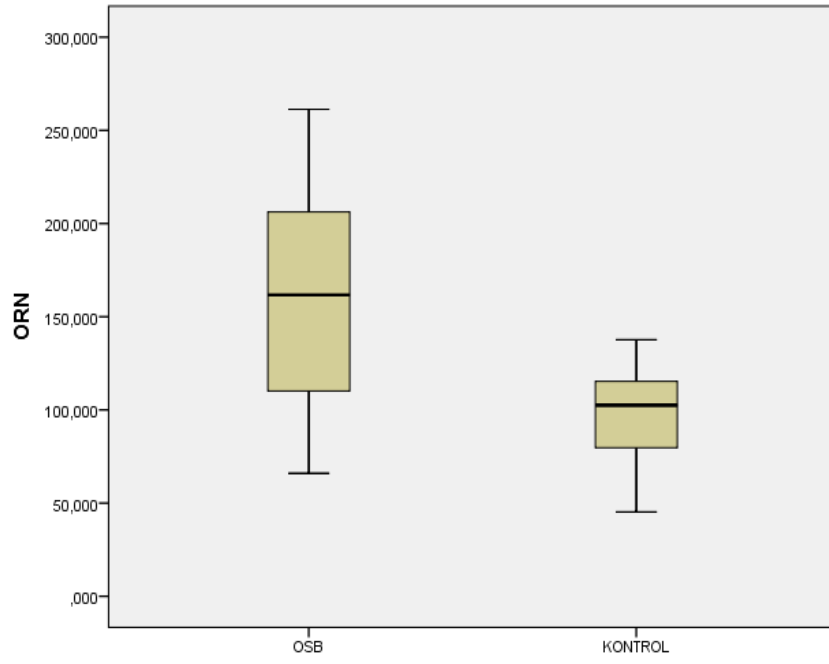
Şekil 4.5. Glu sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



Şekil 4.6. Gly sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği

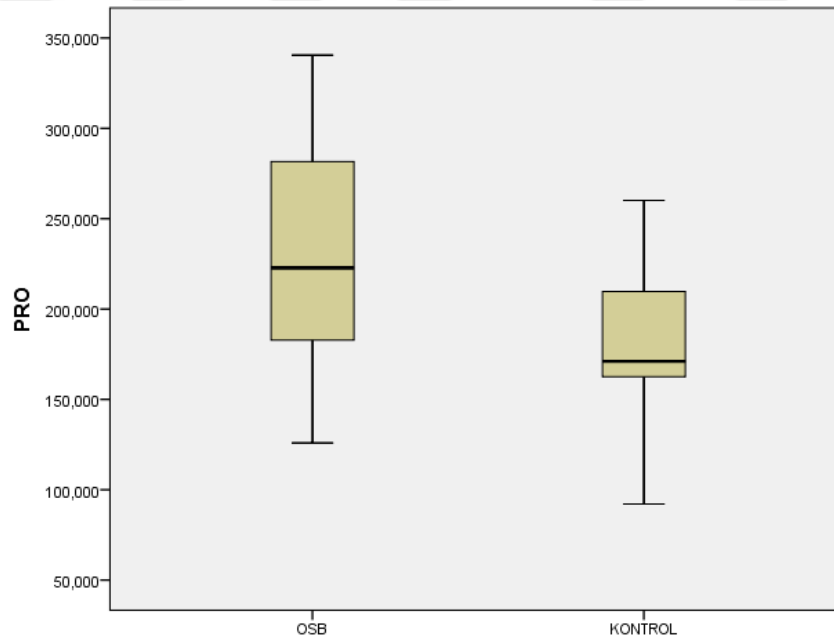


Şekil 4.7. His sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



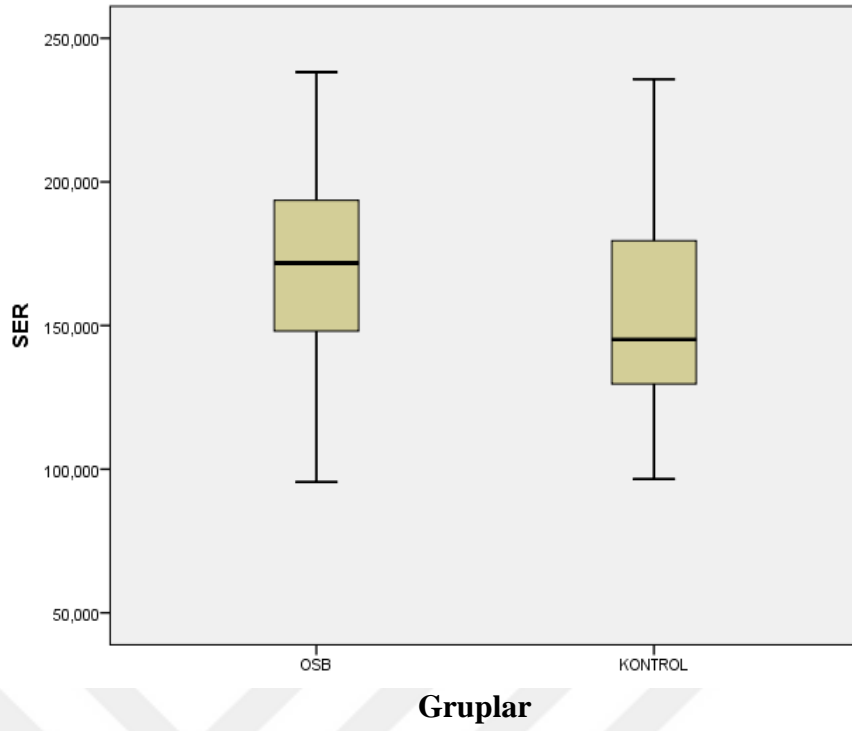
Gruplar

Şekil 4.8. Orn sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği

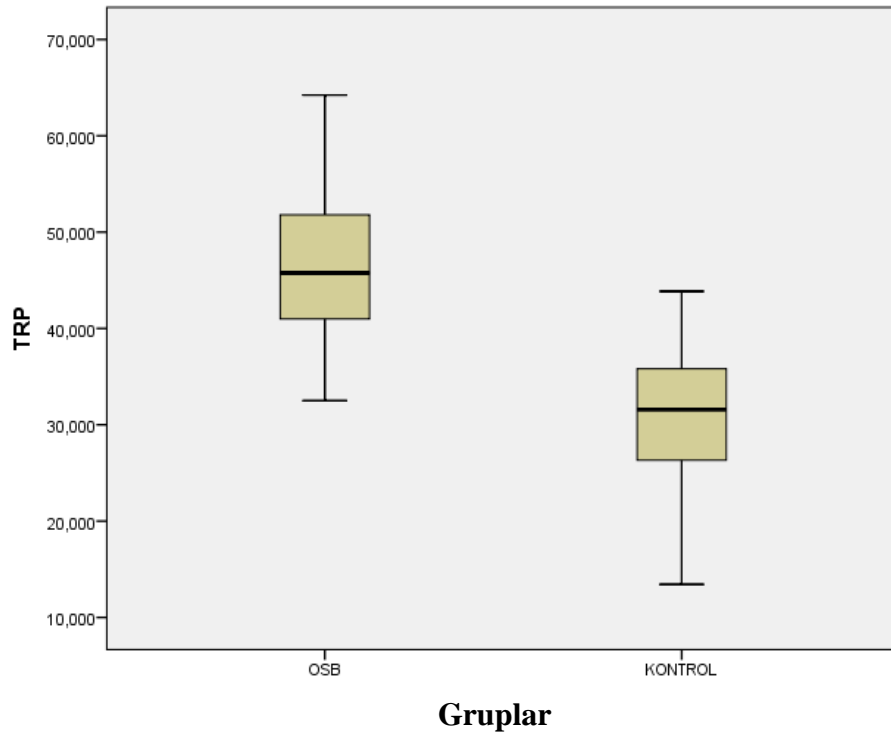


Gruplar

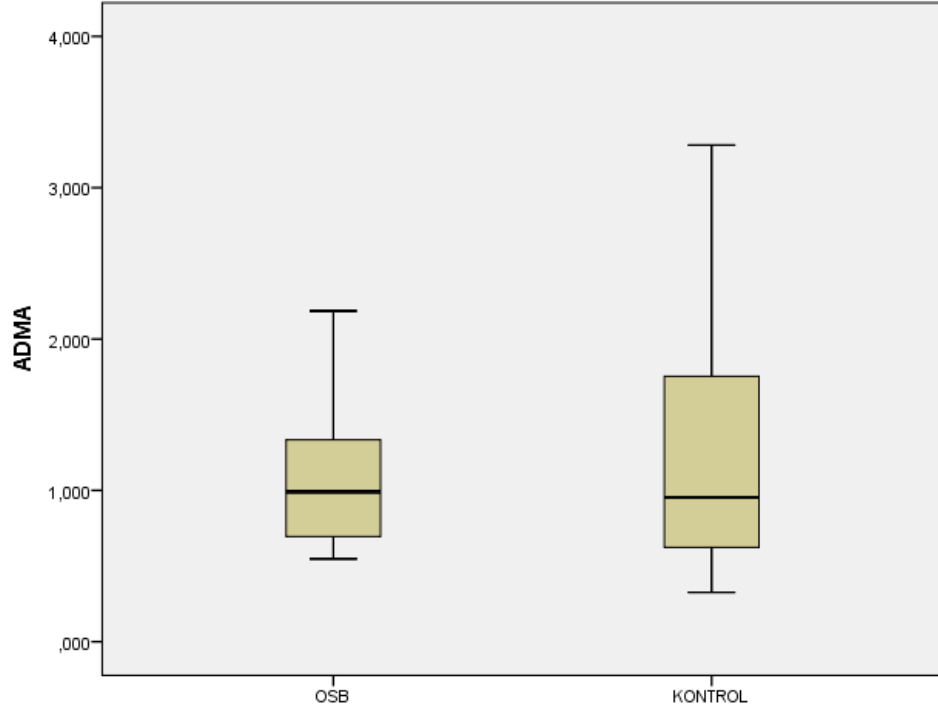
Şekil 4.9. Pro sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



