

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI ÇOCUĞU
OLAN ANNELERDE ANTİ-PURKİNJE HÜCRE
ANTİKORLARI ve DNA HASARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Şermin BİLGEN ULGAR

DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Hamza AYAYDIN

ŞANLIURFA
2019

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI ÇOCUĞU
OLAN ANNELERDE ANTI-PURKİNJE HÜCRE
ANTİKORLARI ve DNA HASARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Şermin BİLGİN ULGAR

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Hamza AYAYDIN

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörü tarafından 08.12.2017 tarih ve 17193 protokol numarasıyla desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA
2019**

T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

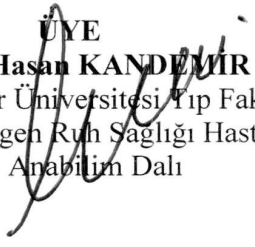
JÜRİ VE FAKÜLTE ONAYI

Araştırma Görevlisi Dr. Şermin BİLGİN ULGAR'ın hazırladığı “Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuğu Olan Annelerde Antipurkinje Hücre Antikorları ve DNA Hasarının Değerlendirilmesi” başlıklı tezi 20.05/2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Hastalıkları Anabilim Dalında **Tıpta Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

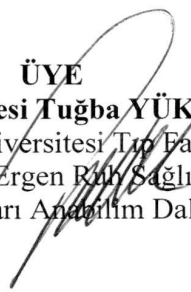

BAŞKAN

Dr. Öğr. Üyesi Hamza AYAYDIN
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Hastalıkları
Anabilim Dalı

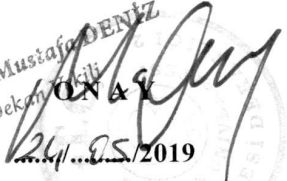
ÜYE


Doç. Dr. Hasan KANDEMİR
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Hastalıkları
Anabilim Dalı

ÜYE


Dr. Öğr. Üyesi Tuğba YÜKSEL
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı
Hastalıkları Anabilim Dalı

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun 13.06/2019 tarih ve 2019/23/06 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mustafa DENİZ
Dekan

20.05/2019

DEKAN

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca her anlamda desteği, bilgisi ve tecrübelerini içtenlikle paylaşan ve tez dönemimde özveri ve sabıryla desteğini esirgemeyen kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Hamza Ayaydın'a,

Asistanlığa ilk adım attığım o heyecanlı günlerde, kendisinin hocam olması dışında her zaman bir ağabey gibi desteğini hep hissettiğim bir diğer değerli hocam olan Doç. Dr. Hasan Kandemir'e,

Tez sürecinde desteğini ve bilgisini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Hakim Çelik hocama, Psikiyatri rotasyon eğitimim sırasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Doç. Dr. Mehmet Asoğlu ve Dr. Öğr. Üyesi Mahmut Katı hocalarıma, Çocuk Nörolojisi hocamız Doç. Dr. Mustafa Çalık'a, Biyokimya hocalarım Dr. Öğr. Üyesi İsmail Koyuncu ve Dr. Öğr. Üyesi Adnan Kirit'e,

Başta eş kıdemim ve sevgili arkadaşım Dr Hatice Takatak olmak üzere, bölümdeki tüm asistan arkadaşlarıma,

Hastanede çeşitli bölümlerde tanıdığım ve birlikte çalıştığım tüm hemşire, sekreter ve diğer asistan arkadaşlarıma,

Tüm hayatım boyunca yanımda veya uzakta ama hep kalbimde benimle birlikte olan sevgili annem Sultan Bilgen, babam Orhan Bilgen, ablam Yasemin Aslanyavrusu, ağabeyim Serdal Aslanyavrusu ve biricik yeğenim Nehir Aslanyavrusu'na,

Her zaman desteğini hissettiğim eşim Orbay Bahri Ulgar'a, içten teşekkür, sevgi ve saygılarımla.

Dr. Şermin BİLGEN ULGAR

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
KISALTMALAR	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Otizm Spektrum Bozuklukları	4
2.1.1. Genel Tanım ve Tarihçe	4
2.1.2. Tanı Kriterleri	5
2.1.3. Epidemiyoloji	6
2.1.4. Etiyoloji ve Risk Faktörleri	6
2.1.4.1. Genetik Faktörler	7
2.1.4.2. Çevresel Faktörler	7
2.1.4.3. Nöroanatomik ve Nörofizyolojik Faktörler	8
2.1.4.4. Nörokimyasal Faktörler	9
2.1.4.5. İmmunolojik Faktörler	10
2.1.5. Klinik Özellikler	11
2.2. Oksidatif Stres	14
2.2.1. Otizm ve Oksidatif Stres Mekanizmaları	15
2.2.1.1. Otizmde Antioksidan Enzimlerde Değişiklikler	16
2.2.1.2. Otizmde Anormal Demir ve Bakır Metabolizması	17
2.2.1.3. Otizmde Homosistein ve Metionin Metabolizmasında Dengesizlik	17
2.2.1.4. Otizmde Artmış Nitrik Oksit	18
2.2.1.5. Otizmde Artmış Ksantin Oksidaz	19
2.2.1.6. Otizmde Mitokondriyal Disfonksiyon ve Anormal Enerji Metabolizması	19
2.2.1.7. Otizmde Çevresel Risk Faktörleri	20
2.2.1.8. Otizme Genetik Yatkınlık	20

2.3. Otizm ve DNA Hasarı	20
2.4. Otizm ve Nöronal İmmünite	22
2.4.1. Sitokin Profillerinde Değişiklik	22
2.4.2. İmmünoglobulin Düzeyleri	23
2.4.3. Hücresel İmmunitede Değişiklik	23
2.4.4. Nöroinflamasyon	24
2.5. Otizm ve Otoimmünite	24
2.5.1. OSB'de Nöral Antijenlere Karşı Antikorlar	25
2.5.2. OSB'de Anti Nükleer Antikorlar	25
2.5.3. Davranış ve Otoimmünite	25
2.6. Otizm ve Serebellum	26
2.7. Otizm ve Antinöronal Antikorlar	27
2.8. Otizm ve Prenatal Stres	29
3. YÖNTEM VE GEREÇLER	31
3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı	31
3.2. Ölçekler ve Formlar	31
3.2.1. Sosyodemografik Form	31
3.2.2. Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ) (Childhood Autism Rating Scale (CARS))	32
3.3. Kullanılan Gereçler	33
3.3.1. Anti-Yo (PCA-1) Ölçümü	33
3.3.2. Anti-Hu (ANNA-1) Ölçümü	34
3.3.3. Anti-Ri (ANNA-2) Ölçümü	35
3.3.4. Anti-Amfifizin (Anti-AMPH) Ölçümü	36
3.3.5. 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) Ölçümü	37
3.4. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılacak İstatistiksel Yöntemler	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA	43
5.1. Sonuç	51
6. KAYNAKLAR	52
7. EKLER	76
EK-1: Etik Kurul Kararı	76
EK-2: Gönüllü Bilgilendirilmiş Onam Formu	77

EK-3: Sosyodemografik Veri Formu	79
EK-4: Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ)	80
EK-5: Turnittin Raporu	81



Tablo-1: Onkonöral Antikorlar ve İlişkili Tümör ve Sendromlar	28
Tablo-2: Vaka ve Kontrol Gruplarının Sosyodemografik ve Sosyoekonomik Düzey Özellikleri	40
Tablo-3: Vaka ve Kontrol Grupları Arasında Anti-Yo, Anti-Hu, Anti-amfifizin, 8-OHdG Düzeyleri ve Anti-Ri Pozitifliğinin Karşılaştırılması	42



ŒEKİLLER DİZİNİ

SAYFA NO

Œekil-1: Otizmde Oksidatif Stresin Potansiyel Mekanizması

16

Œekil-2: Anti-amfizinin ROC Eğrisi

41



SİMGELER ve KISALTMALAR

Anti-Yo	: Anti purkinje cell antibodies
Anti-Hu	: Anti neuronal nuclear antibody 1
Anti-Ri	: Anti neuronal nuclear antibody 2
ATP	: Adenosin trifosfat
BA21	: Brodman 21 numaralı alan
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CARS	: Childhood Autism Rating Scale
CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
Cu	: Bakır
ÇODÖ	: Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği
DEHB	: Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
DNA	: Deoksi Ribo Nükleik Asit
DSM-5	: Ruhsal Bozuklukların Tanı ve İstatistiksel El Kitabı, 5. Baskı
EEG	: Elektroensefalografi
EPR	: Evoked Potential Response
Fe	: Demir
GABA	: Gama aminobütirik asit
GFAP	: Glial fibriler asidik protein
Glo 1	: Glioksilaz 1
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
Gsr 1	: Glutasyon reduktaz 1
H2O2	: Hidrojen peroksit
HVA	: Homovalinik asit
Ig	: İmmünglobulin
ICD-10	: Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Hastalıkların Sınıflandırılması, 10. Revizyon
IQ	: Intelligence Quotient
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
MAO	: Monoamin oksidaz

MBP	: Miyelin basic protein
MHFG	: 3-metoksi-4-hidroksifenil glikol
MIF	: Makrofaj inhibitör faktör
NK	: Natural Killer
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NO	: Nitrik oksit
O₂	: Süperoksit
OKB	: Obsesif Kompulsif Bozukluk
OSB	: Otizm Spektrum Bozuklukları
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SAM	: S-adenosilmetionin
SAH	: S-adenozinhomosistein
SOD2	: Süperoksid Dismutaz 2
SrGAP3	: SLIT-ROBO Rho GTPaz aktive edici protein 3
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TGF-β	: Transforming Growth Faktör Beta
TLR	: Toll-Like Reseptör
TNF	: Tümör nekroz faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi
XO	: Ksantin oksidaz
Zn	: Çinko
3-NT	: 3 nitrotirozin
8-OHdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

ÖZET

Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuğu Olan Annelerde Anti-Purkinje Hücre Antikorları ve DNA Hasarının Değerlendirilmesi

Dr. şermin BİLGEN ULGAR

Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Giriş ve Amaç: Otizm Spektrum Bozuklukları (OSB) erken çocukluk çağında başlayan, sosyal ve iletişimsel alanda yetersizlik ve davranışsal sorunlarla seyreden bir grup nörogelişimsel bozukluktur. OSB'nin etiyolojisi net olmamakla birlikte, karmaşık patofizyolojisi içinde genetik faktörlerin öneminin büyük olması ve bunun yanı sıra, annenin gebeliği süresince (maternal etki) olan durumu da dahil olmak üzere çeşitli çevresel faktörler, hastalığın görünümünde etkiye sahiptir. OSB etiyolojisinde maternal faktörlerle ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulması, OSB'de potansiyel gen-çevre etkileşimleri de dahil olmak üzere altta yatan süreçleri anlama ve yeni tedaviler ve erken önleme programları geliştirme için kliniğimize başvuran otizmlı çocukların annelerinde Anti-Yo, anti-Hu, anti-Ri, anti- amfifizin antikorları ve DNA hasarını araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmamıza, 12.09.2017- 12.04.2018 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Çocuk Psikiyatri Polikliniği'ne başvuran 3-12 yaş arası OSB tanılı çocuğu olan 33 sağlıklı kadın ve kontrol grubu olarak sağlıklı çocuk izlem polikliniğine başvuran aynı yaş grubunda sağlıklı çocuğu olan sağlıklı 27 kadın olmak üzere toplam 60 birey dahil edildi. Grupların ruhsal durum değerlendirmesi için sosyodemografik form ve otizmin şiddetini ölçmek için Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ) kullanıldı. Vaka ve kontrol gruplarından, 8 saatlik gece açlığından sonra 5 ml venöz kan alınmış ve kanlar 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumlar eppendorf tüplerine konularak çalışma zamanına kadar -86°C derin dondurucuda saklanmıştır. Alınan kanlarda Anti-Yo, Anti-Hu, Anti-amfifizin ve Anti-Ri, 8-hidroksi 2-deoksi guanozin (8-OHdG) düzeyleri araştırılmıştır.

Bulgular: Vaka ve kontrol grupları arasında sosyodemografik veriler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). Vaka grubunda anti-amfifizin antikör düzeyleri ile anti-Ri antikör pozitifliği anlamlı ölçüde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla $p=0.001$; $p=0.027$). Vaka grubunda ROC analizinde anti-amfifizin antikörleri için cut-off değeri 48.695 pg/ml olup, anlamlı ölçüde duyarlılık (%76) ve özgüllük (%74) ve eğri altındaki alan (0.844) ve $p<0.001$ saptanmıştır. İki grup arasında anti-Yo, anti-Hu antikörleri ve 8-OHdG düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (sırasıyla $p=0.065$; $p=0,099$; $p=0.490$).

Sonuç: Çalışmamızın sonuçlarına göre, maternal anti-amfifizin antikörlerinin, OSB ile ilişkili olarak tanımlanan SrGAP3 geninin yapısında bulunan ve sinaptogenezde önemli bir yere sahip amfifizin proteinlerinde hasara yol açabileceği ve böylece fetal beyin sinaptogenezinde anormallik oluşturarak OSB etiyojisine katkıda bulunabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca, artmış anti-amfifizin antikör düzeylerinin yüksek özgüllük ve duyarlılığı ile gebe annelerin çocuklarında OSB gelişim riskini değerlendirmede önemli olabileceği sonucuna varılabilir. Otizmde serebellum patolojilerinin bir etken olduğunun bilinmesi ve anti-Ri gibi antikörlerin serebellar dejenerasyona yol açarak otizme katkıda bulunabileceği, çalışmamızın da bunu destekler nitelikte sonuçlandığını söyleyebiliriz.

Otizmin nörogelişimsel bir süreç göstermesi nedeniyle erken tanı ve tedavi olanaklarının oluşması için otizmle ilişkili maternal faktörlerin bilinmesi gerekmektedir. Bu faktörlerin tanınması ve gebelik öncesi bu risk etmenlerinin saptanması, hem sıklığı artan bir hastalık olan otizmin erken saptanması hem de koruyucu hekimlik açısından önem arz etmektedir. Biz bu verileri en erken gebelikten 3 yıl sonrasını araştırdığımız için gebelik döneminde bu alanda yapılmış ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Otizm, maternal faktörler, antinöronal antikörler, oksidatif stres, DNA hasarı, serebellum.

ABSTRACT

Evaluation of Anti-Purkinje Cell Antibodies and DNA Damage in Mothers of Children with Autism Spectrum Disorder

Şermin BİLGEN ULGAR, MD

Specialty Thesis, Department of Child and Adolescent Psychiatry

Introduction and objective: Autism Spectrum Disorders (ASD) is a group of neurodevelopmental disorders that started in early childhood, with disabilities and behavioral problems in social and communicative areas. Although the etiology of ASD is not clear, various environmental factors have an impact on the appearance of the disease, including the high importance of genetic factors in the complex pathophysiology and the condition of the mother during pregnancy (maternal effect). We aimed to investigate Anti-Yo, anti-Hu, anti-Ri, anti-amphiphysin antibodies and DNA damage in the mothers of children with autism who applied to our clinic because of the need for more studies on maternal factors in the etiology of ASD, to understand the underlying processes, including potential gene-environment interactions and to develop new therapies and early prevention programs in ASD.

Method: In our study 60 individuals were included that 33 healthy women with children aged between 3 and 12 years, admitted to Harran University Faculty of Medicine Research and Application Hospital Child Psychiatry Outpatient Clinic and 27 healthy women with healthy children in the same age group who applied to healthy children's follow-up clinic as a control group in between 12.09.2017 and 12.04.2018. The sociodemographic form and the Childhood Autism Rating Scale (CARS) were used to measure the severity of autism in the groups. After 8 hours of fasting, 5 ml of venous blood was collected from the case and control groups, and the blood was centrifuged at 4000 rpm for 5 minutes. Anti-Yo, Anti-Hu, Anti-amphiphysin and Anti-Ri, 8-hydroxy 2-deoxy guanosine (8-OHdG) levels were investigated.

Results: There was no statistically significant difference between the case and control groups in terms of sociodemographic data ($p > 0.05$). Anti-amphiphysin antibody levels and anti-

Ri antibody positivity were found to be significantly higher in the case group ($p = 0.001$; $p = 0.027$, respectively). In the case group, the cut-off value for anti-amphiphysin antibodies was 48.695 pg / ml in the ROC analysis, with significant sensitivity (76%) and specificity (74%) and area under the curve (0.844), ($p < 0.001$). No significant difference was found between the two groups in terms of anti-Yo, anti-Hu antibodies and 8-OHdG levels ($p = 0.065$; $p = 0.099$; $p = 0.490$, respectively).

Conclusion: According to the results of our study, we can say that maternal anti-amphiphysin antibodies can cause damage to amphiphysin proteins in the structure of SrGAP3 gene which is associated with ASD and which have an important place in synaptogenesis and thus contribute to the etiology of ASD by creating abnormalities in fetal brain synaptogenesis. Also, the increased anti-amphiphysin antibody levels were found to be important in assessing the risk of ASD development in children of pregnant mothers with high specificity and sensitivity. We can say that the presence of cerebellum pathologies in autism is a factor and that antibodies such as anti-Ri may contribute to autism by causing cerebellar degeneration and our study resulted in supporting this. Because autism has a neurodevelopmental process, autism-related maternal factors need to be known for early diagnosis and treatment. Recognition of these factors and the determination of these risk factors before pregnancy is important both for early detection of autism and for preventive medicine. Since we are investigating this data 3 years after the earliest pregnancy, further studies in this area during pregnancy are needed.

Key words: Autism, maternal factors, antineuronal antibodies, oxidative stress, DNA damage, cerebellum.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Otizm Spektrum Bozuklukları (OSB) erken çocukluk çağında başlayan, sosyal ve iletişimsel alanda yetersizlik ve davranışsal sorunlarla seyreden bir grup nörogelişimsel bozukluktur(1). OSB'nin etiyojisi net olmamakla birlikte, karmaşık patofizyolojisi içinde genetik faktörlerin öneminin büyük olduğu bilinmektedir (2).

İnfantil otizm mental gelişimsel bir bozukluk olup, kalıtsal yatkınlığın yanı sıra, annenin gebeliği süresince (maternal etki) olan durumu da dahil olmak üzere çeşitli çevresel faktörler, hastalığın görünümünde belirgin bir etkiye sahiptir(3). Oksidatif stresin infantil otizmin patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (3-6). Bu, Nükleer DNA'nın tekli ve çiftli iplikçik kopuşlarının ortaya çıkmasıyla gerçekleşen belirgin bir genotoksik etki yaratır. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada, infantil otizimli çocuk ve sağlıklı anneleri ile kontrol grubu olarak sağlıklı çocuk ve onların sağlıklı annelerinde DNA hasarı derecesi değerlendirilmiş ve otizm tanılı çocuklarda kontrol grubuna göre DNA hasarı önemli ölçüde yüksek bulunmuştur(3). İlginç olarak, Comet Analizi yöntemi ile bu parametreler (DNA Comet Tail Moment (kuyruk uzunluğu)) değerlendirilmiş ve otizimli çocuğu olan sağlıklı annelerde de daha yüksek olarak ölçülmüş ve otizimli çocuk grubundaki değerlerden farklı olmadığı gözlenmiş. Tüm bunlar doğrultusunda, otizimli çocukların mental olarak sağlıklı annelerinin gebelik sırasında çevresel "maternal etki" yoluyla fetustaki patolojik sürecin gelişimini belirleyebilen bazı genotoksik faktörlere sahip olduğu sonucuna varılmıştır (3).

İnsanlarda prenatal maternal strese maruziyet, çocuklarında OSB de dahil olmak üzere çok çeşitli psikiyatrik ve nörogelişimsel bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (7,8).

Prenatal maternal stresin OSB riskini artırabileceğini gösteren kanıtlar vardır (9). Nitekim, doğal afetler (10) , istismar (11), birinci derece akraba ölümü (12) gibi gebeliklerinde büyük stresli olaylara maruz kalan annelerin çocuklarında artmış OSB oranları görülmüştür. Ayrıca, OSB'li çocukların annelerinin, gebelikleri sırasında (örneğin, aile çatışması, finansal problemler, hastalık) tipik olarak gelişmekte olan çocuklardan veya bilinen bir genetik etiyojinin gelişimsel yetersizliği olan çocukların annelerinden daha fazla stresli yaşam olayları yaşadığı bildirilmektedir (13,14).

Oksidatif stres ve anormal DNA metilasyonunun da OSB'nin patofizyolojisinde rol oynadığına dair literatür verileri artmaktadır. OSB olgularından alınan beyin dokularının postmortem analizinde, sağlıklı kontrollere göre oksidatif stres biyolojik belirteçlerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (15).

OSB ile ilişkili mitokondriyal disfonksiyon ile ilgili yapılan postmortem bir çalışmada, OSB'de sinaptik patoloji gösteren bir bölge olan Brodman 21 numaralı (BA21) temporal kortekste, kontrollere kıyasla, OSB hastalarında mitokondriyal solunum zincir protein komplekslerinin protein seviyelerinde değişim, Kompleks I ve IV aktivitelerinde azalma, azalmış mitokondriyal antioksidan enzimi Süperoksid Dismutaz 2 (SOD2) ve daha fazla oksidatif DNA hasarı bulunmuştur (16). Bu değişikliklerin birçoğu OSB'li çocukların kortikal piramidal nöronlarında da görülmüş olup yetişkin OSB'li hastalarda daha az ya da hiç olmadığı gözlenmiştir (16).

Oksidatif stres ve DNA hasarının araştırıldığı bir çalışmada, 68 otizmlı çocuk, onların hasta olmayan 40 kardeşi ve 54 kontrol grubu çocukla karşılaştırıldığında, antioksidan mekanizma defisiti ve metilasyon kapasite azlığının (hipometilasyon) otizmi olan çocuklara özgül olduğu, bunun hücrel hasarı ve epigenetik gen ekspresyon değişikliğini desteklediği sonucuna varılmıştır (17).

Başka bir postmortem çalışmada, otistik serebellumda, oksidatif stresten zarar gören proteinlerin bir belirteci olan 3 nitrotirozin (3-NT)'de ve DNA modifikasyonunun markerı ve DNA'nın oksidatif strese uğradığının belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG))'de artış olduğu bildirilmiştir (18).

Otizimde etiyolojik mekanizmalar olarak en çok genetik, biyokimyasal ve çevresel faktörlerden bahsedilmektedir. Ancak immun fonksiyon anormallikleri de ileri sürülmektedir (19). Otizmden etkilenen çocuklarda, glial fibriler asidik protein (GFAP) ve miyelin basic protein (MBP) gibi spesifik beyin proteinlerine karşı serum antikoru reaktifliği saptanmıştır (20-24). Bu bulgulara dayanarak, bazı otizm vakaları için, edinilmiş bir otoimmün anormalliğin dentiritik alan ve sinaptogenezi etkilediği ileri sürülmektedir. Bir başka otoimmün hipotez ise, işlemin rahimde başladığı ve maternal antikorumun plasenta transferiyle ilişkili olduğu ve bunun da fetal beyin gelişimine müdahale ettiğini ileri sürmektedir (25). Bununla ilgili, otizmlı çocuğu olan 100 anneyle yapılan bir araştırma, otizmde maternal antikorumun plasenta transferi ile genetik/

metabolik/çevresel faktörler arasında olası bir ilişki olduğunu destekler nitelikte sonuçlanmıştır (25).

Paraneoplastik antinöronal antikorlar belirli tümörlerle, en yaygın olarak küçük hücreli akciğer, meme ve over tümörleri ile ilişkili olmasına rağmen etiyolojisi bilinmeyen ve bazen sağlıklı kişilerde nörolojik sendrom bulunan hastalarda da görülebilir (26). Paraneoplastik antinöronal antikor hedeflerinin çeşitli kategorileri mevcuttur. Anti-Yo (Anti purkinje cell antibodies, Anti PCA-1) ve anti-Hu (Anti neuronal nuclear antibody 1, ANNA-1) gibi nükleer veya sitoplazmik protein antijenlerini veya anti-amfifizin gibi hücre içi sinaptik proteinleri hedef alırlar(27). Antinöronal antikorların, nöropsikiyatrik hastalıkların patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı öne sürülmektedir (28, 29). Maternal otoantikorların OSB etiyolojisiyle ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, anti-Yo ve anti-amfifizin antikorlarının, otizmlili çocuğu olan annelerin serumlarında, normal gelişmekte olan çocukların annelerinden daha fazla var olduğu gösterilmiştir (30). Anti-Hu ve anti-Ri (Anti neuronal nuclear antibody 2, ANNA-2), otistik çocuk annelerinde kontrol grubu annelere göre daha yaygın saptanmıştır. Ancak kontrol grubu ile aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (30) .

OSB etiyolojisiinde maternal faktörlerle ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulması, OSB'de potansiyel gen-çevre etkileşimleri de dahil olmak üzere altta yatan süreçleri anlama ve yeni tedaviler ve erken önleme programları geliştirme için kliniğimize başvuran otizmlili çocukların annelerinde Anti-Yo, anti-Hu, anti-Ri, anti- amfifizin antikorları ve DNA hasarını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Otizm Spektrum Bozuklukları

2.1.1. Genel Tanım ve Tarihçe

Otizm Spektrum Bozuklukları (OSB) sosyal etkileşim, iletişim ve kognitif gelişimde bozulmalar gösteren ve tekrarlayıcı davranışlarla karakterize heterojen nörogelişimsel hastalıklar grubudur (31).

İlk olarak 1943 yılında “infantil otizm” olarak Leo Kanner tarafından tanımlanmıştır (32). O zamanlarda hastalığın belirtileri olarak; insanlarla iletişim kurmada güçlük, tekrarlayıcı davranışlar, aynılıkta ısrar etme ve değişime direnç, tekrarlayıcı monoton ses ve ifadeler, zamir karıştırma gibi dil gelişim problemleri gösterilmiştir. Onun ardından 1944 yılında Hans Asperger bu durumdan “otistik psikopati” olarak bahsetmiş ancak 1980’li yıllarda Lorna Wing tarafından tanımlanan “Asperger Sendromu” olarak literatüre girmiştir.

Otizm, ilk olarak 1967 yılında ICD-8’de (International Classification of Diseases 8th edition) şizofreninin alt gruplarından biri olarak uluslararası sınıflandırma sistemleri içerisinde yer almıştır (33). ICD-9’ da bebeklik otizmi alt grubu olarak çocukluk çağında başlayan psikoz kategorisine dahil edilmiş ve otizmin erişkin şizofrenisi ile ilişkili olduğu düşünüldüğünden psikoz terimi burada da sürdürülmüştür. 1970’lerden sonra otizmin şizofreniden tamamen farklı bir kategori olduğu ortaya konulmuştur.

Otizm, psikiyatri tanı sınıflamasına ilk kez “Psikiyatride Hastalıkların Tanımlanması ve Sınıflandırılması” DSM-3’e 1980 yılında “Yaygın Gelişimsel Bozukluklar (YGB)” başlığı altında girmiştir. 1987 yılında yeniden düzenlenen DSM-3-R’de YGB başlığı altında “Otistik Bozukluk” ve “Başka Türü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel bozukluk” (YGB-BTA) tanıları yer almıştır (34). 1994 yılında yayınlanan DSM-4’te tanı genişletilmiş, ‘otistik bozukluk’ ile yaygın gelişimsel bozukluklar (YGB) grubunda yer alan Asperger Bozukluğu, Rett Bozukluğu, Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu ve başka türlü adlandırılmayan YGB (atipik otizm) aynı başlık altında toplanmıştır.

2013 yılında yayınlanan DSM-5'te isim olarak ‘‘yaygın gelişimsel bozukluk’’ yerine ‘‘otizm spektrum bozukluğu’’ olarak değiştirildi. Daha önce DSM-4'te aynı kategoride bulunan Rett Bozukluğu, DSM-5'te bu kategori dışında bırakılarak geride kalan dört bozukluk (Otizm, Asperger Bozukluğu, Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu ve başka türlü adlandırılmayan YGB) OSB olarak adlandırıldı (35) .

2.1.2. Tanı Kriterleri

Hastalığın tanı ve sınıflanmasında DSM-5 tanı kriterleri kullanılmaktadır (1).

DSM-5 Tanı Ölçütleri

A- Sosyal iletişim ve sosyal etkileşim alanlarında kalıcı yetersizlikler aşağıda maddeler halinde verilmiştir. Belirtiler şu anda gözlemlenebilir ya da öyküden elde edilebilir:

1- Sosyal-duygusal karşılıklı yetersizlikler: normal dışı sosyal yaklaşım tarzı veya karşılıklı diyalog becerisinin gelişmemesi; duygu veya duygulanım veya ilgi paylaşımının azalması; sosyal duygusal karşılık vermeme veya sosyal etkileşime girmeme arasında değişkenlik göstermektedir.

2- Sosyal etkileşim için kullanılan sözel olmayan iletişim davranışlarında yetersizlikler: sözel ve sözel olmayan iletişimin zayıflığı; göz teması ve vücut dilinde anormallikler veya mimiklerin kullanımı ve anlamlandırmasında yetersizlikler ve yüz ifadesinin ve sözel olmayan iletişimin tamamen yokluğu arasında değişkenlik göstermektedir.

3- İlişkilerin geliştirilmesi, sürdürülmesi ve anlamlandırılmasında yetersizlikler: örneğin çeşitli sosyal durumlara uygun davranışların geliştirilmesinde zorluklar; arkadaş edinmekte ve yaratıcı oyunları paylaşmakta zorluklar; akranlarına ilginin hiç olmayışı arasında değişkenlik göstermektedir.

