



T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OTİZM TANISI ALAN ÇOCUKLARDA
NÖROPLASTİSİT, NÖRODEJENERATİF VE NÖROPROTEKTİF MOLEKÜL
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

İhsan TEZDİĞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

Temmuz-2015
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

İHSAN TEZDİĞ tarafından hazırlanan "Otizm tanısı alan çocuklarda; nöroplastisit, nörodejeneratif ve nöroprotektif moleköl düzeylerinin incelenmesi " adlı tez çalışması 01/07/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Doç. Dr. Abdulkadir LEVENT

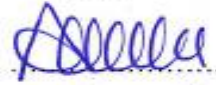
Danışman

Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN

Üye

Yrd. Doç. Dr. Nesrin HAŞİMİ

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Doç. Dr. M. Tahir NALBANTÇILAR
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından BTÜBAP_2015_Yüksek Lisans_1 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.



İhsan TEZDİĞ

Tarih: 01/07/2015

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ OTİZM TANISI ALAN ÇOCUKLARDA NÖROPLASTİSİT, NÖRODEJENERATİF, NÖROPROTEKTİF MOLEKÜL DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

İhsan TEZDİĞ

Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN

2015, 72 Sayfa

Jüri

Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN

Doç. Dr. Abdulkadir LEVENT

Yrd. Doç. Dr. Nesrin HAŞİMİ

Çalışmamızda otizmde diagnostik marker olarak kullanılma potansiyeli olduğu düşünülen nöroplastisit, nörodejeneratif ve nöroprotektif molekül düzeylerinin incelenmesi ile periferik kan düzeyinde teşhis sağlayabilecek, uygulanabilirliği kolay biyomarkırların belirlenmesi ve otistik bozukluğun patofizyolojik mekanizmasının anlaşılması için farklı bir bakış açısının oluşturulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Psikiyatri Polikliniğine başvuran, otizm tanısı alan ve başka herhangi bir sistemik bozukluğu olmayan 30 çocuk ve 30 sağlıklı çocuk ile yapılması planlandı. Glial fibriler asidik protein (GFAP), Nogo-A, ubikuitin karboksi terminal hidrolaz-L1 (UCH-L1) ve TAR DNA bağlayıcı protein (TDP-43) serum düzeyleri Enzim-bağlı-immunosorbent tahlili ELISA yöntemi ile belirlendi.

Çalışmamızda kontrol grubu ile otistik grubuna ait GFAP, Nogo-A, UCH-L1 ve TDP-43 düzeyleri karşılaştırıldığında; otizm grubuna ait serum GFAP, UCH-L1 ve TDP-43 düzeylerinin kontrol grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu bulunmuş, Nogo-A değerleri açısından ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Otistik çocuklarda serum GFAP düzeylerinin düşük bulunması, otizmde mikrogial ve astrogial aktivasyonun intrasellüler alanda birikmesinin bir işareti olarak düşünülebilir. UCH-L1 ve TDP-43 moleküllerinin otistik çocuklardaki düşük düzeyleri ve birbirleri ile olan ilişkisi; bu moleküllerin otistik çocuklarda meydana gelen ubikuitinasyonun bozulmasında rol üstlendiği şeklinde yorumlanabilir.

Anahtar Kelimeler: GFAP, Nogo-A, Nörodejeneratif, Nöroplastisit, Nöroprotektif, Otizm, TDP-43, UCH-L1

ABSTRACT

MS THESIS

EXAMINATION OF NEUROPLASTICITY, NEURODEGENERATIVE AND NEUROPROTECTIVE MOLECULE LEVEL IN DIAGNOSIS OF AUTISM CHILDREN

İhsan TEZDİÇ

**The Graduate School of Natural and Applied Science of Batman University
the Degree of Master of Science
In Chemistry**

Advisor: Asst. Prof. Dr. İhsan ÇETİN

2015, 72 Pages

Jury

Asst. Prof. Dr. İhsan ÇETİN

Assoc. Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

Asst. Prof. Dr. Nesrin HAŞİMİ

We aimed to determine the applicable easily biomarkers in peripheral blood level and create a different perspective for understanding the pathophysiologic mechanisms of autistic disorder by examination of neuroplasticity, neurodegenerative and neuroprotective molecules levels which it is thought to be used as a diagnostic marker for potential.

This study planned to be done with 30 children who were diagnosed with autism and without any systemic disease admitted to child and adolescent mental health outpatient clinic of Cerrahpaşa Medicine Faculty, İstanbul University, and 30 healthy children were included in the study as a control group. The serum levels of glial fibrillary acidic protein (GFAP), nogo-A, ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) and TAR DNA binding protein (TDP-43) were determined by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

In our study, the control and autistic children were compared in terms of neuroplasticity, neurodegeneration and neuroprotection molecular levels; it was found that serum levels of GFAP, UCH-L1 and TDP-43 levels was statistically significantly lower in autistic children than those of control group and there was no statistically significant difference between two groups in terms of Nogo-A.

The presence of low serum levels of GFAP, UCH-L1 and TDP-43, and correlations with each other in children with autism may be suggests that occurring changes the microglial and astroglial activation and the existence of the deterioration in the ubiquitination process in children autism.

Keywords: Autism, GFAP, Nogo-A, Neurodegenerative, Neuroplasticity, Neuroprotective, TDP-43, UCH-L1

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim süresince çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli şartların hazırlanmasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, ayrıca çalışmamın oluşum aşamasında ve sonrasında değerli görüşlerini benimle cömertçe paylaşan bilgi, birikim ve desteklerinden yararlandığım Batman Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Sağlık Yüksek Okulu'nda görev yapmakta olan değerli şefim ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN'e, bu tezin gerçekleşmesine olanak veren, birlikte yürüttüğümüz bu çalışmamızda araştırma gruplarının seçimi ve toplanmasında destek sağlayan İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Psikiyatri ABD'nde ihtisas yapmakta olan Uzm. Dr. Tayyip KADAK'a, hem teknik hem de ortak bilgilerinden yararlandığım Batman Üniversitesi Kimya Bölümü Anabilim başkanı Yrd. Doç. Dr. Beşir DAĞ'a, çalışmamın laboratuvar ile ilgili katkılarından ve her türlü ekipman konusunda bize imkan sağlayan başta Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Labaoratuvarları sorumlusu Mikrobiyoloji ABD başkanı Prof. Dr. Kadri GÜL'e ve tüm laboratuvar ekibine teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca mesleğimde yetişmeme katkıda bulunan, anlayış ve sabırla bana çalışma zamanı yaratan, bugünlere gelmemi sağlayan, varlıklarından güç bulduğum ve desteklerini her zaman hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Bu tez Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Fonu tarafından desteklenmiştir