Şekil 4.10. Ser sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



Şekil 4.11. Trp sonuçlarına ait OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği



Gruplar

Şekil 4.12. ADMA sonuçlarına asit OSB ve Kontrol gruplarındaki box plot grafiği

5. TARTIŞMA

Otizm ya da otizm spektrum bozukluğu iletişim ve sosyal etkileşimdeki bozuklukları kapsayan geniş spektrumlu bir nörogelişimsel bozukluktur, ayrıca, tekrarlayıcı, sınırlı ve kalıplaşmış davranış, faaliyet ve ilgi alanlarını içerir.⁷⁴ Zaman içinde tanımında birçok değişikliğe gidilmiştir. İlk başlarda gereken önem tam olarak verilmemesine rağmen, son zamanlarda hastalık ile ilgili toplumsal bilinç, farkındalık giderek artmaktadır. Görülme sıklığı, ölçü kriterleri farklılıkları, tanı koymanın zorluklarından dolayı kesin olarak bilenememesine rağmen, artmaktadır. Otizm prevalansı, Birleşik Krallıkta her 10.000 kişiden 4.1'inin otizm olduğunu gösteren ilk epidemiyolojik çalışmadan bu yana sürekli olarak artmaktadır.¹ Farklı çalışmalarda farklı rakamlar elde edilse de tahmini olarak dünya çapında %1 - %2,6 prevalansı mevcuttur.³⁷ Kim ve arkadaşlarının Güney Kore'de yaptığı çalışmada otizm yaygınlığını %0,9 bulmuştur.¹⁰⁶ Norveç'te yapılan bir başka çalışmada otizm yaygınlığı %0,02 gösterilmiştir.¹⁰⁷ Ülkemizde ise otizmlili birey sayısı ile ilgili kesin bir rakam mevcut değildir. Görülme sıklığının artması, toplumun geniş kesimini etkilemesi otizme ve otizm çalışmalarına olan ilgiyi artırmıştır.

Otizm için çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır, fakat bunların hiçbiri tek başına yeterli görülmemiştir. Etiyolojisi genellikle çevresel bir etki ile birlikte genetik yatkınlık olarak tanımlanmaktadır.²⁵

OSB'nin erken teşhisi ve bunun nedenlerini belirlemek, davranışsal tanıyı iyileştirmek ve kesinleştirmek için biyobelirteçlere büyük ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar; otizm araştırmalarındaki son gelişmelere yönelik artan ilgi, büyük bilimsel zorluklar ve biyobelirteçlerin geliştirilmesi ve bunların klinik uygulamalarından kaynaklanan önemli sosyal ve etik kaygılar konusunda farkındalık ve titizlikle ele alınmalıdır.¹⁰⁸

OSB üzerine yapılan araştırmalar çok yönlüdür. Ex vivo NMR, in vivo MRS ve GC, HPLC, MS bağımlı UPLC gibi çok yönlü bir dizi analitik platforma dayanır. Bu nedenle biyobelirteç çalışmaları pahalıdır, zahmetlidir ve araştırmacıların son derece ileri teknik bilgiye sahip olmasını gerektirir.¹⁶

OSB'nin genetik ve fenotipik heterojenliği; tanı, araştırma, sınıflandırma ve tedavi için önemli zorluklar oluşturmaktadır. Moleküler etiyojisine yönelik araştırmalar karışık ve çoğu zaman farklı bulgular vermiştir. Moleküler ve biyokimyasal olarak hastalığın temellerinin araştırılması patofizyolojisinin anlaşılmasında ve klinik çözümlere yol göstermede son derece önemlidir.¹⁰⁹

Otizimli çocuklarda en çok görülen sorunların başında zor yeme davranışları ve gastrointestinal semptomlar gelmektedir.¹⁹ Otizimli çocukların beslenme problemleri olduğuna dair çok sayıda çalışma vardır. Her ne kadar bu çalışmaların ankete dayalı olmaları ve konu seçimi gibi eksiklikleri olsa da beslenme bozukluklarının otizimli çocuklarda yaygın olarak görülebileceğini ortaya koymaktadır.¹¹⁰

Ulusal Çocuk Sağlığı Araştırması, OSB olan çocukların, tipik olarak gelişmekte olan çocuklarla karşılaştırıldığında obez olma olasılığının %40 daha fazla olduğunu göstermiştir.¹¹¹ Obezite ve sebep olduğu hastalıklar düşünöldüğünde bu veriler endişe vericidir. OSB'li çocuklarda ki buna gelişimsel engelli çocuklar da dahil, yeme davranışı ve diyet kalitesinin araştırılması, yeni bir araştırma alanını ortaya çıkarmıştır.¹⁹

Mevcut araştırma verilerine göre, bazı amino asitlerin otizm patogenezinde yer aldığı varsayılabilir. Fakat yapılan çalışmalar hangi amino asitlerin otizmin etiyojisi dahilinde olduğunu tam olarak göstermemektedir. Araştırma metodolojisindeki farklılıklar, sonuçların yorumlanmasındaki zorluklar ve sonuçların farklılıkları kesin

Esansiyel amino asitler üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Artan seviyeler Aldred ve ark.¹¹⁴ tarafından, hem artmış hem azalmış seviyeler Moreno ve ark. tarafından gösterilmiştir.¹¹⁵ Arnold ve ark. tarafından standart bir diyetle otizm grubunda sadece metioninin azaldığını göstermiştir.¹⁷ Diğer çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmaların kısıtlılığı, örnek sayılarının az olması ve diyet durumlarının net olmamasıdır.¹⁸

Glutamik asit, santral sinir sistemindeki en önemli uyarıcı nörotransmitterlerden biridir. Kan beyin bariyerini kolaylıkla geçebilir.¹¹² Glutamat hafızada hayati öneme sahiptir, öğrenmede, postsinaptik uyarımda ve bazı inhibisyonlarda işlev görür. Merkezi sinir sistemi boyunca bulunur. Tat almada ve cilt ağrı algılamasında rol oynar.¹⁸ Beyin gelişiminde nöronal göçü, nöronal farklılaşmayı, akson oluşumunu ve nöronal sağkalımı etkileyen önemli rolleri vardır. Şimdiye kadar elde edilen bilgilerle glutamaterjik nörotransmisyonadaki anormalliklerin otizmin patofizyolojisinde rol oynayabileceğini düşünülmektedir.¹¹⁶ Artmış glutamat, davranışsal problemlerin bazıları ve otizmle birlikte yaygın olarak görülen özelliklerle ilişkili olabilir.

Adams ve arkadaşları plazma amino asitleri üzerine yapmış olduğu çalışmada, OSB'li grupta glutamat seviyesinde önemli bir artış olduğunu göstermişlerdir.¹⁸ Her ne kadar yapılan bazı çalışmalarda farklı sonuçlar bulunsa da bunun sebebi çalışma grupları arasındaki yaş farkının yüksek olması olabilir. Japonya'da yapılan çalışmada, otizimli erişkin hastalarda serum glutamat düzeyleri normal sağlıklı kontrollerden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Glutamat seviyelerinin yüksekliğinin, otizmde görülen nöbetlerin oranlarının yüksekliğinde rol oynadığı düşünülebilir.¹¹⁶

Shinohe A. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada erişkin glutamat düzeylerinin yüksekliğinin, daha erken bir aşamada çocukluk çağında oluşabileceği ve bu durumun kalıcı olabileceği tartışılmıştır. Bu yüzden glutamat seviyelerinin otizimli çocuklarda

çalışılması önerilmiştir. Ayrıca otizimli ve otizimli olmayan çocuklarda serum glutamat seviyelerini ölçmenin, çocuklarda serolojik belirteç olarak glutamatın rolünü belirlemede önemli olabileceğini belirtmişlerdir.¹¹⁶ Bizim çalışmamızda otizimli çocuklar ve otizimli olmayan çocuklarda glutamik asit seviyeleri ölçülmüştür. Otizimli çocuklarda, serum glutamik asit düzeyleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Hastaların çocukluk çağında glutamat seviyelerinin yükseldiği ve yetişkinlikte devam ettiği düşüncesini desteklemektedir.

Önemli nörotransmitterler olan GABA ve glutamat arasındaki denge, beyin fonksiyonu için çok önemlidir ve birçok psikiyatrik ve nörolojik hastalık GABA ve glutamat arasındaki dengesizlik ile ilişkili olabilir.¹¹⁷ Her ikisinin de sinir sistemi gelişiminde önemli yeri vardır. Vücut sıvısı beyin fizyolojisi ve patolojisini yansıtır, GABA ve glutamata bağlı nörotransmisyonun fonksiyonel durumunu anlamak önemlidir.¹¹⁸ OSB olan kişilerde, plazmadaki GABA seviyelerinin kontrol grubuna oranla yüksek geldiği bildirilmiştir.^{118, 119} Bizim mevcut çalışmamızda ise GABA serum seviyeleri OSB grubunda, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur.