B- Tekrarlayıcı ve kısıtlı davranış, ilgi ve aktivite kalıpları aşağıda maddeler halinde verilmiştir. Belirtiler şu anda gözlemlenebilir ya da öyküden elde edilebilir.

1- Basmakalıp, tekrarlayıcı motor hareketler, nesnelerin kullanımı ya da konuşma. Örneğin; basit motor stereotipler, oyuncakları sıraya dizme veya nesnelere çevirme, ekolali, kendine özgü ifade kalıpları.

2- Yınlıkta ısrar, rutinlere aşırı bağlılık, ritüelleşmiş sözel ve sözel olmayan davranış kalıpları. Örneğin; küçük değişikliklerde aşırı sıkıntı, geçişlerde zorluklar, her gün aynı yemeği yeme ve aynı yolu kullanma ihtiyacı, katı düşünce kalıpları ve tebrik ritüelleri.

3- Yoğunlaşma veya odaklanma derecesi anormal olan kısıtlı ve sabit ilgi alanları. Örneğin; aşırı sınırlı veya saplantılı ilgi alanları, sıra dışı nesnelere aşırı bağlanma veya aşırı uğraşı.

4- Çevredeki duyuşsal uyarılara olağan dışı ilgi, duyuşsal girdilere aşırı ya da çok az tepki gösterme. Örneğin; belirli ses ve dokulara olumsuz yanıt, nesnelere aşırı koklama veya aşırı dokunma, hareketlere veya ışıklara görsel hayranlık, ağrı veya ısıya belirgin aldırılmazlık.

C- Belirtiler erken gelişim döneminde bulunmalıdır.

D- Semptomlar mevcut işleyişte, sosyal, mesleki veya diğere önemli alanlarda klinik olarak önemli bozulmalara neden olur.

E- Bu bozukluklar zihinsel engellilik veya genel gelişimsel gecikme ile daha iyi açıklanamaz. Zihinsel engellilik ve otizm spektrum bozukluğu sıklıkla birliktelik gösterir; otizm spektrum bozukluğu ve zihinsel engellilik tanılarını eş zamanlı koymak için sosyal iletişim genel gelişim seviyesinden beklenenin altında olmalıdır.

2.1.3. Epidemiyoloji

Günümüzdeki epidemiyolojik veriler, otizmin uzun yıllar boyunca nadir görüldüğü ile ilgili kanıyı değıştirmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki geniş çaplı araştırmalara dayanarak, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC), OSB prevalansının, tüm ırksal, etnik ve sosyoekonomik gruplarda 68 çocukta 1 olduğunu ve kızlara (1/189) oranla erkeklerde (1/42) beş kat daha yaygın olduğunu tahmin etmektedir (36). Güney Kore'de, okullarda yapılan yakın tarihli bir araştırmada, %2.6'lık bir yaygınlık (erkeklerde %3.7 ve kızlarda %1.5) görülmüştür (37). İngiltere'de bir başka çalışma, OSB prevalansının yetişkinlerde neredeyse %1 olduğunu tahmin etmektedir (38). Çoğu araştırmada OSB'nin kızlara kıyasla erkeklerde daha fazla görüldüğü öne sürülmektedir. Ancak kızlarda bozukluğun daha ağır seyrettiğı belirtilmektedir (39). Otizmin prevalansı giderek artmakla birlikte bu artışın nedenini araştıran çalışmalar, hastalıkla ilgili daha fazla bilgi sahibi olma, tanı ölçütlerinde değışim ve eskiye kıyasla ileri yaşta ebeveynlikle ilgili olabileceğı üzerinde durmuştur (40,41).

2.1.4. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Otizm etiyojisi multifaktöriyel olup, altta yatan patolojinin kesin olarak netleşmediğı ancak genetik faktörlerin özel öneminin olduğu bilinmektedir.

2.1.4.1. Genetik Faktörler

Otizimde genetik etmenlerin önemi ikiz ve aile çalışmalarını da kapsayan birçok veriye dayanmaktadır (42). Otizmlili çocukların kardeşlerinde otizm görülme sıklığı genel popülasyona göre 50 ila 200 kat daha fazladır. Otizmlili bireylerin otizmlili olmayan yakınlarında ise ‘geniş fenotip’ olarak adlandırılan iletişim ve sosyal becerilerde hafif derecede bozukluk ya da zorlanma durumu daha yaygın olarak görülmektedir. Otizm, monozigot ikizlerde %36 ila %96 oranında eş zamanlı görülürken, bu oran dizigot ikizlerde %0 ila %27 olarak bildirilmiştir (43).

Otizmin %90 oranında kalıtsallığı olmasına rağmen genetik faktörler karmaşık ve tam olarak anlaşılammıştır (44). Otizmlili bireylerde kromozomal anomali görülme sıklığı %10-37 olarak bildirilmiştir (45,46). Otizmde kromozomal anomalilerin daha çok delesyonla birlikteliğinden bahsedilirken duplikasyon olan otizmlili olgular da bildirilmiştir (45,47). Yapılan aday gen çalışmalarında; 2, 3, 4, 6, 7, 10, 15, 17 ve 22 numaralı kromozomlardaki tek genlerdeki varyantlarla ilişkili otizmde artmış riskin tekrarlanan bulguları gösterilmiştir (48). Yine yapılan başka bir genetik çalışmada, otizmlili bireylerde 15q11-q13 gen loküsünde anormallik olduğu gösterilmiştir (42, 49). Başka bir çalışma sonucu, 17. kromozomda yer alan serotonin transporter geni ve serotonin 2A reseptör geni promotor bölge polimorfizmleri ve çeşitli mutasyonlar saptanmıştır (50,51). Yapılan diğer çalışmalarda 3. kromozomda, GAT ve OXTR geni, X kromozomunda MeCP2, NLG3, NLG4 genlerinin otizmden sorumlu genler olduğu bildirilmiştir. Ayrıca adenylsuccinate lyase, adenosine deaminase, engrailed 2, HLA bölgesi genleri, HRAS1, mitokondrial lysine tRNA ve NF 1 genleri ile bireysel çalışmalarda bağlantı gösterilmiştir (52,53). HLA bölgesi genlerinin araştırıldığı çalışmada HLA -B44, -B57, -DR4, -DR14 vs ile Otizm arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (54,55). Otizmin tek genle geçen bozukluklarla da (Tuberoskleroz, Fragile-X, Nörofibromatozis) birlikte görülebileceği ve bu gibi bozuklukların eşlik etmesi durumunda mevcut zeka problemlerinin daha ağır olabileceği ifade edilmektedir (56,57).

2.1.4.2. Çevresel Faktörler

Otizmin etiyolojisinde çevresel faktörler, genel olarak santral sinir sistemini prenatal, perinatal veya postnatal dönemde etkileyebilen unsurlar olarak belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda bu risk faktörlerinin önemli bir kısmının prenatal dönemde etkili olduğu gösterilmiştir (58,59). Prenatal dönemde; maternal hastalıkların (diabet, venöz trombüs, hipotroidi

vs), maternal infeksiyonların (sifiliz, su çiçeği, herpes, kızamık, influenza vs), intrapartum ilaç kullanımının (thalidomide, valproik asit vs), genel anestezi ilaçlarının kullanımının, postnatal dönemde de geçirilen infeksiyonların (herpes, su çiçeği, kızamık, kızamıkçık, kabakulak vs), hipoksik iskemik durumların, kafa travmalarının, kimyasal maddelerin otizm için risk faktörleri olduğu saptanmıştır (60,61). Bunların dışında en çok üzerinde durulan konular, ileri anne ve baba yaşı, civaya maruziyet, tarım ilaçlarına maruziyet, hava kirliliği, az gelişmiş ülkelerden gelişmiş ülkelere göç, beslenme, D vitamini eksikliğidir (62). Tüm bu etmenlerin hiçbirisinin tek başına otizme sebep olamayacağı ancak genetik yatkınlık ve çevresel faktörlere birlikte maruz kalınmasının sinerjistik etkisinin bu sürece katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (62).

2.1.4.3. Nöroanatomik ve Nörofizyolojik Faktörler

Otizimli bireylerde yapılan nörogörüntüleme çalışmaları sonucu beyaz ve gri cevheri de kapsayan beyin hacmindeki artış ve geniş ventriküllerin olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca beyin nörokimyası, elektrofizyolojisi ve serotonin sentezi ile ilgili anormallikler de saptanmıştır (63,64,65). Beyindeki bu anormallikler erken yaşlarda başlamakta olup, yaşamın ilk üç yılında frontal lob, temporal lob ve amigdala özellikle büyüme görülür ve sonrasında büyüme durur. Buna karşın serebellar vermisin alt bölgelerinde hipoplazi söz konusudur (66). Otizmde en çok etkilenen beyin bölgeleri; sosyal davranış ve emosyonla ilgili yapı olan amigdala, yürütücü işlev ve dikkatle ilgili frontal korteks, dil işlevi ile ilgili temporal lob ve serebellumdur (67). Yine otizmli bireylerde erken dönemde; ‘‘empati devresi’’ olarak adlandırılan, amigdala, ventromedial prefrontal korteks, temporo-parietal bileşke, orbito-frontal korteks, ön singulat ve ilişkili diğer beyin bölgelerinin fonksiyon ve yapısında belirgin farklılıklar olduğu gösterilmiştir (68).

Diğer yandan hücre düzeyinde anormallikler de söz konusudur. Yapılan postmortem bir çalışmada, hipokampus, subikulum, septal nükleuslar ve bazı amigdala alt çekirdeklerinde küçük, yoğunlaşmış nöronlar ile birlikte purkinje hücre yoğunluğunda azalma bildirilmiştir (69). Buna göre, otizm etiyolojisinde ön beyin ve purkinje hücre kaybı sebebiyle serebellum patolojileri dikkat çekmiştir. Yine bu grupta amigdala, temporal lob, fusiform girus ve serebellumda hücre sayısının daha az olduğu ancak bu bölgelerdeki düşük nöron sayısının doğuştan mı ya da daha sonradan mı geliştiği açık değildir (70).

Bir diğer üzerinde durulan konulardan biri de nöral bağlantı bozukluğudur. Nörogörüntüleme çalışmalarının ilerlemesiyle, neokortekste daralmış nöronal minikolumnların

sayıca artmış olduğu gösterilmiştir (71). Minikolumnlardaki sayıca artışın hücre yoğunluğunda artışa ve böylelikle beyaz madde hacminde büyümeye sebep olarak neokortikal alandaki bağlantıları etkilediği öngörülmektedir. Eldeki veriler, bazı kortikal devrelerde aşırı bağlantı, özellikle subkortikal olmak üzere bazı devrelerde de azalmış bağlantıyı göstermektedir (72,67). Nöronal bağlantılarla ilgili bir diğer görüş de, kortikal az bağlantırlık (underconnectivity) kuramıdır. Buna göre, otizmlili bireylerde beynin frontal ve arka kısımları arasındaki iletişimsel bandın genişliği azalmış durumdadır. Böylelikle beynin ön ve arka kısmı arasındaki senkronizasyon azalmıştır (73). Bu teoriyle otizmlili bireylerdeki biliş ve davranış problemleri kısmen açıklanabilmektedir.

Otizmlili bireylerin %50'sinde Elektroensefalografi (EEG) anormallikleri olduğu bildirilmektedir (74). Otizme özgü EEG bulgusu olmamakla birlikte, en sık görülen anormallikler yaygın ya da fokal diken veya yavaş ve paroksizmal diken ve dalga aktivitesidir (45). EEG anormallikleri beynin herhangi bir bölgesini seçmeksizin korteksin her tarafında oluşabilir. Ancak bazı çalışmalar frontalde azalmış alfa aktivitesinden söz etmektedir. EPR (Evoked Potential Response) ile yapılan çalışmalarda, otizmlili bireylerle normal gelişimi olan bireyler arasında sosyal uyarana karşı kortikal yanıt hızlarının farklı olduğu saptanmıştır (75).

2.1.4.4. Nörokimyasal Faktörler

Otizmlili serotonin, gabaerjik ve glutamaterjik sistemlerin ilişkili olduğu bilinmektedir. Otizm spektrum bozukluğunda tanımlanan ilk biyobelirteç artmış serotonin kan seviyesidir. Otizmlili bireylerin %25 – 33'ünde, kan serotonin (5-HT) düzeyinde artış olduğu saptanmıştır (76). Serotonin metabolizmasındaki değişiklikler nöronların göçü ve büyümesinde farklılıklara yol açmaktadır. Serotoninin beyin gelişiminde trofik etkisi olduğu, serotonin sisteminde bozulmaların Santral Sinir Sistemi (SSS) nöronlarının olgunlaşmasında (nöronal farklılaşma, nöroblast bölünmesi, sinaps oluşumu gibi) bozulmaya neden olabileceği öne sürülmüştür (76,77). Ayrıca beyin omurilik sıvısında (BOS) bir serotonin yıkım ürünü olan 5-hidroksi-indolasetik asit (5-HIAA) düzeyinin dopamin yıkım ürünü homovalinik asit (HVA) düzeyine oranının artmasıyla otizm belirti şiddetinde azalma olduğu saptanmıştır (78). Bazı otizmlili çocukların BOS'unda HVA düzeyi yüksek olarak saptanmıştır. Yine otizmlili çocuklarda noradrenalin yıkım ürünü idrarda 3-metoksi-4-hidroksifenil glikol (MHFG) düzeylerinde azalma olduğu gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise özellikle kendine zarar verici davranışlarda bulunan ve ağrıya duyarsız olan bazı otizmlili bireylerde yüksek endorfin düzeyleri saptanmıştır (79,80). Otizmlili bireylerde artmış

dopamin düzeyleri stereotipiler ve hiperaktivite ile ilişkilendirilmiş olması, metilfenidat benzeri dopaminerjik ilaçların otizmlili çocuklarda davranışsal sorunları arttırmasını destekler niteliktedir (81,82). Yapılan araştırmalarda otizmin patogeneğinde, oksidatif stres, nitrik oksit (NO), lipid peroksidasyon ürünleri gibi diğer moleküllerinin muhtemel rolleri olduğu gösterilmiştir (83,84).

2.1.4.5. İmmunolojik Faktörler

Otizm etiolojisinde genetik ve çevresel faktörler dışında immünolojik faktörlerin de önemi büyüktür (19). Otizmle ilişkili olabileceği öne sürülmüş faktörlerden bazıları lenfosit alt gruplarında değişiklikler, monosit/makrofaj hücre değişiklikleri, natural killer hücrelerinde değişiklik, serum immünglobulin sınıflarında değişiklikler, sitokin üretiminde değişiklikler, nöronal antijenlere karşı oto antikor varlığı ile ilgilidir (85). İmmün düzensizlik, mikrogial aktivasyon ve immün düzensizliğe genetik katkıda bulunan etkenlerin OSB patogeneğinde birincil tedavi hedefleri olabileceği öne sürülmektedir (86,87,88,89). Otizmlili bireylerde çeşitli immün sistem anormallikleri bildirilmiştir (90). OSB'lilerde sistemik immünolojik bozuklukların SSS proteinlerine karşı oluşmuş antikorlar aracılığı ile gerçekleşen nöronal doku hasarı ve immün hücre fonksiyonunda bozukluk ile sonuçlandığı gösterilmiştir (91). Otizmden etkilenen çocuklarda, glial fibriler asidik protein (GFAP) ve miyelin basic protein (MBP) gibi spesifik beyin proteinlerine karşı serum antikor reaktifliği saptanmıştır (20-24). Bu bulgulara dayanarak, bazı otizm vakaları için, edinilmiş bir otoimmün anormalliğın dentiritik alan ve sinaptogenezi etkilediği ileri sürülmüştür. Bir başka otoimmün hipotez ise, işlemin rahimde başladığı ve maternal antikorların plasenta transferiyle ilişkili olduğu ve bunun da fetal beyin gelişimine müdahale ettiğini ileri sürmektedir (25). Bununla ilgili, otistik çocuğu olan 100 anneyle yapılan bir araştırma, otizmde maternal antikorların plasenta transferi ile genetik/metabolik/ çevresel faktörler arasında olası bir ilişki olduğunu destekler nitelikte sonuçlanmıştır (25). Paraneoplastik antinöronal antikorlar belirli tümörlerle, en yaygın olarak küçük hücreli akciğer, meme ve over tümörleri ile ilişkili olmasına rağmen etiolojisi bilinmeyen ve bazen sağlıklı kişilerde nörolojik sendrom bulunan hastalarda da bulunabilmektedir (26). Paraneoplastik antinöronal antikor hedeflerinin çeşitli kategorileri mevcuttur. Anti-Yo ve anti-Hu gibi nükleer veya sitoplazmik protein antijenlerini veya anti-amfifizin gibi hücre içi sinaptik proteinleri hedef alırlar (27). Antinöronal antikorların, nöropsikiyatrik hastalıkların patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı öne sürülmüştür (28,29). Maternal otoantikorların OSB etiolojisiyle ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, anti-Yo ve anti-amfifizin antikorlarının, otizmlili çocuğu olan annelerin serumlarında, normal gelişmekte olan çocukların annelerinden daha fazla var olduğu gösterilmiştir. Anti-Hu ve

anti-Ri, otizmlı çocuk annelerinde kontrol grubu annelere göre daha yaygın saptanmış ancak istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır (30). OSB'li çocuklarda T hücre anormallikleri de bildirilmiştir (77,78). Bununla birlikte, total lenfosit, total T hücresi ve total CD4+ sayılarının önemli oranda düşük; Th CD4, B hücresi ve NK hücre sayılarının normal sınırlar içinde olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur (45,76). Bazı veriler anne ve fetüs arasındaki immünolojik uyumsuzluğun otistik bozukluğa katkıda bulunabileceğini öne sürmüştür (92). Bazı araştırmalarda serum ve BOS immünglobulin (Ig) düzeyleri normal bulunurken, bazılarında ise IgG, IgA ve IgM düzeylerinde yükseklikler tespit edilmiştir (45). Yapılan çalışmalarda, otizmlı bireylerde sitokin değişiklikleri ve artmış Interferon- α düzeyleri saptanmıştır (93,94).

2.1.5. Klinik Özellikler

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), sosyal iletişim-etkileşimdeki eksiklikler ve sınırlı tekrarlayıcı davranış, ilgi alanları ve faaliyet örüntüleri olmak üzere iki temel alandaki bozukluklar ile karakterize edilen biyolojik temelli nörogelişimsel bir bozukluktur (1). OSB belirtileri en sık olarak yaşamın ikinci yılında tanınır (95-99), ancak daha önce de olabilir (100-102). Tanım gereği, OSB belirtileri erken gelişim döneminde mevcut olmalı, ancak daha geç zamana kadar da kendisini göstermeyebilir (1). Hafif şiddetli OSB'li çocuklarda belirtiler, ebeveynler veya öğretmenler tarafından dört ila altı yaş ya da daha geç dönemlere kadar fark edilmeyebilir (103). Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Hastalıkların Sınıflandırılması, 10. Revizyon (ICD-10)'a göre semptomların üç yaşından önce ortaya çıkmasını gerekmektedir, oysa Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı, Beşinci Baskı (DSM-5)'ya göre yaş kısıtlaması yoktur, sosyal taleplerin sınırlı kapasiteleri aşana kadar belirtilerin ortaya çıkmayabileceğini göstermektedir.

OSB'li hastaların yaklaşık üçte ikisi, yaşamın ilk iki yılında iletişim becerilerinin edinilmemesi ile başvurmaktadır. OSB'si olan çocukların yaklaşık dörtte biri ila üçte biri erken yaşta normal dil gelişimi elde etmekte, ancak 15-24 aylıkken dil, iletişim ve / veya sosyal becerileri gerilemektedir (95,104-110). Beceri gerilemesi kademeli veya ani olabilir ve önceden var olan gelişimsel gecikmeler veya atipik gelişim bağlamında ortaya çıkabilir (105,111). Beceri gerilemesi OSB'nin önemli bir özelliğidir; regresyonun yeni bir kardeşin doğumu veya yeni bir eve taşınma gibi stres etkenlerine atfedilmesi OSB teşhisini geciktirebilir (105).

Sosyal iletişim bozukluğu, OSB'nin özellikli bir göstergesidir (1). Dil gelişimindeki gecikme ve sapmalar, OSB'li çocukların ebeveynlerinin en yaygın başvuru şikayetlerinden biridir

(112,113). Gecikmiş veya bozulmuş dil becerilerine ek olarak, OSB'li çocuklar genellikle iletişim kurma amacından yoksundurlar (114). Toplumsal iletişimdeki bozulmalar, yaşamın daha sonraki dönemlerinde gereksinim duyulandan daha önceki ölçütlere göre mevcut olsa da yaygındır ve sürdürülmektedir (1).

OSB'li bireylerin sosyal ya da duygusal karşılıklılık konusunda yetersizlikleri vardır. Küçük çocuklar diğer çocukların (kardeşler dahil) farkında olmayabilirler (114). Bir başkasının duygusal perspektifi için empatiden yoksun olabilirler. Başkalarını taklit etmekle ya da gösterecek güvenilir bir kişiye yeni bir nesne getirmekle ilgilenmezler.

Ortak dikkat, bir bebeğin ya da çocuğun, bakıcısı veya oyun arkadaşıyla bir nesne hakkında ilgiyi, eğlenceyi veya endişeyi paylaşmaya çalıştığı kendiliğinden bir davranıştır (115). Çocuk bunu, ilgilenilen nesne ile bakıcının veya oyun arkadaşının gözüne (genellikle 8 ila 10 aylıkken) veya nesneyi işaret ederek (genellikle 14 ila 16 ay arasında) belirleyici bir şekilde ileri ve geri bakarak yapar. OSB'li çocuklar sıklıkla ortak dikkatten yoksundur. OSB'li bireyler göz temasını sürdürme, yüz ifadesi, jestler ve vücut duruşları gibi sözel olmayan davranışları kullanma ve yorumlama becerisine sahip değildir. Sözel olmayan duygusal ipuçlarını okumakta zorlanırlar (114).

OSB'si olan bireyler, gelişim düzeylerine uygun akran ilişkilerini geliştiremez ve sürdürmezler. Küçük çocuklar, arkadaşlık geliştirmeye çok az ilgi gösterebilir ya da hiç sahip olmayabilir. Tek başına oyun oynamayı, başkalarına sadece alet ya da “mekanik” yardımcıları olarak faaliyetlerini dahil etmeyi tercih edebilirler (1). Daha büyük çocuklar sosyal etkileşime daha fazla ilgi duyabilirler, ancak bir durumda hangi davranışın uygun olduğuna dair bir kavrayıştan yoksundurlar.

Sınırlı, tekrarlayıcı ve stereotipik davranış paterni, aktivite ya da ilgi alanları ve duygusal girdilere hiper ya da hipoduyarlılık, OSB'nin bir diğer temel belirtisidir (1). Basmakalıp ve tekrarlayan motor hareketleri veya kompleks tüm vücut hareketleri (örneğin, el ya da parmak çırpma ya da bükme, sallanma, parmak ucunda yürüme) OSB'nin bir başka özelliğidir (116-118). OSB'li çocuklar, oyuncakların neyi temsil ettiğine dair bir farkındalıkları olmadan, kalıplaşmış bir ritüelde, aynı şekilde, aynı sayıda oyun oynayabilir (95,119). Diğer basmakalıp davranışlar ekolali ve idiyosenkratik ifadeler olabilir (1). Kafa vurma, yüz veya vücut tokatlama, kendi kendini ısırma gibi kendine zarar verici davranışlar, bilişsel yetersizliği olan OSB hastaları arasında daha

yaygındır. Bu davranışların tetikleyicileri öngörülebilir (hayal kırıklığı, endişe, heyecan gibi) veya görünüşte rasgele de olabilir.

OSB'li bireyler farklı durumlar arasındaki geçişlerde önemli ölçüde güçlük çekerler ve her gün aynı rutine ihtiyaç duyabilirler. Belirli, işlevsel olmayan rutinlere veya ritüellere katı bir biçimde bağlılık, OSB'nin karakteristiğidir. Bunlar, belirli bir düzende belirli yiyecekleri her zaman yemeleri veya sapma olmaksızın bir yerden diğerine aynı rotayı takip etme gibi günlük yaşamın çeşitli yönlerinde ortaya çıkabilir. Aynılık konusundaki ısrar, rutinlerdeki küçük değişimler ve geçişler ile yaşanan zorluklarda sıkıntı ile kendini gösterebilir (1). Duyu işleme becerileri, OSB'li bireylerin % 42-99'unda anormaldir (120). Anormal yanıtlar, aşırı tepki verme, düşük tepki verme ve çevresel uyaranlara karşı paradoksal cevapları içerebilir (121).

Otizm kronik seyirlidir ve yaşam boyu sürer, ancak zamanla semptomların sıklığı ve şiddeti değişkenlik gösterebilir. Dil gelişimi ve becerilerinin gelişiminde genel entelektüel düzeyi (IQ düzeyi 50'nin üzerinde) ve ailenin sosyoekonomik durumu en önemli belirleyici faktörlerdir (122,123). Özel eğitim desteği alan OSB'li bireylerde sosyal uyumla ilgili ilerlemelerin daha iyi olduğu bildirilmiştir (123). Genel olarak olguların %75'i zayıf uyum gösterir ve erişkin bakımına gereksinim duyarken, %25'inin klinik seyirinin daha iyi olduğu bildirilmiştir (124). Günlük hayatta anlamlı görevler verilmesi, eğitimde kazanılan becerilerin günlük hayata aktarılması, zamanın planlı-programlı geçirilmesi, aile ilgisi gibi özellikler klinik seyri olumlu etkileyen diğer etkenlerdir (124,125). Otizmde, epilepsi, kız cinsiyet, düşük IQ ve aile öyküsünde duygudurum bozukluğu olmasının ergenlik döneminde kötüye gidiş için risk faktörleri olabileceği bildirilmektedir (126).

OSB'li bireylerde, komorbid durumlar arasında Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB), Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB), Tik Bozukluğu'na sık rastlanmakta, ayrıca Anksiyete Bozukluğu ve Depresif Bozukluk da OSB'li bireylerde görülebilmekte ve okul başarısı ile sosyal uyumunu bozabilmektedir. Otizmlili bireylerin %75-80'inde entellektüel yetersizlik olup yaklaşık %15-20'sinde ağır derecede zeka geriliği bulunmaktadır (IQ: 35 altında). Otistik çocukların %10'nundan fazlasında ise ortalama veya üstü zeka görülmektedir. Çok azında ise olağan dışı yetenekler olabilir (112). OSB'li bireylerin yaklaşık yarısında IQ 50'nin altındadır; dörtte biri ise 70 ve üstü IQ'ya sahiptir (127). Otizmi olan kızlarda IQ düzeyi, erkeklerden daha düşük saptanmıştır. Ayrıca otizmlilerde düşük IQ kötü prognoza işaret etmektedir (76).

2.2. Oksidatif Stres

Normal koşullar altında, reaktif oksijen türleri (ROT) ve hücrenin antioksidan kapasitesi arasında bir dinamik denge vardır (128,129). ROT süperoksit (O_2^-), hidroksil, peroksil, alkoksi ve nitrik oksit (NO) serbest radikallerini içerir (129). Süperoksit, moleküler oksijenin ilk indirgeme ürünüdür ve önemli bir hidroperoksit ve zararlı serbest radikal kaynağıdır (130). Hidrojen peroksit (H_2O_2), yüksek reaktif hidroksil radikalini üretmek için Fenton reaksiyonu yoluyla demir gibi indirgenmiş geçiş metalleri ile reaksiyona girer (131). Çoğu toksik etki, lipid peroksidasyonunu da başlatan hidroksil radikal formasyonuna bağlıdır (131). Ksantin oksidaz (XO), NO sentaz ve monoamin oksidaz (MAO) gibi bazı endojen enzimler doğrudan ROT üretebilir (128,129,132).