İhsan TEZDİĞ
BATMAN-2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
GİRİŞ.....	1
1.1. Konunun Önemi	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Otizim	3
2.1.1. Otizmin tanımı	3
2.1.2. Otistik bozukluğun tarihçesi ve sınıflandırılması	3
2.1.3. Epidemiyoloji.....	7
2.1.4. Etiyopatogenezi.....	8
2.1.4.1. Psikodinamik ve ailesel etmenler	8
2.1.4.2. Genetik etmenler.....	9
2.1.4.3. Gebelik, doğum anı ve doğum sonrası etmenler.....	9
2.1.4.4. Nörobiyokimyasal etmenler.....	10
2.1.4.5. Nöroanatomik etmenler	11
2.1.4.6. İmmünolojik etmenler.....	12
2.1.4.7. Nörofizyolojik faktörler	12
2.2. Klinik Özellikler ve Tanı	12
2.2.1. DSM-IV otistik bozukluk tanı ölçütleri	13
2.2.2. Ayırıcı tanı	14
2.2.3. Tanıda istenmesi gereken diğer tetkikler	15
2.3. Hastalığın Prognozu.....	16
2.4. Beyine Özgü Proteinler.....	16
2.5. Nörodegeneratif Hastalıklar ve Gelişimsel Dönem	17
2.6. Glial Fibriller Asidik Protein	19
2.6.1. Makroglia hücreleri.....	19
2.6.2. Mikroglia hücreleri	20
2.7. Nogo-A	23
2.8. Ubikuitin Karboksi Terminal Hidrolaz-L1 enzimi	25
2.8.1. Ubikuitin sistem	26
2.8.2. Ubikuitinasyon mekanizması.....	26
2.8.3. Ubikuitinin nörodegeneratif hastalıklardaki rolü.....	28
2.9. Transaktif Yanıt DNA Bağlayıcı Protein-43	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1. Araştırma Grupları	32

3.1.1. Otizm grubu	32
3.1.1. Kontrol grubu.....	33
3.2. Numuların Alınması, Transferi ve Laboratuvar Çalışması.....	34
3.3. Araştırmada Kullanılan Gereçler	34
3.4. Serumda GFAP Ölçümü	35
3.4.1. Kullanılan kitin içeriği	35
3.4.2. GFAP ölçümünün prensibi	35
3.4.3. Ölçüm prosedürü.....	36
3.4.4. Hesaplama.....	36
3.5. Serumda Nogo-A Ölçümü	37
3.5.1. Kullanılan kitin içeriği	37
3.5.2. Nogo-A ölçümünün prensibi	38
3.5.3. Ölçüm prosedürü.....	38
3.5.4. Hesaplama.....	39
3.6. Serumda UCH-L1 Ölçümü	40
3.6.1. Kullanılan kitin içeriği	40
3.6.2. UCH-L1 ölçümünün prensibi	40
3.6.3. Ölçüm prosedürü.....	40
3.6.4. Hesaplama.....	41
3.7. Serumda TDP-43 ölçümü	42
3.7.1. Kullanılan kitin içeriği	42
3.7.2. TDP-43 ölçümünün prensibi	42
3.7.3. Ölçüm prosedürü.....	43
3.7.4. Hesaplama.....	43
3.6. Verilerin Değerlendirilmesi ve istatistikler.....	44
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	45
4.1. GFAP Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları	46
4.2. Nogo-A Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları.....	47
4.3. UCH-L1 Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları	48
4.4. TDP-43 Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları.....	50
4.5. TDP-43 ve UCH-L1 Arasındaki Korelasyon.....	51
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	52
5.1 Sonuçlar	52
5.2 Öneriler	53
KAYNAKLAR	54
EKLER	67
ÖZGEÇMİŞ	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Anabilim Dalı
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
APA	: American Psychological Association (Amerikan Psikiyatri Birliği)
ASD	: Autism Spectrum Disorder (Otizm Spektrum Bozuklukları)
CARS	: Childhood Autism Rating Scale (Cocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği)
DSM	: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EEG	: Elektroensefalogram
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GFAP	: Glial fibrillary acidic protein
ICD	: International Classification of Diseases (Hastalıkların Uluslararası Sınıflaması)
IQ	: Intelligence Quotient, Zeka Düzeyi
MSS	: Merkezi sinir sistemi
OB	: Otistik bozukluk
OSB	: Otistik spektrum bozukluk
TDP-43	: Transaktif Response DNA-Binding Protein-43
UCH-L1	: Ubikuitin karboksi terminal hidrolaz-L1 enzimi
YGB	: Yaygın gelişimsel bozukluk

ŞEKİLLERİN DİZİNİ

Şekil 2. 1. Astrosit, mikrogliya ve oligodendrositlerin gösterimi.....	20
Şekil 2. 2. Sinir hücresinin şematik gösterimi	21
Şekil 2. 3. Sinaptik plastisite Nogo-A'nın regülatör olarak görev yapması	25
Şekil 2. 4. Ubikuitinasyon mekanizması	28
Şekil 2. 5. TDP-43 geni	30
Şekil 3. 1. GFAP standart grafiği.....	37
Şekil 3. 2. Nogo-A standart grafiği.....	39
Şekil 3. 3. UCH-L1 standart grafiği.....	41
Şekil 3. 4. TDP-43 standart grafiği	44
Şekil 4. 1. Kontrol grubu ile otizm grubu GFAP düzeylerinin karşılaştırılması	47
Şekil 4. 2. Kontrol grubu ile otizm grubu Nogo-A düzeylerinin karşılaştırılması	48
Şekil 4. 3. Kontrol grubu ile otizm grubu UCH-L1 düzeylerinin karşılaştırılması	49
Şekil 4. 4. Kontrol grubu ile otizm grubu TDP-43 düzeylerinin karşılaştırılması.....	50
Şekil 4. 5. Çalışma gruplarında TDP-43 ve UCH-L1 korelasyonu	51