Glutamat astrositlerde, perisinaptik terminale aktarılıp tekrar glutamata dönüştürölünceye kadar glutamin olarak depolanır.¹²⁰ Glutamin; makrofajlar, lenfositler, enterositler ve tümörler dahil olmak üzere hızla bölünen hücreler için tercih edilen bir ana yakıt kaynağıdır.^{121, 122} Dolaşımdaki glutamin, iskelet kası, yağ dokusu, kalp ve plasentada dallı zincirli asitler ve öncelikli olarak glukoz kaynaklı α -ketoglutarattan sentezlenir. İnce bağırsak, hem arteryel dolaşım hem de bağırsak lümeninden glutamini kullanır.^{121, 123} Mikroarray analizler glutaminli diyet takviyesinin; anti-oksidatif genlerin ekspresyonunu arttırdığı ve ince bağırsakta ve yağ dokusunda proinflatuar genlerin ekspresyonunu azalttığı belirtilmiştir.¹²⁴⁻¹²⁶ Yapılan bazı

çalışmalarda glutaminin OSB ile ilişkisi ortaya konulmaya çalışılmıştır. Shimmura ve arkadaşları, plazma glutamin düzeylerinin otizmin erken saptanması için bir tanı aracı olarak kullanılabileceğini önermektedir.¹²⁷ 2010 yılında Ghanizadeh, glutamin sentetaz inhibitörünün OSB’de inflamasyonu artırabileceğini ileri sürmüştür.¹²⁸ Mevcut alışmada OSB ve kontrol grubu arasında glutamin düzeyleri arasında istatikselsel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bugajska ve ark. yaptığı çalışmada da otizmliler çocuklar ve sağlıklı çocukların serum glutamin düzeyleri arasında fark bulunamamıştır.¹¹² Shinohe ve ark. da plazma glutamin düzeyleri arasında fark bulunamamıştır.¹¹⁶

Birleşik Krallıkta yapılan bir çalışmada; otizmliler bir veya daha fazla çocuğu olan ailelerde, ebeveynlerden otizmliler çocuklarından kan plazma örneklerinde amino asit konsantrasyonları araştırılmış ve numunelerde bulunan alanin amino asidi kontrol değerlerinden daha yüksek bulunmuştur.¹¹⁴ İdrarda yapılan alanin araştırmalarında ise farklı sonuçlar mevcuttur. Ming ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada otizmliler çocukların idrarlarında alanin seviyeleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Otizmliler ocukların idrarlarındaki alanin düzeyi düşüklüğünü oksidatif stres ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir.¹²⁹ Bu çalışmanın aksine Mavel ve ark. yaptığı çalışmada otizmliler grubun idrar örneklerinde yüksek alanin düzeylerini bulduklarını göstermişlerdir.¹³⁰ Bizim alışmamızda ise serum alanin düzeyleri, OSB’li grupta kontrol grubuna göre, istatikselsel olarak anlamlı yüksek gözlemlenmiştir. Ming ve ark.¹²⁹ OSB’li grupta beta alaninin seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığını bildirirken, plazmada yapılan çalışmada Bala ve ark.¹³¹ gruplar arası fark bulunamamışlardır. Mevcut çalışmada da serum beta alanin düzeyleri arasında iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Çalışma gruplarının farklılıkları, etnik kökenleri, çalışma metotları, kullanılan karşılaştırma yöntemleri alanin seviyelerinin farklılıklarının sebebi olabilir.¹⁶

Glisin, hem inhibe edici hem de uyarıcı bir nörotransmitter olarak görev yapar. Serin ve sarkosinin olmak üzere birçok kaynaktan sentezlenir.¹⁶ Glisin üzerine yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Glisin ve GABA merkezi sinir sistemindeki majör inhibitör nörotransmitterlerdir.¹³² Erken gelişim sırasında uyarıcı nörotransmitterler olarak hareket ederek, membran potansiyellerini depolarize ederler.¹³³ Doğumda uyarıcı nörotransmitterden, inhibitör nörotransmitter olarak hareket etmeye geçer. Bu durum olgunlaşmada gerçekleşmezse, OSB de dahil olmak üzere nörolojik bozukluklarla sonuçlanabilir.¹³⁴⁻¹³⁶ Ming ve ark. yaptığı çalışmada glisin ve histidin amino asitlerini otizmlili çocukların idrarlarında kontrol gruba göre anlamlı derecede düşük bulmuşlardır, bu durumun proksimal renal tubullerden bu amino asitlerin seçici olarak azaltılmasının olup olmadığını açık olmadığını belirtmişlerdir.¹²⁹ Nadal-Desbarats ve ark. otizmlili hastalarda glisin seviyelerini yüksek bulmuşlardır.¹³⁷ Bizim çalışmamızda OSB grubunda, kontrol grubuna göre glisin seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

Bala ve ark.¹³¹ plazmada yaptığı çalışmada histidin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla otizmlili grupta daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada da otizmlili hastaların serumlarında histidin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu verilere zıt olarak Naused ve ark. OSB grubunda kontrol grubuna göre histidin seviyelerinin düşük olduğunu göstermişlerdir. Bu durumun gastrointestinal rahatsızlıklara yol açabileceğini belirtmişlerdir.¹³⁸ Yüksek serum histidin seviyeleri sağlıklı kişilerde de bildirilmiştir. Erken çocukluk döneminde histidinden yoksun diyetin bariz bir yararı görülmemiştir. Artan histidin konsantrasyonunun patolojik olmadığı gösterilmiştir.^{139, 140} Bizim mevcut çalışmamızda OSB grubunda, kontrol grubuna göre histidin seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

D'Eufemia ve ark. yaptığı çalışmada otizmlı çocukların serum prolin düzeyleri ile kontrol grubu arasında bir fark görmemişler.¹⁴¹ Yine aynı şekilde Tirouvanziam ve ark.¹⁴², Chie Shimmura ve ark.¹²⁷, Elbaz ve ark.¹⁴³ otizmlı çocuklarda sağlıklı çocuklara oranla plazma prolin düzeylerinde anlamlı bir fark bulamamıştır. Bizim çalışmamızda ise prolin seviyeleri, OSB grubunda kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada farklı sonuçların gelme sebebi ölçüm yöntemi farklılıkları ve yöntem hassasiyet farkları olabilir.

Serotonin önemli bir nörotransmitterdir ve öncüsü triptofandır.^{136, 144} Serotonin disfonksiyonları OSB'nin bazı formlarında, sosyal etkileşim bozuklukları gibi bazı semptomlara katkıda bulunabilir.¹⁴⁵ Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında, plazmada triptofan seviyelerinin OSB'de azaldığı rapor edilmiştir.¹³⁸ Ayrıca yüksek tam kan serotoninin, otizm spektrum bozukluğunda olan çocukların %25'inden fazlasında bulunduğu bildirilmiştir.¹⁴⁶ Mevcut çalışmamızda serum serotonin ve triptofan seviyeleri, otizmlı grupta, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Ayrıca, Naushad ve ark.¹³⁸ Tu ve ark.¹⁴⁷ OSB'li çocukların açlık plazmasında düşük triptofan seviyeleri bildirmiştir.

D'eufemia ve ark.¹⁴¹ otizmlı çocuklarda yaptığı çalışmada serum ornitin seviyeleri arasında otizmlı ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulamamışlardır. Otizmlı çocuklarda yapılan diğer çalışmalarda plazmada Elbaz ve ark.¹⁴³, Adam's ve ark.¹⁸, Shimmura ve ark.¹²⁷ ornitin seviyeleri arasında fark bulamamışlardır. Mevcut çalışmamızda ise OSB grubunda, serum ornitin seviyeleri, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Rolf ve ark. otizmlı çocukların trombositlerinde yaptığı çalışmada, otizmlı grupta aspartik asit seviyelerini kontrol grubuna göre daha az bulmuşlardır.¹⁴⁸ Tirouvanziam ve ark. ise plazmada aspartik asit seviyeleri arasında otizmlı ve sağlıklı

grup arasında fark bulamamışlardır.¹⁴² Bizim çalışmamızda ise otizmli çocukların serum aspartik asit seviyelerin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur.

Adam's ve ark.¹⁸ plazmada beta-aminoizobutirik asit seviyelerini, OSB grubunda, kontrol grubuna göre fazla bulmuşlardır. Mevut çalışmamızda ise bu verilere zıt olarak serum beta-aminoizobutirik seviyeleri OSB grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Otizmde beta-aminoizobutirik asit çalışması az olduğu için başka çalışmalarla karşılaştırma imkanımız bulunmamaktadır.

Yaptığımız bu çalışmada incelen; arjinine, arjininosüksinat, anserin, asparajin, beta alanin, sitrülün, glutamin, histamin, hidroksprolin, izolösin, lösin, lizin, metiyonin, fenilalanin, sarkosin, serine, treonin, tirozin ve valin serum düzeylerinde; OSB ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

D'Eufemia¹⁴¹ ve ark. yaptığı çalışmada serum arjinin, asparajin ve lizin düzeyleri arasında sağlıklı grupta otizmli grup arasında fark bulamamıştır. Otizmli çocukların plazmalarında yapılan farklı çalışmalarda, M. ElBaz ve ark.¹⁴³, Shimmura ve ark.¹²⁷, Bala ve ark.¹³¹ ve Adam ve ark.¹⁸ arjinin, asparajin, lizin seviyelerinde gruplar arası fark bulamadıklarını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda bu çalışmalarda olduğu gibi arjinin, asparajin ve lizin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Ayrıca mevcut çalışmamızda, arjininosüksinat düzeylerinde, OSB ve kontrol grupları arasında anlamlı fark tespit edilememiştir. Otizmde arjininosüksinat üzerine yapılan fazla çalışma bulunmamaktadır.