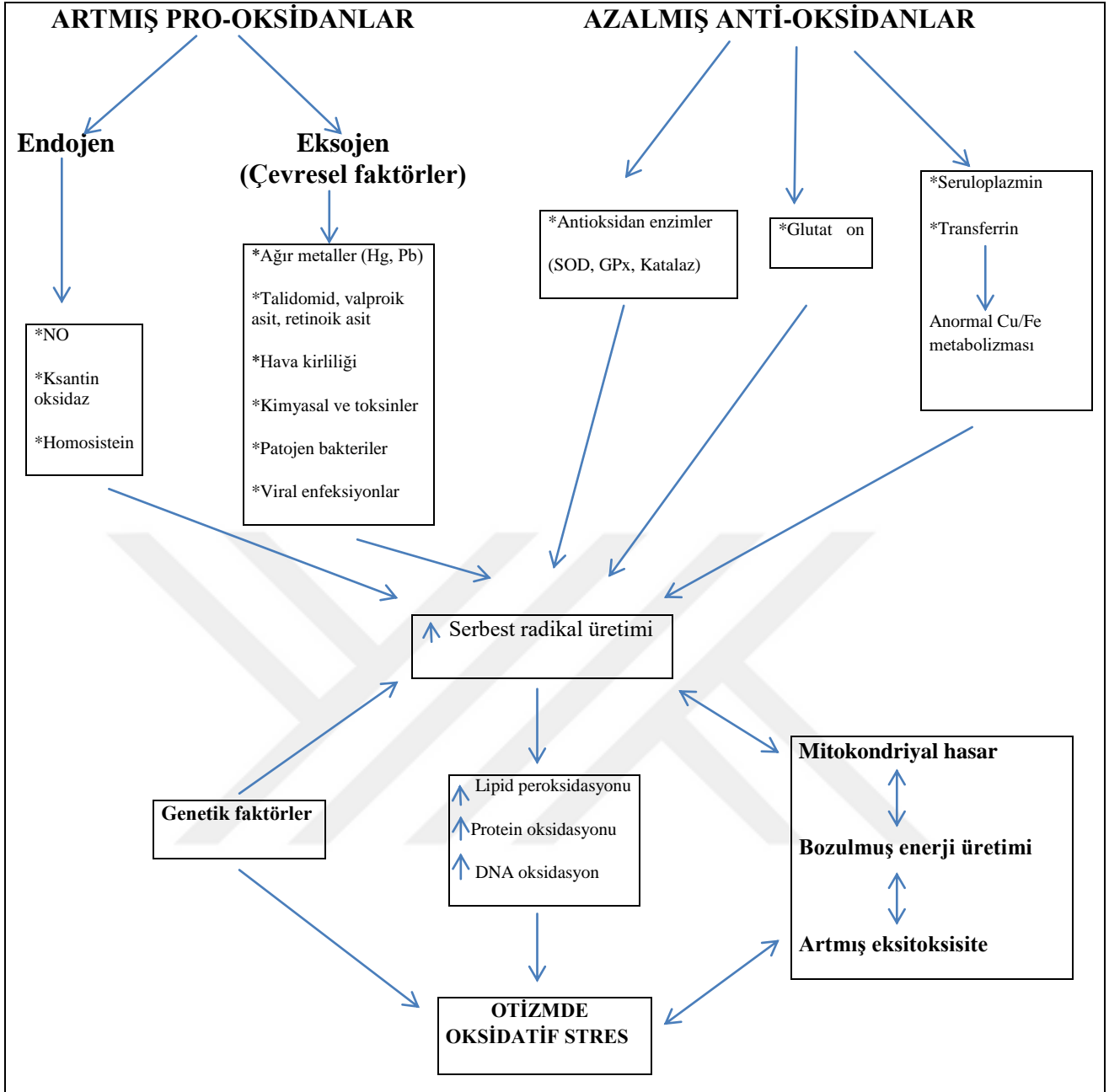
Normal olarak, hücreler içindeki ROT, antioksidan savunma mekanizmaları tarafından nötralize edilir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), ROT'un doğrudan elimine edilmesinde rol oynayan birincil enzimlerdir, glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz ikincil görev alırlar. Antioksidan enzimler, birincil antioksidan enzimlerin optimal işleyişi için gerekli olan sabit bir glutatyon ve NADPH konsantrasyonunun korunmasına yardımcı olurlar (133-136). Bu enzimler, optimum katalitik aktivite ve etkili antioksidatif savunma mekanizması için selenyum, demir, bakır, çinko ve manganez gibi kofaktörler olarak mikro besinleri gerektirir (137). Ayrıca anti-ROT savunma sistemine glutatyon (GSH), demir bağlayıcı transferrin, bakır bağlayıcı seruloplazmin, α -tokoferol (Vitamin E), karotenoidler ve askorbik asit (vitamin C) de dahil olmaktadır (138-140). GSH, çevresel toksinlerin detoksifikasyonu ve ortadan kaldırılması için en önemli antioksidandır. ROT seviyeleri bir hücrenin antioksidan kapasitesini aştığında oksidatif stres oluşur. Bu ROT son derece toksiktir ve lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle reaksiyona girer ve apoptoz veya nekroz ile hücre ölümüne yol açar (141).

Beyin sınırlı antioksidan kapasitesi, daha yüksek enerji gereksinimi ve daha yüksek miktarlarda lipid ve demir nedeniyle oksidatif strese karşı oldukça savunmasızdır (142). Beyin, vücut kütlelerinin yaklaşık% 2'sini oluşturur, ancak metabolik oksijenin% 20'sini tüketir. Enerjinin büyük çoğunluğu nöronlar tarafından kullanılmaktadır (143). Nöronlar tarafından glutatyon üreten kapasite yetersizliği nedeniyle, beyin ROT detoksu için sınırlı bir kapasiteye sahiptir. Bu nedenle, nöronlar, ROT'taki artışın ve antioksidanların eksikliğinden etkilenen ilk hücrelerdir ve sonuç olarak, oksidatif strese en duyarlı olanlardır. Erken kritik dönemde nöronal sağkalım için antioksidanlar gereklidir (144). Çocuklar, bebeklikten çocukluk dönemlerine kadar doğal olarak düşük glutatyon seviyeleri nedeniyle yetişkinlere kıyasla oksidatif strese karşı daha savunmasızdır

(138,145). Bebeklerde detoksifikasyon kapasitesindeki bu doğal açığın yarattığı risk, gelişmekte olan bebeklerde oksidatif strese neden olan bazı çevresel faktörlerin, annelerinde olduğundan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ve plasentada biriktiği gerçeği ile artmaktadır. Birlikte ele alındığında, bu çalışmalar, özellikle otizm gibi nörogelişimsel bozukluklarla sonuçlanabilen, gelişimin erken döneminde beynin oksidatif strese karşı oldukça savunmasız olduğunu göstermektedir. Aslında, yeni kanıtlar otizmde artan oksidatif strese işaret etmektedir.

2.2.1.Otizm ve Oksidatif Stres Mekanizmaları

Otizmde oksidatif stres, endojen / ekzojen pro-oksidanların neden olduğu ROT ve ROT'a karşı oluşan antioksidanlar arasındaki bir dengesizlikten kaynaklanabilir. Otizmde potansiyel bir oksidatif stres mekanizması Şekil-1'de gösterilmiştir (146). Otizmde oksidatif stresin artmasına neden olan çeşitli faktörler aşağıdaki gibidir.



Şekil-1: Otizmde oksidatif stresin potansiyel mekanizması

2.2.1.1. Otizmde Antioksidan Enzimlerde Değişiklikler

Birkaç çalışma, otizmde ROT'un zararlarına karşı savunma yapan hayati öneme sahip enzimlerde değişiklik olduğunu öne sürmüştür. Örneğin, kontrollerle karşılaştırıldığında, otizmlilerde hastalarda plazma ve eritrositlerde (147,148) glutatyon peroksidaz aktivitesinde azalma, toplam azalmış glutatyon düzeyi ve plazmada redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG)

oranında azalma (149) ve eritrositlerde katalaz (150) ve SOD (147) aktivitesinde azalma olduğu gösterilmiştir.

2.2.1.2. Otizmde Anormal Demir ve Bakır Metabolizması

Seruloplazmin (bakır taşıyıcı protein) ve transferrin (demir taşıyıcı protein) beyin dahil olmak üzere çeşitli dokularda sentezlenen başlıca antioksidan proteinlerdir (139,140,151). Seruloplazmin, demir ve bakır gibi metal iyonları tarafından katalize edilen membran lipitlerinin peroksidasyonunu inhibe eder (139). Aynı zamanda ferrokسيداز ve süperoksit dismutaz gibi davranır ve eritrosit membranlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerini aktif oksijen radikallerinden korur (151). Transferrin, serbest demir iyonu konsantrasyonunu azaltarak bir antioksidan görevi görür (140). Ferröz iyon, hidrojen peroksidin fenton reaksiyonu ile yüksek toksik hidroksil radikallerine dönüşümünü katalizleyerek oksidatif strese katkıda bulunur (131). Ayrıca, Fe³⁺ - protoporfirin (hem) grubu, katalaz enziminin dört protein alt biriminde de mevcuttur (134).

Bir araştırmada, otizmlı çocukların serumlarında, etkilenmemiş kardeşlerine kıyasla seruloplazmin ve transferrin düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (5). 19 otizmlı çocuktan 16'sında (% 84) transferrin düzeylerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir (5), ancak 19 otizmlı çocuktan 13'ünde (% 68) ise normal gelişimi olan kardeşlerine kıyasla seruloplazmin düzeyleri daha düşük saptanmıştır (5). Daha önce edinilmiş dil becerilerini kaybetmiş otizmlı çocuklarda seruloplazmin ve transferrin düzeylerinin daha etkin bir şekilde azaldığını gözlemlemek özellikle dikkat çekici bulunmuştur (5). Dil becerilerini kaybetmemiş çocuklar, otistik olmayan kardeşlerde görülenlere benzer düzeylere sahip bulunmuş. Bu sonuçlar, otizmlı çocukların bir grubunda transferrin ve seruloplazmin düzeylerinde değişiklik olduğunu göstermektedir. Bu tür değişiklikler, otizmde patolojik bir rol oynayabilecek anormal demir ve bakır metabolizmasına yol açabilir. Aslında, bazı çalışmalarda otizmde değişmiş serum Cu / Zn oranlarına dikkat çekilmiştir (152).

2.2.1.3. Otizmde Homosistein ve Metionin Metabolizmasında Dengesizlik

Hiperhomosisteinemi, artmış lipit peroksidasyonu (153), düşük GPx üretimi (154) ve homosisteinin oto-oksidasyonu gibi birçok mekanizma yoluyla oksidatif strese neden olabilir (153,154). Bununla ilgili yapılan bir çalışmada, otizmlı çocukların plazmalarında kontrollere kıyasla daha yüksek toplam homosistein düzeylerini bildirilmiştir (148). Otistik grupta, homosistein düzeyleri ile glutatyon peroksidaz aktivitesi arasında güçlü bir negatif korelasyon

olduğu, otizmde yüksek düzeyde homosistein ve oksidatif stres arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

Metionin döngüsünde, metionin sentaz, betain homosistein metiltransferaz ve metionin adenoziltransferaz, oksidatif stresle downregüle edilen redoks-duyarlı enzimlerdir (149). Yapılan araştırmalarda, otizimli çocukların plazmalarında düşük konsantrasyonlarda metionin, S-adenosilmetionin (SAM), homosistein, sistatyonin ve sistein ve yüksek S-adenozinhomosistein (SAH) ve adenosin konsantrasyonları bildirilmiştir (149). Bu nedenle, otizmde oksidatif strese karşı artan bir kırılgnalık ve metilasyon kapasitesinde azalma (SAM'ın SAH'a anlamlı derecede daha düşük oranı) olduğu öne sürölmektedir (149).

2.2.1.4. Otizmde Artmış Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO), süperoksit anyonu ile reaksiyona girebilen ve sitotoksik peroksinitrat anyonları oluşturabilen başka bir toksik serbest radikaldir (ONOO⁻). NO'nun, merkezi sinir sisteminin gelişimini ve işlevini etkilediği bilinmektedir. NO, nörotransmitter salınımı (155), nörit gelişimi (156), sinaptojeniz (157), hafıza ve öğrenme (158) ve makrofaj aracılı sitotoksitede (159) rol oynamaktadır. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunun ve NO üretiminin de inflamatuvar süreçleri etkilediği bilinmektedir (160). İNOS'un indüksiyonuna interferon (IFN) - a, tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin (IL) -1 gibi sitokinler aracılık eder (161).

Bir araştırmaya göre, otizimli hastaların eritrositlerinde artmış NO seviyeleri gözlenmiş ve NOS'un otizmde aktive olabileceği öne sürölmüştür (83). Otizmde artmış plazma nitrit ve nitrat düzeyleri başka çalışmalarda da bildirilmiştir (84,162). Nitratlar ile IFN-a arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiş olup bu durum otistik deneklerde yükselen plazma NO'nun IFN-a ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (162). Otizmde NO ya da artmış oksidatif strese duyarlı reseptörlerin azalan aktivitesi de bildirilmiştir. Otizimli hastaların korteksinde NO toksisitesine duyarlı olduğu bilinen kolinerjik reseptörler azalmıştır (163). Ek olarak, otizmde kolinerjik agonist tedavisi ile davranışsal anormalliklerde iyileşme gözlenmiştir (164). Yapılan diğer çalışmalarda, otizimli hastaların hipokampüsünde oksidatif strese duyarlı gama aminobütirik asit (GABA) reseptörlerinin azaldığı gözlenmiştir (165,166).

2.2.1.5. Otizmde Artmış Ksantin Oksidaz

Ksantin oksidaz (XO), ksantinin ürik asite dönüşümü sırasında süperoksit radikalleri üreten endojen bir prooksidandır (132). Otizmlı hastaların eritrositlerinde artmış XO aktivitesi bildirilmiştir (150).

2.2.1.6. Otizmde Mitokondriyal Disfonksiyon ve Anormal Enerji Metabolizması

Reaktif oksijen ve azot türleri mitokondride oksidatif metabolizma ve enerji üretimi sırasında endojen olarak meydana gelir (167). Mitokondride oksidatif fosforilasyonla süperoksit anyonu oluşmasının yanı sıra, mitokondriyal dış membranda MAO tarafından biyojenik aminlerin enzimatik oksidasyonu ile H₂O₂ üretilir. Hasarlı mitokondri sadece daha fazla oksidan üretmez, aynı zamanda mitokondri de oksidatif strese karşı savunmasızdır (168). Apoptoziste mitokondrinin rolü de iyi bilinmektedir (169).

Birkaç biyokimyasal, anatomik ve nöroradyolojik çalışma, otizmlı hastaların beyinlerinde enerji metabolizmasındaki bozulmayı öne sürmüştür (170,171). 31P manyetik rezonans spektroskopisi ile, membran bozulmasındaki artış ve yüksek enerjili adenosin trifosfat (ATP) sentezindeki azalma gösterilmiştir (172). Başka bir çalışmada, otizmde laktat, alanin ve amonyak düzeylerindeki yükselmelerle birlikte karnitin eksikliği ve hafif mitokondriyal disfonksiyonu düşündüren bulgular bildirilmiştir (173). Diğer çalışmalar da otizmde artmış laktat seviyeleri (171,174) ve nöronal oksidatif fosforilasyondaki eş zamanlı defektlerle mitokondriyal disfonksiyonu öne sürmüştür (175,176).

OSB ve mitokondriyal disfonksiyon bulguları ile ilgili yapılan postmortem bir çalışmada, OSB'de sinaptik patolojinin görüldüğü bir bölge olan BA21 temporal kortekste, kontrollere kıyasla, OSB hastalarında mitokondriyal solunum zincir protein komplekslerinin protein seviyelerinde değişim, Kompleks I ve IV aktivitelerinde azalma, azalmış mitokondriyal antioksidan enzimi SOD2 ve daha fazla oksidatif DNA hasarı bulunmuştur (16). Bu değişikliklerin birçoğu kortikal piramidal nöronlarda belirgin bulunmuş ve OSB'li çocuklarda gözlenmiş ancak yetişkin hastalarda daha az ya da hiç olmadığı gözlenmiştir.

2.2.1.7. Otizmde Çevresel Risk Faktörleri

Cıva, kurşun, virüsler, hava kirliliği, toksinler, talidomid, valproik asit ve retinoik asit gibi pro-oksidan faktörlere pre/postnatal çevresel maruziyet otizmde oksidatif stresi arttırmak için bir tetikleyici olarak rol oynayabilir. Otizmlili bazı çocukların vücutlarında, oksidatif strese yol açabilecek çevresel toksinlerin artmış olduğu bildirilmiştir (177,178).

2.2.1.8. Otizme Genetik Yatkınlık

Genetik faktörler, otizmde oksidatif strese karşı duyarlılık eşiğinin modüle edilmesine de katkıda bulunabilir. Bir çalışmaya göre, gliksilaz 1 (Glo 1) ve glutatyon reduktaz 1 (Gsr 1)'in farelerde anksiyete benzeri davranışı düzenlediği bildirilmiştir (179). Proteomik çalışmalar ayrıca, gliksilaz I'de bir otizm duyarlılık faktörü olarak tek bir nükleotit polimorfizmini de tanımlamıştır (180). Ek olarak, monoamin oksidaz A (MAOA) promotör bölgesindeki fonksiyonel bir polimorfizmin otizmin şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (181). Bütün bu enzimler oksidatif stresle ilişkidir. Gsr 1 beyinde büyük bir antioksidan olan GSH düzeylerini korur (179).

Glo 1, lipit peroksidasyonu, glikasyon ve degradasyon ile üretilen metilglikoksal gibi sitotoksik 2-oksoaldehidleri detoksize etmek için bir kofaktör olarak GSH'yi kullanır. Glikolitik ara ürünler (182) MAOA, serotonin ve norepinefrin gibi amin içeren nörotransmitterlerin oksidasyonunu katalize eder (128,129). Bir başka çalışmada, antiproliferatif genlerin bir ailesinin bir üyesi olan ve hücrel farklılaşma ve apoptoziste rol oynayan ve redoks değişikliklerine hücrel tepkilerde yer alan BTG3, otizmde bir duyarlılık geni olarak öne sürülmüştür (183).

Bu çalışmalar, otizmin etiolojisinde oksidatif stresin rolüne ek destek sağlamaktadır.

2.3. Otizm ve DNA Hasarı

DNA molekülü yeniden sentezlenmesi mümkün olmayan ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları, mutasyonlara ve genetik bozukluklara sebebiyet vermektedir (184,185). Proteinler, DNA tamir enzimleri ve DNA polimerazlar serbest oksijen radikallerinin öncelikli hedefleri arasındadır. Serbest radikaller için önemli bir hedef olan DNA molekülü kolaylıkla hasara uğratılır (184,185). DNA hasarı sonucu kronik inflamasyon,

enfeksiyon, yaşlanma, karsinogenezis, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli patolojilerin oluştuğu bilinmektedir (186,187).

Serbest radikaller, protein yapısındaki enzimlerin aktivitelerini değiştirir, membran transport proteinlerini ve reseptör etkileşimlerini bozar (188). İyonize radyasyona maruziyet ile oluşan serbest radikaller DNA'yı etkiler ve hücrede mutasyona neden olurlar. Sitotoksik etki, önemli ölçüde nükleik asit baz modifikasyonlarından kaynaklanan kromozom değişikliklerine ya da DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyon verir. Hidrojen peroksit hücre zarlarından kolayca geçip çekirdeğe ulaşarak DNA hasarına, hücre fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne sebep olabilir (189,190).

Oksidatif stres, nükleer DNA'nın tekli ve çiftli iplikçik kopuşlarının ortaya çıkmasıyla gerçekleşen belirgin bir genotoksik etki yaratır. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada, infantil otizmlili çocuk ve sağlıklı anneleri ile kontrol grubu olarak sağlıklı çocuk ve onların sağlıklı annelerinde DNA hasarı derecesi değerlendirilmiş ve otizm tanılı çocuklarda kontrol grubuna göre DNA hasarı önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (3). İlginç olarak, Comet Analizi yöntemi ile bu parametreler (DNA Comet Tail Moment (kuyruk uzunluğu)) değerlendirilmiş ve otizmlili çocuğu olan sağlıklı annelerde de daha yüksek olarak ölçülmüş ve otizmlili çocuk grubundaki değerlerden farklı olmadığı gözlenmiş. Tüm bunlar doğrultusunda, otizmlili çocukların mental olarak sağlıklı annelerinin gebelik sırasında çevresel "maternal etki" yoluyla fetustaki patolojik sürecin gelişimini belirleyebilen bazı genotoksik faktörlere sahip olduğu sonucuna varılmıştır (3).

Başka bir postmortem çalışmada, otistik serebellumda, oksidatif stresten zarar gören proteinlerin bir belirteci olan 3 nitrotirozin (3-NT) 'de ve DNA modifikasyonunun markerı ve DNA hasarına yol açan oksidatif stres belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) 'de artış olduğu bildirilmiştir (18).

8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) Oluşumu: DNA yapısında Cu^{+2} iyonları en çok G-C'ce zengin bölgelerde bulunduğundan, oksidatif hasara en çok maruz kalan baz guanindir. Bu iyonların, polianyonik karakterde olan DNA'nın özellikle guanin bazlarına yüksek afinite ile bağlandığını ve H_2O_2 ile etkileşime girerek DNA hasarını başlattığı gösterilmiştir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçümlenen baz hasarı 8-OHdG'dir (191). DNA'da normal baz eşleşmesi Guanin-Sitozin, Adenin-Timin'dir. 8-OHdG içeren DNA'nın, in vitro DNA sentezi sırasında bir kalıp

olarak kullanıldığı zaman yanlış okumaya ve GC—TA mutajenezine yol açtığı gösterilmiştir (192).

2.4. Otizm ve Nöronal İmmunite

Otizimli bireylerde sitokinler, immüoglobulinler, inflamasyon ve hücrel aktivasyonu içeren immünolojik anomalilere dikkat çekilmektedir.

2.4.1. Sitokin Profillerinde Değişiklik

Bozulmuş sitokin profilleri OSB'yle sürekli ilişkilendirilmektedir (193-197). Sitokinler, bir immun cevabın yoğunluğu, süresi ve karakterini kontrol etmek üzere salınan proteinlerdir. Sitokinler nöral sistemlerle de etkileşirler ve nöral gelişim ve onarımında rol alırlar (198).

Birçok çalışmada Transforming Growth Faktör Beta (TGF- β), OSB'yle ilişkilendirilmiştir (199-201). TGF- β , hem bağışıklık sistemi hem de santral sinir sisteminin(SSS) gelişim, hücre göçü, apoptoz ve regülasyonunda rol oynar (202,203). Bazı çalışmalar, OSB'li bireylerden alınan kan örneklerinde TGF- β düzeylerinin azaldığını bildirmiştir(199). Benzer verilerin gözlendiği başka bir çalışmada ise OSB'li bir grup çocukta daha düşük TGF- β 'nın daha şiddetli davranışsal skorlarla korele olduğu bildirilmiştir (200). Başka bir çalışmada, periferik kanda daha düşük TGF- β saptanmasının aksine, postmortem beyin ve beyin omurilik sıvısı örneklerinde TGF- β düzeyleri OSB'li bireylerde kontrollere göre daha yüksek olarak ölçülmüştür (201). SSS ve periferik TGF- β arasındaki ilişki açık değilse de, bu çalışmalar kolektif olarak TGF- β disregülasyonunun OSB'de yaşam boyu bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir.

OSB'yle ilişkilendirilen başka bir sitokin ise, makrofaj inhibitör faktördür (MIF) (204). MIF, beyin dokularında yapısal olarak eksprese edilen (205) ve nöral ve endokrin sistemleri üzerinde önemli etkilere sahip olan pro-inflamatuar bir immün regülatördür (206). Binden fazla aile üzerinde yapılan genotipleme çalışmaları, MIF'in promoter bölgesinde otizmle ilişkili iki polimorfizm ortaya çıkarmıştır. Ek olarak, otizimli bireylerde MIF'in plazma seviyeleri tipik gelim gösteren kontrollere göre daha yüksek saptanmıştır (204). Son olarak, en yüksek plazma MIF düzeyine sahip otizimli bireylerin en şiddetli davranışsal belirtilere sahip oldukları bulunmuştur (204).

OSB olan bireylerde sitokin / leptin hormonu plazma seviyelerindeki varyasyonlara dikkat çekilmiştir (207). Leptin primer olarak adipositler tarafından üretilir, ancak lenfositler tarafından da üretildiği bilinmektedir (208). Leptin, IL-6 ve IL-12 gibi inflamatuvar sitokinler ile fonksiyonel benzerlik gösterir (209) ve kan beyin bariyerini geçebilir (210). Bununla ilgili yapılan bir çalışmada, tipik gelişim gösteren kontrollere kıyasla, OSB'li bir çocuk popülasyonunda plazma leptin düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (207). Bu, özellikle klinik gerileme olanlara (yani normal gelişim ve ardından beceri kaybı) sahip olanların aksine erken başlangıçlı otizmlili çocuklar arasında dramatikti. Yine başka bir çalışmada, otizmi olan bireylerden alınan postmortem beyin örneklerinde leptin seviyelerinde artış saptanmıştır (201).

2.4.2. İmmüoglobulin Düzeyleri

İmmüoglobulinler (Ig), özellikle hedef oluşumları imha etme ve uzaklaştırma için B hücreleri tarafından üretilen proteinlerdir. Her biri immünolojik süreçlerde spesifik bir rol oynayan birkaç Ig sınıfı vardır. Otizmlili bireylerde, otizmi olmayan kontrollere kıyasla azalmış total plazma IgG ve IgM düzeyleri bildirilmiştir (211). En şiddetli davranışsal semptom skoru olan otizmlili bireylerin en düşük IgG ve IgM seviyelerine sahip olmaları, azalmış Ig düzeylerinin davranışla ilişkisini gösterir niteliktedir (211). Bazı araştırmalarda ise serum ve BOS immüoglobulin (Ig) düzeyleri normal bulunurken, bazılarında ise IgG, IgA ve IgM düzeylerinde yükseklikler tespit edilmiştir (45). IgG alt sınıflarına bakıldığında otizmlili küçük çocukların, tipik gelişim gösteren çocuklarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksek IgG4 seviyelerine sahip oldukları gösterilmiştir (212).

2.4.3. Hücresel İmmünitede Değişiklik

Otizmlili bireylerde Natural Killer (NK) ve makrofajlar dahil çeşitli bağışıklık hücrelerinde değişiklikler bildirilmiştir.

NK, viral yanıt, gebelik sürdürümü, tümör sitotoksitesi ve otoimmünitede rolleri olan bağışıklık sisteminin özgün hücresidir (213). OSB'li bireylerde periferik kan hücre incelemesinde, NK hücre aktivitesi ile ilgili birkaç genin ekspresyonunda farklılıklar ortaya konulmuştur (214). NK hücrelerinin daha ileri analizleri, genetik değişikliklerin fonksiyonel önemi gösterdiğini doğrulamıştır (215,216). OSB'li çocuklarda farklı NK hücre reseptörü ve efektör molekülü ekspresyonu artmış olarak gözlenmiştir. İlginç bir şekilde, uyarım üzerine, OSB'li bireylerin NK

hücreleri, kontrollerle karşılaştırıldığında sitotoksik aktivitelerinde azalma gözlenmiştir (216). Benzer bulguların gözlendiği, 1000'den fazla kişinin kan analizinde OSB'de NK hücre aktivitesinde azalma olduğunu gösterilmiştir (215). NK hücreleri ve OSB arasındaki ilişkinin doğası açık değildir, ancak NK hücrelerinin SSS'yi etkileyebilecek sitotoksik maddeler ve sitotoksik maddeler ürettiği bilinmektedir (217-219).

Monositler, periferik kanda bulunan ve patojenleri tanımlayıp doğrudan immün cevabı yönlendiren bağışıklık hücreleridir. Monositler, virüs ve bakterilerle ilgili moleküler paternleri tanıyan Toll-Like Reseptörlerini (TLR) eksprese eder. OSB'li bir grup ve OSB olmayan kontrollerinin TLR stimülasyonuna karşı monosit sitokin yanıtlarının incelendiği bir çalışma sonucunda, çeşitli TLR'lerin uyarılmasından sonra gruplar arasında dramatik farklılıklar gözlenmiştir. Monositlerin TLR-2 ve TLR-4 stimülasyonu ile, OSB olan bireylerde, karşılaştırma grubunda gözlenmeyen belirgin pro-inflamatuar sitokin üretimine neden olduğu gözlenmiştir. Aksine, TLR-9 stimülasyonu ile OSB olmayan gruba kıyasla OSB'de proinflamatuar sitokin üretiminin azaldığı gözlenmiştir. Bu, OSB'li çocuklarda monositlerin, kontrollere kıyasla doğal immün stimülasyona farklı yanıt verdiğini düşündürmektedir (220).

2.4.4. Nöroinflamasyon

Bazı OSB'li bireylerde SSS'de aktif inflamasyon gözlendiği bildirilmiştir (221). OSB'li 11 bireyin post-mortem beyin ve omurilik örneklerinde, astroglia ve mikrogliya aktivasyonunun artmış olduğu ve kontrol örneklerine kıyasla artmış sitokin MCP-1 ve TGF düzeyleri gözlendiği bildirilmiştir (201). Başka bir postmortem çalışmada, OSB'li bireylerden homojenize edilmiş beyin örneklerinde sitokin düzeyleri ölçülmüş ve OSB olmayan kontrollerden alınan örneklerle karşılaştırıldığında OSB'li bireylerde, proinflamatuar ve Th1 sitokinlerinde önemli bir artış olduğunu gözlenmiştir (222). Tüm bu çalışmalar OSB'li bazı bireylerde SSS'nin immun durumu hakkında değerli bilgiler vermektedir. SSS immün aktivasyonunun otizm patolojisine katkıda bulunup bulunmadığı veya bir epifenomen olup olmadığı belirsizdir.

2.5. Otizm ve Otoimmünite

Otoimmünite, immün sistemin, vücudun kendi dokularını yanlışlıkla hedef aldığı anda meydana gelir. Otizmi olan bireyler arasında çeşitli otoimmün fenomenler tanımlanmaktadır (223).

2.5.1. OSB'de Nöral Antijenlere Karşı Antikorlar

Anti-beyin antikorları OSB'li kişilerde anlamlı olarak daha sık bulunurken, bazen nörotipik kişilerde ve OSB olmaksızın gelişimsel gecikmesi olanlarda da bulunabilmektedir (20,224). Bu otoantikorların diğer popülasyonlardaki mevcudiyeti, kan beyin bariyerini ortadan kaldırmak ve hedef antijenlere otoantikorların erişimini kolaylaştırmak için bir ksenobiyotik gibi başka bir maruziyet gerektiren bir duyarlılık faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

2.5.2. OSB'de Anti Nükleer Antikorlar

Anti-nükleer antikorlar, Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) gibi otoimmün hastalıklarda gözlenir. SLE'li kişiler sıklıkla nörolojik anormallikler gösterirler; bu durum, otoimmünite ve davranış arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmektedir (225). Otizmlili bir grup çocuk ve benzer yaşta normal gelişim gösteren çocuk kontrol grubuyla yapılan bir çalışmada, nükleer proteinlere yönelik antikorların oluşumu incelenmiş ve otizmi olan çocuklar, nörotipik çocuklardan anlamlı derecede daha yüksek oranda (%20'ye karşın %2.5) anti-nükleer antikorlara sahip olarak gözlenmiştir (226).