ÇİZELGELERİN DİZİNİ

Tablo 4. 1. Kontrol ve otizm gurubuna ait temel karakteristikler.....	45
Tablo 4. 2. Kontrol ve otizm gurubuna ait biyokimyasal değerler	45

EKLERİN DİZİNİ

EK-1 Etik Kurul Onayı	67
EK-2 Çocukluk çağı otizm derecelendirme ölçeği (CARS).....	70

1. GİRİŞ

1.1 . Konunun Önemi

Otizm, erken çocukluk döneminde başlayan, yaş ilerledikçe klinik bulgularında değişiklikler olabilen, bilişsel ve davranışsal olarak yaşam boyu devam eden, nörogelişimsel bir bozukluktur. Temel tanı özellikleri; sosyal ilişkide sorunlar, sözlü ve sözsüz iletişim bozuklukları, yineleyen (stereotipik) davranış kalıpları ile kendini gösterir. Bunun yanında yaşla ve olgunlaşma ile semptomların görünüm ve şiddetinde değişiklikler görülür.

Otistik bozukluğun fark edildiği yıllardan bu yana etiyolojisini belirlemeye yönelik çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen farklı şiddetlerde karşımıza çıkabilen ve bu karmaşık hastalığa yol açan spesifik bir neden henüz belirlenebilmiş değildir. Bozukluğun biyolojik temellere dayandığı; genetik (genetik kalıtım, gen mutasyonu), nöroanatomik, nörobiyokimyasal ve immünolojik etkenler gibi çoklu nedenlerin rol oynadığı fark edilerek bu çalışmalar üzerinde daha çok durulmuştur.

Geçmiş yıllardan günümüze gelerek yapılmış araştırmalardan elde edilen verilere göre hastalık tanısının konulmasında kolaylıklar sağlanmıştır. Bundan dolayı konulan otizm tanı sayısı son 20 senedir oldukça fazla oranda artmıştır. Bütün bunlarla birlikte yaygın araştırmalara rağmen otizmin nasıl oluştuğu henüz iyi anlaşılamamıştır.

Genetik yönde yapılan çalışmalarda bilim adamları otistik bozukluğu, kalıtsal olarak sınıflandırırken bozukluğun mental hastalığa yatkınlığından ve bu tür yatkınlığın, anormal çalışan genler kümesinden kaynaklandığını söylemektedirler. Nöronun tüm işlevlerini genler kontrol ettiğinden, tüm psikiyatrik bozukluklar belirli bir düzeyde genetikdir diyebiliriz. Ancak bu durum genlerin tüm anormal işlevlerinin kalıtıldığı anlamına gelmez. Gen işlevindeki sorunların bazıları, kişilerin deneyimlerinden, çevreden kaynaklanan ajanlardan, beyin dışındaki kimyasallar ve toksinlerden kaynaklanabilir.

Yine farklı çalışma gruplarının otistik bozuklukta tek reseptör ya da biyojenik amin gibi spesifik noktalara odaklandıkları görülmektedir. Ancak otistik bozukluğun tam olarak anlaşılabilmesi için reseptörler, kinazlar, enzimler, protein ve hormonlar arasındaki karmaşık etkileşimi ve bu etkileşimleri içine alabilecek nörobiyokimyasal olarak yeni etiyolojik modellerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Beyin görüntüleme çalışmalarında, otistik hastalarının beyinde fonksiyonel ve yapısal bozuklukların saptanması, hastalığın seyri sırasında nöron fonksiyonlarında progresif kayba yol açan, bir nörodejeneratif sürecin devam ettiğini düşündürmektedir. Bu sebeple otizm için öne sürülecek patofizyolojik mekanizmalar için nöroprotektif ve nörodejeneratif sürecin araştırılmasının gerekli olduğu düşünülebilir.

Bu düşünce ile yaptığımız literatür incelemesinde nörodejenerasyonda rol oynayan önemli bazı moleküllerin, nörodejeneratif hastalıklardaki seviyeleri ve patofizyolojik rolü üzerinde araştırma yapılmasına ve bazı moleküllerin Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklar için potansiyel biyomarkır olabileceği ifade edilmesine rağmen otistik bozukluktaki düzeyleri ve patofizyolojik rolü üzerine şu ana kadar herhangi bir çalışmanın yapılmadığı görülmüştür. Bu sebeple çalışmamızda, otistik bozukluktaki nörodejeneratif, nöroplastisite ve nöroprotektif süreçlerinin incelenmesi amacıyla GFAP, Nogo-A, UCH-L1 ve TDP-43 moleküllerinin serum düzeylerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Otizm

2.1.1. Otizmin tanımı

Günümüze kadar gelindiğinde otizm tanımı ile ilgili birçok tanımlama yapılmıştır. Yapılan tanımların hepsi birbirini destekler nitelikte olmuştur. Bu yapılan tanımlamaları aşağıda sıradıklarımız gibi örnekleyebiliriz.

Otizm, sosyal etkileşimde bozukluk, dil, konuşma ve sözel olmayan iletişimde gerilik ile birlikte tekrarlayıcı ve stereotipik hareketler ile karakterize Merkezi Sinir Sistemi'nin (MSS) gelişimsel bir bozukluğudur (Davidovicz, 1996; Volkmar ve Pauls, 2003; Wing, 1997; Folstein ve Rosen-Sheidley, 2001).

Otizm, erken çocukluk döneminde başlayan, yaş ilerledikçe klinik bulgularında değişiklikler olabilen, yaşam boyu devam eden, bilişsel ve davranışsal bozukluklarla ilişkili kronik bir sorundur (Filipek ve ark., 2000).