Hidroksprolin için D'Eufemia ve ark.¹⁴¹, Shimmura ve ark.¹²⁷, Bala ve ark.¹³¹ ve Adam ve ark.¹⁸ otizmli ve kontrol grubu arasında bizim çalışmamızda olduğu gibi istatistiksel olarak fark bulamazken, M. ElBaz ve ark.¹⁴³ hidroksprolin düzeylerinin otizmli grupta daha düşük bulduklarını bildirmiştir.

Esansiyel bir amino asit olan metiyonin, bir metil donörü olan ve nükleik asitler, proteinler, fosfolipitler ve nörotransmitterlerin metilasyonunda önemli bir rol oynayan S-adenozilmetiyonin için öncüdür.¹⁴⁹ Metiyonin düzeyleri ile ilgili çalışmalarda, D'Eufemia ve ark.¹⁴¹, Shimmura ve ark.¹²⁷, Adam ve ark.¹⁸ bizim elde ettiğimiz sonuçlara paralel olarak anlamlı fark bulamazken, M. ElBaz ve ark.¹⁴³ ve Bala ve ark.¹³¹ otizmlili grupta metiyonin düzeylerinin düşük olduğunu göstermişlerdir.

Son yıllarda özellikle beyinde serin üzerine yapılan çalışmalarda artış vardır. Muhtemelen şizofreni, bipolar, Alzheimer gibi çeşitli psikolojik bozuklukların patogeneğinde rol oynamaktadır.¹³⁶ Shinohe ve ark.¹¹⁶ yaptıkları çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde, yetişkin OSB grubu ile kontrol grubu arasında serum serin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır. ElBaz ve ark.¹⁴³, Tirouvanziam ve ark.¹⁴² OSB'li çocukların plazmalarında serin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulduklarını bildirmişlerdir. Plazmada yapılan bir başka çalışmada ise Shimmura ve ark.¹²⁷ anlamlı fark bulamamışlardır.

Esansiyel bir amino asit olan izolösin, protein sentezi ve degradesyonu üzerinde düzenleyici bir etkiye sahip dallı zincirli amino asittir. Dallanmış zincirli amino asitler ayrıca kaslarda glutamin ve alanin sentezi için azot kaynağıdır.¹⁵⁰ Lösin, pankreas β hücrelerinden glikoz kaynaklı insülin salımını destekleyen dallı zincirli amino asitler arasındaki en güçlü insülin salgılatıcı ajanlardan biridir.¹⁵¹ İzolösin ve lösin üzerine yapılan farklı vücut sıvıları araştırmalarında Tirouvanziam ve ark.¹⁴² plazmada, Perry ve ark.¹⁵² beyin omirlik sıvısında, Evans ve ark.⁷⁵ idarda, OSB grubunda kontrol grubuna oranla izolösin ve lösin seviyelerinin düşük tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu verilere zıt olarak D'Eufemia ve ark.¹⁴¹ serum numunelerinde OSB grubunda yüksek bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise anlamlı fark bulunamamıştır. Bu farklı bulguların

sebebi, farklı örneklem büyüklükleri, yaş aralıkları ve deneklerin etnik durumları olabilir.¹⁶

Otizimde sarkozin, anserin üzerine çok fazla literatür bilgisi bulunmamakla birlikte, Adam's ve ark.¹⁸ plazmada anserin, sarkosin seviyeleri arasında otizmliler ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulamamışlardır. Mevcut çalışmamızda da serum anserin, sarkosin seviyeleri arasında gruplar arası anlamlı fark bulunamamıştır.

Üre döngüsünde, ornitin ve karbamoil fosfattan sentezlenen ve aynı zamanda arjininden de sentezlenebilen bir amino asit olan sitrülün, enflamasyon ve oksidatif stres yollarında rol alır.¹⁶ Sitrülün üzerine yapılan çalışmalarda, ElBaz ve ark.¹⁴³, Shimmura ve ark.¹²⁷, Adams ve ark.¹⁸ OSB olan çocukların plazma sitrülün düzeylerinde, D'Eufemia ve ark.¹⁴¹ serum düzeylerinde, kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamıştır. Mevcut çalışmamızda da serum sitrülün düzeyleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Bu verileri zıt olarak Tirouvanziam ve ark.¹⁴² OSB'li grupta sitrülün seviyelerinin anlamlı düşük olduğunu bildirmiştir.

Histaminerjik sistemin uyku ve bazı davranışlarda kritik bir rolü vardır. Her ne kadar otizm spektrum bozukluğunda iyi araştırılmamış olsa da, histaminerjik sistem birçok nörolojik hastalıkla ilişkilendirilmiştir.¹⁵³ Yapılan literatür taramasında güncel otizmlilerde hastalarda histamin üzerine yapılan çalışmaya rastlanamamıştır. 1988 yılında Launay ve ark.¹⁵⁴ tam kan ve idrar numunelerinde yapmış olduğu çalışmada OSB grubu ve kontrol grubu arasında fark bulamadıklarını bildirmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da serum histamin düzeylerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Esansiyel bir amino asit olan fenilalanin, tirozin, DOPA ve katekolaminlerin (dopamin, adrenalin, noradrenalin) öncülüdür.¹⁵⁵ OSB'li çocuklarda plazma fenilalanin

çalışmalarında; Aldred ve ark.¹¹⁴ OSB'li grupta kontrol grubuna oranla anlamlı yüksek sonuç bildirirken, Arnold¹⁷ ve ark.ları, Naushad ve ark.¹³⁸, ElBaz ve ark.¹⁴³ OSB'li grupta kontrol grubuna göre düşük sonuç bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise serum fenilalanin seviyeleri arasında OSB ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Bizim elde ettiğimiz verilere paralel olarak, D'Eufemia ve ark.¹⁴¹ serumda, Shimmura ve ark.¹²⁷, Tirouvanziam ve ark.¹⁴² plazmada iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır.

Çalışmamızda serum tirozin seviyeleri arasında OSB ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Elde ettiğimiz verilere paralel olarak. Serumda P. D'Eufemia ve ark.¹⁴¹ plazmada, Shimmura ve ark.¹²⁷ iki grup arasında anlamlı fark bulamamışlardır. Plazmada yapılan başka çalışmalarda tirozin düzeylerini, Aldred ve ark.¹¹⁴ OSB'li grupta yüksek bulurken, Tu ve ark.¹⁴⁷, Tirouvanziam ve ark.¹⁴², ElBaz ve ark.¹⁴³, Adams ve ark.¹⁸ OSB'li grupta düşük bulmuşlardır.

Tirouvanziam ve ark.¹⁴² yaptıkları çalışmada plazma treonin düzeylerini OSB'li grupta kontrol grubuna göre düşük bulmuşlardır. Shimmura ve ark.¹²⁷, Adams ve ark.¹⁸, Aldred ve ark.¹¹⁴ ise iki grup arasından anlamlı fark bildirmemişlerdir. Bu çalışmada da iki grup arasında serum treonin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

D'Eufemia ve ark.¹⁴¹ serum valin düzeylerini OSB'li grupta kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Tu ve ark.¹⁴⁷ ise plazmada OSB'li grupta kontrol grubuna göre düşük bulmuşlardır. Adams ve ark.¹⁸, ElBaz ve ark.¹⁴³, Shimmura ve ark.¹²⁷, Naushad ve ark.¹³⁸ ise iki grup arasında anlamlı fark bulamamışlardır. Bu çalışma verilerine uyumlu olarak, bizim çalışmamızda da serum valin düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Arjinin amino asitinin translasyon sonrası modifiye olmuş formu olan ADMA, NO sentaz enzimini yarışmalı olarak inhibe eder. Sinyal iletiminde önemli yeri olan NO birçok hastalıkla ilişkilidir. Yapılan çalışmalar bazı psikiyatrik bozukluklarda ADMA düzeylerinin yükseldiğini ve bu durumun hastalıkların fizyopatolojisinde yeri olduğunu ileri sürmektedir.^{23, 156} Otizmlı çocuklar üzerine yaptığımız bu çalışmada; otizmlı ve kontrol grubu serum ADMA düzeyleri arasında istatıksel olarak anlamlı fark gözlenememiştir. Bizim bilgilerimiz dahilinde, daha önce otizmlı çocuklarda serum ADMA düzeyleri ile ilgili veri olmaması nedeniyle her hangi bir literatür bilgisiyle karşılaştırma imkanımız bulunmamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Otizmin dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı her geçen gün artmaktadır. Aynı oranda otizm üzerine yapılacak geniş kapsamlı çalışmalara olan ihtiyaç da artmaktadır. Otizmin tam bir tedavisinin, kesin bir biyokimyasal veya genetik teşhis testinin olamaması ve tanı kriterlerinin zorlukları göz önüne alınınca, hastalığın teşhisi, tedavisi ve takibi için biyokimyasal çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, otizmlili grup ve kontrol grubu arasındaki amino asit serum düzeyleri özetlendiğinde;

- 1) Alanin, glutamik asit, glisin, histidin, ornitin, prolin, serotonin, triptofan düzeyleri, OSB grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunurken,
- 2) Aspartik asit, beta-aminoizobütirik asit ve GABA düzeyleri, OSB grubunda istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur.
- 3) Arginin, argininosüksinat, anserine, asparajin, beta alanin, sitrülün, glutamin, histamin, hidroksiprolin, izolösin, lösin, lizin, metiyonin, fenilalanin, serine, sarkosin, treonin, tirozin ve valin serum düzeylerinde istatistiksel olarak fark bulunamamıştır.
- 4) Serum ADMA düzeyleri arasında istatistiksel olarak iki grup arasında fark bulunamamıştır.