2.5.3. Davranış ve Otoimmünite

Bazı otoimmün bozukluklar davranışları etkilemektedir. Bu, nöropsikiyatrik semptomların eşlik ettiği SLE'li bireyler arasında gösterilmiştir (227). Nöropsikiyatrik SLE hastalarından izole edilen serum anti-nükleer antikorlar, nörotransmitter glutamat için N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörü ile çapraz reaksiyona girmektedir (227,228). Ayrıca, bununla ilgili yapılan bir çalışmada, SLE'li hastaların serumlarına maruz bırakılan farelerde, kognitif bozukluklar ve hipokampusta nöronal ölüme yol açtığı gözlenmiştir (229).

OSB'nin yanı sıra şizofreni, obsesif kompulsif bozukluk, streptokok enfeksiyonu ile ilişkili pediatrik otoimmün nöropsikiyatrik bozukluklar (PANDAS) ve Gilles de la Tourette Sendromu gibi psikiyatrik bozukluklarda sinir sistemi bileşenlerine özgü otoantikorlar bildirilmiştir (228,230-235). Direkt olarak beyni etkileyen antikorlar, beynin gelişimi ve fonksiyonu etkiler veya immün aracılı yıkıma neden olabilir.

2.6. Otizm ve Serebellum

Otizimde en tutarlı anormalliklerin görüldüğü beyin kısmı serebellum ve ilişkili alanlar olmuştur. Neredeyse bununla ilgili bildirilen otizmlili bireylerin postmortem incelemelerinin çoğunda, primer olarak serebellar hemisferlerin posterolateral neocerebellar korteks ve komşu archicerebellar korteksinde önemli oranda purkinje hücre sayısındaki azalma gösterilmiştir (66,236-238). Bazı yazarlara göre ise, otizmlili bireylerin beyinlerinde azalmış sayıda purkinje hücre varlığının her durumda mevcut olmayabileceği savunulmuştur (237). Bununla ilgili yapılan çalışmada, 6 otizmlili bireyin üçünün beyininde purkinje hücre sayısı kontrollerinkiyle yakın oranlarda saptanmış ve purkinje hücre yoğunluğu ile otizmin şiddeti arasında bir korelasyon bulunamamıştır (237). Yine başka bir çalışmada serebellar vermisin ayrıntılı analizinde, bu bölgedeki purkinje hücre boyutu veya sayısında herhangi bir anormallik tespit edilememiştir. Bu nedenle, kranial görüntüleme çalışmaları ile bildirildiği gibi, vermal hipoplaziye yönelik herhangi bir mikroskobik hücresel açıklama sağlanamamıştır (239).

Purkinje hücrelerinin gebelik döneminin son çeyreğinde geç doğum öncesi kaybına dair kanıtlar, purkinje hücrelerinin hayatta kalmaları için gerekli hücreler olan basket hücreleri ve stellat hücrelerinin sayısını değerlendiren bir çalışma ile sağlanmıştır (240). Bu araştırmacılar, serebellar moleküler tabakadaki basket ve stellat hücre interneuronlarının sayısında bir azalma olmadığını ortaya koymuşlar, bu da purkinje hücrelerinin oluşturulduktan sonra, uygun yerlerine göç ettiklerini ve daha sonra öldüğünü göstermektedir. Purkinje hücrelerinin kaybının zamanlaması prenatal gibi gözükmektedir. Purkinje hücre kaybı olan otizmlili bireylerin beyinlerinde, sinaptik olarak ilişkili inferior olivede nöron kaybı saptanmamıştır. Bu sıkı bağlantı doğumdan kısa bir süre önce kurulmaktadır. Bu bağlantı kurulduktan sonra, herhangi bir purkinje hücre kaybı, inferior olive nöronların zorunlu retrograd hücre kaybı ile sonuçlanmaktadır (237,241,242). Inferior olivede, nöronların, daha önceki bir prenatal dönemde bir patoloji paterni olan nükleer konvolüsyonların çevresi boyunca kümelenmiş olduğu gözlenmiştir (243,244).

Serebellumdaki ek bulgular, fastigeal, globose ve emboliform çekirdekler de dahil olmak üzere derin serebellar çekirdeklerin anormalliklerini içermektedir. Yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş kontrollere kıyasla, bu nükleer grupların nöronları yaşa göre boyut farklılıkları göstermektedir. 21 yaşın üzerindeki tüm otizmlili vakalarda, sayı olarak önemli ölçüde azalmış küçük soluk nöronlar görülürken, 5 ila 13 yaş arasındaki tüm çocuk vakalarda, aynı nükleer gruptaki nöronlar, olağandışı büyüklükte ve sayılarda bol miktarda gözlenmiştir (69). Septumdaki ve

inferior olivary nukleuslardaki Broka Diyagonal Bandının çekirdeğindeki benzer bulgularla birlikte, yaşamın erken dönemlerinde beyin hacminin aşırı büyümesi (64,245) ve yaşla birlikte kortikal kalınlıkta azalma (246) gibi bulgular birleştirdiğinde, otizmin altta yatan nöropatolojisinin devam eden postnatal süreçle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (245).

Serebellumun serebral hemisferlerdeki birçok kortikal ve subkortikal yapı ile bağlantılı olduğu ve bu bölgelerle ilişkili bilişsel, dil, motor, duyuşsal ve duygusal işlevlerin çoğunda bir modülatör olarak işlev gördüğü bilinmektedir (247). Serebellumun parietal lob ile beyin sapı dolayısıyla bağlantı kurduğu, bu nedenle otizmde motor disfonksiyon ve dispraksi için potansiyel bir mekanizma sağladığı gösterilmiştir (248). Serebellumun ayrıca klasik şartlı refleks cevapları, zihinsel görüntüleri, beklenen planlama, dikkat yönleri, duyuşsal davranışları, görsel uzamsal organizasyonu ve duyuşsal veri kazanımının kontrolünde rol oynadığı bilinmektedir. Bu işlevlerin çoğu otizmde bozulmuş olabilir ve otizimli bireylerde serebellar anormalliklerin otizmdeki bu klinik özelliklere katkıda bulunması mümkündür.

2.7. Otizm ve Antinöronal Antikorlar

Antinöronal antikorlar, psikiyatrik ve/veya nörolojik semptomlarla birlikte bulunan paraneoplastik santral sinir sistemi sendromlarıyla ilişkili olup, santral sinir sisteminde bulunan bazı spesifik antijenlere karşı oluşan onkonöral antikorlardır (249-252). Onkonöral antikorlar, tümörlerde ve nöroektodermal dokularda hücre içi antijenleri hedefler ve çeşitli kanser türleri ve klinik sendromlarla ilişkilidir (253,254) (Ayrıntılar için Tablo-1'e bakınız.). İyi tanımlanmış onkonöral antikorlar, anti-Hu (ANNA-1), -Ri (ANNA-2), -Yo, -CRMP5 (CV2), -Ma1, -Ma2 (Ta), -Amfifizin, -Recoverin, -Tr ve -SOX1'dir (254,255). Nöronal yüzey antijenlerini hedefleyen antikorların (örn., Anti-NMDAR) iyi tanımlanmış patojenitesinin aksine, onkonöral antikorların, sitotoksik T-hücre reaksiyonlarına bir epifenomenonu temsil ettiği varsayılmaktadır (256,257). Bununla birlikte, doğrudan patojenitesileri için bazı kanıtlar vardır. Örneğin, bir grup araştırmacı son zamanlarda, ratların serebellar kültürlerinde, purkinje hücrelerinde kalsiyum homeostazının düzensizliğine neden olan anti-Yo antikorlarını bulmuşlardır (258). Bir başka araştırma grubu ise, ratların hipokampal ve serebellar kültürlerinde anti-Hu ve anti-Yo'nun, sırasıyla nöronal ve purkinje hücre ölümünü indüklediğini göstermiştir (259-261).

Tablo-1: Onkonöral Antikorlar ve İlişkili Tümör ve Sendromlar

Onkonöral antikorlar	Tümörler ^a	SSS Sendromları ^a
Hu (ANNA-1)	KHAK, diğer akciğer kanserleri, prostat kanseri.	PSD, LE, PEM, OMS, BE, myelit.
Ri (ANNA-2)	Meme kanseri, KHAK, diğer akciğer kanserleri.	BE, OMS, PSD, LE, PEM, myelit.
Yo (PCA-1)	Over kanseri, uterus kanseri, meme kanseri.	PSD
CRMP-5 (CV2)	KHAK, diğer akciğer kanserleri, timoma.	PSD, LE, PEM, BE, myelit.
Ma1	Akciğer kanseri, meme kanseri, kolon kanseri.	BE, PCD, PEM, LE, OMS
Ma2 (Ta)	Testis kanseri.	LE, PSD, Diensefalik ve beyin sapı semptomları.
Amfifizin	Meme kanseri, KHAK, kolon kanseri.	SPS, PEM, PSD, LE
Recoverin	KHAK, diğer akciğer kanserleri.	Retinopati
Tr	Lenfoma	PSD
SOX1	KHAK	LE, PSD, BE

^a Sadece en sık görülen tümörler ve sendromlar tarif edilmiştir. Kısaltmalar: BE Brainstem ensefaliti, SSS Santral sinir sistemi, LE Limbik ensefalit, OMS Opsoklonus-miyoklonus sendromu, PSD Paraneoplastik serebellar dejenerasyon, PEM Paraneoplastik ensefalomyelit, KHAK Küçük hücreli akciğer kanseri, SPS Stiff Person Sendromu.

Paraneoplastik antinöronal antikorlar belirli tümörlerle, en yaygın olarak küçük hücreli akciğer, meme ve over tümörleri ile ilişkili olmasına rağmen etiyolojisi bilinmeyen ve bazen sağlıklı kişilerde nörolojik sendrom bulunan hastalarda da görülebilir (26). Paraneoplastik antinöronal antikor hedeflerinin çeşitli kategorileri mevcuttur. Anti-Yo (Anti purkinje cell antibodies, Anti PCA-1) ve anti-Hu (Anti neuronal nuclear antibody 1, ANNA-1) gibi nükleer veya sitoplazmik protein antijenlerini veya anti-Amfifizin gibi hücre içi sinaptik proteinleri hedef alırlar (27). Antinöronal antikorların, nöropsikiyatrik hastalıkların patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı öne sürülmektedir (28,29). Maternal otoantikorların OSB etiyolojisiyle ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, anti-Yo ve anti-amfifizin antikorlarının, otistik çocuğu olan annelerin

serumlarında, normal gelişmekte olan çocukların annelerinden daha fazla var olduğu gösterilmiştir. Anti-Hu ve anti-Ri (Anti neuronal nuclear antibody 2, ANNA-2), otistik çocuk annelerinde kontrol grubu annelere göre daha yaygın saptanmış, ancak, istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır (30).

2.8. Otizm ve Prenatal Stres

Stres, depresyon ve kaygıyı da içermek suretiyle kullanılan en yaygın terimdir. Şimdiye dek akut ve kronik stresör faktörler, depresyon ve anksiyete de dahil olmak üzere anneye sıkıntı veren çeşitli prenatal maruziyetler araştırılmıştır. Tüm bu faktörlerin fetüs ve çocuk üzerindeki etkileri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (262-265). Birçok farklı çalışmada, gebeliği süresince strese maruz kalan bir annenin hipotalamo-pitüiter-adrenal (HPA) aksında fonksiyon değişikliği ile birlikte çocuğunun anksiyete (266,267) dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) (266,268) ve davranım bozukluğu (266,269) riskinin artmış olduğu gösterilmiştir. İlk trimesterdeki şiddetli stres şizofreni riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir (270).

Öncelikle hayvan modellerinden yapılan araştırmalar, prenatal maternal stresin intrauterin ortamı değiştirebileceğini ve hızlı organ gelişimi sırasında plasenta yapısı ve fonksiyonunu etkileyebileceği ve gelişmekte olan fetüste postnatal gelişim boyunca devam eden etkileri ile fizyolojik adaptasyonlara yol açabileceğini öne sürmektedir (7,271,8). İnsanlarda prenatal maternal strese maruziyet, çocuklarında OSB de dahil olmak üzere çok çeşitli psikiyatrik ve nörogelişimsel bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (7,8).

Prenatal maternal stresin OSB riskini artırabileceğini gösteren kanıtlar vardır (9). Nitekim, doğal afetler (10), istismar (11), birinci derece akraba ölümü (12) gibi gebeliklerinde büyük stresli olaylara maruz kalan annelerin çocuklarında artmış OSB oranları görülmüştür. Ayrıca, OSB'li çocukların annelerinin, gebelikleri sırasında (örneğin, aile çatışması, finansal problemler, hastalık) tipik olarak gelişmekte olan çocuklardan veya bilinen bir genetik etiyolojinin gelişimsel yetersizliği olan çocukların (örneğin; Down Sendromu) annelerinden daha fazla stresli yaşam olayları yaşadığı bildirilmektedir (13,14)

Oksidatif stres mekanizmaları psikiyatrik bozuklukların patogeneğinde rol oynamaktadır. Bu hipotez, beynin birçok nedenden ötürü özellikle oksidatif hasara karşı savunmasız olduğu kabul edildiğinden teorik çekiciliğe sahiptir. Bu nedenler arasında nispeten yüksek oksijen

kullanımı ve dolayısıyla serbest radikal ürünlerinin oluşumu, ılımlı antioksidan savunmaları, oksidasyona hazır substratlar sağlayan lipid bakımından zengin yapısı, bazı nörotransmitterlerin indirgeme potansiyeli ve bakır ve demir gibi redoks-katalitik metallerin varlığı sayılabilir (272,273). Bununla birlikte, beyin ayrıca, eksitatör amin salınımı (özellikle glutamat) ve demirin nörotoksik etkileri ve aktive olmuş inflamatuvar tepkisi vasıtasıyla, oksidatif hücresel zedelenme veya nekrozdan kaynaklanan ikincil ve kendi kendine kalıcı hasara karşı hassastır (272). Beynin bu içsel oksidatif hassasiyeti ve birçok psikiyatrik sendromla ilişkili nörodejeneratif değişiklikleri gösteren kanıtların artmasıyla birlikte, oksidatif hasarın makul bir patojenik aday olabileceğini düşündürmektedir.

Oksidatif stres, nükleer DNA'nın tekli ve çiftli iplikçik kopuşlarının ortaya çıkmasıyla gerçekleşen belirgin bir genotoksik etki yaratır. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada, infantil otizmli çocuk ve annelerinde DNA hasarı derecesi değerlendirilmiş ve otistik çocuklarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (3). İlginç olarak, Comet Analizi yöntemi ile bu parametreler (DNA Comet Tail Moment (kuyruk uzunluğu) değerlendirilmiş ve otizmli çocuğu olan sağlıklı annelerde de daha yüksek olarak ölçülmüş ve otistik çocuklar grubundaki değerlerden farklı olmadığı gözlenmiş. Tüm bunlar doğrultusunda, otistik çocukların mental olarak sağlıklı annelerinin gebelik sırasında çevresel "maternal etki" yoluyla fetustaki patolojik sürecin gelişimini belirleyebilen bazı genotoksik faktörlere sahip olduğu sonucuna varılmıştır(3).

Tüm bu bilgiler ışığında, prenatal stresin fetusa etkileri sonucunda çeşitli mekanizmalarla nöropsikiyatrik bozukluklara neden olabildiği görülmektedir. Çalışmamızda annedeki muhtemel oksidatif stresin çocuğunda otizmle ilişkili olabileceği düşüncesiyle, otizmli çocuğu olan annelerin serumlarında bir oksidatif stres belirteci olan 8-OHdg düzeylerini antinöronal antikörlere ek olarak değerlendirdik.

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Bu çalışmada seçilen örneklem grubu, 12.09.2017- 12.04.2018 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Çocuk Psikiyatri Polikliniği'ne başvuran 3-12 yaş arası OSB tanılı çocuğu olan 33 sağlıklı kadın ve kontrol grubu olarak sağlıklı çocuk izlem polikliniğine başvuran aynı yaş grubunda sağlıklı çocuğu olan sağlıklı 27 kadın olmak üzere toplam 60 bireyden oluşmaktadır. Otizmlili çocuğu olan anneler “vaka grubu” olarak adlandırılmıştır.

Çalışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 12.09.2017 tarih, 07 no'lu oturum ve 07 Sayılı kararı ile onaylanmıştır (EK-1). Çalışmanın finansal kaynağı Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri İdari Koordinatörlüğü (HÜBAK) (Proje no:17193 ve 08.12.2017 tarihli) tarafından sağlanmıştır. Tüm olguların anne ve/veya babaları, çalışmaya katılmadan önce bilgilendirilmiş onam formu imzalamışlardır (EK-2). Ayrıca katılımcılara sosyodemografik veri formu (EK-3) ve otizmlili çocuklara CARS (çocukluk çağı otizm derecelendirme ölçeği) (EK-4) (274) ölçeği doldurtulmuştur.

OSB' li çocuğu olan anne ve kontrol grubunun dışlama kriterleri: Bilinen nörolojik, genetik ve diğer medikal hastalıkları olanlar (kardiyovasküler hastalık, otoimmün hastalık, enfeksiyon, karaciğer ve böbrek hastalıkları, malignensi), antioksidan kullanımı olanlar, son iki hafta içinde ilaç kullanımı olanlar, atopik egzema ve/veya allerji öyküsü olanlar, sigara, alkol ve madde kullananlar, yardımcı üreme tekniği kullananlar çalışma dışı tutulmuştur.

Kontrol grubu, çocuğunu sağlıklı çocuk izlem polikliniğine getiren ve hiç bir çocuğunda bilinen ruhsal ve fiziksel hastalığı olmayan sağlıklı 27 anneden oluşmaktadır.

3.2. Ölçekler ve Formlar

3.2.1. Sosyodemografik Form

Yarı-yapılandırılmış görüşme çizelgesi kullanılarak otizmlili çocukların annelerinin ve sağlıklı çocukların annelerinin adı, soyadı, yaşı, vücut kitle indeksi (VKİ), eğitim düzeyi,

sosyoekonomik düzeyi, herhangi bir ruhsal ya da fiziksel hastalığı olup olmadığı, diğer çocuklarında herhangi bir hastalık olup olmadığı, gebelik süreçlerinde herhangi bir komplikasyon olup olmadığı, sigara ya da alkol kullanımının olup olmadığı, sahip olduğu çocuk sayısı gibi sosyodemografik verileri değerlendirilmiştir (EK-3).

3.2.2. Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ) (Childhood Autism Rating Scale (CARS))

Genel olarak otizmin tanısında ve OSB'li çocukların diğer gelişimsel bozukluğu olan çocuklardan ayırt edilmesinde kullanılan ölçek, aile ile görüşme ve çocuğun gözlenmesi sonucunda elde edilen bilgiler temel alınarak doldurulmaktadır. Ayrı birer alt ölçek görünümünde olan 15 maddeden oluşmakta, ölçeğin doldurulmasıyla çocukta otizmin derecesi belirlenebilmektedir. Bu ölçek tanısal değerlendirme ölçeği olup çeşitli kriterlere göre 1'den 4'e kadar puan verilerek yapılmaktadır. Burada 1 puanla, o maddede bahsi geçen davranışların çocuğun yaşı için normal sınırlar içinde olduğu, 4 puanla ise yaşı için çok anormallik gösterdiği ifade edilmektedir. Toplam alınan puana göre 15-29.5 puan alan çocuklar otistik semptomlar göstermezken, 30-36.5 puan alanlar hafif-orta dereceli otizm, 37-60 puan alanlar ise şiddetli otistik olarak kabul edilmektedir (275).

CARS'da değerlendirilen ölçütler aşağıdaki gibidir.

- İnsanlara ilişkisi
- Taklit yeteneği
- Duygusal tepki
- Vücut kullanımı
- Nesne kullanımı
- Değişime adaptasyon
- Görsel tepki
- Dinleme yanıtı
- Tat-koku-dokunmaya yanıt
- Korku ve sinirlilik
- Sözel iletişim
- Sözel olmayan iletişim
- Aktivite düzeyi
- Entellektüel seviye ve tepki tutarlılığı

➤ Genel izlenim

Ölçeğin Türkçe'ye uyarlanması ilk olarak Sucuoğlu ve ark. (1996) tarafından yapılmıştır (276), sonrasında Gassaloğlu, Baykara ve ark. (2016) tarafından geçerlilik ve güvenilirlik analizi genişletilmiştir ve otizm tanısı için kesim puanı 29,5 olarak bildirilmiştir (275).

Kan Örneklerinin Toplanması ve Laboratuvar: Poliklinik hekimleri tarafından seçilen gruptan, sorumlu hemşireler tarafından 8 saatlik gece açlığından sonra 5 ml venöz kan alınmış ve sınıflandırılarak Harran Üniversitesi Fizyoloji ve Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarları'na gönderilmiştir. Kanlar 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumlar eppendorf tüplerine konularak çalışma zamanına kadar -86°C derin dondurucuda saklanmıştır. Alınan kanlarda Anti-Yo, Anti-Hu, Anti-amfifizin ve Anti-Ri, 8-hidroksi 2-deoksi guanozin (8-OHdG) düzeyleri araştırılmıştır.

3.3.Kullanılan Gereçler

3.3.1. Anti-Yo (PCA-1) Ölçümü

Human (PCA-1) ELISA kit (SunRed CN:201-12-0574) yöntemine göre çalışıldı. Thermo, Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific cihazı kullanılarak 450nm'de okutuldu. Çalışılacak olan örnekler (serum) en az 2 saat öncesinde oda sıcaklığına çıkarıldı. Kit protokolüne göre aşağıdaki iş şeması uygulandı.

Standart Hazırlama: Stok standart (12,8 ng/mL)

Seri Dilüsyon Yöntemi ile Standartlar Hazırlanma: 5 adet temiz tüp yazılarak (6.4,3.2,1.6,0.8,0.4 ng/mL) 120µl Standard Diluent eklendi. Stok solüsyonundan 120 µl alınarak ilk tüpe aktarıldı ve pipetaj yapılarak bir sonrakine aktarıldı. Bu şekilde son tüpe kadar devam edildi. Son kuyucuğa sadece standart dilüent eklendi.

Çalışma Prosedürü:

1.Blank kuyucuğuna: Örnek, PCA-1 antiodisi ile işaretlemiş biotin ve Streptavidin-HRP eklenmedi sadece Chromogen Solution A-B stop solüsyonu eklendi.

2.Standart kuyucuğuna: 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP eklendi. (Standartlar Biotin ile işaretli)

3.Test kuyucuğu: 40 µl örnek, 10 µl PCA-1 antibodisi ile işaretlemiş biotin ve 50µl Streptavidin-HRP eklenerek, yapışkan film ile kaplandı ve 60 dk 37°C’de inkübe edildi.

4.Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu(30ml konsantre wash+870ml d H2O) ile 1-2 dk arayla 5 tekrar yıkandı.

5. 50 µl Chromogen Solution A ve 50 µl Chromogen Solution B eklenip hafifçe karıştırdıktan sonra 10 dk 37°C’de karanlık ortamda inkübe edildi. 50 µl stop solüsyonu eklenerek enzim aktivitesi durduruldu ve optik yoğunluğu (OD) 450nm okutularak tespit edildi.

Assay range: 0,05-10 ng/ml

Sensitivity: 0,042 ng/ml

3.3.2.Anti-Hu (ANNA-1) Ölçümü

Human ANNA1 ELISA kit (Fine Test CN:EH2638) yöntemine göre çalışıldı. Thermo, Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific cihazı kullanılarak 450nm’de okutuldu. Çalışılacak olan örnekler (serum) en az 2 saat öncesinde oda sıcaklığına çıkarıldı. Kit Protokolüne göre aşağıdaki iş şeması uygulandı.

Standart Hazırlama: Liyofilize halde olan standart (100 ng/mL stok) 10,000 g’de 1 dk santrifüj edildi ve üzerine 1ml Sample &Standard Diluent eklenerek homojenizasyonu sağlandı ve yaklaşık 10 dk bekletildi.

Seri Dilüsyon Yöntemi ile Standartlar Hazırlanma: 7 adet temiz tüp yazılarak (50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0 ng/mL) 300µl Sample &Standard Diluent eklendi. Stok solüsyonunundan 300 µl alınarak ilk tüpe aktarıldı ve pipetaj yapılarak bir sonrakine aktarıldı. Bu şekilde (son tüp hariç-blank) son tüpe kadar devam edildi.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Çalışma Solüsyonu Hazırlama: Konsantre Biotin solüsyonu 1:100 oranında Biotinlenmiş Seyreltici ile hazırlandı.

Konsantre SABC Çalışma Solüsyonu Hazırlama: Konsantre HRP Konjugat 1:100 oranında SABC Konjugat Seyreltici ile hazırlandı.

Çalışma Prosedürü:

1. Playte 2 tekrar yıkandı.
2. 96 kuyucuklu playte 100 µl standart ve örnek olacak şekilde dikkatlice eklendi. 90 dk 37°C'de inkübe edildi. Playte 2 tekrar yıkandı.
3. Biotinlenmiş deteksiyon çalışma solüsyonundan 100 µl eklenerek, yapışkan film ile kaplandı ve 60 dk 37°C'de inkübe edildi.
4. Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu (30ml konsantre wash+750ml d H₂O) ile 1-2 dk arayla 3 tekrar yıkandı.
5. 100 µl SABC çalışma solüsyonu eklendi ve 30dk 37°C'de inkübe edildi.
6. Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu (30ml konsantre wash+750ml d H₂O) ile 1-2 dk arayla 5 tekrar yıkandı.
7. 90 µl TMB substrat eklenerek 15 dk 37°C'de inkübe edildi (karanlık ortamda).
8. 50 µl stop solüsyonu eklenerek enzim aktivitesi durduruldu ve optik yoğunluğu (OD) 450nm okutulmuş olarak tespit edildi.

Assay range: 1,563-100 ng/ml

Sensitivity: <0,938 ng/ml

3.3.3. Anti-Ri (ANNA-2) Ölçümü

Human (ANNA-2/Ri) ELISA kit (Sun Red CN:201-12-0576) yöntemine göre çalışıldı. Thermo, Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific cihazı kullanılarak 450nm'de okutuldu. Çalışılacak olan örnekler (serum) en az 2 saat öncesinde oda sıcaklığına çıkarıldı. Kit Protokolüne göre aşağıdaki iş şeması uygulandı.

Standart Hazırlama: Pozitif ve Negatif kontroller kullanılarak yapıldı.

Çalışma Prosedürü:

1. Blank kuyucuğuna: 50 µl sample dilüent eklendi.
2. Standart kuyucuğuna: 50 µl pozitif ve negatif kontrol eklendi.
3. Test kuyucuğu: 10 µl örnek, 40 µl sample dilüent eklenerek yapışkan film ile kaplandı ve 30 dk 37°C'de inkübe edildi.

4. Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu (30ml konsantre wash+870ml d H₂O) ile 1-2 dk arayla 5 tekrar yıkandı.

5. Tüm kuyucuklara (blank hariç) 50 µl HRP-conjugate eklenerek 30 dk 37°C'de inkübe edildi.

6. Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu(30ml konsantre wash+870ml d H₂O) ile 1-2 dk arayla 5 tekrar yıkandı.

7. Tüm kuyucuklara 50 µl Chromogen Solution A ve 50 µl Chromogen Solution B eklenip hafifçe karıştırdıktan sonra 10dk 37°C'de karanlık ortamda inkübe edildi. 50 µl stop solüsyonu eklenerek enzim aktivitesi durduruldu ve optik yoğunluğu (OD) 450 nm okutularak tespit edildi.

3.3.4. Anti-Amfizinin (Anti-AMPH) Ölçümü

Human anti-AMPH ELISA kit (Fine Test CN:EH2621) yöntemine göre çalışıldı. Thermo, Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific cihazı kullanılarak 450nm'de okutuldu. Çalışılacak olan örnekler (serum) en az 2 saat öncesinde oda sıcaklığına çıkarıldı. Kit Protokolüne göre aşağıdaki iş şeması uygulandı.

Standart Hazırlama: Liyofilize halde olan standart (2000 pg/mL stok) 10,000 g'de 1 dk santrifüj edildi ve üzerine 1ml Sample &Standard Diluent eklenerek homojenizasyonu sağlandı ve yaklaşık 10 dk bekletildi.

Seri Dilüsyon Yöntemi ile Standartlar Hazırlanma: 7 adet temiz tüp yazılarak (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 0 pg/mL) 300µl Sample &Standard Diluent eklendi. Stok solüsyonundan 300 µl alınarak ilk tüpe aktarıldı ve pipetaj yapılarak bir sonrakine aktarıldı. Bu şekilde (son tüp hariç-blank) son tüpe kadar devam edildi.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Çalışma Solüsyonu Hazırlama: Konsantre Biyotin solüsyonu 1:100 oranında Biyotinlenmiş Seyreltici ile hazırlandı.

Konsantre SABC çalışma solüsyonu hazırlama: Konsantre HRP Konjugat 1:100 oranında SABC Konjugat Seyreltici ile hazırlandı.