Otizm, kronik bir bozukluktur, yaşam boyu sürer, yaşla ve olgunlaşma ile semptomların görünüm ve şiddetinde değişiklik görülür. Günümüze kadar etiyolojisi tam olarak saptanamamıştır (Lamb ve ark., 2000; Newschaffer ve ark., 2002).

Ayrıca otistik çocukların çok azı erişkin olduktan sonra bağımsız yaşamakta ve bunlardan bir kısmı bunda başarılı olabilmektedir (Howlin ve ark., 2004).

Otizm, beynin birçok kısmını etkiler ama bu etkinin nasıl geliştiği çok iyi anlaşılamamıştır. Ebeveynler genellikle çocuklarının yaşamının ilk iki yılında belirtileri fark eder. Erken davranışsal ya da kavrayışsal müdahaleler çocukların kendine bakabilme yetisi ile sosyal ve iletişimsel yetiler kazanmasına yardımcı olabilir.

2.1.2. Otistik bozukluğun tarihçesi ve sınıflandırılması

Otizm, yunanca 'ben' anlamına gelen 'autos' kelimesinden köken alan bir terimdir. Otizmi çağrıştıran davranış özellikleri ile ilgili ilk yazılar 18. yüzyıla kadar gitmektedir. 1700'lü yıllarda Fransa'da Jan Itard ve İngiltere'de Jon Hâlsam, otizimden söz etmişler ve otizimli kişileri her hangi bir tanım koymadan farklı bireyler olarak isimlendirmişlerdir (Fazlıoğlu ve ark., 2007; Kırcaali-iftar, 2007).

1911 yılında yaptığı çalışmasıyla ilk defa Eugene Bleuler, şizofreninin temel belirtilerinden biri olarak gözlemlediği egosantrik (ben merkezci) düşünmeyi tanımlamak için kullanmıştır (Gillberg ve Coleman, 2000).

1912 yılında otizm terimi, yine İsveçli Psikiyatrist Bleuler E. tarafından ‘The American Journal of Insanity’ (Amerikan Ruhsal Hastalıklar Dergisi) adlı yayında kullanılmıştır (Prater, 2002).

1943 yılında Amerika’lı çocuk psikiyatristi Leo Kanner, otizmi ‘Erken Çocukluk Otizmi’ olarak adlandırmıştır (Prater, 2002). Kanner, aynı terimi benzer davranış örüntüsü sergileyen on bir çocuğun özelliklerini tanımlamak için kullanmıştır. Kanner, makalesinde otizmin duygusal temas ve kişilerarası ilişkilerde belirgin bozulmalarla seyreden, az sayıda tanımlanmış olgu olmasına karşın, beklenenden daha sık görülen bir sendrom olduğunu bildirmiştir. Konuşmanın gecikmesi, önemli derecede iletişim sorunları, değişmeyen ve sık bir duygulanım, zayıf göz teması, basmakalıp, yineleyici davranışlar ve alışılmadık ilgi ve yetenekleri içeren bir klinik tablo tanımlayan Kanner, otizmin doğumsal bir hastalık olduğunu belirtmiştir (Kanner, 1943).

1944 yılında Kanner’dan bağımsız olarak Asperger de, otizmi, yaklaşık 10.000 çocuktan 4’ünde doğumda ya da doğumdan sonraki ilk 30 ayda görülen, davranışla ilgili bir sendrom olarak tanımlamıştır (Darıca ve ark., 1992). Ayrıca Kanner’ın tanımladığı sendroma benzer davranışları olan bir grup çocukla ilgili makalesini yayınlamıştır. Bu makalenin farkı, sosyal etkileşim bozuklukları gösteren ancak normal zekaya sahip olan olgular ve ilgili özelliklerin makalede tanımlanmış olmasıdır (Rutter ve Schopler, 1993). Bu hastalık Asperger tarafından “otistik psikopati” kavramı ile anılmaya başlanmıştır.

1947 yılında otizm, Bender tarafından “Çocukluk Şizofrenisi”, Mahler tarafından “Sembiyotik Psikoz” ve bir süre sonra da Rank’ın tanımıyla “Atipik Çocuk” kavramları ile anılmıştır (Volkmar ve ark., 2002; Rutter ve Schopler, 1987).

1956 yılında otizm, anormal çocuk bakımına bir reaksiyon olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Kanner, 1943; Kanner ve Eisenberg, 1956). Yani çocuğun emosyonel ihtiyaçlarına yanıt vermeyen soğuk anne çocuklarında meydana geldiği şeklinde fikrini değiştirmiştir. Ancak daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda bu durumu kanıtlayan bir sonuca ulaşılammıştır (Erbil, 2008).

Kanner ve Eisenberg (1956) ‘Erken Bebeklik Otizmi’ için tanı ölçütleri geliştirmiş, davranışsal iki özelliğin tanı için gerekli ve yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Bu iki özellik aşağıda şöyle sıralanmıştır.

1. Diğerlerinin farkında olmama ve uzak durma,
2. Rutinlerindeki değişikliğe karşı aşırı direnç. Ayrıca bu belirtilerin en geç 24. aya kadar ortaya çıkması gerektiğini ifade etmişlerdir (Kanner ve Eisenberg, 1956).

1960 yılında Otistik Bozukluk'un (OB) etiyolojisi hakkında daha fazla karmaşa söz konusudur. Ancak elde edilen bilgiler ve biriken kanıtlar hastalığın nöropatolojik bir süreç olduğu hakkında ipuçları vermektedir (Ağırman, 2010).

Sendromun genetik yönünden çok çevresel etmenleri vurgulayan bu görüşü, sosyal ilişkilerin değerlendirilmesini önemseyerek, işin nörobiyolojisi konusundaki çalışmaları bir süreliğine de olsa yavaşlatmıştır. Çocuğun duygusal ihtiyaçlarına yanıt vermeyen ana-babaların eğitilmesi ve bu kişilerin çocuklarının daha kolay rehabilite edileceği fikri bunda etkili olmuştur. Özellikle Bettelheim'in, "The Empty Fortress" isimli kitabında yer alan ve otistik çocukların dış dünya ile normal ilişki kuramamalarının nedeni olarak aileleri öne süren psikolojik model, etkinliğini 60'lı yılların sonuna kadar sürdürmüştür. Ancak, izleyen yıllarda yapılan çalışmalarda bu durumu kanıtlayan bir sonuca ulaşılamamış ve bozukluğun biyolojik temelleri olduğu konusunda görüş birliğine varılmıştır (Kanner ve Eisenberg, 1956).