Serum amino asit düzeylerinden elde edilen bu verilerin kullanımı, otizmde tanısal bir araç olarak gelişme potansiyeline ve tedavi stratejilerinin etkinliğini belirlemeye yönelik potansiyele sahiptir. Amino asitler vücut fizyolojisinin önemli bir göstergesidir. Metabolik yolların göstergesi olarak önemli bilgiler verebilir. Özellikle hastalığın semptomların ve bazı sosyal iletişim bozuklularının sebebi ile ilişkisi düşünüldüğünde otizmde amino asitlerin önemli yeri vardır. Otizmlili çocuklarda amino asitler üzerine yapılacak ileri çalışmalarda, hastalığın semptomlarının azaltılması açısından, diyet ve beslenme alışkanlıklarının düzenlenmesine yönelik yeni öneriler getirilebilir.

Otizimde serum ADMA seviyeleri ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Otizmin patofizyolojisi ile ilgili olabilecek oksidatif stresin ve antioksidanların olası rolü şimdiye kadar ki çalışmalarda gösterilmiştir.

Farklı etnik gruplarda, farklı coğrafyalarda, farklı ölçüm yöntemleriyle yapılan çalışmalarda, amino asit seviyeleri farklılık gösterebilir. Bundan dolayı, daha çok hasta sayısı ve beslenme alışkanlıkları bilgileriyle yapılacak olan amino asit araştırmalarına ihtiyaç vardır. Elde edilen verilerin biyokimyasal yollarının aydınlatılması, sebep ve sonuçlarıyla açıklanması hastalıkla ilgili çoğu semptomun temelini aydınlatılabilir. Fazla örneklem sayısında, farklı biyolojik materyallerde yapılacak ölçümlerde, geniş kapsamlı antioksidan parametrelerle ilişkilendirilerek ADMA seviyelerinin çalışılması hastalığın patofizyolojisine katkı sağlayabilecektir.

7. KAYNAKLAR

1. Lai MC, Lombardo MV, Baron-Cohen S. Autism. *Lancet*, 2014, 383: 896-910.
2. Bauman ML, Kemper TL. Neuroanatomic observations of the brain in autism: a review and future directions. *Int J Dev Neurosci*, 2005, 23: 183-187.
3. Deykin EY, MacMahon B. The incidence of seizures among children with autistic symptoms. *Am J Psychiatry*, 1979, 136: 1310-1312.
4. Young RL, Rodi ML. Redefining Autism Spectrum Disorder Using DSM-5: The Implications of the Proposed DSM-5 Criteria for Autism Spectrum Disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2014, 44: 758-765.
5. Lyall K, Croen L, Daniels J, Fallin MD, Ladd-Acosta C, Lee BK, Park BY, Snyder NW, Schendel D, Volk H, Windham GC, Newschaffer C. The Changing Epidemiology of Autism Spectrum Disorders. *Annu Rev Public Health*, 2017, 38: 81-102.
6. Lauritsen MB, Pedersen CB, Mortensen PB. The incidence and prevalence of pervasive developmental disorders: a Danish population-based study. *Psychological Medicine*, 2004, 34: 1339-1346.
7. Dietert RR, Dietert JM, Dewitt JC. Environmental risk factors for autism. *Emerg Health Threats J*, 2011, 4: 7111.
8. Newschaffer CJ, Croen LA, Daniels J, Giarelli E, Grether JK, Levy SE, Mandell DS, Miller LA, Pinto-Martin J, Reaven J, Reynolds AM, Rice CE, Schendel D, Windham GC. The epidemiology of autism spectrum disorders. *Annual Review of Public Health*, 2007, 28: 235-258.
9. Simmons DR, Robertson AE, McKay LS, Toal E, McAleer P, Pollick FE. Vision in autism spectrum disorders. *Vision Res*, 2009, 49: 2705-2739.

10. Geschwind DH. Genetics of autism spectrum disorders. *Trends in Cognitive Sciences*, 2011, 15: 409-416.
11. Chakrabarti S, Fombonne E. Pervasive developmental disorders in preschool children. *JAMA*, 2001, 285: 3093-3099.
12. Baron-Cohen S, Lombardo MV, Auyeung B, Ashwin E, Chakrabarti B, Knickmeyer R. Why are autism spectrum conditions more prevalent in males? *PLoS Biol*, 2011, 9: e1001081.
13. Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, Phillips J, Cohen B, Torigoe T, Miller J, Fedele A, Collins J, Smith K, Lotspeich L, Croen LA, Ozonoff S, Lajonchere C, Grether JK, Risch N. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch Gen Psychiatry*, 2011, 68: 1095-1102.
14. Brown AS, Sourander A, Hinkka-Yli-Salomaki S, McKeague IW, Sundvall J, Surcel HM. Elevated maternal C-reactive protein and autism in a national birth cohort. *Mol Psychiatry*, 2014, 19: 259-264.
15. Walsh P, Elsabbagh M, Bolton P, Singh I. In search of biomarkers for autism: scientific, social and ethical challenges. *Nature Reviews Neuroscience*, 2011, 12: 603-612.
16. Zurawicz E, Kaluzna-Czaplinska J. Analysis of amino acids in autism spectrum disorders. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2015, 73: 91-118.
17. Arnold GL, Hyman SL, Mooney RA, Kirby RS. Plasma amino acids profiles in children with autism: potential risk of nutritional deficiencies. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2003, 33: 449-454.
18. Adams JB, Audhya T, McDonough-Means S, Rubin RA, Quig D, Geis E, Gehn E, Loresto M, Mitchell J, Atwood S, Barnhouse S, Lee W. Nutritional and metabolic

status of children with autism vs. neurotypical children, and the association with autism severity. *Nutrition & Metabolism*, 2011, 8.

19. Kral TV, Eriksen WT, Souders MC, Pinto-Martin JA. Eating behaviors, diet quality, and gastrointestinal symptoms in children with autism spectrum disorders: a brief review. *J Pediatr Nurs*, 2013, 28: 548-556.

20. Brinkmann SJH, de Boer MC, Buijs N, van Leeuwen PAM. Asymmetric dimethylarginine and critical illness. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2014, 17: 90-97.

21. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Endogenous Dimethylarginine as an Inhibitor of Nitric-Oxide Synthesis. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1992, 20: S60-S62.

22. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an Endogenous Inhibitor of Nitric-Oxide Synthesis in Chronic-Renal-Failure. *Lancet*, 1992, 339: 572-575.

23. Ohkuma S, Katsura M. Nitric oxide and peroxynitrite as factors to stimulate neurotransmitter release in the CNS. *Prog Neurobiol*, 2001, 64: 97-108.

24. Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Boger M, Tsikas D, Hornig B, Frolich HC, Boger RH. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovascular Research*, 2003, 57: 244-252.

25. Masi A, DeMayo MM, Glozier N, Guastella AJ. An Overview of Autism Spectrum Disorder, Heterogeneity and Treatment Options. *Neurosci Bull*, 2017, 33: 183-193.

26. Volkmar FR, Cicchetti DV, Bregman J, Cohen DJ. Three diagnostic systems for autism: DSM-III, DSM-III-R, and ICD-10. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 1992, 22: 483-492.
27. Baxter AJ, Brugha TS, Erskine HE, Scheurer RW, Vos T, Scott JG. The epidemiology and global burden of autism spectrum disorders. *Psychological Medicine*, 2015, 45: 601-613.
28. Gillberg C, Steffenburg S, Schaumann H. Is Autism More Common Now Than 10 Years Ago. *British Journal of Psychiatry*, 1991, 158: 403-409.
29. Degenhardt L, Baxter AJ, Lee YY, Hall W, Sara GE, Johns N, Flaxman A, Whiteford HA, Vos T. The global epidemiology and burden of psychostimulant dependence: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Drug and Alcohol Dependence*, 2014, 137: 36-47.
30. Zablotsky B, Black LI, Blumberg SJ. Estimated Prevalence of Children With Diagnosed Developmental Disabilities in the United States, 2014-2016. *NCHS Data Brief*, 2017: 1-8.
31. Sharma SR, Gonda X, Tarazi FI. Autism Spectrum Disorder: Classification, diagnosis and therapy. *Pharmacol Ther*, 2018.
32. Fombonne E. Editorial: The rising prevalence of autism. *J Child Psychol Psychiatry*, 2018, 59: 717-720.
33. Bernier R, Mao A, Yen J. Psychopathology, families, and culture: autism. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*, 2010, 19: 855-867.
34. Daniels JL. Autism and the environment. *Environmental Health Perspectives*, 2006, 114: A396-A396.
35. Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, Phillips J, Cohen B, Torigoe T, Miller J, Fedele A, Collins J, Smith K, Lotspeich L, Croen LA, Ozonoff S, Lajonchere C,

- Grether JK, Risch N. Genetic Heritability and Shared Environmental Factors Among Twin Pairs With Autism. *Archives of General Psychiatry*, 2011, 68: 1095-1102.
36. Eissa N, Al-Houqani M, Sadeq A, Ojha SK, Sasse A, Sadek B. Current Enlightenment About Etiology and Pharmacological Treatment of Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in Neuroscience*, 2018, 12.
37. Schaaf CP, Zoghbi HY. Solving the Autism Puzzle a Few Pieces at a Time. *Neuron*, 2011, 70: 806-808.
38. Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, Troge J, Lese-Martin C, Walsh T, Yamrom B, Yoon S, Krasnitz A, Kendall J, Leotta A, Pai D, Zhang R, Lee YH, Hicks J, Spence SJ, Lee AT, Puura K, Lehtimaki T, Ledbetter D, Gregersen PK, Bregman J, Sutcliffe JS, Jobanputra V, Chung W, Warburton D, King MC, Skuse D, Geschwind DH, Gilliam TC, Ye K, Wigler M. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science*, 2007, 316: 445-449.
39. Risch N, Spiker D, Lotspeich L, Nouri N, Hinds D, Hallmayer J, Kalaydjieva L, McCague P, Dimiceli S, Pitts T, Nguyen L, Yang J, Harper C, Thorpe D, Vermeer S, Young H, Hebert J, Lin A, Ferguson J, Chiotti C, Wiese-Slater S, Rogers T, Salmon B, Nicholas P, Petersen PB, Pingree C, McMahon W, Wong DL, Cavalli-Sforza LL, Kraemer HC, Myers RM. A genomic screen of autism: evidence for a multilocus etiology. *Am J Hum Genet*, 1999, 65: 493-507.
40. Bourgeron T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nature Reviews Neuroscience*, 2015, 16: 551-563.
41. Chaste P, Leboyer M. Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions. *Dialogues Clin Neurosci*, 2012, 14: 281-292.
42. Devlin B, Scherer SW. Genetic architecture in autism spectrum disorder. *Curr Opin Genet Dev*, 2012, 22: 229-237.