Çalışma Prosedürü:

1. Playte 2 tekrar yıkandı.
2. 96 kuyucuklu playte 100 µl standart ve örnek olacak şekilde dikkatlice eklendi. 90 dk 37°C'de inkübe edildi. Playte 2 tekrar yıkandı.
3. Biotinlenmiş deteksiyon çalışma solüsyonundan 100 µl eklenerek, yapışkan film ile kaplandı ve 60 dk 37°C'de inkübe edildi.
4. Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu (30ml konsantre wash+750ml d H₂O) ile 1-2 dk arayla 3 tekrar yıkandı.
5. 100 µl SABC çalışma solüsyonu eklendi ve 30dk 37°C'de inkübe edildi.
6. Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu (30ml konsantre wash+750ml d H₂O) ile 1-2 dk arayla 5 tekrar yıkandı.
7. 90 µl TMB substrat eklenerek 15 dk 37°C'de inkübe edildi (karanlık ortamda).
8. 50 µl stop solüsyonu eklenerek enzim aktivitesi durduruldu ve optik yoğunluğu (OD) 450nm okutularak tespit edildi.

Assay range: 31,25-2000 pg/ml

Sensitivity: <18,75 pg/ml

3.3.5. 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) Ölçümü

8-OHdG ELISA kit (Fine Test CN:EU2548) yöntemine göre çalışıldı. Thermo, Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific cihazı kullanılarak 450nm'de okutuldu. Çalışılacak olan örnekler (serum) en az 2 saat öncesinde oda sıcaklığına çıkarıldı. Kit Protokolüne göre aşağıdaki iş şeması uygulandı.

Standart Hazırlama: Liyofilize halde olan standart (100 ng/mL stok) 10,000 g'de 1 dk santrifüj edildi ve üzerine 1ml Sample &Standard Diluent eklenerek homojenizasyonu sağlandı ve yaklaşık 10 dk bekletildi.

Seri Dilüsyon Yöntemi ile Standartlar Hazırlanma: 7 adet temiz tüp yazılarak (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0 ng/mL) 300µl Sample &Standard Diluent eklendi. Stok solüsyonundan 300 µl alınarak ilk tüpe aktarıldı ve pipetaj yapılarak bir sonrakine aktarıldı. Bu şekilde (son tüp hariç-blank) son tüpe kadar devam edildi.

Biyotinlenmiş Deteksiyon çalışma solüsyonu hazırlama: KonsantreBiyotin solüsyonu 1:100 oranında Biyotinlenmiş Seyreltici ile hazırlandı.

Konsantre SABC Konjugat çalışma solüsyonu hazırlama: Konsantre HRP Konjugat 1:100 oranında SABC Konjugat Seyreltici ile hazırlandı.

Çalışma Prosedürü:

1. Playte 2 tekrar yıkandı.
2. 96 kuyucuklu playte 50 µl standart ve örnek olacak şekilde dikkatlice eklenip hemen Biyotinlenmiş deteksiyon çalışma solüsyonundan 50 µl eklenerek 45 dk 37°C’de inkübe edildi.
3. Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu(30ml konsantre wash+750ml d H2O) ile 1-2 dk arayla 3 tekrar yıkandı.
4. 100 µl SABC Konjugat çalışma solüsyonu eklendi ve 30dk 37°C’de inkübe edildi.
5. Tüm kuyucuktaki sıvılar uzaklaştırıldı ve yaklaşık 350 µl olacak şekilde yıkama solüsyonu(30ml konsantre wash+750ml d H2O) ile 1-2 dk arayla 5 tekrar yıkandı.
6. 90 µl TMB substrat eklenerek 15 dk 37°C’de inkübe edildi(karanlık ortamda).
7. 50 µl stop solüsyonu eklenerek enzim aktivitesi durduruldu ve optik yoğunluğu (OD) 450nm okutularak tespit edildi.

Assay range: 1,563-100 ng/ml

Sensitivity: <0,938 ng/ml

3.4. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılacak İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel analizler SPSS 23.0 yazılımı üzerinde yapılmıştır. (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD). Normal dağılımı test etmek için Shapiro-Wilk testi kullanılmıştır. Normal dağılan verilerde parametrik, normal dağılmayanlarda ise non-parametrik testler kullanılmıştır. Veriler ortalama ± standart sapma ve medyan (Interquartile range (IQR)) olarak ifade edilmiştir. Kategorik değişkenler için Pearson Ki-Kare testi kullanılmıştır. Sürekli ve iki grup karşılaştırmaları için Mann-Whitney U ve Student t-test kullanılmıştır. Korelasyon analizi için Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır. Anti-amfizinin cut-off değerini tahmin etmek için ROC analizi yapılmıştır. *p* değerleri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Örneklem grubu, 3-12 yaş arası OSB’li çocuğu olan 33 sağlıklı anne ve kontrol grubu olarak sağlıklı çocuk izlem polikliniğine başvuran aynı yaş grubu sağlıklı çocuğu olan 27 sağlıklı anne olmak üzere toplam 60 bireyden oluşmaktadır. Otizmlili çocuğu annelerinden ‘‘vaka grubu’’ olarak bahsedilecektir.

Vaka ve Kontrol Gruplarındaki Annelerin Sosyodemografik Özelliklerine İlişkin Veriler: Çalışmaya alınan otizmlili çocuğu olan annelerin yaş ortalaması(min-max) 33.42 ± 6.56 (22-48) yıldır. Kontrol grubunun yaş ortalaması(min-max) ise 33.81 ± 5.22 (23-47) yıldır. Vaka grubu ve kontrol grubu arasında yaş ortalamaları ağıısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo-2).

Vaka grubunun VKİ ortalaması $25.37 \pm 4.17 \text{ kg/m}^2$; kontrol grubunun VKİ ortalaması ise $25.17 \pm 3.45 \text{ kg/m}^2$ olup, iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo-2).

Vaka grubu ile kontrol grubu arasında eğitim düzeyleri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo-2).

Vaka ve kontrol grupları, sosyoekonomik düzey (SED) ağıısından karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo-2).

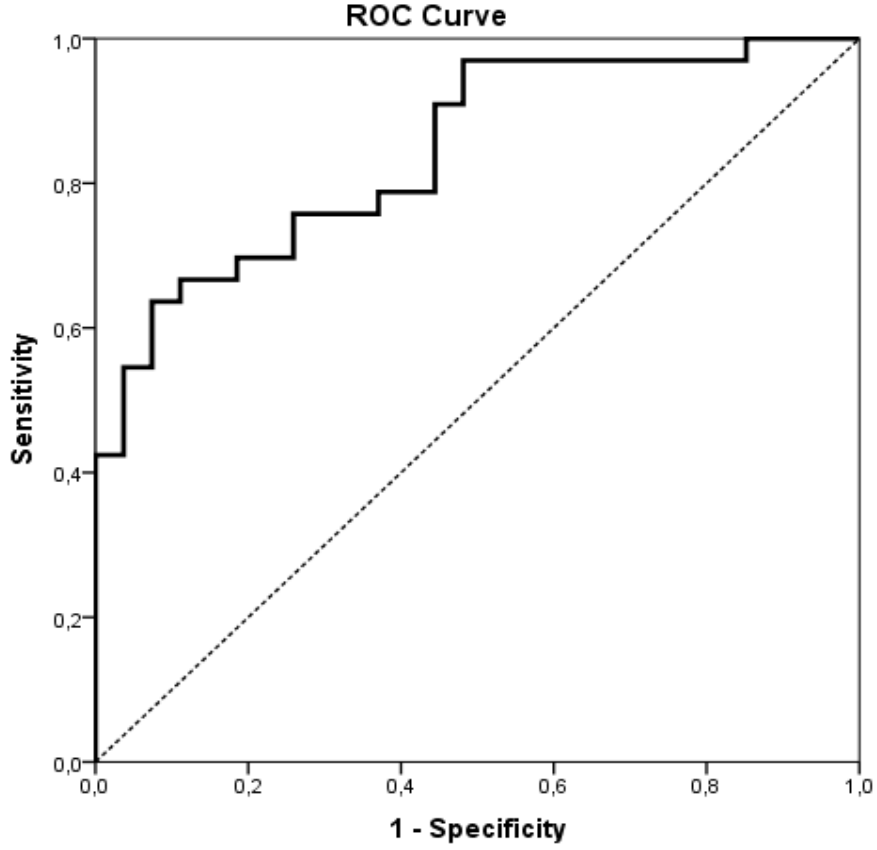
Vaka ve kontrol grupları, çocuklarının sayısı ağıısından karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo-2)

Tablo-2: Vaka ve Kontrol Gruplarının Sosyodemografik ve Sosyoekonomik Düzey Özellikleri

Parametreler	Vaka grubu(n=33)	Kontrol grubu(n=27)	<i>p</i>
Yaş ^a (yıl) (ortalama ± ss) (min-max)	33.42 ± 6.56 (22-48)	33.81± 5.22 (23-47)	0.803
VKI ^a (kg/m ²) (ortalama ± ss)	25.37 ± 4.17	25.17 ± 3.45	0.843
Eğitim ^b (yıl) (ortanca) (IQR)	5(10)	8(11)	0.138
SED ^c <3000 tl 3000-6000 tl >6000 tl	9(%27) 16(%49) 8(%24)	2(%7) 17(%63) 8(%30)	0.141
Çocuk sayısı ^b (ortanca) (IQR)	3(1)	2(2)	0.624

^aStudent t-test, ^bMann–Whitney U p, ^cPearson chi-square, IQR: Interquartile range.

OSB teşhisinde anti-amfizinin cut-off (kesim noktası) değerini tahmin etmek için The Receiver Operator Characteristics Curve (ROC eğrisi) kullanılmıştır. Tanısal ölçümler için anti-amfizinin eğrisinden cut-off değeri 48.695 pg/ml (duyarlılık % 76 ve özgüllük % 74) olarak bulunmuştur. ROC eğrisi altında kalan alan, anti-amfizinin için 0.844'te anlamlı saptanmıştır ($p < 0.001$). Yüksek değerler OSB'ye işaret etmektedir (Şekil-2).



Şekil-2: Anti-amfifizin ROC eğrisi; cut-off değeri 48.695 ile birlikte anti-amfifizin için eğri altındaki alan 0.844 olarak belirlenmiştir.

Vaka grubunda OSB'li çocuklar CARS puanlarına göre OSB semptom şiddeti açısından karşılaştırıldığında; 14 hastanın (%42.4) hafif-orta, 19 hastanın ise (%57.6) şiddetli düzeyde otizm spektrum bozukluğu olduğu sonucu saptanmıştır.

Vaka ve Kontrol Grupları Arasında Antinöronal Antikorlar ve 8-OHdG Parametrelerinin Karşılaştırılmasına İlişkin Veriler: Anti-amfifizin antikor düzeyleri, kontrol grubuna göre vaka grubunda anlamlı ölçüde yüksek saptanmıştır ($p = 0.001$)(Tablo-3).

Anti-Ri antikor pozitifliği, kontrol grubuna göre vaka grubunda anlamlı ölçüde yüksek saptanmıştır ($p = 0,027$) (Tablo-3).

Anti-Yo antikor düzeyleri bakımından iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p = 0.065$)(Tablo-3).

Anti-Hu antikor düzeyleri bakımından iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p = 0,099$) (Tablo-3).

8-OHdG bakımından iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p = 0.490$) (Tablo-3).

Tablo-3: Vaka ve Kontrol Grupları Arasında Anti-Yo, Anti-Hu, Anti-amfifizin, 8-OHdG Düzeyleri ve Anti-Ri Pozitifliğinin Karşılaştırılması

Parametreler	Vaka grubu(n=33)	Kontrol grubu(n=27)	<i>p</i>
Anti-Yo ^a (ortanca) (IQR)	1.29 (0.83)	1.92 (0.9)	0.065
Anti-Hu ^a (ortanca) (IQR)	1.84 (0.23)	1.86 (0.28)	0.099
Anti-Ri ^b + (n%) - (n%)	10 (%30.3) 23 (%69.7)	2 (%7.4) 25 (%92.6)	0.027
Anti-amfifizin ^a (ortanca) (IQR)	63.27 (43.97)	36.16 (17.22)	0.001
8-OHdG ^a (ortanca) (IQR)	41.31 (23.71)	45.92 (36.88)	0.490

^aMann–Whitney U *p*, ^bPearson chi-square, IQR: Interquartile range.

Spearman’s Rho Korelasyon Analizi Sonuçları: Vaka grubunda, yaş ile anti-amfifizin düzeyleri arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmıştır ($r = 0.418$, $p = 0.015$).

Anti-Hu ile anti-amfifizin antikor düzeyleri arasında pozitif yönlü bir ilişki eğilimi saptanmıştır ($r = 0.341$, $p = 0.082$).

Anti-Hu antikor düzeyleri ile 8OHdG arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmıştır ($r = 0.487$, $p = 0.004$).

CARS şiddeti ile anne eğitimi arasında negatif yönlü bir ilişki saptanmıştır ($r = - 0.428$, $p = 0.013$).

5. TARTIŞMA

OSB nin gelişiminde genetik ve çevresel etkenlerin önemli olduğu bilinmektedir. Tedavisinde özel eğitim dışında kanıtlanmış bir yöntem olmasa da hali hazırda bu alanda ilaç araştırmaları sürdürülmektedir. Prenatal strese neden olan bazı faktörlerin nöropsikiyatrik hastalıkların gelişiminde önemli bir etken olabileceği çalışmalarda gösterilmiştir. Nispeten strese daha hassas olan fetal beyinin prenatal dönemde maternal bazı faktörlere maruz kalarak otizm gelişim riskini arttırabileceği düşünülmüştür. Otizmi erken tanıma ve riskli aileleri belirleme açısından maternal faktörlerin irdelenmesi önem arz etmektedir. Bu nedenle otizimli çocukların annelerinde anti-nöronal antikorlar ve oksidatif stresi değerlendirerek erken tanı ve tedavi modellerine ışık tutması açısından bu çalışmamızı yapmış bulunmaktayız.

Vaka ve kontrol grubunun sosyodemografik ve klinik özelliklerine ilişkin veriler değerlendirildiğinde; vaka ve kontrol grupları arasında yaş ortalaması, VKİ, eğitim düzeyleri, sosyoekonomik düzey, sahip olunan çocuk sayısı bakımından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Vaka grubunda OSB'li çocuklar CARS puanlarına göre OSB semptom şiddeti açısından karşılaştırıldığında; 14 hastanın (%42.4) hafif-orta, 19 hastanın ise (%57.6) şiddetli düzeyde otizm spektrum bozukluğu olduğu sonucu saptanmıştır. OSB'li çocuklarda CARS şiddeti ile anne eğitimi arasında negatif yönlü korelasyon saptanmıştır. Bir anket çalışmasında, 12 yıldan az eğitim gören ebeveynlerin çocuklarında, 12 yıldan fazla eğitim gören ebeveynlerin çocuklarına kıyasla %68 oranla daha fazla orta şiddetli OSB ve % 43,5 oranla daha fazla ağır şiddetli OSB gözlemlendiği saptanmıştır (277). Ancak otizimli bireylerin ebeveynleri ile yapılan başka bir çalışmada ise, ebeveyn eğitim ve gelir düzeyi ile OSB arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (278). Otizmde tanı aldıktan sonra çocuğun en erken şekilde eğitime başlaması ve ailelerin de bu sırada özel eğitime ek olarak çocuğa ilgisi, evde eğitime uyumu ve otizmi tanınması otizmin seyri için oldukça önemlidir. Bu nedenle çalışmamızın da sonucuna dayanılarak, annede eğitim düzeyi arttıkça otizimli çocuğuna yaklaşımda daha etkili ve başarılı olabileceği ve çocuğun otizm şiddetinde azalma sağlayabileceği muhtemel sonucuna varılabilir.

Daha önce literatürde oksidatif stres ve bazı antinöronal antikorlar, otizmi olan çocuklar ve onların annelerinde araştırılmış olmakla birlikte sayıca oldukça azdır (3,15,16,17,18,19,30). Bu çalışmaların da çoğu OSB, oksidatif stres ve DNA hasarı ilişkisini öne sürer niteliktedir (3,15,16,17,18). Antinöronal antikorlar, psikiyatrik ve/veya nörolojik semptomlarla birlikte bulunan paraneoplastik santral sinir sistemi sendromlarıyla ilişkili olup, santral sinir sisteminde

bulunan bazı spesifik antijenlere karşı oluşan onkonöral antikordur (249-252). Onkonöral antikordur, tümörlerde ve nöroektodermal dokularda hücre içi antijenleri hedefler ve çeşitli kanser türleri ve klinik sendromlarla ilişkilidir (253,254) . İyi tanımlanmış onkonöral antikordur, anti-Hu (ANNA-1), -Ri (ANNA-2),-Yo, -CRMP5 (CV2), -Ma1, -Ma2 (Ta), -Amfifizin, -Recoverin, -Tr ve -SOX1'dir (254,255). Nöronal yüzey antijenlerini hedefleyen antikordur (örn., Anti-NMDAR) iyi tanımlanmış patojenitesinin aksine, onkonöral antikordur, sitotoksik T-hücre reaksiyonlarına bir epifenomenonu temsil ettiği varsayılmaktadır (256,257). Bununla birlikte, doğrudan patojenitesileri için bazı kanıtlar vardır. Örneğin, bir grup araştırmacı son zamanlarda, ratların serebellar kültürlerinde, purkinje hücrelerinde kalsiyum homeostazının düzensizliğine neden olan anti-Yo antikordur bulmuşlardır (258). Bir başka araştırma grubu ise, ratların hipokampal ve serebellar_kültürlerinde anti-Hu ve anti-Yo'nun, sırasıyla nöronal ve purkinje hücre ölümünü indüklediğini göstermiştir (259-261). Paraneoplastik antinöronal antikordur belirli tümörlerle, en yaygın olarak küçük hücreli akciğer, meme ve over tümörleri ile ilişkili olmasına rağmen etiyojisi bilinmeyen ve bazen sağlıklı kişilerde nörolojik sendrom bulunan hastalarda da görülebilir (26). Paraneoplastik antinöronal antikordur hedeflerinin çeşitli kategorileri mevcuttur. Anti-Yo (Anti purkinje cell antibodies, Anti PCA-1) ve anti-Hu (Anti neuronal nuclear antibody 1, ANNA-1) gibi nükleer veya sitoplazmik protein antijenlerini veya anti-amfifizin gibi hücre içi sinaptik proteinleri hedef alırlar (27). Antinöronal antikordur, nöropsikiyatrik hastalıkların patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı öne sürülmektedir (28,29).

Fareler üzerinde yapılmış bir çalışmada, nörogelişimsel bozuklukların etiyojisinde maternal antikordur rolü olabileceği, ancak bu durumun otizm ya da diğer nörogelişimsel bozuklukların tamamı için geçerli olma zorunluluğu olmadığı öne sürülmüştür (279). Bazı çalışmalarda, otizmlili çocuğu olan annelerde beyinle bağlantılı antikordur (39kDa ve 73kDa'da fetal beyin proteinlerine karşı gelişen antikordur) varlığı tespit edilmiştir (280,25). Bir başka çalışmada ise, otizmlili çocuğu olan annelerin serumlarında spesifik antikordur reaktivite modellerinin saptandığı ve bu otoantikordur plasentayı geçmek suretiyle fetal beyin gelişimini değiştirmiş olabileceği öne sürülmüştür (281). Bir başka grup araştırmacı tarafından, fetal yaşamı boyunca bir kez fetal beyine karşı gelişen maternal antikordur (37/39kDa ve 73kDa'da proteinlerle reaksiyona giren fetal beyine yönelik antikordur) maruz kalmanın, bir çocuk için OSB açısından risk oluşturabileceği bildirilmiştir (282). Maternal antikordur, hedef proteinlerin fonksiyonel etkileşimi ile sonuçlanan doğrudan bir antijen-antikordur etkileşimine sahip olabileceği ya da bu antikordur mevcudiyetinin, sadece hücre tahribatının bir biyobelirteci olabileceği belirtilmektedir (283).

Maternal antinöronal antikor ve OSB ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, vaka grubu olarak otizmlili çocuğu olan 49 sağlıklı anne, sağlıklı çocuğu olan 73 sağlıklı anneden oluşan kontrol grubu ile serum antinöronal antikor düzeyleri açısından karşılaştırılmış (30). Çalışma sonucunda, anti-Yo ve anti-amfifizin antikorlarının, otizmlili çocuğu olan annelerin serumlarında, normal gelişmekte olan çocukların annelerinden daha fazla var olduğu gösterilmiştir (30). Anti-Hu ve anti-Ri, otizmlili ocuk annelerinde kontrol grubu annelere göre daha yaygın olsa da anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (30). Bu alışma ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda otizmi olan çocukların annelerinin serumlarında anti-amfifizin düzeyleri anlamlı ölçüde yüksek saptanmıştır. Otizmlili ocuklarda antinöronal antikorların ve oksidatif DNA hasarının araştırıldığı bir çalışmada, 3-12 yaş 35 otizmlili ocuk, benzer yaş grubu 33 sağlıklı çocukla karşılaştırılmıştır (284). Çalışmanın sonuçlarına göre otizmlili çocuklarda anti-Ri antikor pozitifliği saptanmış olup kontrol grubunda negatif olarak saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca vaka grubunda kontrol grubuna kıyasla anti-Hu ve 8-OHdG düzeyleri anlamlı ölçüde yüksek saptanmıştır. Anti-amfifizin antikorları vaka grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek saptanmış olsa da iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Vaka ve kontrol grupları arasında anti-amfifizin antikorları açısından farklılık saptanmamış olması ve bizim çalışmamızda anti-amfifizinin otizmlili çocukların annelerinde anlamlı olarak yüksek olması sürecin henüz anne karnındayken başladığını, maternal anti-amfifizin antikorlarının plasenta yoluyla fetusa geçerek muhtemel serebellum hasarı sonucu otizm etiyolojisine katkıda bulunabileceğini dşndrmştir.

Anti-amfifizin antikorları nöronal sinaptik proteinleri hedef alırlar (27). Son alışmalar otizm etiyolojisinde sinaps gelişimi ve plastisitede rol oynayan moleküllere dikkat çekmiştir (90). OSB'nin genetik çalışmaları, sinaptik plastisitenin kilit düzenleyicileri olan birkaç risk genini tanımlamıştır. Aslında, bu bozukluklara bağlı olan risk genlerinin çoğu, sinaptik iskelet proteinlerini, reseptörleri, hücre adezyon moleküllerini veya kromatin yeniden şekillendirilmesinde, transkripsiyonda, protein sentezinde veya bozulmasında veya aktin sitoiskelet dinamiklerinde rol oynayan proteinleri kodlar. Bu proteinlerin herhangi birindeki değişiklikler, sinaptik kuvveti veya sayısını ve nihayetinde beyindeki nöronal bağlantıyı artırabilir veya azaltabilir. Ek olarak, zararlı mutasyonlar meydana geldiğinde, yetersiz genetik tamponlama ve bozulmuş sinaptik homeostaz, bir bireyin OSB için riskini artırabilir (285).

OSB ile ilişkili bu riskli gen grubunun ortak özellikleri için, sinaptik kuvveti ve/veya sayısını modüle ederek sinaptik plastisiteye katıldıkları ve bu genlerdeki mutasyonların, ya çok yüksek bir aktiviteye ve yüksek sinaptik yoğunluğa ya da çok düşük bir aktiviteye ve azalan

sinaptik yoğunluğa neden oldukları söylenebilir. İlginç bir şekilde, OSB ile ilişkili mutasyonların çoğunluğu - özellikle MEF2C, FMR1, NF1, PTEN, SYNGAP1, EIF4E ve CYFIP1'deki mutasyonlar - artan gen transkripsiyonu ve mRNA translasyonu ile sonuçlanır; üstelik bu etkiler artmış nöronal aktivitede de görülür. Bu nedenle bu mutasyonlar, spesifik nöronal ağlar içindeki direnç ve / veya sinaps sayısında anormal bir artışa yol açabilir (285).

OSB'de sinaptogenezle ilgili yapılan bir araştırmada, gelişmekte olan sinir sisteminde her yerde ekspresyonu olan SLIT-ROBO Rho GTPaz aktive edici protein 3 (SrGAP3) ile OSB ilişkisi öne sürülmüştür (286-288). Tam uzunluktaki insan SrGAP3 proteini, bir iF Bin1 / amphipisin / Rvs167 (BAR) alanı (membran bağlanması ile ilgilidir), bir Rac1 GAP alanı ve Robo1/2, WAVE1 ve lamellipodin ile etkileşime giren bir SH3 alanı içerir. SrGAP3, WAVE1'i bağlar ve Rac1 sinyalini düşürür (289-291). Fareler üzerinde yapılmış bir çalışmada, deneysel olarak etkisizleştirilmiş SrGAP3'ün, erken gelişimde dendritik filopodia sayısını azalttığı ve bu nedenle SrGAP3 eksikliğinin insan hastalarda dendritik omurga yoğunluğunun da azalmasına neden olmasının olası olduğu belirtilmiştir (292). SrGAP3 genindeki iki de novo missense varyantı, Simons Simplex Koleksiyonundan OSB hastalarında tanımlanmıştır (286). Bu anlamda, amfifizinde oluşacak herhangi bir hasarın SrGAP3 proteinin yapısında da bozulmaya yol açabileceği ve böylece fetal beyin sinaptogenezinde anormallik oluşturarak OSB etiyojisine katkıda bulunabileceği sonucuna varabiliriz. Bu nedenle çalışmamızla uyumlu olarak, maternal anti-amfifizin antikorumlarının, özellikle erken nöronal gelişim ve OSB ile ilişkisini destekler nitelikte olduğunu söyleyebiliriz.

Günümüzde, OSB tanısı ya da şiddetinin değerlendirilmesi için genel olarak kabul edilen herhangi bir biyobelirteç yoktur. OSB'de biyobelirteç olarak periferik dokulardaki oksidatif stres parametrelerini inceleyen çalışmalar yapılmıştır (293-298). Ancak şimdiye dek, otizmlili çocuğu olan annelerde antikorumlar ya da DNA hasarı bakımından anlamlı sonuçlanan ROC analizine rastlanmamıştır. Çalışmamızda ise; anti-amfifizin antikorumları için anlamlı ölçüde duyarlılık (%76) ve özgüllük (%74) ve eğri altındaki alan (0.844) saptanmış olup, anti-amfifizin antikorum düzeyi yüksek olan annelerin otizmlili çocuğa sahip olma olasılığının daha fazla olabileceği sonucuna varılabilir.

Ayrıca Spearman's rho korelasyon analizinde vaka grubunda yaş ile anti-amfifizin düzeyleri arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmış olup bu durum, OSB etiyojisinde ileri anne yaşının önemini destekler niteliktedir. Ayrıca ileri anne yaşının OSB için risk faktörü olduğu

düşünüldüğünde, anti-amfifizin pozitifliği olan ileri yaş anne adaylarının otizm açısından daha riskli oldukları sonucuna varılabilir. Ali ve arkadaşlarının çalışmasıyla (30) uyumlu olarak anti-Hu antikoru açısından gruplar arasında anlamlı fark bulmasak da anti-amfifizin ile anti-Hu düzeyleri arasında da pozitif yönlü bir ilişki saptanması ileri araştırmalara ihtiyaç olduğunu düşündürmüştür. Çünkü anti-Hu antikoru'nun nükleer DNA'da hasara yol açarak hücre ölümüne sebep olması, ileri anne yaşında da genomik değişikliklerin (299,300) artmış olmasına katkı sağlayan bir faktör olabilir. İleri anne yaşı ile otizm ilişkisinin gösterildiği çalışmalar mevcuttur (301-303). İleri anne yaşının otizmde etkili olmasıyla ilgili muhtemel mekanizmalardan birisi olarak, artmış genomik değişimlerden bahsedilmektedir. Çok sayıda nörolojik ve psikiyatrik bozukluklar genomik değişikliklerle ilişkili bulunmuştur (304). Kromozom anomalileri (305,306) ve genomik modifikasyonların (299,300) etiolojisinde anne yaşı önemli bir faktördür. İlginç bir şekilde bir dizi çalışma, otizmlilerde çocuklarda gen değişimlerinin kopya sayısı varyantları ve diğer formlarının prevalansında artış olduğunu öne sürmüştür (307,308). Bu da otizm etyopatogenezinde yeni mutasyonların önemli olabileceği fikrini destekler niteliktedir. Ancak bu olayların ileri anne yaşıyla ilişkili olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Alternatif bir açıklama ise, epigenetik işlev bozukluğunun bazı ebeveyn yaşı etkilerinin altında kalmasıdır. "Epigenetik", kalıtsal ancak reversibl gen ekspresyonunun düzenlenmesini ifade eder (309). Epigenetik disfonksiyon, birkaç nöropsikiyatrik bozuklukla ilişkilendirilmiştir (310) ve ayrıca bazı hastalarda otistik özelliklerle karakterize edilen Rett ve Fragile X sendromları dahil olmak üzere, tek gen hastalıklarında da görülür (304). Yaşam boyu çeşitli çevresel toksinlere maruz kalmanın, yaşlı ebeveynlerin germ hücrelerinde genomik ve/veya epigenetik değişikliklere neden olması da mümkündür. Toksinlerin DNA hasarını, germline mutasyonlarını ve germ hücrelerinde global hipermetilasyonu indüklediği (311) ve çocuklarda uzun süreli gelişimsel sonuçları olabildiği gösterilmiştir (312). Bu mekanizmalar otizmde ileri anne yaşının bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızın önemli bir neticesi olarak; özellikle ileri yaş dönemde gebeliği olan annelerin anti-amfifizin açısından değerlendirilmesi otizmde erken dönemde müdahale açısından önem arz edebilir.