1961 yılında Dr. Mildred Creak başkanlığında geliştirilen 'Dokuz Nokta' teşhis ölçütüne göre otistik çocuğun, kendi kişisel kimliğinin farkında olmaması, belli nesnelere bağımlılık geliştirmesi, nesneleri amacına yönelik kullanamaması, içinde bulunduğu ortamdaki değişikliklere karşı tepki göstermesi, mevcut normal yada özel zihinsel yeteneklere sahip olmanın yanı sıra gözlenen genel bir gerilik olması gibi özelliklere bağlı olarak tanımlanmaktadır (Darıca ve ark., 1992).

1967 yılında 'Dokuz nokta' teşhisine ait özellikler daha sonra O'Gorman (1967) tarafından tekrar geliştirilmiştir (Darıca ve ark. 1992). Otizm, uluslararası sınıflandırma sistemlerinde ilk olarak 1967'de International Classification of Diseases'in 8. baskısında (ICD-8), şizofreninin alt gruplarından biri olarak yer almıştır. Dolayısı ile 1970'lere kadar otizmin formal tanı ölçütleri geliştirilememiştir.

1971 yılında İnfantil Otizm, iyi tanımlanmış bir klinik tablo olarak Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders'de (DSM-III) yerini almıştır.

1978 yılında Rutter tarafından, OB'u tanımlayan çok önemli bir sınıflama ortaya atılmıştır. Bu sınıflamada OB'deki sorunların doğrudan zeka geriliği ile ilişkili olmadığı vurgulanmakta, ayrıca hastalığın başlangıcının 30 aydan önce olma koşulu getirilmektedir (Rutter ve Diagnosis, 1978).

Rutter ve arkadaşları otistik çocuklar ile ilgili tüm görüşleri 4 ana başlık altında toplamışlardır. Buna göre:

1. Otizmin belirtilerinin ortaya çıkma sıklığı genellikle 30. aydan önce görülür.
2. Otistik çocukların konuşma ve dil gelişiminde belirgin bir gecikme söz konusudur.
3. Sosyal gelişimle ilgili (örneğin; sarılma - kucaklama gibi fiziksel teması reddetmek, insanlara karşı genel bir ilgisizlik ve göz kontağı kuramama gibi) yetersizlikler olduğu görülmekte ancak zihinsel gelişimle (örneğin; matematik, resim, müzik, ezber konularında beceri gibi) ilgili herhangi bir sorunun olmadığı ifade edilmiştir.
4. Kalıplaşmış oyun becerileri gözlenmekle birlikte aynılığı korumada ısrar etme ve değişikliğe karşı tepki gösterme de belli başlı davranışlar arasında yer almaktadır (Darıca ve ark., 1992).

1980 yılında otizm, DSM sistemine ilk olarak girmiş, DSM-III içinde Yaygın Gelişimsel Bozukluklar (YGB) başlığı altında ‘Erken Bebeklik Otizmi’, ‘Çocukluk Başlangıçlı Yaygın Gelişimsel Bozukluk’ ve ‘Atipik Yaygın Gelişimsel Bozukluk’ şeklinde sınıflanmıştır (APA, 1980). Bu sınıflamada Erken Bebeklik Otizmi ile Çocukluk Başlangıçlı Yaygın Gelişimsel Bozukluk birbirinden, belirtilerin 30. aydan önce ya da sonra başlamasıyla ayrılmıştır.

1987 yılında DSM-III-R’de YGB altında iki ayrı grup yer almıştır; OB ve Başka Türü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk (BTAYGB) olmuş. DSM-III-R’ye göre OB tanısı için 3 kategoriye (sosyal ilişkide bozukluk, iletişim alanında bozukluk, kısıtlı aktivite örüntüsü) ait 16 belirtiden 8 tanesinin karşılanması gerektiği belirtilmiştir (APA, 1987).

1994 yılında DSM-IV’te, YGB’ler, 5 alt gruba ayrılmıştır:

- 1-Otistik Bozukluk
- 2-Asperger Sendromu
- 3-Rett Sendromu
- 4-Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu
- 5-Başka Türü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk (APA, 1994).

Günümüzde DSM-IV-TR’de YGB tanımı yerine Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) terimi, daha sık kullanılmaya başlanmıştır (Bilgiç, 2012).

Dünya sağlık örgütü (1994) yayımladıkları çalışmada, otistik bozukluk ICD-10’da YGB’ler başlığı altında sınıflandırılmış ve DSM-IV’dekine benzer şekilde tanımlanmıştır.

DSM-V olan yeni sınıflama sisteminde, alt gruplar kaldırılarak tüm tanılar tek bir kategori olarak OSB olarak adlandırılmış, Rett sendromu (RS) ise bu kategoriden çıkarılmıştır. İletişim alanındaki “konuşmama” kriteri kaldırılmış ve OSB’de çok sık görülen “duyusal hipo-hipersensitivite” belirtileri tanı kriterlerine eklenmiştir. Ayrıca hastalık şiddeti için de “Desteğe ihtiyacı olan”, “Ciddi desteğe ihtiyacı olan” ve “Çok ciddi desteğe ihtiyacı olan” şeklinde tamamlayıcı bir kategori eklenmiştir (Fuentes ve ark., 2012).

2.1.3. Epidemiyoloji

Uzun yıllar otizmin nadir bir hastalık olduğu düşünülürdü ve 2000’li yıllarda çok nadir olmadığı gündeme geldi. Otizmin epidemiyolojisi ile ilgili ilk çalışma Londra’nın Middlesex ilçesinde Victor Lotter tarafından yapıldı ve 8-10 yaş arasındaki çocuklarda 10.000’de 4,5 yaygınlık oranı bildirildi (Fombonne, 2003).