43. Huguet G, Ey E, Bourgeron T. The Genetic Landscapes of Autism Spectrum Disorders. *Annual Review of Genomics and Human Genetics, Vol 14*, 2013, 14: 191-213.
44. Durand CM, Betancur C, Boeckers TM, Bockmann J, Chaste P, Fauchereau F, Nygren G, Rastam M, Gillberg IC, Anckarsater H, Sponheim E, Goubran-Botros H, Delorme R, Chabane N, Mouren-Simeoni MC, de Mas P, Bieth E, Roge B, Heron D, Burglen L, Gillberg C, Leboyer M, Bourgeron T. Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nature Genetics*, 2007, 39: 25-27.
45. Klauck SM. Genetics of autism spectrum disorder. *Eur J Hum Genet*, 2006, 14: 714-720.
46. Ronemus M, Iossifov I, Levy D, Wigler M. The role of de novo mutations in the genetics of autism spectrum disorders. *Nat Rev Genet*, 2014, 15: 133-141.
47. Betancur C. Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: More than 100 genetic and genomic disorders and still counting. *Brain Research*, 2011, 1380: 42-77.
48. Baker P, Piven J, Schwartz S, Patil S. Brief report: duplication of chromosome 15q11-13 in two individuals with autistic disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 1994, 24: 529-535.
49. Kern JK, Grannemann BD, Trivedi MH, Adams JB. Sulfhydryl-reactive metals in autism. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part a-Current Issues*, 2007, 70: 715-721.
50. Parker SK, Schwartz B, Todd J, Pickering LK. Thimerosal-containing vaccines and autistic spectrum disorder: a critical review of published original data. *Pediatrics*, 2004, 114: 793-804.

51. Fujiwara T, Morisaki N, Honda Y, Sampei M, Tani Y. Chemicals, Nutrition, and Autism Spectrum Disorder: A Mini-Review. *Frontiers in Neuroscience*, 2016, 10.
52. Arndt TL, Stodgell CJ, Rodier PM. The teratology of autism. *Int J Dev Neurosci*, 2005, 23: 189-199.
53. Jo H, Schieve LA, Sharma AJ, Hinkle SN, Li RW, Lind JN. Maternal Prepregnancy Body Mass Index and Child Psychosocial Development at 6 Years of Age. *Pediatrics*, 2015, 135: E1198-E1209.
54. Krakowiak P, Walker CK, Bremer AA, Baker AS, Ozonoff S, Hansen RL, Hertz-Picciotto I. Maternal Metabolic Conditions and Risk for Autism and Other Neurodevelopmental Disorders. *Pediatrics*, 2012, 129: E1121-E1128.
55. Xiang AH, Wang XH, Martinez MP, Walthall JC, Curry ES, Page K, Buchanan TA, Coleman KJ, Getahun D. Association of Maternal Diabetes With Autism in Offspring. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 2015, 313: 1425-1434.
56. Ben-Ari Y. Is birth a critical period in the pathogenesis of autism spectrum disorders? *Nature Reviews Neuroscience*, 2015, 16: 498-505.
57. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Perinatal and Neonatal Risk Factors for Autism: A Comprehensive Meta-analysis. *Pediatrics*, 2011, 128: 344-355.
58. Kolevzon A, Gross R, Reichenberg A. Prenatal and perinatal risk factors for autism - A review and integration of findings. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 2007, 161: 326-333.
59. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Prenatal risk factors for autism: comprehensive meta-analysis. *British Journal of Psychiatry*, 2009, 195: 7-14.
60. Mazahery H, Camargo CA, Conlon C, Beck KL, Kruger MC, von Hurst PR. Vitamin D and Autism Spectrum Disorder: A Literature Review. *Nutrients*, 2016, 8.

61. Herbert MR. Contributions of the environment and environmentally vulnerable physiology to autism spectrum disorders. *Current Opinion in Neurology*, 2010, 23: 103-110.
62. Rieder MJ, Livingston RJ, Stanaway IB, Nickerson DA. The Environmental Genome Project: Reference polymorphisms for drug metabolism genes and genome-wide association studies. *Drug Metabolism Reviews*, 2008, 40: 241-261.
63. Schaafsma SM, Pfaff DW. Etiologies underlying sex differences in Autism Spectrum Disorders. *Front Neuroendocrinol*, 2014, 35: 255-271.
64. Werling DM, Geschwind DH. Sex differences in autism spectrum disorders. *Current Opinion in Neurology*, 2013, 26: 146-153.
65. Baron-Cohen S. The extreme male brain theory of autism. *Trends in Cognitive Sciences*, 2002, 6: 248-254.
66. Baron-Cohen S, Auyeung B, Norgaard-Pedersen B, Hougaard DM, Abdallah MW, Melgaard L, Cohen AS, Chakrabarti B, Ruta L, Lombardo MV. Elevated fetal steroidogenic activity in autism. *Molecular Psychiatry*, 2015, 20: 369-376.
67. Jacquemont S, Coe BP, Hersch M, Duyzend MH, Krumm N, Bergmann S, Beckmann JS, Rosenfeld JA, Eichler EE. A Higher Mutational Burden in Females Supports a "Female Protective Model" in Neurodevelopmental Disorders. *American Journal of Human Genetics*, 2014, 94: 415-425.
68. London E, Etzel RA. The environment as an etiologic factor in autism: A new direction for research. *Environmental Health Perspectives*, 2000, 108: 401-404.
69. Courchesne E, Allen G. Prediction and preparation, fundamental functions of the cerebellum. *Learning & Memory*, 1997, 4: 1-35.
70. Harada M, Taki MM, Nose A, Kubo H, Mori K, Nishitani H, Matsuda T. Non-Invasive Evaluation of the GABAergic/Glutamatergic System in Autistic Patients

Observed by MEGA-Editing Proton MR Spectroscopy Using a Clinical 3 Tesla Instrument. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2011, 41: 447-454.

71. Siegel M, Beaulieu AA. Psychotropic medications in children with autism spectrum disorders: a systematic review and synthesis for evidence-based practice. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2012, 42: 1592-1605.

72. LeBlanc LA, Gillis JM. Behavioral interventions for children with autism spectrum disorders. *Pediatr Clin North Am*, 2012, 59: 147-164, xi-xii.

73. McCracken JT, McGough J, Shah B, Cronin P, Hong D, Aman MG, Arnold LE, Lindsay R, Nash P, Hollway J, McDougle CJ, Posey D, Swiezy N, Kohn A, Scahill L, Martin A, Koenig K, Volkmar F, Carroll D, Lancor A, Tierney E, Ghuman J, Gonzalez NM, Grados M, Vitiello B, Ritz L, Davies M, Robinson J, McMahon D, Research Units on Pediatric Psychopharmacology Autism N. Risperidone in children with autism and serious behavioral problems. *N Engl J Med*, 2002, 347: 314-321.

74. Ranjan S, Nasser JA. Nutritional Status of Individuals with Autism Spectrum Disorders: Do We Know Enough? *Advances in Nutrition*, 2015, 6: 397-407.

75. Evans C, Dunstan RH, Rothkirch T, Roberts TK, Reichelt KL, Cosford R, Deed G, Ellis LB, Sparkes DL. Altered amino acid excretion in children with autism. *Nutritional Neuroscience*, 2008, 11: 9-17.

76. Grant SL, Shulman Y, Tibbo P, Hampson DR, Baker GB. Determination of D-serine and related neuroactive amino acids in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2006, 844: 278-282.

77. Kaspar H, Dettmer K, Gronwald W, Oefner PJ. Advances in amino acid analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 393: 445-452.