Çalışmamızda kontrol grubuna göre vaka grubunda Anti-Ri antikoru pozitifliği anlamlı ölçüde yüksek saptanmıştır. Çalışmamızın aksine, Ali ve arkadaşlarının çalışmasında (30) ise anti-Ri, otizmlilerde çocuk annelerinde kontrol grubu annelere göre daha yaygın olsa da anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Anti-Ri antikoru, subakut serebellar ataksi, spesifik tümör tipleri ve sıklıkla antinöronal antikoruyla karakterize heterojen bir hastalık grubu olan paraneoplastik serebellar dejenerasyon (PCD) ile ilişkili bir onkonöral antikordur (313). Meme ve over kanseri

olan hastalarda bu antikorlar gelişir ve oluşan antikorlar opsoklonus-myoklonus, paraneoplastik beyin sapı ve serebellar disfonksiyonla da ilişkilidir (314-317). Otizmde serebellum patolojilerinin bir etken olduğunun bilinmesi ve bu antikorların serebellar dejenerasyona yol açarak otizme katkıda bulunabileceği, çalışmamızın da bunu destekler nitelikte sonuçlandığını söyleyebiliriz. Serebellar disfonksiyonun otizmdeki rolü önemli olup anti-Ri antikorlarının otizmle ilişkisinin ileri çalışmalarla değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

Otizmde en tutarlı anormalliklerin görüldüğü beyin kısmı serebellum ve ilişkili alanlar olmuştur. Serebellumun serebral hemisferlerdeki birçok kortikal ve subkortikal yapı ile bağlantılı olduğu ve bu bölgelerle ilişkili bilişsel, dil, motor, duyuşsal ve duygusal işlevlerin çoğunda bir modülatör olarak işlev gördüğü bilinmektedir (247). Serebellumun parietal lob ile beyin sapı dolayısıyla bağlantı kurduğu, bu nedenle otizmde motor disfonksiyon ve dispraksi için potansiyel bir mekanizma sağladığı gösterilmiştir (248). Serebellumun ayrıca klasik şartlı refleks cevapları, zihinsel görüntüleri, beklenen planlama, dikkat yönleri, duyuşsal davranışları, görsel uzamsal organizasyonu ve duyuşsal veri kazanımının kontrolünde rol oynadığı bilinmektedir. Bu işlevlerin çoğu otizmde bozulmuş olabilir ve otizimli bireylerde serebellar anormalliklerin otizmdeki bu klinik özelliklere katkıda bulunması mümkündür. Neredeyse bununla ilgili bildirilen otizimli bireylerin postmortem incelemelerinin çoğunda, primer olarak serebellar hemisferlerin posterolateral neocerebellar korteks ve komşu archicerebellar korteksinde önemli oranda purkinje hücre sayısındaki azalma gösterilmiştir (66,236-238). Bazı yazarlara göre ise, otizimli bireylerin beyinlerinde azalmış sayıda purkinje hücre varlığının her durumda mevcut olmayabileceği savunulmuştur (237). Bununla ilgili yapılan çalışmada, 6 otizimli bireyin üçünün beyninde purkinje hücre sayısı kontrollerinkiyle yakın oranlarda saptanmış ve purkinje hücre yoğunluğu ile otizmin şiddeti arasında bir korelasyon bulunamamıştır (237). Yine başka bir çalışmada serebellar verminin ayrıntılı analizinde, bu bölgedeki purkinje hücre boyutu veya sayısında herhangi bir anormallik tespit edilememiştir. Bu nedenle, kranial görüntüleme çalışmaları ile bildirildiği gibi, vermal hipoplaziye yönelik herhangi bir mikroskobik hücreşel açıklama sağlanamamıştır (239).

Purkinje hücrelerinin gebelik döneminin son çeyreğinde geç doğum öncesi kaybına dair kanıtlar, purkinje hücrelerinin hayatta kalmaları için gerekli hücreler olan basket hücreleri ve stellat hücrelerinin sayısını değerlendiren bir çalışma ile sağlanmıştır (240). Bu araştırmacılar, serebellar moleküler tabakadaki basket ve stellat hücre internöronlarının sayısında bir azalma olmadığını ortaya koymuşlar, bunun da purkinje hücrelerinin oluşturulduktan sonra, uygun yerlerine göç ettiği ve daha sonra öldüğü anlamına geldiğini bildirmişlerdir. Purkinje hücrelerinin

kaybının zamanlaması prenatal gibi gözükmetedir. Purkinje hücre kaybı olan otizmlı bireylerin beyinlerinde, sinaptik olarak ilişkili inferior olivede nöron kaybı saptanmamıştır. Bu sıkı bağlantı doğumdan kısa bir süre önce kurulmaktadır. Bu bağlantı kurulduktan sonra, herhangi bir purkinje hücre kaybı, inferior olive nöronların zorunlu retrograd hücre kaybı ile sonuçlanmaktadır (237,241,242). Inferior olivede, nöronların, daha önceki bir prenatal dönemde bir patoloji paterni olan nükleer konvolüsyonların çevresi boyunca kümelenmiş olduğu gözlenmiştir (243,244). Çalışmamızda anti-Ri pozitifliği ve muhtemel serebellum ilişkisini yukarıda açıklamaya çalışsak da, prenatal anti-YO antikörlerine maruziyetin fetusta purkinje hücre kaybına sebebiyet verebileceği ve böylece otizmle ilişkili olabileceği varsayımı ile otizmlı çocuğu olan annelerde baktığımız anti-YO antikör düzeyleri kontrol grubuna göre farklılık göstermemiştir. Ali ve arkadaşlarının çalışmasında ise vaka grubunda kontrol grubuna kıyasla anti-Yo antikör düzeyleri daha yüksek saptanmıştır (30). Bu durum çalışmamızın katılımcı sayısının azlığından kaynaklanıyor olabilir.

Serebellumdaki ek bulgular, fastigeal, globose ve emboliform çekirdekler de dahil olmak üzere derin serebellar çekirdeklerin anormalliklerini içermektedir. Yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş kontrollere kıyasla, bu nükleer grupların nöronları yaşa göre boyut farklılıkları göstermektedir. 21 yaşın üzerindeki tüm otizmlı vakalarda, sayı olarak önemli ölçüde azalmış küçük soluk nöronlar görülürken, 5 ila 13 yaş arasındaki tüm çocuk vakalarda, aynı nükleer gruptaki nöronlar, olağandışı büyüklükte ve sayılarda bol miktarda gözlenmiş (69). Septumdaki ve inferior olivary nükleuslardaki Broka Diyagonal Bandının çekirdeğindeki benzer bulgularla birlikte, yaşamın erken dönemlerinde beyin hacminin aşırı büyümesi (64,245) ve yaşla birlikte kortikal kalınlıkta azalma (246) gibi bulgular birleştirildiğinde, otizmin altta yatan nöropatolojisinin devam eden postnatal süreçle de ilişkili olabileceği düşünülmektedir (245).

Prenatal maternal stresin OSB riskini artırabileceğini gösteren kanıtlar vardır (9). Nitekim, doğal afetler (10), istismar (11), birinci derece akraba ölümü (12) gibi gebeliklerinde büyük stresli olaylara maruz kalan annelerin çocuklarında artmış OSB oranları görülmüştür. Ayrıca, OSB'li çocukların annelerinin, gebelikleri sırasında (örneğin, aile çatışması, finansal problemler, hastalık) tipik olarak gelişmekte olan çocuklardan veya bilinen bir genetik etiolojinin gelişimsel yetersizliği olan çocukların annelerinden daha fazla stresli yaşam olayları yaşadığı bildirilmektedir (13,14).

Oksidatif stres, nükleer DNA'nın tekli ve çiftli iplikçik kopuşlarının ortaya çıkmasıyla gerçekleşen belirgin bir genotoksik etki yaratır. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada, infantil otizmlili çocuk ve annelerinde DNA hasarı derecesi değerlendirilmiş ve otistik çocuklarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (3). İlginç olarak, Comet Analizi yöntemi ile bu parametreler (DNA Comet Tail Moment (kuyruk uzunluğu) değerlendirilmiş ve otizmlili çocuğu olan sağlıklı annelerde de daha yüksek olarak ölçülmüş ve otistik çocuklar grubundaki değerlerden farklı olmadığı gözlenmiş. Tüm bunlar doğrultusunda, otistik çocukların mental olarak sağlıklı annelerinin gebelik sırasında çevresel "maternal etki" yoluyla fetustaki patolojik sürecin gelişimini belirleyebilen bazı genotoksik faktörlere sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Tüm bu bilgiler doğrultusunda, otizmde oksidatif bir sürecin etkili olabildiği ve prenatal stresin çocukta çeşitli psikiyatrik bozukluklara neden olabildiğine benzer şekilde, annedeki muhtemel bir oksidatif sürecin çocuğunda otizme neden olabileceği varsayımı ile vaka ve kontrol grupları arasında bir oksidatif DNA hasarı belirteci olan 8-OHdG düzeylerini karşılaştırdık. Ancak daha önce bahsi geçen çalışmadan (3) farklı olarak iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptamadık. Ali ve arkadaşlarının çalışmasıyla (30) uyumlu olarak anti-Hu antikörleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptamasak da, Spearman's rho korelasyon analizinde vaka grubunda anti-Hu ile 8-OHdG düzeyleri arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmıştır. Bu bulgu Anti- Hu antikörlerinin, nöronlarda nükleer protein antijenlerini hedef alması (27) ile uyumlu görülmektedir. Çalışmamızda vaka grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı 8OHdG yüksekliği saptanmamış olsa da, hem katılımcı sayısının az olması hem de 3-12 yaş otizmlili çocuk annelerinin çalışmaya alınması (gebelik dönemini kapsamaması) dolayısıyla gebelik dönemini kapsayan daha büyük örneklemlili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın güçlü yönleri; kontrol grubunun olmasıdır.

Çalışmamızın Kısıtlılıkları: Çalışmamız kesitsel nitelikte bir çalışma olup polikliniğimize başvuruda bulunan OSB tanılı hastaların annelerinin çalışmaya alınmış olması bir kısıtlılıktır. Bu nedenle daha geniş bir popülasyon üzerinde analizlerin tekrarlanması önerilir. Örneklem büyüklüğünün az sayıda olması da çalışmamızın bir diğer kısıtlılığıdır. Çalışmamızda anti-YO, anti-Hu, anti-amfifizin antikörleri ve 8-OHdG düzeyleri ve anti-Ri antikör pozitifliği olguların serum seviyelerinden bakılarak incelenmiştir. Bu parametrelere gebelik döneminde bakılması daha değerli olacaktır.

5.1. Sonuç

Günümüzde otizm tedavisinde eğitim dışında medikal anlamda etkin bir tedavi bulunmamaktadır. Maternal faktörlerin plasenta yoluyla fetüsü etkilediği bilinmektedir. Otizmin nörogelişimsel bir süreç göstermesi nedeniyle erken tanı ve tedavi olanaklarının oluşması için otizmle ilişkili maternal faktörlerin bilinmesi gerekmektedir. Bu faktörlerin tanınması ve gebelik öncesi bu risk etmenlerinin saptanması, hem sıklığı artan bir hastalık olan otizmin erken saptanması hem de koruyucu hekimlik açısından önem arz etmektedir.

Bu çalışmanın sonuçları, otizmlili çocuğı olan annelerin serumlarında benzer yaşta sağlıklı çocuğı olan sağlıklı annelerinkine göre daha yüksek anti- amfifizin antikorları düzeyi ile anti-Ri antikor pozitifliği olduğunu, ayrıca artmış anti-amfifizin antikor düzeylerinin yüksek özgüllük ve duyarlılığı ile gebe annelerin çocuklarında OSB gelişim riskini değerlendirmede önemli olabileceğini göstermektedir. Biz bu verileri en erken gebelikten 3 yıl sonrasını araştırdığımız için gebelik döneminde bu alanda yapılmış ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Fifth Edition (DSM-5): American Psychiatric Publishing, Washington DC, London England, 2013.
2. Mukaddes NM. Otizm Spektrum Bozuklukları İstanbul; Nobel Matbacılık. 2013; 11-2.
3. Porokhovnik, L. N., et al. "The maternal effect in infantile autism: Elevated DNA damage degree in patients and their mothers." *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry* 2016; 10(4): 322-6.
4. Frustaci, Alessandra, et al. "Oxidative stress-related biomarkers in autism: systematic review and meta-analyses." *Free Radical Biology and Medicine* 2012; 52(10): 2128-2141.
5. Chauhan A Chauhan V Brown WT Cohen I Oxidative stress in autism: increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin—the antioxidant proteins. *Life Sciences* 2004; 75: 2539–49.
6. Rose S, Frye RE, Slattery J, Wynne R, Tippett M, Pavliv O, et al. Oxidative stress induces mitochondrial dysfunction in a subset of autism lymphoblastoid cell lines in a well-matched case control cohort. *PLoS One*. 2014; 9: e85436.
7. Bronson, S.L., & Bale, T.L. The placenta as a mediator of stress effects on neurodevelopmental reprogramming. *Neuropsychopharmacology*, 2016; 41: 207–18.
8. Talge, N.M., Neal, C., & Glover, V., & the Early Stress, Translational Research and Prevention Science Network; Fetal and Neonatal Experience on Child and Adolescent Mental Health. Antenatal maternal stress and long-term effects on child neurodevelopment: How and why?. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 2007; 48: 245–61.
9. Kinney, D.K., Munir, K.M., Crowley, D.J., & Miller, A.M. Prenatal stress and risk for autism. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2008; 32: 1519–32.
10. Kinney, D.K., Miller, A.M., Crowley, D.J., Huang, E., & Gerber, E. Autism prevalence following prenatal exposure to hurricanes and tropical storms in Louisiana. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2008; 38: 481–8.
11. Roberts, A.L., Lyall, K., Rich-Edwards, J.W., Ascherio, A., & Weisskopf, M.G. Maternal exposure to intimate partner abuse before birth is associated with autism spectrum disorder in offspring. *Autism*, 2016; 20: 26–36.

12. Class, Q.A., Abel, K.M., Khashan, A.S., Rickert, M.E., Dalman, C., Larsson, H., D'onofrio, B.M. Offspring psychopathology following preconception, prenatal and postnatal maternal bereavement stress. *Psychological Medicine*, 2014; 44: 71–84.
13. Beversdorf, David Q., et al. Timing of prenatal stressors and autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2005; 35: 471–8.
14. Ward, A.J. A comparison and analysis of the presence of family problems during pregnancy of mothers of “autistic” children and mothers of typically developing children. *Child Psychiatry and Human Development*, 1990; 20: 279–88.
15. Dasdemir, S., et al. "DNA repair gene XPD Asp312Asn and XRCC4 G-1394T polymorphisms and the risk of autism spectrum disorder." *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, 2015; 63(3): 46-50.
16. Tang, Guomei, et al. "Mitochondrial abnormalities in temporal lobe of autistic brain." *Neurobiology of disease*, 2013; 54: 349-61.
17. Melnyk, Stepan, et al. "Metabolic imbalance associated with methylation dysregulation and oxidative damage in children with autism." *Journal of autism and developmental disorders*, 2012; 42(3): 367-77.
18. Sajdel-Sulkowska, Elizabeth M., Ming Xu, and Noriyuki Koibuchi. "Increase in cerebellar neurotrophin-3 and oxidative stress markers in autism." *The Cerebellum*, 2009; 8(3): 366-72.
19. Cohly, Hari Har Parshad, and Asit Panja. "Immunological findings in autism." *International review of neurobiology* 2005; 71: 317-41.
20. Cabanlit, Maricel, et al. "Brain-Specific Autoantibodies in the Plasma of Subjects with Autistic Spectrum Disorder." *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007; 1107(1): 92-103.
21. Silva, Susana C., et al. "Autoantibody repertoires to brain tissue in autism nuclear families." *Journal of neuroimmunology* 2004; 152(1):176-82.
22. Singer, Harvey S., et al. "Antibrain antibodies in children with autism and their unaffected siblings." *Journal of neuroimmunology* 2006; 178(1): 149-55.
23. Singh, Vijendra K., et al. "Circulating autoantibodies to neuronal and glial filament proteins in autism." *Pediatric neurology* 1997; 17(1): 88-90.
24. Singh, Vijendra K., et al. "Antibodies to myelin basic protein in children with autistic behavior." *Brain, behavior, and immunity* 1993; 7(1): 97-103.
25. Singer, Harvey S., et al. "Antibodies against fetal brain in sera of mothers with autistic children." *Journal of neuroimmunology* 2008; 194(1): 165-72.

26. Karim AR, Hughes RG, El-Lahawi M, Bradwell AR. Paraneoplastic neurological antibodies. In: Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL, editors. Autoantibodies. 2nd ed. California: Elsevier; 2007; 627-52.
27. Lancaster E, Dalmau J. Neuronal autoantigens: pathogenesis, associated disorders and antibody testing. *Nat Rev Neurol* 2012; 8: 380-90.
28. Greenwood DL, Gitlits VM, Alderuccio F, Sentry JW, Toh BH. Autoantibodies in neuropsychiatric lupus. *Autoimmunity* 2002; 35: 79-86.
29. Morer A, Lazaro L, Sabater L, Massana J, Castro J, Graus F. Antineuronal antibodies in a group of children with obsessive-compulsive disorder and Tourette syndrome. *J Psychiatr Res* 2008; 42: 64-8.
30. Ali, Naael H., et al. "Maternal antineuronal antibodies and risk of childhood autism spectrum disorders: A case-control study." *Journal of the Chinese Medical Association* 2016; 79(12): 661-4.
31. Rutter M: Diagnosis and definition of childhood autism. *J Autism Child Shizpohr* 1978; 8(2): 139-61.
32. Kanner L Autistic disturbance of affective contact. *Nervous Child* 1943; 2: 217-50.
33. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* Washington, DC: APA Press. 1980.
34. Leeanne Green: *Autism and Pervasive Developmental Disorders, Neuropsychiatry* 2. edition 2003;503-36.
35. Swedo SE, Baird G, Cook EH Jr ve ark Commentary from the DSM-5 Workgroup on Neurodevelopmental Disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. Apr; 2012; 51(4): 347-9.
36. Centers for Disease Control and Prevention Literature: *MMWR Surveill Summ* 2014; 63(2): 1-21.
37. Kim YS, Leventhal BL, Koh YJ ve ark. Prevalance of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry* 2011; 168(9): 904-12.
38. Brugha TS, Mc Manus S, Bankart J et al Epidemiology of autism spectrum disorders in adults in the community in England. *Archives of General Psychiatry*, 2011; 68: 459-65.
39. Fombonne E. Epidemiological surveys of autism and other pervasive developmental disorders: an update. *J Autism Dev Disord*. 2003 Aug; 33(4):365-82.
40. Fuentes, J, M Bakare, K Munir, P Aguayo, N Gaddour, O Oner, and M Mercandante, *Autism Spectrum Disorders*, in *IACAPAP Textbook of Child and Adolescent Mental*

Health, J Rey, Editor International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions: Geneva 2012.

41. Dramatic Increase in Autism Prevalence Parallels Explosion of Research Into Its Biology and Causes Geraldine. Dawson, PhD Arch Gen Psychiatry 2012; 1-2.
42. Muhle R, Trentacoste SV, Rapin I The genetics of autism. Pediatrics, 2004; 113:472-86.
43. Sadock BJ, Sadock VA Kaplan & Sadock's Concise Textbook of Child and Adolescent Psychiatry. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott William & Wilkins, 2008; 65-74.
44. Freitag CM The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. Molecular Psychiatry, 2007; 12: 2-22.
45. Gillberg C, Coleman M The biology of autistic sendrome, Mac Keith Press, London 2000; 3:
46. Rutter M, Silberg J, O'Connor T, Simonof E Genetics and Child Psychiatry: II Empirical research findings. J Child Psychol Pschiatry 1999; 40(1):19-55.
47. Mukaddes NM, Herguner S Autistic disorder and 22q11.2 duplication. World J Biol Psychiatry 2007; 8(2):127-30.
48. Freitag CM, Staal W, Klauck SM et al Genetics of autistic disorders: review and clinical implications European Child & Adolescent Psychiatry, 2010; 19: 169-78.
49. Smalley SL Genetic influences in autism. Psychiatric Clinics of North America, 1991; 14: 125-39.
50. Maestrini E, Lai C, Marlow A, et al. Serotonin transporter (5-HTT) and gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta3 (GABRB3) gene polymorphisms are not associated with autism in the IMGSA families. The International Molecular Genetic Study of Autism Consortium. Am J Med Genet 1999; 88: 492-6.
51. Persico AM, Militerni R, Bravaccio C, et al. Lack of association between serotonin transporter gene promoter variants and autistic disorder in two ethnically distinct samples. Am J Med Genet 2000; 96: 123-7.
52. Beyer KS, Blasi F, Bacchelli, Klauch SM, Maestrini R, Poustka A. Mutation analysis of the coding sequence of the MECP2 gene in infantil autism. Hum Genet 2002; 111: 305-9.
53. Yonan AL, Alarcon M, Cheng R, Magnusson PK, Spence SJ, Palmer AA, Grunn A, Juo SH, Terwilliger JD, Liu J, Cantor RM, Geschwind DH, Gilliam TC. A genomewide screen of 345 families for autism-susceptibility loci. Am J Hum Genet 2003; 73: 886-97.
54. Behiye A ve ark Otistik bozuklukta doku uyumu antijenleri (HLA) dağılımı ile klinik bulguların ilişkisinin araştırılması. İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 65(1): 18-23.

55. Behiye A ve ark Otizm ile ilişkili HLA allellerinin PCR-SSP yöntem ile araştırılması. İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 65(2): 110-14.
56. Hedges, DJ, KL Hamilton-Nelson, SJ Sacharow, L Nations, GW Beecham, ZM Kozhekbaeva, et all, Evidence of novel fine-scale structural variation at autism spectrum disorder candidate loci. Mol Autism, 2012; 3: 2-3.
57. Melda Akçakın: Baska Türü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk. Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Temel Kitabı HYB 2008: 256-63.
58. Deykin EY, MacMahon B. Pregnancy, delivery, and neonatal complications among autistic children. Am J Dis Child 1980; 134: 860-4.
59. Burd L, Severud R, Kerbeshian J, et al. Prenatal and perinatal risk factors for autism. J Perinat Med 1999; 27: 441-50.
60. Deykin EY, MacMahon B. Viral exposure and autism. Am JEpidemiol 1979; 109: 628-38.
61. Bernard S, Enayati A, Redwood L, et al. Autism: A novel form of mercury poisoning. Med Hypotheses 2001; 56: 462-71.
62. Picciotto IH Enviromental risk factors in autism: results from large-scale epidemiological studies. Autism Spectrum Disorders (ed: Amaral, Dawson, Geschwind). Oxford University Press. 2011;
63. Courchesne E, Redcay E, Kennedy DP The autistic brain: birth through adulthood. Current Opinion in Neurology, 2004; 17: 489-96.
64. Hazlett HC, Poe M, Gerig G et al Magnetic resonance imaging and head circumference study of brain size in autism: birth through age 2 years Archives of General Psychiatry, 2005; 62: 1366-76.
65. Lainhart JE Advances in autism neuro-imaging research for the clinician and geneticist. American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics, 2006; 142: 33-9.
66. Bailey A, Luthert P, Dean A ve ark. A clinicopathological study of autism. Brain. 1998; 121: 889-905.
67. Minshew NJ, Williams DL The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization. Arch Neurol. 2007; 64(7): 945-50.
68. Lombardo M, Baron-Cohen S, Belmonte M et al Neural endophenotypes for social behaviour in autism spectrum conditions. In J Decety, J Cacioppo (eds), The Handbook of Social Neuroscience. Oxford: Oxford University Press. 2011.

69. Kemper TI, Bauman M Neuropathology of infantile autism. *J Neuropathol Exper Neurol*, 1998; 57: 645-52.
70. Schuman CM, Noctor SC, Amaral D Neuropathology of Autism Spectrum Disorders: Postmortem Studies. *Autism Spectrum Disorders* (ed: Amaral, Dawson, Geschwind) Oxford University Press 2011;
71. Casanova MF, van Kooten IA, Switala AE ve ark. Minicolumnar abnormalities in autism. *Acta Neuropathol*. 2006; 112(3): 287-303.
72. Geschwind DH, Levitt P Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Curr Opin Neurobiol*. 2007; 17(1):103-11.
73. Kana RK, Libero LE, Moore MS Disrupted cortical connectivity theory as an explanatory model for autism spectrum disorders. *Phys Life Rev*. 2011; 8(4): 410-37.
74. Minshew N Indices of neural function in autism, clinical and biological implications. *Pediatrics*, 1991; 87: 774-80.
75. Allely CS, Gillberg C, Wilson P Neurobiological abnormalities in the first few years of life in individuals later diagnosed with autism spectrum disorders: a review of recent data *Behav Neurol*. 2014.
76. Volkmar FR, Lord C, Bailey A, Schultz RT, Klin A. Autism and pervasive developmental disorders. *J Child Psychol Psychiatry* 2004; 45: 135–70.
77. Volkmar FR, Lord C, Klin A, Schultz R, Cook EH. Autism and the Pervasive Developmental Disorders. In: A. Martin and F. Volkmar (eds): *Lewis's child and adolescent psychiatry: A comprehensive textbook*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 384–400.
78. Lord, C and A Bailey, Autism spectrum disorders, in *Child and Adolescent Psychiatry*, 4th edn, M Rutter and E Taylor, Editors. Blackwell Publishing: Oxford. 2002; 636-63.
79. Belmonte M, Carper R: Neuroanatomical and neurophysiological clues to the nature of autism: *Neuroimaging in Child Neuropsychiatric Disorders*: Bernard Garreau (ed). 1988; 157-71.
80. Fleischer L: Yağmur Adam. (S. Gürtunca, Çev.). İstanbul: Real Yayınları 1993; sayfa no
81. Ghaziuddin M Mental Health Aspects of Autism and Asperger Syndrome *Brain Dev* 2005; 3: 249-60.
82. Malhotra S, Gupta N. Childhood disintegrative disorder: Re-examination of the current concept. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2002; 11: 108–14.
83. Sogut, S, SS Zoroglu, H Ozyurt, HR Yilmaz, F Ozugurlu, E Sivasli, O Yetkin, M Yanik, H Tutkun, HA Savas, M Tarakcioglu, and O Akyol, Changes in nitric oxide levels and

- antioxidant enzyme activities may have a role in the pathophysiological mechanisms involved in autism. *Clin Chim Acta*, 2003; 331(1-2): 111-7.
84. Zoroglu, SS, M Yurekli, I Meram, S Sogut, H Tutkun, O Yetkin, E Sivasli, HA Savas, M Yanik, H Herken, and O Akyol, Pathophysiological role of nitric oxide and adrenomedullin in autism. *Cell Biochem Funct*, 2003; 21(1): 55-60.
 85. Sudhir Gupta: Immunological Treatments for Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 2000; 30(5): 475-79.
 86. Careaga, M., Van de Water, J., & Ashwood, P. Immune dysfunction in autism: A pathway to treatment. *Neurotherapeutics*, 2010; 7(3): 283–92.
 87. Goines, P. E., & Ashwood, P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): Possible role of the environment. *Neurotoxicology and Teratology*, 2013; 36: 67–81.
 88. Ahmad, S. F., Nadeem, A., Ansari, M. A., Bakheet, S. A., Attia, S. M., Zoheir, K. M., et al. Imbalance between the anti- and pro- inflammatory milieu in blood leukocytes of autistic children. *Molecular Immunology*, 2017; 82: 57–65.
 89. Ahmad, S. F., Zoheir, K. M., Ansari, M. A., Nadeem, A., Bakheet, S. A., Al-Ayadhi, L. Y., et al. Dysregulation of Th1, Th2, Th17, and T regulatory cell-related transcription factor signaling in children with autism. *Molecular Neurobiology*, 2017; 54(6): 4390–400.
 90. G. Trottier, L. Srivastava, C.D. Walker Etiology of infantile autism: a review of recent advances in genetic and neurobiological research. *J. Psychiatry Neurosci*, 1999; 24(2): 103-115.
 91. Ashwood P, Van de Water J: Is autism an autoimmune disease? *Autoimmunity Reviews* 2004; 3: 557-62.
 92. Sadock BJ, Sadock VA Kaplan & Sadock's Concise Textbook of Child and Adolescent Psychiatry. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott William & Wilkins, 2016; 1154-5.
 93. Malek-Ahmadi P: Cytokines and etiopathogenesis of pervasive developmental disorders. *Medical Hypotheses* 2001; 56(3):321-4.
 94. Stubbs G: Interferonemia and autism. *J Autism Dev Disord* 1995; 25: 71-3.
 95. Rapin I. Autism. *N Engl J Med* 1997; 337: 97-8.
 96. Landa R, Garrett-Mayer E. Development in infants with autism spectrum disorders: a prospective study. *J Child Psychol Psychiatry* 2006; 47: 629-30.