Günümüzde, otizm sıklığı yaklaşık 1-2/1.000, otistik spektrum bozukluğu sıklığı yaklaşık 4-6/1.000 olarak tahmin edilmektedir. Erkek/kız oranı zeka bölümüne göre değişmektedir, mental geriliği ağır olanlarda oran 2:1 iken, hafif-orta olanlarda bu oran 4:1’e kadar artmaktadır (Prater, 2002).

Latin Amerika, Afrika, İtalya, Hindistan, Ortadoğu, Macaristan ve Çin’de görece olarak az görüldüğü öne sürülmekle birlikte tüm dünyada otizm prevalansının birbirine yakın olduğu bildirilmektedir. Etnik, ırk, sosyal, aile, yaşam biçimi ve eğitim düzeyi gibi değişkenler hastalığın görünüm sıklığını etkilememektedir (APA, 1953; Bryson, 1996; Esibov, 1985).

Ülkemizde ise otizmin yaygınlığını değerlendirebilecek sağlıklı veriler olmamasına rağmen, Cure Autism Now (Otizmde Tedavi Vakfı- Amerika) kurumunun aldığı 1/250 oranını kabul edersek, ülkemizde yaklaşık 271.000 otistik özellikleri olan bireyin olduğunu varsayabiliriz (Bodur, 2006).

Fombonne (2009) tarafından yayınlanan 43 çalışmayla yaptığı gözden geçirme derlemesinde; OB sıklığını 20.6/10,000, BTAYGB sıklığını 30/10,000, OSB sıklığını 60-70/10,000 olarak bildirmiştir.

2.1.4. Etyopatogenezi

OB'un etyopatogenezi bu güne kadar çok çeşitli ve farklı etmenler üzerinden açıklanmaya çalışılmıştır. Otizmin etiyolojisinin anlaşılması için yapılan epidemiyolojik çalışmalarda otizmin kompleks bir etiyolojisinin olduğu sonucuna varılmıştır.

1960'ların son dönemlerinde otizmin, biyolojik temeli bir hastalık olduğu daha fazla kabul görmeye başlamış, tıbbi bir hastalık veya obstetrik sorunlardan kaynaklanan beyin hasarı sonucu geliştiği düşünülmüştür. Ancak son 20 yıldır, genetik faktörlerin yanı sıra karmaşık biyolojik ve psikolojik işlevlerin etkileri daha fazla önem kazanmaya başlamıştır (Volkmar ve ark., 2004; Volkmar ve ark., 2007; Gillberg ve Coleman, 2000).

Yapılan çalışmaların önemli bir kısmı sadece klasik otizm'i, bazıları ise altında hastalık gruplarını barındıran OSB şeklinde ele almıştır. MSS'nin gelişimsel bir bozukluğu kabul edilen otizmin etiyolojisi günümüze kadar tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Otizmin etiyolojisine yönelik olarak yapılan araştırmalar hastalığın patofizyolojisini tam olarak aydınlatamamakla birlikte genetik, immnolojik, nöroanatomik, biyokimyasal ve çevresel etkenler gibi çoklu nedenler üzerinde yoğunlaşmıştır (Libbey ve ark., 2005). Bu etmenleri şu alt başlıklar şeklinde sıralayabiliriz:

2.1.4.1. Psikodinamik ve ailesel etmenler

Otizm, tüm sosyal sınıflarda ve ülkelerde görülmektedir. Otistik çocukların ebeveynlerinin sosyal dil becerilerinde ve sözel anlatım becerilerinde yetersizlikler gösterdikleri ve bunun, kişilerin eğitim ve zeka düzeyi ile ilişkilendirilemeyeceği öne sürülmektedir (Szatmari ve Jones, 1991; Gousse ve ark., 2002). Son yıllarda otistik çocukların ailelerinde, normal popülasyona göre daha fazla oranda sosyal güçlükler, duygu durum ve anksiyete bozuklukları olduğu saptanmıştır (Gousse ve ark., 2002). Ancak, eğitilmiş anne babaların çocuklarının gelişimindeki sapmaları daha çabuk fark ettikleri ve bu nedenle kliniklere daha çok başvurdıkları düşünülebilir.

2.1.4.2. Genetik etmenler

Yapılan çeşitli çalışmalar otizmin etiolojisinde genetik faktörlerin önemli rol oynadığını göstermektedir. Otistik hastaların %10-15'inde çeşitli genetik hastalıklar saptanmıştır (Gillberg ve Coleman, 1996). Etiolojinin belirli olduğu ikincil otizmin gözlenebileceği tek gen bozuklukları arasında; Frajil X sendromu, Tuberoskleroz, Fenilketonüri, Rett sendromu, Nörofibromatozis I, Sotos sendromu, Joubert sendromu ve Smith- Lemli-Opitz sendromu bulunmaktadır (Reddy, 2005).

Yine ikizler üzerinde yapılan çalışmalar ve kardeşlerde yinleme riskinin yüksek olması nedeniyle, otizmin genetik kökeni olduğu kabul edilmektedir. Yapılan aile ve ikiz çalışmaları otizmin %90 oranında katılsal komponentinin olduğunu göstermiştir (Zhao ve ark., 2007).

Bu gün için en az 15 genin patogenezele ilişkili olduğu düşünülmüştür (Gümüşlü, 2010). Otizmde rol oynayan genetik faktörler üzerinde yapılan çalışmalar, insan genomundaki hemen hemen bütün kromozomların rol oynadığını ileri sürmekle birlikte en fazla 7q, 2q ve 15q kromozomları öne çıkmaktadır (Santagnelo, 2005).

Otizmin araştırılmasında, gen ekspresyonunun anormal regülasyonunun araştırılması, proteomiks ve postmortem beyin analizleri gibi yeni tekniklerin kullanılması önerilmektedir (Gümüşlü, 2010).

2.1.4.3. Gebelik, doğum anı ve doğum sonrası etmenler

Otistik bozukluğu olan çocukların doğum öyküleri incelendiğinde genel popülasyona kıyasla bu hastalarda gebelik ve doğum sırasında meydana gelmiş olan komplikasyonların daha sık olduğu görülür. Otistik bebeğe gebe olan annelerde, daha sık olarak ilk trimester sonrası kanamalar, düşük tehdidi, mekonyum aspirasyonu (Bebeğin anne karnında kakasını yutması) gibi komplikasyonlar daha yaygındır (Finegan ve Qumington, 1979).