78. Bakan E. *Tanıda Laboratuvar*. 2 Baskı. Erzurum, Aktif Yayınevi, 2016: 1-3.

79. Paşaoğlu ÖT. Amino Asitler ve Peptitler. İçinde: Paşaoğlu H. (editör). *Temel/Klinik Biyokimya*, 1. Baskı. Ankara, Pelikan Yayınevi, 2017: 53-63.
80. Yöntem M, Ünalı M. *Biyokimya, 1. Baskı* İstanbul, İstanbul Tıp Kitapevleri, 2018: 326-336.
81. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5th ed. New York, Freeman, 2008.
82. Rodwell VW. Biosynthesis of the Nutritionally Nonessential Amino Acids. In: Murray K, Bender DA, Botham KM, Kennelly P, Rodwell VW, Weil PA. (eds). *Harper's Illustrated Biochemistry*, 28th ed. 2009: 234-238.
83. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*, 2009, 37: 1-17.
84. Stoll B, Henry J, Reeds PJ, Yu H, Jahoor F, Burrin DG. Catabolism dominates the first-pass intestinal metabolism of dietary essential amino acids in milk protein-fed piglets. *J Nutr*, 1998, 128: 606-614.
85. Wu G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *J Nutr*, 1998, 128: 1249-1252.
86. Wu G. Urea synthesis in enterocytes of developing pigs. *Biochem J*, 1995, 312 (Pt 3): 717-723.
87. Teerlink T. ADMA metabolism and clearance. *Vasc Med*, 2005, 10 Suppl 1: S73-81.
88. Tain YL, Hsu CN. Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins (Basel)*, 2017, 9.
89. Wilcken DEL, Sim AS, Wang J, Wang XL. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in vascular, renal and hepatic disease and the regulatory role of L-arginine on its metabolism. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2007, 91: 309-317.

90. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine:dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24: 1023-1030.
91. Brinkmann SJ, de Boer MC, Buijs N, van Leeuwen PA. Asymmetric dimethylarginine and critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2014, 17: 90-97.
92. Blackwell S. The biochemistry, measurement and current clinical significance of asymmetric dimethylarginine. *Ann Clin Biochem*, 2010, 47: 17-28.
93. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*, 1992, 339: 572-575.
94. Güler BUĞDAYCI ES. Asimetrik Dimetilarginin (ADMA) *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 2005, 2: 36-41.
95. Goto M, Masuda H, Tamaoki S, Azuma H. Accelerated intimal hyperplasia with hyperglycemia through increased accumulation of endogenous inhibitors for nitric oxide synthesis. *Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, 1998, 358: R304-R304.
96. Onozato ML, Tojo A, Leiper J, Fujita T, Palm F, Wilcox CS. Expression of N-G,N-G-dimethylarginine dimethylaminohydrolase and protein arginine N-methyltransferase isoforms in diabetic rat kidney - Effects of angiotensin II receptor blockers. *Diabetes*, 2008, 57: 172-180.
97. Teerlink T, Luo ZM, Palm F, Wilcox CS. Cellular ADMA: Regulation and action. *Pharmacological Research*, 2009, 60: 448-460.
98. Ellger B, Richir MC, van Leeuwen PAM, Debaveye Y, Langouche L, Vanhorebeek I, Teerlink T, Van den Berghe G. Glycemic control modulates arginine and asymmetrical-dimethylarginine levels during critical illness by preserving

dimethylarginine-dimethylaminohydrolase activity. *Endocrinology*, 2008, 149: 3148-3157.

99. Palm F, Onozato ML, Luo ZM, Wilcox CS. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2007, 293: H3227-H3245.

100. Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2005, 289: R913-R935.

101. Smulders RA, Aarsen M, Teerlink T, DeVries PMJM, VanKamp GJ, Donker AJM, Stehouwer CDA. Haemodynamic and biochemical responses to L-arginine and L-lysine infusions in normal subjects: L-arginine-induced vasodilatation cannot be explained by non-specific effects of cationic amino acids. *Clinical Science*, 1997, 92: 367-374.

102. Teerlink T, Luo Z, Palm F, Wilcox CS. Cellular ADMA: regulation and action. *Pharmacological Research*, 2009, 60: 448-460.

103. Zurawicz E, Kaluzna-Czaplinska J, Rynkowski J. Chromatographic methods in the study of autism. *Biomedical Chromatography*, 2013, 27: 1273-1279.

104. Toyo'oka T. Amino acid analysis: current topics and trends. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2013, 405: 7905-7906.

105. Kulle AE, Welzel M, Holterhus PM, Riepe FG. Principles and clinical applications of liquid chromatography - tandem mass spectrometry for the determination of adrenal and gonadal steroid hormones. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2011, 34: 702-708.

106. Kim YS, Leventhal BL, Koh YJ, Fombonne E, Laska E, Lim EC, Cheon KA, Kim SJ, Kim YK, Lee H, Song DH, Grinker RR. Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry*, 2011, 168: 904-912.
107. Sponheim E, Skjeldal O. Autism and related disorders: epidemiological findings in a Norwegian study using ICD-10 diagnostic criteria. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 1998, 28: 217-227.
108. Walsh P, Elsabbagh M, Bolton P, Singh I. In search of biomarkers for autism: scientific, social and ethical challenges. *Nature Reviews Neuroscience*, 2011, 12: 603-612.
109. Subramanian M, Timmerman CK, Schwartz JL, Pham DL, Meffert MK. Characterizing autism spectrum disorders by key biochemical pathways. *Frontiers in Neuroscience*, 2015, 9.
110. Ahearn WH, Castine T, Nault K, Green G. An assessment of food acceptance in children with autism or pervasive developmental disorder-not otherwise specified. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2001, 31: 505-511.
111. Curtin C, Anderson SE, Must A, Bandini L. The prevalence of obesity in children with autism: a secondary data analysis using nationally representative data from the National Survey of Children's Health. *Bmc Pediatrics*, 2010, 10.
112. Bugajska J, Berska J, Wojtyto T, Bik-Multanowski M, Sztefko K. The amino acid profile in blood plasma of young boys with autism. *Psychiatria Polska*, 2017, 51: 359-368.
113. Song C, Zhang S, Ji Z, Li Y, You J. Accurate Determination of Amino Acids in Serum Samples by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Using a Stable Isotope Labeling Strategy. *J Chromatogr Sci*, 2015, 53: 1536-1541.

114. Aldred S, Moore KM, Fitzgerald M, Waring RH. Plasma amino acid levels in children with autism and their families. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2003, 33: 93-97.
115. Moreno-Fuenmayor H, Borjas L, Arrieta A, Valera V, Socorro-Candanoza L. Plasma excitatory amino acids in autism. *Invest Clin*, 1996, 37: 113-128.
116. Shinohe A, Hashimoto K, Nakamura K, Tsujii M, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sekine Y, Suda S, Suzuki K, Sugihara GI, Matsuzaki H, Minabe Y, Sugiyama T, Kawai M, Yo M, Takei N, Mori N. Increased serum levels of glutamate in adult patients with autism. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2006, 30: 1472-1477.
117. Robertson CE, Ratai EM, Kanwisher N. Reduced GABAergic Action in the Autistic Brain. *Current Biology*, 2016, 26: 80-85.
118. El-Ansary A, Al-Ayadhi L. GABAergic/glutamatergic imbalance relative to excessive neuroinflammation in autism spectrum disorders. *Journal of Neuroinflammation*, 2014, 11.
119. Dhossche D, Applegate H, Abraham A, Maertens P, Bland L, Bencsath A, Martinez J. Elevated plasma gamma-aminobutyric acid (GABA) levels in autistic youngsters: stimulus for a GABA hypothesis of autism. *Med Sci Monit*, 2002, 8: PR1-6.
120. Magistretti PJ, Pellerin L. Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 1999, 354: 1155-1163.
121. Curthoys NP, Watford M. Regulation of Glutaminase Activity and Glutamine-Metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 1995, 15: 133-159.
122. Rhoads JM, Argenzio RA, Chen WN, Rippe RA, Westwick JK, Cox AD, Berschneider HM, Brenner DA. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and

activates mitogen-activated protein kinases. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 1997, 272: G943-G953.

123. Self JT, Spencer TE, Johnson GA, Hu JB, Bazer FW, Wu GY. Glutamine synthesis in the developing porcine placental. *Biology of Reproduction*, 2004, 70: 1444-1451.

124. Fu WJJ, Haynes TE, Kohli R, Hu JB, Shi WJ, Spencer TE, Carroll RJ, Meininger CJ, Wu GY. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Nutrition*, 2005, 135: 714-721.

125. Jobgen W, Fu WJ, Gao HJ, Li P, Meininger CJ, Smith SB, Spencer TE, Wu GY. High fat feeding and dietary l-arginine supplementation differentially regulate gene expression in rat white adipose tissue. *Amino Acids*, 2009, 37: 187-198.

126. Wang JJ, Chen LX, Li P, Li XL, Zhou HJ, Wang FL, Li DF, Yin YL, Wu GY. Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. *Journal of Nutrition*, 2008, 138: 1025-1032.

127. Shimmura C, Suda S, Tsuchiya KJ, Hashimoto K, Ohno K, Matsuzaki H, Iwata K, Matsumoto K, Wakuda T, Kameno Y, Suzuki K, Tsujii M, Nakamura K, Takei N, Mori N. Alteration of Plasma Glutamate and Glutamine Levels in Children with High-Functioning Autism. *PLoS One*, 2011, 6.

128. Ghanizadeh A. Methionine Sulfoximine May Improve Inflammation in Autism, A Novel Hypothesized Treatment for Autism. *Archives of Medical Research*, 2010, 41: 651-652.

129. Ming X, Stein TTP, Barnes V, Rhodes N, Guo LN. Metabolic Perturbance in Autism Spectrum Disorders: A Metabolomics Study. *Journal of Proteome Research*, 2012, 11: 5856-5862.