97. Chawarska K, Klin A, Paul R, Volkmar F. Autism spectrum disorder in the second year: stability and change in syndrome expression. *J Child Psychol Psychiatry* 2007; 48: 128-9.
98. Landa RJ, Holman KC, Garrett-Mayer E. Social and communication development in toddlers with early and later diagnosis of autism spectrum disorders. *Arch Gen Psychiatry* 2007; 64: 853-4.
99. Landa RJ, Gross AL, Stuart EA, Faherty A. Developmental trajectories in children with and without autism spectrum disorders: the first 3 years. *Child Dev* 2013; 84: 429-30.
100. Mitchell S, Brian J, Zwaigenbaum L, et al. Early language and communication development of infants later diagnosed with autism spectrum disorder. *J Dev Behav Pediatr* 2006; 27: 69-70.
101. Palomo R, Belinchón M, Ozonoff S. Autism and family home movies: a comprehensive review. *J Dev Behav Pediatr* 2006; 27: 59-60.
102. Ozonoff S, Iosif AM, Bagnio F, et al. A prospective study of the emergence of early behavioral signs of autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010; 49: 256-7.
103. McConachie H, Le Couteur A, Honey E. Can a diagnosis of Asperger syndrome be made in very young children with suspected autism spectrum disorder? *J Autism Dev Disord* 2005; 35: 167-8.
104. Ozonoff S, Iosif AM, Young GS, et al. Onset patterns in autism: correspondence between home video and parent report. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2011; 50: 796-7.
105. Johnson CP, Myers SM, American Academy of Pediatrics Council on Children With Disabilities. Identification and evaluation of children with autism spectrum disorders. *Pediatrics* 2007; 120:1183-4.
106. Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2000 Principal Investigators, Centers for Disease Control and Prevention. Prevalence of autism spectrum disorders-- autism and developmental disabilities monitoring network, six sites, United States, 2000. *MMWR Surveill Summ* 2007; 56: 1-2.
107. Tuchman RF, Rapin I, Shinnar S. Autistic and dysphasic children. I: Clinical characteristics. *Pediatrics* 1991; 88: 1211-2.
108. Tuchman RF, Rapin I. Regression in pervasive developmental disorders: seizures and epileptiform electroencephalogram correlates. *Pediatrics* 1997; 99: 560-1.
109. Werner E, Dawson G. Validation of the phenomenon of autistic regression using home videotapes. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62: 889-90.
110. Turner LM, Stone WL, Pozdol SL, Coonrod EE. Follow-up of children with autism spectrum disorders from age 2 to age 9. *Autism* 2006; 10: 243-4.

111. Richler J, Luyster R, Risi S, et al. Is there a 'regressive phenotype' of Autism Spectrum Disorder associated with the measles-mumps-rubella vaccine? A CPEA Study. *J Autism Dev Disord* 2006; 36: 299-300.
112. Volkmar FR, Pauls D. Autism. *Lancet* 2003; 362: 1133-41.
113. De Giacomo A, Fombonne E. Parental recognition of developmental abnormalities in autism. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 1998; 7: 131-2.
114. Volkmar F, Wiesner L. Autism and related disorders. In: *Developmental-Behavioral Pediatrics*, Carey WB, Crocker AC, Coleman WL, et al (Eds), Saunders Elsevier, Philadelphia 2009; 4: 675-6.
115. Teplin SW. Autism and related disorders. In: *Developmental-Behavioral Pediatrics*, 3rd ed, Levine MD, Carey WB, Crocker AC (Eds), WB Saunders, Philadelphia 1999; 589-90.
116. Mandell DS, Novak MM, Zubritsky CD. Factors associated with age of diagnosis among children with autism spectrum disorders. *Pediatrics* 2005; 116: 1480-1.
117. Ming X, Brimacombe M, Wagner GC. Prevalence of motor impairment in autism spectrum disorders. *Brain Dev* 2007; 29: 565-6.
118. Barrow WJ, Jaworski M, Accardo PJ. Persistent toe walking in autism. *J Child Neurol* 2011; 26: 619-20.
119. Stone WL, Lemanek KL, Fishel PT, et al. Play and imitation skills in the diagnosis of autism in young children. *Pediatrics* 1990; 86: 267-8.
120. Filipek PA, Accardo PJ, Ashwal S, et al. Practice parameter: screening and diagnosis of autism: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Child Neurology Society. *Neurology* 2000; 55: 468-9.
121. Kientz MA, Dunn W. A comparison of the performance of children with and without autism on the Sensory Profile. *Am J Occup Ther* 1997; 51: 530-1.
122. Korkmaz B: Otistik Bozukluk. *Pediatric Davranıs Nörolojisi*. Emek: İstanbul. 2000; 129-64.
123. Yavas Đ: Otistik bozukluk: Temel Psikiyatri, Güleç C, Köroğlu E (eds) Cilt II, Hekimler Yayın Birliği: Ankara. 1998; 1079-98.
124. Tidmarsh L, Volkmar FR: Diagnosis and epidemiology of autism spectrum disorders. *Can J Psychiatry* 2003; 48: 517-24.
125. Cohen S: An assesment of violence in a young man with Asperger's syndrome. *J Child Psychol Psychiat* 1988; 29: 351-60.
126. Akçakın M: Otizmi olan çocukların izleme çalışmalarını gözden geçirme. *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi* 2000; 7: 189-97.

127. Rapin, I, Autistic children: diagnosis and clinical features. *Pediatrics*, 1991. 87(5 Pt 2): 751-60.
128. E. Granot, R. Kohen, Oxidative stress in childhood - in health and disease states, *Clin. Nutr.* 2004; 23: 3–11.
129. S.J. Stohs, The role of free radicals in toxicity and disease, *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol* 1995; 6: 205–28.
130. I. Fridovich, Biological effects of the superoxide radical, *Arch. Biochem. Biophys* 1986; 247: 1–11.
131. J.M. McCord, E.D. Day, Superoxide dependent production of hydroxyl radical catalyzed by iron-EDTA complex, *FEBS Lett.* 1978; 86: 139–42.
132. E.W. Kellogg, I. Fridovich, Superoxide, hydrogen peroxide and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system, *J. Biol. Chem.* 1975; 250: 8812–7.
133. J.M.C. Gutteridge, The protective action of superoxide dismutase on metal-ion catalysed peroxidation of phospholipids, *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1977; 77: 379–86.
134. B. Chance, Catalases and peroxidases, part II. Special methods, *Methods Biochem. Anal.* 1954;1: 408–24.
135. K.R. Maddipati, L.J. Marnett, Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase, *J. Biol. Chem.* 1987; 262: 17398–403.
136. G. Vendemiale, I. Grattagliano, E. Altomare, An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease, *J. Clin. Lab. Res.* 1999; 29: 49–55.
137. B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease and an overview, *Brain Inj.* 1992; 6: 203–12.
138. M. Erden-Inal, E. Sunal, G. Kanbak, Age-related changes in the glutathione redox system, *Cell. Biochem. Funct.* 2002; 20: 61–6.
139. J.M.C. Gutteridge, R. Richmond, B. Halliwell, Oxygen free radicals and lipid peroxidation. Inhibition by the protein ceruloplasmin, *FEBS Lett.* 1980; 112: 269–72.
140. D.A. Loeffler, J.R. Connor, P.L. Juneau, B.O.S. Snyder, L. Kanaley, A.J. DeMaggio, H. Nguyen, C.M. Brickman, P.A. Lewitt, Transferrin and iron in normal, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease brain regions, *J. Neurochem.* 1995; 65: 710–24.
141. K. Kannan, S.K. Jain, Oxidative stress and apoptosis, *Pathophysiology* 2000; 7: 153–63.
142. B.H. Juurlink, P.G. Paterson, Review of oxidative stress in brain and spinal cord injury: suggestions for pharmacological and nutritional management strategies, *J. Spinal Cord Med.* 1998; 21: 309–34.

- 143.R.G. Shulman, D.L. Rothman, K.L. Behar, F. Hyder, Energetic basis of brain activity: implications for neuroimaging, *Trends Neurosci.* 2004; 27: 489–95.
- 144.S.W. Perry, J.P. Norman, A. Litzburg, H.A. Gelbard, Antioxidants are required during the early critical period, but not later, for neuronal survival, *J. Neurosci. Res.* 2004; 78: 485–92.
- 145.H. Ono, A. Sakamoto, N. Sakura, Plasma total glutathione concentrations in healthy pediatric and adult subjects, *Clin. Chim. Acta* 2001; 312: 227–9.
- 146.Chauhan A, Chauhan V. Oxidative stress in autism. *Pathophysiology* 2006; 13: 171–81.
- 147.O. Yorbik, A. Sayal, C. Akay, D.I. Akbiyik, T. Sohmen, Investigation of antioxidant enzymes in children with autistic disorder, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2002; 67: 341–3.
- 148.S.P. Pasca, B. Nemes, L. Vlase, C.E. Gagy, E. Dronca, A.C. Miu, M. Dronca, High levels of homocysteine and low serum paraoxonase 1 arylesterase activity in children with autism, *Life Sci.* 2006; 78: 2244–8.
- 149.S.J. James, P. Cutler, S. Melnyk, S. Jernigan, L. Janak, D.W. Gaylor, J.A. Neubrandner, Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism, *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 80: 1611–7.
- 150.S.S. Zoroglu, F. Armutcu, S. Ozen, A. Gurel, E. Sivasli, O. Yetkin, I. Meram, Increased oxidative stress and altered activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes in autism, *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2004; 254: 143–7.
- 151.P. Arnaud, E. Gianazza, L. Miribel, Ceruloplasmin, *Methods Enzymol* 1988; 163: 441–52.
- 152.W.R. McGinnis, Oxidative stress in autism, *Altern. Ther. Health Med.* 2004; 10: 22–36.
- 153.B. Jones, F. Rose, N. Tudball, Lipid peroxidation and homocysteine induced toxicity, *Atherosclerosis* 1994; 105: 165–70.
- 154.G.R. Upchurch, G.N. Welch, A.J. Fabian, J.E. Freedman, J.L. Johnson, J.F. Keaney Jr., J. Loscalzo, Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase, *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 17012–7.
- 155.G. Lonart, J. Wang, K.M. Johnson, Nitric oxide induces neurotransmitter release from hippocampal slices, *Eur. J. Pharmacol.* 1992; 220: 271–2.
- 156.S. Hindley, B.H.J. Juurlink, J.W. Gysbers, P.J. Middlemiss, M.A.R. Herman, M.P. Rathbone, Nitric oxide donors enhance neurotrophin-induced neurite outgrowth through a cGMP-dependent mechanism, *J. Neurosci. Res.* 1997; 47: 427–39.

- 157.**J.W. Truman, J. De Vente, E.E. Ball, Nitric oxide-sensitive guanylate cyclase activity is associated with the maturational phase of neuronal development in insects, *Development* 1996; 122: 3949–58.
- 158.**Holscher, S.P. Rose, An inhibitor of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick, *Neurosci. Lett.* 1992; 145: 165–7.
- 159.**J.B. Hibbs, R.R. Taintor, Z. Vavrin, E.M. Rachlin, Nitric oxide: a cytotoxin activated macrophage effector molecule, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988; 157: 87–94.
- 160.**J.M. Wong, T.R. Billiar, Regulation and function of inducible nitric oxide synthase during sepsis and acute inflammation, *Adv. Pharmacol.* 1995; 34: 155–70.
- 161.**A.K. Nussler, M. Di Silvio, T.R. Billiar, R.A. Hoffman, D.A. Geller, R. Selby, J. Madariaga, R.L. Simmons, Stimulation of the nitric oxide synthase pathway in human hepatocytes by cytokines and endotoxin, *J. Exp. Med.* 1992; 176: 261–4.
- 162.**T.L. Sweeten, D.J. Posey, S. Shankar, C.J. McDougale, High nitric oxide production in autistic disorder: a possible role for interferongamma, *Biol. Psychiatry* 2004; 55: 434–7.
- 163.**E.K. Perry, M.L. Lee, C.M. Martin-Ruiz, J.A. Court, S.G. Volsen, J. Merrit, E. Folly, P.E. Iversen, M.L. Bauman, R.H. Perry, G.L. Wenk, Cholinergic activity in autism: abnormalities in the cerebral cortex and basal forebrain, *Am. J. Psychiatry* 2001; 158: 1058–66.
- 164.**A.Y. Hardan, B.L. Handen, A retrospective open trial of adjunctive donepezil in children and adolescents with autistic disorder, *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* 2002; 12: 237–41.
- 165.**G.J. Blatt, C.M. Fitzgerald, J.T. Guptill, A.B. Booker, T.L. Kemper, M.L. Bauman, Density and distribution of hippocampal neurotransmitter receptors in autism: an autoradiographic study, *J. Autism Dev. Disord.* 2001; 31: 537–43.
- 166.**J.D. Buxbaum, J.M. Silverman, C.J. Smith, D.A. Greenberg, M. Kilifarski, J. Reichert, E.H. Cook Jr., Y. Fang, C.Y. Song, R. Vitale, Association between a GABRB3 polymorphism and autism, *Mol. Psychiatry* 2002; 7: 311–6.
- 167.**G. Lenaz, The mitochondrial production of reactive oxygen species: mechanisms and implications in human pathology, *IUBMB Life* 2001; 52: 159–64.
- 168.**A.J. Kowaltowski, A.E. Vercesi, Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress, *Free Radic. Biol. Med.* 1999; 26: 463–71.
- 169.**G. Kroemer, B. Dallaporta, M. Resch-Rigon, The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis, *Annu. Rev. Physiol.* 1998; 60: 619–42.
- 170.**J. Lombard, Autism: a mitochondrial disorder? *Med. Hypotheses* 1998; 50: 497–500.

- 171.**D.C. Chugani, B.S. Sundram, M. Behen, M.L. Lee, G.J. Moore, Evidence of altered energy metabolism in autistic children, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 1999; 23: 635–41.
- 172.**N.J. Minshew, G. Goldstein, S.M. Dombrowski, A preliminary ³¹P MRS study of autism: evidence for undersynthesis and increased degradation of brain membranes, *Biol. Psychiatry* 1993; 33: 762–73.
- 173.**P.A. Filipek, J. Juranek, M.T. Nguyen, C. Cummings, J.J. Gargus, Relative carnitine deficiency in autism, *J. Autism Dev. Disord.* 2004; 34: 615–23.
- 174.**M. Coleman, J.P. Blass, Autism and lactic acidosis, *J. Autism Dev. Disord.* 1985; 15: 1–8.
- 175.**P.A. Filipek, J. Juranek, M. Smith, L.Z. Mays, E.R. Ramos, M. Bocian, D. Masser-Frye, T.M. Laulhere, C. Modahl, M.A. Spence, J.J. Gargus, Mitochondrial dysfunction in autistic patients with 15q inverted duplication, *Ann. Neurol.* 2003; 53: 801–4.
- 176.**J.J. Fillano, M.J. Goldenthal, C.H. Rhodes, J. Marin-Garcia, Mitochondrial dysfunction in patients with hypotonia, epilepsy, autism, and developmental delay: HEADD syndrome, *J. Child Neurol.* 2002; 17: 435–9.
- 177.**S.B. Edelson, D.S. Cantor, Autism: xenobiotic influences, *Toxicol. Ind. Health* 1998; 14: 799–811.
- 178.**S.B. Edelson, D.S. Cantor, The neurotoxic etiology of the autistic spectrum disorder: a replicative study, *Toxicol. Ind. Health* 2000; 16: 239–47.
- 179.**I. Hovatta, R.S. Tennant, R. Helton, R.A. Marr, O. Singer, J.M. Redwine, J.A. Ellison, E.E. Schadt, I.M. Verma, D.J. Lockhart, C. Barlow, Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice, *Nature* 2005; 438: 662–6.
- 180.**M.A. Junaid, D. Kowal, M. Barua, P.S. Pullarkat, S. Sklower Brooks, R.K. Pullarkat, Proteomic studies identified a single nucleotide polymorphism in glyoxalase I as autism susceptibility factor, *Am. J. Med. Genet.* 2004; 131: 11–7.
- 181.**I.L. Cohen, X. Liu, C. Schutz, B.N. White, E.C. Jenkins, W.T. Brown, J.J.A. Holden, Association of autism severity with a monoamine oxidase A functional polymorphism, *Clin. Genet.* 2003; 64: 190–7.
- 182.**P.J. Thornalley, Glyoxalase I-structure, function and a critical role in the enzymatic defense against glycation, *Biochem. Soc. Trans.* 2003; 31: 1343–8.
- 183.**C.A. Molloy, M. Keddache, L.J. Martin, Evidence for linkage on 21q and 7q in a subset of autism characterized by development regression, *Mol. Psychiatry* 2005; 10: 741–6.

- 184.**Hagen U. Current aspects on the radiation induced base damage in DNA. *Radiat Environ Biophys.* 1986; 25(4):261-71.
- 185.**Sonntag DM, De Boer J, Medvedovic M, Baxter CS, LeMasters G ve ark. Mutational biases associated with potential iron-binding DNA motifs in rodent lacI and human p53 mutational databases. *Mutat Res.* 2004; 550(1-2):73-88.
- 186.**Cwikel JG, Gidron Y, Quastel M. Low-dose environmental radiation, DNA damage, and cancer: the possible contribution of psychological factors. *Psychol Health Med.* 2010; 15(1):1-16.
- 187.**Robinson L, Gallos ID, Conner SJ, Rajkhowa M, Miller D ve ark. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2012; 27(10):2908-17.
- 188.**Ravanat JL, Cadet J, Douki T. Oxidatively generated DNA lesions as potential biomarkers of in vivo oxidative stress. *Curr Mol Med.* 2012; 12(6):655-71.
- 189.**Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. *Arşiv.* 2002; 11:299-300.
- 190.**Özkan A, Fışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi* 2004; 14: 52-60.
- 191.**Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8- Hydroxy-guanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods in Enzymology*, 1999; 300: 156-66.
- 192.**Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'- deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation. Research*, 1997; 387: 147-63.
- 193.**Jyonouchi H, Sun S, Itokazu N. Innate immunity associated with inflammatory responses and cytokine production against common dietary proteins in patients with autism spectrum disorder. *Neuropsychobiology* 2002;46(2):76–84.
- 194.**Jyonouchi H, Sun S, Le H. Proinflammatory and regulatory cytokine production associated with innate and adaptive immune responses in children with autism spectrum disorders and developmental regression. *J Neuroimmunol* 2001;120(1–2):170–9.
- 195.**Gupta S, Aggarwal S, Rathanravan B, Lee T. Th1- and Th2-like cytokines in CD4+ and CD8+ T cells in autism. *J Neuroimmunol* 1998;85(1):106–9.
- 196.**Croonenberghs J, Bosmans E, Deboutte D, Kenis G, Maes M. Activation of the inflammatory response system in autism. *Neuropsychobiology* 2002;45(1):1–6.

- 197.** Molloy CA, Morrow AL, Meinzen-Derr J, Schleifer K, Dienger K, Manning-Courtney P, et al. Elevated cytokine levels in children with autism spectrum disorder. *J Neuroimmunol* 2006;172(1-2):198-205.
- 198.** Bauer S, Kerr BJ, Patterson PH. The neuropoietic cytokine family in development, plasticity, disease and injury. *Nat Rev Neurosci* 2007;8(3):221-32.
- 199.** Okada K, Hashimoto K, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Tsuchiya KJ, et al. Decreased serum levels of transforming growth factor-beta1 in patients with autism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;31(1):187-90.
- 200.** Ashwood P, Enstrom A, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen RL, Croen LA, et al. Decreased transforming growth factor beta1 in autism: A potential link between immune dysregulation and impairment in clinical behavioral outcomes. *J Neuroimmunol.* 2008; 204(1-2): 149-153.
- 201.** Vargas DL, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman AW, Pardo CA. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Ann Neurol* 2005; 57(1): 67-81.
- 202.** Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu Rev Immunol* 1998;16:137-61.
- 203.** Gomes FC, Sousa Vde O, Romao L. Emerging roles for TGF-beta1 in nervous system development. *Int J Dev Neurosci* 2005;23(5):413-24.
- 204.** Grigorenko EL, Han SS, Yrigollen CM, Leng L, Mizue Y, Anderson GM, et al. Macrophage migration inhibitory factor and autism spectrum disorders. *Pediatrics* 2008;122(2):438-45.
- 205.** Bacher M, Meinhardt A, Lan HY, Dhabhar FS, Mu W, Metz CN, et al. MIF expression in the rat brain: implications for neuronal function. *Mol Med* 1998;4(4):217-30.
- 206.** Fingerle-Rowson GR, Bucala R. Neuroendocrine properties of macrophage migration inhibitory factor (MIF). *Immunol Cell Biol* 2001;79(4):368-75.
- 207.** Ashwood P, Kwong C, Hansen R, Hertz-Picciotto I, Croen L, Krakowiak P, et al. Brief report: plasma leptin levels are elevated in autism: association with early onset phenotype? *J Autism Dev Disord* 2008;38(1):169-75.
- 208.** Sanna V, Di Giacomo A, La Cava A, Lechler RI, Fontana S, Zappacosta S, et al. Leptin surge precedes onset of autoimmune encephalomyelitis and correlates with development of pathogenic T cell responses. *J Clin Invest* 2003;111(2):241-50.
- 209.** Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the Mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372(6505):425-32.

- 210.**Banks WA. Leptin transport across the blood-brain barrier: implications for the cause and treatment of obesity. *Curr Pharm Des* 2001;7(2):125–33.
- 211.**Heuer L, Ashwood Paul, Schauer Joseph, Goines Paula, Krakowiak Paula, Hertz-Picciotto Irva, Hansen Robin, Croen Lisa A, Pessah Isaac N, Van de Water Judy. Reduced Levels of Immunoglobulin in Children With Autism Correlates With Behavioral Symptoms. *Autism Research* 2008;1(5):275–83.
- 212.**Enstrom A, Krakowiak P, Onore C, Pessah IN, Hertz-Picciotto I, Hansen RL, et al. Increased IgG4 levels in children with autism disorder *Brain Behav Immun* 2008; 23(3): 389-395.
- 213.**Perricone R, Perricone C, De Carolis C, Shoenfeld Y. NK cells in autoimmunity: a two-edged weapon of the immune system. *Autoimmun Rev* 2008;7(5):384–90.
- 214.**Gregg JP, Lit L, Baron CA, Hertz-Picciotto I, Walker W, Davis RA, et al. Gene expression changes in children with autism. *Genomics* 2008;91(1):22–9.
- 215.**Vojdani A, Mumper E, Granpeesheh D, Mielke L, Traver D, Bock K, et al. Low natural killer cell cytotoxic activity in autism: The role of glutathione, IL-2 and IL-15. *J Neuroimmunol* 2008;205(1–2):148–54.
- 216.**Enstrom AM, Lit L, Onore CE, Gregg JP, Hansen R, Pessah IN, et al. Altered gene expression and function of peripheral blood natural killer cells in children with autism. *Brain Behav Immun* 2008; 23(1): 124-133.
- 217.**Czlonkowska A, Ciesielska A, Gromadzka G, Kurkowska-Jastrzebska I. Estrogen and cytokines production - the possible cause of gender differences in neurological diseases. *Curr Pharm Des* 2005; 11(8): 1017–30.
- 218.**Lambertsen KL, Gregersen R, Meldgaard M, Clausen BH, Heibol EK, Ladeby R, et al. A role for interferon-gamma in focal cerebral ischemia in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004; 63(9): 942–55.
- 219.**Gilmore JH, Jarskog LF, Vadlamudi S. Maternal poly I:C exposure during pregnancy regulates TNF alpha, BDNF, and NGF expression in neonatal brain and the maternal-fetal unit of the rat. *J Neuroimmunol* 2005;159(1–2):106–12.
- 220.**Enstrom AM, Onore CE, Van de Water JA, Ashwood P. Differential monocyte responses to TLR ligands in children with autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun* 2009; 24(1): 64-71.
- 221.**Pardo CA, Vargas DL, Zimmerman AW. Immunity, neuroglia and neuroinflammation in autism. *Int Rev Psychiatry* 2005;17(6):485–95.

222. Li X, Chauhan A, Sheikh AM, Patil S, Chauhan V, Li XM, et al. Elevated immune response in the brain of autistic patients. *J Neuroimmunol* 2009;207(1–2):111–6.
223. Enstrom AM, Van de Water JA, Ashwood P. Autoimmunity in autism. *Curr Opin Investig Drugs* 2009;10(5):463–73.
224. Wills S, Cabanlit M, Bennett J, Ashwood P, Amaral DG, Van de Water J. Detection of autoantibodies to neural cells of the cerebellum in the plasma of subjects with autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun.* 2008; 23(1): 64-74.
225. Colasanti T, Delunardo F, Margutti P, Vacirca D, Piro E, Siracusano A, et al. Autoantibodies involved in neuropsychiatric manifestations associated with systemic lupus erythematosus. *J Neuroimmunol* 2009; 212(1–2): 3–9.
226. Mostafa GA, Kitchener N. Serum anti-nuclear antibodies as a marker of autoimmunity in Egyptian autistic children. *Pediatr Neurol* 2009; 40(2): 107–12.
227. Diamond B, Kowal C, Huerta PT, Aranow C, Mackay M, DeGiorgio LA, et al. Immunity and acquired alterations in cognition and emotion: lessons from SLE. *Adv Immunol* 2006; 89: 289–320.
228. Huerta PT, Kowal C, DeGiorgio LA, Volpe BT, Diamond B. Immunity and behavior: antibodies alter emotion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(3): 678–83.
229. Kowal C, DeGiorgio LA, Nakaoka T, Hetherington H, Huerta PT, Diamond B, et al. Cognition and immunity; antibody impairs memory. *Immunity* 2004; 21(2): 179–88.
230. Jones AL, Mowry BJ, Pender MP, Greer JM. Immune dysregulation and self-reactivity in schizophrenia: do some cases of schizophrenia have an autoimmune basis? *Immunol Cell Biol* 2005; 83(1): 9–17.
231. Kiessling LS, Marcotte AC, Culpepper L. Antineuronal antibodies: tics and obsessive-compulsive symptoms. *J Dev Behav Pediatr* 1994;15(6): 421–5.
232. Pandey RS, Gupta AK, Chaturvedi UC. Autoimmune model of schizophrenia with special reference to antibrain antibodies. *Biol Psychiatry* 1981; 16(12): 1123–36.
233. Rothermundt M, Arolt V, Bayer TA. Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia. *Brain Behav Immun* 2001;15(4): 319–39.
234. Perrin EM, Murphy ML, Casey JR, Pichichero ME, Runyan DK, Miller WC, et al. Does group A beta-hemolytic streptococcal infection increase risk for behavioral and neuropsychiatric symptoms in children? *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004; 158(9): 848–56.

- 235.**Yeh CB, Wu CH, Tsung HC, Chen CW, Shyu JF, Leckman JF. Antineural antibody in patients with Tourette's syndrome and their family members. *J Biomed Sci* 2006; 13(1): 101–12.
- 236.**Arin DM, Bauman ML, Kemper TL. The distribution of Purkinje cell loss in the cerebellum in autism. *Neurology*. 1991; 41(1): 307-8.
- 237.**Whitney ER, Kemper TL, Bauman ML, Rosene DL, Blatt GJ. Cerebellar Purkinje cells are reduced in a subpopulation of autistic brains: a stereological experiment using calbindin-D28k. *Cerebellum*. 2008; 7(3):406–16.
- 238.**Bauman, ML.; Kemper, TL., editors. *The Neurobiology of Autism*. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 2005.
- 239.**Courchesne E, Saitoh O, Yeung-Courchesne R, Press GA, Lincoln AJ, et al. Abnormality of cerebellar vermal lobules VI and VII in patients with infantile autism: identification of hypoplastic and hyperplastic subgroups by MR imaging. *AJR*. 1994; 162:123–30.
- 240.**Whitney ER, Kemper TL, Rosene DL, Bauman ML, Blatt GJ. Density of cerebellar basket and stellate cells in autism: Evidence for a late developmental loss of Purkinje cells. *J Neurosci Res*. 2009; 87: 2245–54.
- 241.**Holmes G, Stewart TG. On the connection of the inferior olives with the cerebellum in man. *Brain*. 1908; 3:125–37.
- 242.**Greenfield, JG. *The Spino-cerebellar Degenerations*. Springfield, IL: CC Thomas; 1954;14.
- 243.**DeBassio WA, Kemper TL, Knoefel JE. Coffin-Siris syndrome: Neuropathological findings. *Arch of Neurol*. 1985; 42: 350–3.
- 244.**Kemper, TL. The developmental neuropathology of autism. In: Blatt, G., editor. *The Neurochemical Basis of Autism*. New York: Springer; 2010; 69-82.
- 245.**Lainhart JE, Bigler ED, Bocian M, Coon H, Dinh E, Dawson G, et al. Head circumference and height in autism: a study by the Collaborative Program of Excellence in Autism. *Am J Med Genet A*. 2006; 140:2257–74.
- 246.**Hardan AY, Libove RA, Keshavan MS, Melhem NM, Minshew NJ. A preliminary longitudinal magnetic resonance imaging study of brain volume and cortical thickness in autism. *Biol Psychiatry*. 2009; 66: 313–5.
- 247.**Schmahmann, J. *International Review of Neurobiology* SanDiego: Academic Press; *The cerebellum and Cognition* 1997; 41: sayfa no
- 248.**Schmahmann JD, Rosene DL, Pandya DN. Motor projections to the basis pontis in rhesus monkey. *J Comp Neurol*. 2004; 478:248–68.