Yapılan çalışmalarda gebelik ve doğuma ait bazı problemlerde bilinen faktörleri sıralarsak, örneğin; ileri anne yaşı, gebelikte kanama, travma, ilaç (talidomit, valproat) kullanımı, viral enfeksiyon, kısa gebelik süresi, düşük doğum tartısı, postmatürite, anormal geliş şekilleri, mekonyum aspirasyonu ile yenidoğan döneminde görülebilen bazı sorunların düşük apgar skoru, ağlamada gecikme, apne, solunumsal distres

sendromu, hiperbilirubinemi gibi sorunların otistik belirtileri olan çocukların doğum öyküleri olduğunu belirtilmiştir (Lord ve Bailey, 2002).

Başka bir çalışmada ise düşük doğum ağırlığı ve komplike doğum, otistik hastalarda daha sık bildirilmiştir (Kayaalp ve ark., 1999).

Yinelemek gerekirse günümüzde bu sayılan risk etmenlerin otizme özgül olmadığı ve öngörücü olarak da kullanılamayacağı kabul görmüş bir durumdur (Juul-Dam ve ark., 2001; Bolton ve ark., 1997).

2.1.4.4. Nörobiyokimyasal etmenler

Son zamanlardaki çalışmalar oksitosin hormonunun davranışlar üzerine etkisini de ortaya koymaktadır. Örneğin; orgazm, sosyal tanıma, eşler arasındaki bağ, anksiyete ve anne davranışları bu davranışlar arasında sayılabilir (Lee ve ark., 2009). Bu nedenle bu hormona bazen "aşk hormonu" da denmektedir. Oksitosin salgılanmasındaki yetersizlik sosyopati, psikopati, narsisizm ve genel manipülasyon eğilimi ile ilişkili bulunmuştur (O'Callaghan, 2010). Bu bağlamda otistik hastalarda plazma oksitosin düzeyi düşük olarak bulunmuştur (Modahl ve ark., 1998).

Otistik hastaların beyinlerinde sorunlu olduğu düşünülen bölgelerin glutamattan zengin olduğu ve glutamat antagonistleri ile otistik semptomların açığa çıktığı belirtilmektedir (Carlson, 1998).

Bir diğer çalışmada otizmde karnitin düşüklüğü ve laktik asidozun sıkça görüldüğü bildirilmiş ve bundan yola çıkarak otizmin mitokondriyal bir hastalık olabileceği varsayımı öne sürülmüştür (Lombard, 1998).

Otizmin nörokimyasal etiyolojisine yönelik yapılmış olan nörotransmitter çalışmaları daha çok serotonin ve dopamin üzerine yoğunlaşmıştır (McDougle ve ark., 2005). Bazı çocukların Beyin Omirilik Sıvısı'nda (BOS), Homovanilik asit (Dopamin'in en önemli yıkım ürünü) düzeyi yüksek bulunmuş ve bu da klinik olarak regresyon ve stereotipilerde artma ile ilişkilendirilmiştir (Sadock ve Sadock, 2003).

Serotonin beyin gelişiminde trofik etkisi olduğu, serotonin sisteminde bozulmaların MSS nöronlarının olgunlaşmasında (nöronal farklılaşma, nöroblast bölünmesi, hücre göçü, sinaps oluşumu gibi) bozulmaya neden olabileceği öne sürülmüştür (Volkmar ve ark., 2004; Volkmar ve ark., 2007). Ayrıca seçici serotonin geri alım inhibitörleri'nin (SSGI) stereotipik davranışları azalttığı ve sosyal etkileşimi arttırdığı bildirilmektedir (Gillberg ve Coleman, 2000).

Zoroğlu ve ark. otistik çocukların plazma nitrat ve nitrit seviyelerinin kontrollere göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Zoroğlu ve ark., 2004). Zoroğlu ve ekibinin otistik hastalarla yaptığı bir diğer çalışmada serum nitrit ve adrenomedullin seviyelerinin otistik çocuklarda arttığı, total nitrit seviyelerinin MSS Nitritoksit (NO) aktivitesinin bir göstergesi olabileceği ve ayrıca Adrenomedullin'in otizm patogenezinde rol alabileceği belirtilmiştir (Zoroğlu ve ark., 2003).

Bir grup çalışmada da BOS'ta opioid peptid düzeyleri araştırılmış ve özellikle kendine zarar verici davranışlarda bulunan ve ağrıya duyarsız olan bazı otistiklerde yüksek endorfin düzeyleri bulunmuştur. (Belmonte ve Carper, 1988)

2.1.4.5. Nöroanatomik etmenler

Otistik hastalarda baş çevreleri normallere kıyasla daha büyük olarak bildirilmiştir ve otistik hastaların % 14'ü makrosefali olarak bulunmuştur. Hastaların çoğunda makrosefalinin doğuştan mevcut olmadığı ve çalışma sırasında makrosefali olan hastaların % 78'inin doğum anında normal baş çevresine sahip oldukları belirtilmektedir (Lainhart ve ark., 1997). Nöropatolojik çalışmalarda beyin korteksi, hipokampus, amigdala, mamiller cisimcik, mediyal septal çekirdek ve anterior singulatta gelişimsel anormallikler bildirilmiştir (Volkmar ve ark., 2007; Howlin, 2005). Bu bölgelerde birim başına düşen hücre sayısının arttığı, hücrelerin daha küçük olduğu ve dentritik dallanmaların azaldığı görülmüştür (Lord ve Bailey, 2002; Courchesne ve ark., 2004). Piven ve ark. (1996) otistik hastaların beyinlerindeki bu genişlemenin; nöroenezis, azalmış nöron ölümü, nöronal olmayan beyin dokularının artmış üretimi gibi farklı olası mekanizmalara bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Otizmin nöroanatomik etyolojisine ilişkin diğer bazı araştırma sonuçlarında serebellumda neocerebellar vermis hacimlerinde azalma, serebellar vermis ve hemisferlerde Purkinje hücrelerinde azalma olduğu gösterilmektedir. Günlük ritimde gözlemlenen sorunlar ve dikkat sorunları serebellum işlev bozukluğu ile ilişkili olabilir, denilmiştir (Riva, 2000; Wimpory, 2002).