130. Mavel S, Nadal-Desbarats L, Blasco H, Bonnet-Brilhault F, Barthelemy C, Montigny F, Sarda P, Laumonnier F, Vourc'h P, Andres CR, Emond P. H-1-C-13 NMR-based urine metabolic profiling in autism spectrum disorders. *Talanta*, 2013, 114: 95-102.
131. Bala KA, Dogan M, Mutluer T, Kaba S, Aslan O, Balahoroglu R, Cokluk E, Ustyoil L, Kocaman S. Plasma amino acid profile in autism spectrum disorder (ASD). *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2016, 20: 923-929.
132. Ito S. GABA and glycine in the developing brain. *Journal of Physiological Sciences*, 2016, 66: 375-379.
133. Yamada J, Okabe A, Toyoda H, Kilb W, Luhmann HJ, Fukuda A. Cl⁻ uptake promoting depolarizing GABA actions in immature rat neocortical neurones is mediated by NKCC1. *Journal of Physiology-London*, 2004, 557: 829-841.
134. Tyzio R, Cossart R, Khalilov I, Minlebaev M, Hubner CA, Represa A, Ben-Ari Y, Khazipov R. Maternal oxytocin triggers a transient inhibitory switch in GABA signaling in the fetal brain during delivery. *Science*, 2006, 314: 1788-1792.
135. Tyzio R, Nardou R, Ferrari DC, Tsintsadze T, Shahrokhi A, Eftekhari S, Khalilov I, Tsintsadze V, Brouchoud C, Chazal G, Lemonnier E, Lozovaya N, Burnashev N, Ben-Ari Y. Oxytocin-Mediated GABA Inhibition During Delivery Attenuates Autism Pathogenesis in Rodent Offspring. *Science*, 2014, 343: 675-679.
136. Zheng HF, Wang WQ, Li XM, Rauw G, Baker GB. Body fluid levels of neuroactive amino acids in autism spectrum disorders: a review of the literature. *Amino Acids*, 2017, 49: 57-65.
137. Nadal-Desbarats L, Aidoud N, Emond P, Blasco H, Filipiak I, Sarda P, Bonnet-Brilhault F, Mavel S, Andres CR. Combined H-1-NMR and H-1-C-13 HSQC-NMR to

- improve urinary screening in autism spectrum disorders. *Analyst*, 2014, 139: 3460-3468.
138. Naushad SM, Jain JMN, Prasad CK, Naik U, Akella RRD. Autistic children exhibit distinct plasma amino acid profile. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 2013, 50: 474-478.
139. Lam WK, Cleary MA, Wraith JE, Walter JH. Histidinaemia: A benign metabolic disorder. *Archives of Disease in Childhood*, 1996, 74: 343-346.
140. Tarlungeanu DC, Deliu E, Dotter CP, Kara M, Janiesch PC, Scalise M, Galluccio M, Tesulov M, Morelli E, Sonmez FM, Bilguvar K, Ohgaki R, Kanai Y, Johansen A, Esharif S, Ben-Omran T, Topcu M, Schlessinger A, Indiveri C, Duncan KE, Caglayan AO, Gunel M, Gleeson JG, Novarino G. Impaired Amino Acid Transport at the Blood Brain Barrier Is a Cause of Autism Spectrum Disorder. *Cell*, 2016, 167: 1481-+.
141. Deufemia P, Finocchiaro R, Celli M, Viozzi L, Monteleone D, Giardini O. Low Serum Tryptophan to Large Neutral Amino-Acids Ratio in Idiopathic Infantile-Autism. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 1995, 49: 288-292.
142. Tirouvanziam R, Obukhanych TV, Laval J, Aronov PA, Libove R, Banerjee AG, Parker KJ, O'Hara R, Herzenberg LA, Herzenberg LA, Hardan AY. Distinct Plasma Profile of Polar Neutral Amino Acids, Leucine, and Glutamate in Children with Autism Spectrum Disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2012, 42: 827-836.
143. Farida M.ElBaz MMZ, Azza M.Youssef, Ghada F.ElDorry, Dina Y.Elalfy. Study of plasma amino acid levels in children with autism: An Egyptian sample. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 2014, 15: 181-186.

144. Zhang WQ, Smolik CM, Barba-Escobedo PA, Gamez M, Sanchez JJ, Javors MA, Daws LC, Gould GG. Acute dietary tryptophan manipulation differentially alters social behavior, brain serotonin and plasma corticosterone in three inbred mouse strains. *Neuropharmacology*, 2015, 90: 1-8.
145. Lam KSL, Aman MG, Arnold LE. Neurochemical correlates of autistic disorder: A review of the literature. *Research in Developmental Disabilities*, 2006, 27: 254-289.
146. Muller CL, Anacker J, Veenstra-Vanderweele J. The Serotonin System in Autism Spectrum Disorder: From Biomarker to Animal Models. *Neuroscience*, 2016, 321: 24-41.
147. Tu WJ, Chen H, He J. Application of LC-MS/MS analysis of plasma amino acids profiles in children with autism. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2012, 51: 248-249.
148. Rolf LH, Haarmann FY, Grottemeyer KH, Kehrer H. Serotonin and Amino-Acid Content in Platelets of Autistic-Children. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 1993, 87: 312-316.
149. James SJ, Cutler P, Melnyk S, Jernigan S, Janak L, Gaylor DW, Neubrandner JA. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 80: 1611-1617.
150. Szpetnar M, Matras P, Boguszewska-Czubara A, Kielczykowska M, Rudzki S, Musik I. Is Additional Enrichment of Diet in Branched-Chain Amino Acids or Glutamine Beneficial for Patients Receiving Total Parenteral Nutrition after Gastrointestinal Cancer Surgery? *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2014, 23: 423-431.
151. Yang J, Dolinger M, Ritaccio G, Mazurkiewicz J, Conti D, Zhu XJ, Huang YF. Leucine Stimulates Insulin Secretion via Down-regulation of Surface Expression of

Adrenergic alpha 2A Receptor through the mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) Pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287: 24795-24806.

152. Perry TL, Hansen S, Christie RG. Amino-Compounds and Organic-Acids in Csf, Plasma, and Urine of Autistic-Children. *Biological Psychiatry*, 1978, 13: 575-586.

153. Wright C, Shin JH, Rajpurohit A, Deep-Soboslay A, Collado-Torres L, Brandon NJ, Hyde TM, Kleinman JE, Jaffe AE, Cross AJ, Weinberger DR. Altered expression of histamine signaling genes in autism spectrum disorder. *Translational Psychiatry*, 2017, 7.

154. Launay JM, Ferrari P, Haimart M, Bursztejn C, Tabuteau F, Braconnier A, Pasquesbondoux D, Luong C, Dreux C. Serotonin Metabolism and Other Biochemical Parameters in Infantile-Autism - a Controlled-Study of 22 Autistic-Children. *Neuropsychobiology*, 1988, 20: 1-11.

155. Ploder M, Neurauter G, Spittler A, Schroecksadel K, Roth E, Fuchs D. Serum phenylalanine in patients post trauma and with sepsis correlate to neopterin concentrations. *Amino Acids*, 2008, 35: 303-307.



156. Zincir S, Zincir SB, Doruk A, Erdem M, Celik C, Ak M, Garip B, Yukselir C, Karaahmetoglu B. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and treatment response relationship in male patients with first-episode schizophrenia: A controlled study. *Psychiatry Research*, 2014, 220: 76-80.

8. EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Mehmet Ali GÜL
Doğum	: 28.06.1987
Doğum yeri	: Seydişehir
Medeni hali	: Evli
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası Tıbbi Biyokimya 25240 ERZURUM
Tel	: 0442 344 6612
Faks	: -
E-mail	: mehmetali.gul@atauni.edu.tr
Eğitim	
Lise	: Seydişehir M.E. Anadolu Lisesi (2005)
Lisans	: Atatürk Üni. Eğitim. Fak./Kimya Böl. (2005-2010)
Yüksek Lisans	: Atatürk Üni. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya (2010-2013)
Doktora	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (2013-)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	: İyi derecede (YÖKDİL 88,75, Nisan 2018)
İlgi Alanları ve Hobiler	
	Teknoloji, sportif faaliyetler

EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU

 **ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU** 

Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/141
Konu : Etik Kurul Kararı

08.12.2016

Sayın: Arş.Gör.Dr.Mehmet Ali GÜL
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Araştırma Görevlisi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz **“Doğu Anadolu Bölgesindeki Otizimli Çocuklarda Serum Amino Asit ve Asimetrik Dimetilarjinin Düzeyleri”** isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için **Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan** izin alınması gerekmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Arş.Gör.Dr.Mehmet Ali GÜL	
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI	Doğu Anadolu Bölgesindeki Otizimli Çocuklarda Serum Amino Asit ve Asimetrik Dimetilarjinin Düzeyleri	
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 7 Karar No: 12	Tarih: 08.12.2016
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin BAP tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.Mustafa GÜL
Üye

Doç.Dr.Hamidullah ÜYANIK
Üye

Yrd.Doç.Dr.İlker İNCE
Üye

Yrd.Doç.Dr.Zahide KOŞAN
Üye

Uz.Dr. Sevilay AKALP ÖZMEN
Üye

Op.Dr.Binali FIRINCI
Üye

Arş.Gör.Dr.Kamil DURMUŞ
Üye (Hukukçu)

Emrah MELETLİOĞLU
Üye

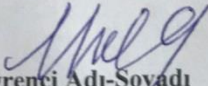
EK 3. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

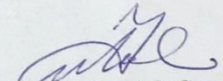
T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. F. Zuhal Umudum danışmanlığında sunulan “Doğu Anadolu Bölgesindeki Otizmlili Çocuklarda Serum Amino Asit ve Asimetrik Dimetiltarjinin Düzeyleri” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	7	15
Genel Bilgiler	5	30
Materyal ve Metod	20	35
Bulgular	8	10
Tartışma	6	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 26 / 08/ 2019


Öğrenci Adı-Soyadı
Mehmet Ali GÜL


Danışman Adı-Soyadı
Prof. Dr. F. Zuhal UMUDUM

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun / ... / ... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun / ... / ... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.