249. Honnorat J, Antoine JC. Paraneoplastic neurological syndromes. *Orphanet journal of rare diseases*. 2007;2: 22-3.
250. Gultekin SH, Rosenfeld MR, Voltz R, Eichen J, Posner JB, Dalmau J. Paraneoplastic limbic encephalitis: neurological symptoms, immunological findings and tumour association in 50 patients. *Brain: a journal of neurology*. 2000;123(7):1481–94.
251. Zhang H, Zhou C, Wu L, Ni F, Zhu J, Jin T. Are onconeural antibodies a clinical phenomenology in paraneoplastic limbic encephalitis? *Mediat Inflamm*. 2013; 1729-86.
252. Bosemani T, Huisman TA, Poretti A. Anti-Ma2-associated paraneoplastic encephalitis in a male adolescent with mediastinal seminoma. *Pediatr Neurol*. 2014;50(4):433–4.
253. Monstad SE, Knudsen A, Salvesen HB, Aarseth JH, Vedeler CA. Onconeural antibodies in sera from patients with various types of tumours. *Cancer immunology, immunotherapy: CII*. 2009;58(11):1795–800.
254. Stich O, Rauer S. Paraneoplastic neurological syndromes and autoimmune encephalitis. *Nervenarzt*. 2014;85(4):485–98.
255. Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B, Grisold W, et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(8):1135–40.
256. Voltz R, Dalmau J, Posner JB, Rosenfeld MR. T-cell receptor analysis in anti-Hu associated paraneoplastic encephalomyelitis. *Neurology*. 1998;51(4):1146–50.
257. Benyahia B, Liblau R, Merle-Beral H, Tourani JM, Dalmau J, Delattre JY. Cell mediated autoimmunity in paraneoplastic neurological syndromes with anti-Hu antibodies. *Ann Neurol*. 1999;45(2):162–7.
258. Schubert M, Panja D, Haugen M, Bramham CR, Vedeler CA. Paraneoplastic CDR2 and CDR2L antibodies affect Purkinje cell calcium homeostasis. *Acta Neuropathol*. 2014;128(6):835–52.
259. Greenlee JE, Clawson SA, Hill KE, Wood BL, Tsunoda I, Carlson NG. Purkinje cell death after uptake of anti-Yo antibodies in cerebellar slice cultures. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2010;69(10):997–1007.
260. Greenlee JE, Clawson SA, Hill KE, Wood B, Clardy SL, Tsunoda I, et al. Neuronal uptake of anti-Hu antibody, but not anti-Ri antibody, leads to cell death in brain slice cultures. *J Neuroinflammation*. 2014;11: 160-1.
261. Greenlee JE, Clawson SA, Hill KE, Wood B, Clardy SL, Tsunoda I, et al. Anti-Yo antibody uptake and interaction with its intracellular target antigen causes Purkinje cell death in rat cerebellar slice cultures: a possible mechanism for paraneoplastic cerebellar

- degeneration in humans with gynecological or breast cancers. *PLoS One*. 2015;10(4):1234-46.
- 262.**O'Connor, T.G., Heron, J., Golding, J., Beveridge, M., & Glover, V. Maternal antenatal anxiety and children's behavioural/emotional problems at 4 years. Report from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *British Journal of Psychiatry*, 2002; 180: 502–8.
- 263.**Field, T., Diego, M., Hernandez-Reif, M., Schanberg, S., Kuhn, C., Yando, R., et al. Pregnancy anxiety and comorbid depression and anger: Effects on the fetus and neonate. *Depression and Anxiety*, 2003; 17: 140–51.
- 264.**Hay, D.F., Pawlby, S., Waters, C.S., & Sharp, D. Antepartum and postpartum exposure to maternal depression: Different effects on different adolescent outcomes. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 2008; 49: 1079–88.
- 265.**Laplante, D.P., Brunet, A., Schmitz, N., Ciampi, A., & King, S. (2008). Project Ice Storm: Prenatal maternal stress affects cognitive and linguistic functioning in 5½-yearold children. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 47, 1063–72.
- 266.**O'Connor, T.G., Heron, J., Golding, J., & Glover, V. Maternal antenatal anxiety and behavioural/emotional problems in children: A test of a programming hypothesis. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 2003; 44: 1025–36.
- 267.**Van Den Bergh, B.R., & Marcoen, A. High antenatal maternal anxiety is related to ADHD symptoms, externalizing problems, and anxiety in 8- and 9-year-olds. *Child Development*, 2004; 75: 1085–97.
- 268.**Huizink, A.C., Dick, D.M., Sihvola, E., Pulkkinen, L., Rose, R.J., & Kaprio, J. Chernobyl exposure as stressor during pregnancy and behaviour in adolescent offspring. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2007; 116: 438–46.
- 269.**Barker, E.D., & Maughan, B. Differentiating early- onset persistent versus childhood-limited conduct problem youth. *American Journal of Psychiatry*, 2009; 166: 900–8.
- 270.**Khashan, A.S., Abel, K.M., McNamee, R., Pedersen, M.G., Webb, R.T., Baker, P.N., et al. Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events. *Archives of General Psychiatry*, 2008; 65: 146–52.
- 271.**Padmanabhan, V., Cardoso, R.C., & Puttabyatappa, M. Developmental programming, a pathway to disease. *Endocrinology*, 2016; 157: 1328–40.
- 272.**Halliwell B Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry* 2006; 97: 1634–58.

- 273.**Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2007; 39: 44–84.
- 274.**Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, et al. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism Dev Disord.*1980;10(1):91–103.
- 275.**İncekaş Gassaloglu S, Baykara B, Avcıl S, et al. Validity and reliability analysis of Turkish version of childhood autism rating scale. *Turk Psikiyatri Derg.* 2016;27(4):266–74.
- 276.**Sucuoglu B. A study of the scales for the assessment of the children with autism. *Psikiyatri, Psikoloji, Psikofarmakoloji (3P)* 1996; 4: 116-21.
- 277.**Kogan, M.D., et al., Prevalence of parent-reported diagnosis of autism spectrum disorder among children in the US, 2007. *Pediatrics*, 2009; 124(5): 1395-403.
- 278.**Bishop, D.V., et al., Using self-report to identify the broad phenotype in parents of children with autistic spectrum disorders: a study using the Autism-Spectrum Quotient. *Journal of child psychology and psychiatry*, 2004; 45(8):1431-6.
- 279.**Dalton P, Deacon R, Blamire A, Pike M, McKinlay I, Stein J, et al. Maternal neuronal antibodies associated with autism and a language disorder. *Ann Neurol* 2003;53:533-7.
- 280.**Croen LA, Braunschweig D, Haapanen L, Yoshida CK, Fireman B, Grether JK, et al. Maternal mid-pregnancy autoantibodies to fetal brain protein: the early markers for autism study. *Biol Psychiatry* 2008;64: 583-8.
- 281.**Zimmerman AW, Connors SL, Matteson KJ, Lee LC, Singer HS, Castaneda JA, et al. Maternal antibrain antibodies in autism. *Brain Behav Immun* 2007;21:351-7.
- 282.**Fox E, Amaral D, Van de Water J. Maternal and fetal antibrain antibodies in development and disease. *Dev Neurobiol* 2012;72:1327-34.
- 283.**Braunschweig D, Krakowiak P, Duncanson P, Boyce R, Hansen RL, Ashwood P, et al. Autism-specific maternal autoantibodies recognize critical proteins in developing brain. *Transl Psychiatry* 2013; 3: 277-8.
- 284.**Kılıçaslan F. Otizm spektrum bozukluğu (OSB) olan hastalarda anti-purkinje hücre antikorların myeloperoksidaz ve dna hasarı ile ilişkisi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Şanlıurfa*, 2018.
- 285.**Bourgeron, T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nat. Rev. Neurosci.* 2015;16: 551–63.

- 286.**Iossifov, I., et al., The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature* 2014; 515: 216–21.
- 287.**Bacon, C., Endris, V., Rappold, G.A.,. The cellular function of srGAP3 and its role in neuronal morphogenesis. *Mech. Dev.* 2013; 130: 391–5.
- 288.**Bacon, C., Endris, V., Rappold, G., Dynamic expression of the Slit-Robo GTPase activating protein genes during development of the murine nervous system. *J. Comp. Neurol.* 2009; 513: 224–36.
- 289.**Endris, V., et al., The novel Rho-GTPase activating gene MEGAP/srGAP3 has a putative role in severe mental retardation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002; 99: 11754–9.
- 290.**Guerrier, S., et al., The F-BAR domain of srGAP2 induces membrane protrusions required for neuronal migration and morphogenesis. *Cell* 2009; 138: 990–1004.
- 291.**Soderling, S.H., et al., The WRP component of the WAVE-1 complex attenuates Rac-mediated signalling. *Nat. Cell Biol.* 2002; 4: 970–5.
- 292.**Carlson, B.R., et al., WRP/srGAP3 facilitates the initiation of spine development by an inverse F-BAR domain, and its loss impairs long-term memory. *J. Neurosci.* 2011; 31: 2447–60.
- 293.**Howsmon DP, Kruger U, Melnyk S, et al. Classification and adaptive behavior prediction of children with autism spectrum disorder based upon multivariate data analysis of markers of oxidative stress and DNA methylation. *PLoS Comput Biol.* 2017;13(3): e1005385.
- 294.**Khramova T, Kaysheva AL, Ivanov Y, et al. Serologic markers of autism spectrum disorder. *J Mol Neurosci.* 2017;62(3-4):420–9.
- 295.**Al-Gadani Y, El-Ansary A, Attas O, et al. Metabolic biomarkers related to oxidative stress and antioxidant status in Saudi autistic children. *Clin Biochem.* 2009;42(10):1032–40.
- 296.**El-Ansary A, Bjørklund G, Chirumbolo S, et al. Predictive value of selected biomarkers related to metabolism and oxidative stress in children with autism spectrum disorder. *Metab Brain Dis.* 2017;32(4): 1209–21.
- 297.**Khemakhem AM, Frye RE, El-Ansary A, et al. Novel biomarkers of metabolic dysfunction in autism spectrum disorder: potential for biological diagnostic markers. *Metab Brain Dis.* 2017;32(6):1983–97.
- 298.**Hatice Altun, Nilfer Şahin, Ergül Belge Kurutaş, Umut Karaaslan, Feyza Hatice Sevgen & Ebru Fındıklı Assessment of malondialdehyde levels, superoxide dismutase, and

- catalase activity in children with autism spectrum disorders, *Psychiatry and Clinical Psychopharmacology*, 2018; 28(4): 408-15.
- 299.** Kaytor MD, Burreight EN, Duvick LA, Zoghbi HY, Orr HT. Increased trinucleotide repeat instability with advanced maternal age. *Hum Mol Genet.* 1997;6: 2135-9.
- 300.** Orr HT, Zoghbi HY. Trinucleotide repeat disorders. *Annu Rev Neurosci.* 2007;30: 575-621.
- 301.** Sandin, S., Hultman, C. M., Klevzon, A., Gross, R., MacCabe, J. H., and Reichenberg, A. Advancing maternal age is associated with increasing risk for autism: a review and meta-analysis. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 2012; 51: 477–86.
- 302.** Croen, L. A., Najjar, D. V., Fireman, B. & Grether, J. K. Maternal and paternal age and risk of autism spectrum disorders. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2007; 161: 334–40.
- 303.** Grether JK, Anderson MC, Croen LA, Smith D, Windham GC. Risk of autism and increasing maternal and paternal age in a large North American population. *Am J Epidemiol* 2009; 170: 1118–26.
- 304.** Reichenberg A, Mill J, MacCabe JH. Epigenetics, genomic mutations and cognitive function. *Cogn Neuropsychiatry.* 2009;14: 377- 90.
- 305.** Ginsburg C, Fokstuen S, Schinzel A. The contribution of uniparental disomy to congenital development defects in children born to mothers at advanced childbearing age. *Am J Med Genet.* 2000; 95: 454-60.
- 306.** Martin RH. Meiotic errors in human oogenesis and spermatogenesis. *Reprod Biomed Online.* 2008;16: 523-31.
- 307.** Christian SL, Brune CW, Sudi J, *et al.* Novel submicroscopic chromosomal abnormalities detected in autism spectrum disorder. *Biol Psychiatry.* 2008;63: 1111-7.
- 308.** Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, *et al.* Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science.* 2007;316:445- 9.
- 309.** Henikoff S, Matzke MA. Exploring and explaining epigenetic effects. *Trends Genet.* 1997;13: 293-5.
- 310.** Mill J, Tang T, Kaminsky Z, *et al.* Epigenomic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis. *Am J Hum Genet.* 2008;82: 696-711.
- 311.** Yauk C, Polyzos A, Rowan-Carroll A, *et al.* Germ-line mutations, DNA damage, and global hypermethylation in mice exposed to particulate air pollution in an urban/industrial location. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:605-10.

- 312.**Williams JHG, Ross L. Consequences of prenatal toxin exposure for mental health in children and adolescents: a systematic review. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2007;16: 243-53.
- 313.**Setareh Shams'ili, Joost Grefkens, Bertie de Leeuw, Martin van den Bent, Herbert Hooijkaas, Bronno van der Holt, Charles Vecht, Peter Sillevius Smitt; Paraneoplastic cerebellar degeneration associated with antineuronal antibodies: analysis of 50 patients, *Brain*, Volume 126, Issue 6, 1 June Pages 2003;1409–18.
- 314.**Dalmau J, Rosenfeld MR. Paraneoplastic syndromes of the CNS, *Lancet Neurol*, 2008; 7: 327-40.
- 315.**Luque FA, Furneaux HM, Ferziger R, et al. Anti-Ri: an antibody associated with paraneoplastic opsoclonus and breast cancer. *Ann Neurol* 1991; 29: 241–51.
- 316.**Sutton IJ, Barnett MH, Watson JD, Ell JJ, Dalmau J. Paraneoplastic brainstem encephalitis and anti-Ri antibodies. *J Neurol* 2002; 249: 1597–98.
- 317.**Pittock SJ, Lucchinetti CF, Lennon VA. Anti-neuronal nuclear autoantibody type 2 paraneoplastic accompaniments. *Ann Neurol* 2003; 53: 580–7.

7. EKLER

EK-1: Etik Kurul Kararı

HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ Etik Kurulu Kararı	
TARİH	: 13.07.2017
OTURUM	: 07
SAAT	: 15:00

17/07/09	<p>Karar: Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hamza AYAYDIN'ın yürüttüğü "Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuğu Olan Annelerde Antipurkinje Hücre Antikorları ve DNA Hasarının Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmaya Etik Kurulu Onayı verilmesine,</p> <p>Oybirliğiyle karar verilmiştir.</p> <p style="text-align: center;"> ASLI GİBİDİR Yrd. Doç. Dr. Hakım ÇELİK Etik Kurulu Raportörü</p>
----------	--

EK-2: Gönüllü Bilgilendirilmiş Onam Formu

ÇALIŞMANIN BAŞLIĞI: : Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuğu Olan Annelerde Antipurkinje Hücre Antikorları ve DNA Hasarının Değerlendirilmesi

GÖNÜLLÜNÜN ADI: _____

Bu çalışmada Otizm Spektrum Bozukluğu tanılı çocuğu olan annelerde Antipurkinje hücre antikorları ve DNA hasarı değerlendirilip, otizmin şiddeti ile ilişkisinin araştırılması için, polikliniğimizde istenen rutin kan tetkiki için alınan venöz kan örneğinden bu değerlere bakılacaktır. Bu değerlendirme dahilinde sizin için sosyodemografik veri formu ve çocuğunuz için CARS (Çocukluk çağı otizm derecelendirme ölçeği) ölçeği doldurulacaktır. Alınan kan serumlarında Anti-Purkinje hücre antikorları (Anti-Yo, Anti-Hu, Anti-amphiphysin ve Anti-Ri), 8-hidroksi 2-deoksi guanozin (8OHdG) düzeylerine bakılacaktır. Çalışma tahminen 2 yıl sürecektir ve bu çalışmaya yaklaşık 80 (40 OSB tanılı çocuğu olan anne ve 40 sağlıklı çocuğu olan anne) kişinin katılması planlanmıştır.

Yukarıda açıklanan çalışma esnasında uygulanacak olan işlem ve tedavilerin şahsıma aşağıda belirtilen risk ve rahatsızlıkları getirebileceğinin bilincindeyim:

Bu çalışmanın kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve diğer tıbbi bakım için benden hiçbir ücret talep edilmeyecektir. Çalışma için benden kan alınmasına gönüllü olarak izin vermekteyim. Ayrıca, bu çalışmadan çıkarılan sonuçlar başka insanların yararına kullanılabilir. Eğer bu çalışmaya katılmayı kabul etmezsem, kabul görmüş olduğum tedavileri alma hakkına sahip olduğunun bilincindeyim. Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, bu çalışmadan istediğim an çıkabileceğimin bilincindeyim. Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimin ve bu durumun şimdi ya da gelecekte ihtiyacım olan tıbbi bakımı hiçbir şekilde etkilemeyeceğinin bilincindeyim. Çalışmanın yürütülmesinden sorumlu araştırmacı veya destekleyen kuruluş, almakta olduğum tıbbi bakımın kalitesini yükseltmek amacıyla veya çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan şahsımı çalışma kapsamından çıkarabilir. Çalışmanın yürütülmesi, olası yan etkiler veya bir gönüllü katılımcı olarak haklarım konusunda kafamda sorular belirlediğinde Yrd.Doç. Dr. Hamza AYAYDIN (Tel No 04143444444-4778) ile bağlantı kurmam yeterli olacaktır:

Çalışma süresince tutulan bütün kayıtlar ve dosya bilgileri gereğinde Yrd.Doç. Dr. Hamza AYAYDIN'a ulaştırılacaktır. Bu çalışmanın sonuçları toplantılar veya bilimsel yayınlarda sunulabilir, ancak bu durumda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır. Bu çalışmaya katıldığım için zarar görürsem, ihtiyaç duyacağım tıbbi bakım, sorumlu araştırmacı tarafından yerine getirilecektir. Masraflarım Yrd.Doç. Dr. Hamza AYAYDIN tarafından karşılanacaktır. Bu formu imzalayarak yasal haklarımın hiçbirinden vazgeçmediğimin bilincindeyim. Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, bu çalışmadan istediğim an çıkabileceğimin bilincindeyim. Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimin ve bu durumun şimdi ya da gelecekte ihtiyacım olan tıbbi bakımı hiçbir şekilde etkilemeyeceğinin bilincindeyim. Helsinki Deklarasyonuna uygunluk onayı bu çalışma Fakülte Etik Kurulu

tarafından incelenerek Helsinki Deklarasyonunda belirtilen maddelere göre ahlaki, vicdani ve tıbbi kurallara uygun olduğu onaylanmıştır. Bu olur formunu imzalamadan önce yukarıdaki bilgileri kendi ana dilimde okudum veya bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı bana açıklandı. Bana aklıma gelen bütün soruları sorma fırsatı tanındı ve sorularıma tatminkar cevaplar aldım. Bu çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra vazgeçtiğim takdirde hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu çalışmada yer almayı gönüllü olarak kabul ediyorum. Bu bildirimli olur sözleşmesinin imzalı bir nüshasını aldım.

Hastanın Adı-İmzası

Tarih

(Veli veya vasisinin)

Sorumlu Araştırmacı Adı-İmzası

Tarih

Yrd. Doç. Dr. Hamza AYAYDIN

Tanığın Adı-İmzası

Tarih

EK-3: Sosyodemografik Veri Formu

Adı Soyadı:

Tel.No:

Kilo/Boy:

Yaşı:

Eğitimi:

Meslek:

Sosyoekonomik düzey: 1. <3000 TL 2. 3000-6000 TL 3. >6000 TL

Hastalık: 1.Geçici 2.Süreğen

Psikiyatrik hastalık: 1.Var 2.Yok Varsa ne?

Ailede ruhsal hastalık (1. Ve 2. Derece):

Diğer çocuklarda herhangi bir hastalık:

Düşük-Kürtaj: 1. Var 2. Yok

Diğer gebeliklerinde herhangi bir problem: 1.Var 2.Yok Varsa Ne?

Sigara: 1.Var 2.Yok

Alkol: 1.Var 2.Yok

Kaç çocuk var?

Çocuklarının her birinin yaşı:

EK-4: Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ)

Çocuk Psikiyatrisinde Ölçütler / Ölçekler

ÇOCUKLUK OTİZMİ DERECELENDİRME ÖLÇEĞİ (ÇODÖ)

Adı Soyadı :

Cinsiyeti:

Doğum Tarihi:

Değerlendirme Tarihi:

Değerlendiren:

Yönerge: Her bir kategori için, ölçeğin her maddesinin altında bırakılan yeri kullanınız. Çocuğu gözlemlemeyi bitirdikten sonra, ölçeğin maddelerinde yer alan davranışları değerlendiriniz. Her madde için çocuğu en iyi biçimde tanımlayan ifadenin numarasını daire içine alınız. İki ifade arasında değerlendirmeniz gerekiyorsa 1,5; 2,5 ya da 3,5 değerlerinden birini kullanabilirsiniz. Her madde için kısıtlı değerlendirmeye ölçütü gösterilmiştir.

Kategorileri Dereceleme Puanları

Her kategori için çocuğa verdiğiniz puanı aşağıya yazın ve sonrasında toplayın.

I.	İnsanlarla İlişki	
II.	Taklit	
III.	Duygusal Tepkiler	
IV.	Bedenin Kullanımı	
V.	Nesne Kullanımı	
VI.	Değişikliğe Uyum	
VII.	Görsel Tepki	
VIII.	Dinleme Tepkisi	
IX.	Tutma, Koklama, Dokunma Tepkisi ve Kullanımı	
X.	Korku ya da Sinirlilik	
XI.	Sözel İletişim	
XII.	Sözel Olmayan İletişim	
XIII.	Etkinlik Düzeyi	
XIV.	Zihinsel Tepkilerin Düzeyi ve Tutarlılığı	
XV.	Genel İzlenimler	
	TOPLAM	

15-29: Otizm yok

30-36: Hafif-Orta Derecede Otistik

37-60: Aşırı Derecede Otistik

Bu ölçeğin araştırma amacıyla tercihen ve kullanım hakkı, yayıncı Western Psychological Services tarafından Filsun Akkök'e verilmiştir.



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

Öğrencinin

T.C. : 16972003604

Adı, Soyadı : Şermin BİLGEN ULGAR

Anabilim Dalı: Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları

Tezin Adı : Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuğu Olan Annelerde Antipurkinje Hücre Antikorları ve DNA Hasarının Değerlendirilmesi

MEZUNİYET SONRASI EĞİTİM KOORDİNASYON KURULU BAŞKANLIĞINA

Yukarıda başlığı belirtilen Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuğu Olan Annelerde Antipurkinje Hücre Antikorları ve DNA Hasarının Değerlendirilmesi çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 65 sayfalık kısmına ilişkin, 09.04.2019 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından "TURNITIN" adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı %16'tır.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 6 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Mezuniyet Sonrası Eğitim Koordinasyon Kurulu tarafından kabul edilen Uzmanlık Tezinin orijinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, bklç şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntıların bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden her hangi birisinin yer almadığını, etik ihlal tespiti halinde, tüm hukuki yasal işlemleri kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 09/04/2019...

Tezi Hazırlayan Uzmanlık Öğrencisinin
Adı-Soyadı: Dr. Şermin BİLGEN ULGAR

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım 09/04/2019...

Danışmanın

Unvanı-Adı-Soyadı:

Dr. Öğr. Üyesi Hamza Akaydin

İmzası:

Yrd. Doç. Dr. Hamza AKAYDIN
H.R.U. Araştırma ve Öğretim Uzmanı
Çocuk Psikiyatrisi A.D.
Dip. Tes. No: 134793

Not: Tezde benzerlik oranı %25'ten yüksek olmamalıdır.

OTİZM SPEKTRUM
BOZUKLUĞU TANILI ÇOCUĞU
OLAN ANNELERDE ANTI-
PURKİNJE HÜCRE
ANTİKORLARI ve DNA
HASARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ

Yazar Şermin Bilgen Ulgar

Gönderim Tarihi: 09-Nis-2019 01:32PM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 1108874542

Dosya adı: erik.doc (1.67M)

Kelime sayısı: 22477

Karakter sayısı: 149410

OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI ÇOCUĞU OLAN ANNELERDE ANTİ-PURKİNJE HÜCRE ANTİKORLARI ve DNA HASARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

% **16**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **8**

İNTERNET
KAYNAKLARI

% **3**

YAYINLAR

% **12**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 9
2	issuu.com İnternet Kaynağı	% 1
3	m.wikipedia.org İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to Erzives Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
5	tip.harran.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	bmpsychiatry.biomedcentral.com İnternet Kaynağı	<% 1
7	library.cu.edu.tr	<% 1
8	www.turkpsikiyatri.com	<% 1

- 9 Submitted to Istanbul Aydın University <% 1
- 10 Submitted to TechKnowledge Turkey <% 1
- 11 Submitted to Ankara University <% 1
- 12 www.elabsience.com <% 1
- 13 bsd.neuroinf.jp <% 1
- 14 egitimvaktim.com <% 1
- 15 EYÜBOĞLU, Murat, BAYKARA, Burak and EYÜBOĞLU, Damla. "Otizm spektrum bozukluğu olan çocukların sağlıklı kardeşlerinin fiziksel morfolojik özellikler açısından değerlendirilmesi", Esform Ofset, 2016. <% 1
- 16 Submitted to Istanbul Medipol Üniversitesi <% 1
- 17 jgon.org <% 1
- 18 tez.sgu.edu.tr <% 1

- 19 Zheng, Guodong, Lezhen Lin, Shusheng Zhong, Qingfeng Zhang, and Dongming Li. "Effects of Puerarin on Lipid Accumulation and Metabolism in High-Fat Diet-Fed Mice", PLoS ONE, 2015.
Yayın <% 1
- 20 AKARSU, Selim, TOK, Fatih, YAŞAR, Evren, BALABAN, Birol and ALACA, Rıdvan. "Anti-yo negative paraneoplastic cerebellar degeneration following ovarian carcinoma: A case report and review of the literature", Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Derneği, 2009.
Yayın <% 1
- 21 "Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015
Yayın <% 1
- 22 acikerisim.pau.edu.tr:8080
Yayın <% 1
- 23 www.turkiyeklinikleri.com
İnternet Kavnağı <% 1
- 24 Submitted to Trakya University <% 1
- 25 Submitted to Istanbul Gelisim University <% 1

- 26 ÜNVER Hatice, MEMİK ÇAKIN, Narsu and TAMER SONMEZ, Gülden. "Olistik spektrum bozuklukları ile Lyme hastalığı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi". Esform Ofset, 2018. Yayın <%1
- 27 www.cappsy.org <%1
İnternet Kaynağı
- 28 DEMİR, Süleyman, BULUT, Mahmut, KAYA, Mehmet Cemal, SEVİM, Bünyamin, DEMİRPENÇE, Özlem, İBİLOĞLU OKAN, Aslihan, GÜNEŞ, Mehmet, ATLI, Abdullah and BEZ, Yasin. "Major Depresif Bozuklukta Artmış High Mobility Group Box1 (HMGB1) Düzeyi", Psikofarmakoloji Derneği, 2015. <%1
- 29 www.genelbilge.com <%1
Yayın
- 30 www.hemsirelersitesi.com <%1
İnternet Kaynağı
- 31 toad.edam.com.tr <%1
İnternet Kaynağı
- 32 Submitted to Yüzüncü Yıl Üniversitesi <%1
- 33 Submitted to Üsküdar Üniversitesi <%1

- 34 Submitted to Konya Necmettin Erbakan University <% 1
- 35 www.theeuropeanlibrary.org
İnternet Kaynağı <% 1
- 36 es.scribd.com
İnternet Kaynağı <% 1
- 37 baria.cz
İnternet Kaynağı <% 1
- 38 www.rehberlikvepsikoloji.com
İnternet Kaynağı <% 1
- 39 adudspace.adu.edu.tr:8080
İnternet Kaynağı <% 1
- 40 ÇATAK, Onur, AYDEMİR, Orhan and USTUNDAG, Bilal. "Vernal keratokonjonktivitte gözyaşı makrofaj migrasyon inhibitör faktör düzeyleri", Medisan Yayınevi, 2013.
Yayın <% 1
- 41 www.istanbulsaglik.gov.tr
İnternet Kaynağı <% 1
- www.int-jecse.net <% 1
- 43 EKİNCİ, Özalp and TOROS, Fevziye. "Epilepsi tanılı çocuk ve ergenlerde ruhsal bozukluklar", <% 1

Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar, 2013.

- 44 openaccess.inonu.edu.tr:8080 <% 1
- 45 www.dogumahazirlikegitimi2018.com <% 1
İnternet Kaynağı
- 46 www.phdernegi.org <% 1
İnternet Kaynağı
- 47 tez.yok.gov.tr <% 1
İnternet Kaynağı
- 48 ÇELİK, Hakim, KOYUNCU, İsmail, KARAKILÇIK, Ali Ziya, GÖNEL, Ataman and MUSA, Davud. "Radyasyonlu Ortamlarda Çalışan İnsanlarda İyonize ve Non-İyonize Radyasyonun Oksidatif Stres ve Antioksidan Seviye Üzerindeki Etkileri", AVES Yayıncılık, 2016.
Yayın
- 49 İNCEKAŞ GASSALOĞLU, Seçil, BAYKARA, Burak, DEMİRAL, Yücel and AVCİL, Sibelnur. "Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği Türkçe Formunun Geçerlik ve Güvenilirlik Çalışması", Türkiye Sinir ve Ruh Sağlığı Derneği, 2016.
Kitap

- 51 earsiv.atauni.edu.tr
İnternet Kaynağı <% 1
- 52 katalog.hacettepe.edu.tr
İnternet Kaynağı <% 1
- 53 www.noroloji.org.tr
İnternet Kaynağı <% 1
- 54 REVAN, Serkan. OKUDAN, Nilsel. BALCI, Şükrü Serdar, BELVİRANLI, Muaz, PEPE, Hamdi and GÖKBEL, Hakkı. "Coenzyme Q10 supplementation and regular physical exercise affect the level of glutathione and superoxide dismutase in the brain", Erciyes Üniversitesi, 2013.
Yayın <% 1
- 55 Mazlum, Betül. "Antioxidant Vitamins and Their Use in Psychiatry", Psikiyatride Guncel Yaklasimler - Current Approaches in Psychiatry, 2012.
Yayın <% 1
- 56 YÜKSEL, Adnan. "Otizm genetiği", İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 2005.
Yayın <% 1