Kraniyal Manyetik Rezonans çalışmalarında arka çukur yapılarıyla ilgili anomaliler (özellikle, serebellar vermal lobül VI ve VII'de ve beyinsapında hipoplazi) gösterilmiştir (Courchesne ve ark., 1988).

2.1.4.6. İmmünolojik etmenler

Sudhir (2000) yazısında, çocuklarda immünolojik değişiklikleri güzel bir şekilde özetlemiştir. Bu veriler lenfosit alt gruplarında değişiklikler, monosit/makrofaj hücre değişiklikleri, natural killer hücrelerinde değişiklik, serum immünglobulin sınıflarında değişiklikler, sitokin üretiminde değişiklikler, nöral antijenlere karşı oto antikor varlığı, artmış C4b null (kompleman 4b) alleli frekansı ve immün yanıt genlerine bağlıdır. (Sudhir, 2000).

Otizm etiolojisinde immün sistem değişikliklerinin rolü uzun yıllardır araştırılmaktadır.

2.1.4.7. Nörofizyolojik faktörler

OB'de çeşitli elektroensefalografi (EEG) anomalileri ve yüksek oranda epilepsi bildirilmektedir. Zeka geriliği daha fazla olan bireylerde epilepsi riski, zeka düzeyleri normale yakın bireylere göre iki kat artmış olarak görülür (Nagy ve ark., 2002).

2.2. Klinik Özellikler ve Tanı

Otistik bozukluk, çocukluk çağı nöropsikiyatrik bozukluklarından biridir ve belirtileri yaşamın ilk üç yılında başlamaktadır. Temelde sosyal etkileşimde ve iletişimde yetersizlikle beraber tekrarlayıcı davranışlar ve kısıtlı ilgi alanları ile karakterize, hayat boyu süren gelişimsel bir bozukluktur (Volkmar ve ark., 2004). Günümüzde, otizm tanısını tam anlamıyla destekleyen biyolojik bir gösterge yoktur. 12. ayda parmakla işaret etme ve bay-bay, baş-baş gibi jestlerin olmaması, 16. ayda tek kelime, 24. ayda iki kelimeli cümle konuşmaya başlanılmaması ya da herhangi bir yaşta daha önce öğrenilen dil ve sosyal becerilerde kayıp, otizm açısından değerlendirme endikasyonlarıdır (Filipek ve ark., 1999).

DSM-IV'de OB tanısı için, 3 alandaki (sosyal gelişim alanında en az iki, iletişim becerileri alanında en az bir, tekrarlayıcı davranışlar ve kısıtlı ilgi alanında en az bir) 12 belirtiden en az 6 tanesinin olması ve belirtilerin 3 yaşından önce başlaması öngörülmüştür (Volkmar ve ark., 2007).

2.2.1. DSM-IV otistik bozukluk tanı ölçütleri

A. En az ikisi 1. maddeden ve birer tanesi 2. ve 3. maddelerden olmak üzere 1. , 2. ve 3. maddelerden toplam 6 veya daha fazla belirtinin bulunması:

1. Aşağıdakilerden an az ikisinin varlığı ile kendini gösteren toplumsal etkileşimde nitel bozulma:

I. Toplumsal etkileşimi sağlamak için yapılan el-kol hareketleri, alınan vücut konumu, takınılan yüz ifadesi, göz göze gelme gibi birçok sözel olmayan davranışta belirgin bozulmanın olması

II. Yaşıtlarıyla gelişimsel düzeyine uygun ilişkiler geliştirememe

III. Diğer insanlarla eğlenme, ilgi ve başarılarını kendiliğinden paylaşma arayışı içinde olmama (örn. ilgilendiği nesneleri göstermeme, getirmeme, belirtmeme)

IV. Toplumsal veya duygusal karşılıklar vermeme

2. Aşağıdakilerden en az birinin varlığı ile belirlenen iletişimde nitel bozulma:

I. Konuşulan dilin gelişiminde gecikme ya da dilin hiç gelişmemiş olması (el, kol veya yüz hareketleri gibi diğer iletişim yollarını bunun yerine koyma girişimi eşlik etmemekte)

II. Konuşması yeterli olanlarda, başkalarıyla söyleşiyi başlatma veya sürdürmede belirgin bir bozukluğun olması

III. Basmakalıp, yineleyici ya da özel bir dil kullanma

IV. Gelişim düzeyine uygun çeşitli imgesel veya toplumsal taklitlere dayalı oyunları kendiliğinden oynamama.

3. Aşağıdakilerden an az birinin varlığı ile kendini gösteren davranış, ilgi ve etkinliklerde sınırlı, yineleyici (stereotipik) örüntülerin olması:

a) İlgilenme düzeyi ya da odaklanma açısından anormal, bir veya daha fazla sınırlı, tekrarlayıcı ilgi örüntüsü içinde kapanıp kalma

b) Özgül, işlevsel olmayan gündelik işlere veya törensel davranış biçimlerine hiç esneklik göstermeksizin sıkı sıkıya uyma

c) Basmakalıp ve yineleyici motor mannerizmler (örn. parmak şıklatma, el çırpma veya vurma, karmaşık vücut hareketleri)

d) Eşyaların parçalarıyla sürekli uğraşıp durma

B. Aşağıdaki alanlardan en az birinde, 3 yaşından önce gecikmelerin veya olağandışı bir işlevselliğin olması:

1) Toplumsal etkileşim

2) Toplumsal iletişimde kullanılan dil

3) Sembolik ya da imgesel oyun

C. Bu belirtiler Rett Bozukluğu veya Çocukluğun Dezintegratif Bozukluğu ile daha iyi açıklanamaz

Otizm taramasında kullanılan testlerden hiçbiri ideal değildir ve 18. ayın üstündeki çocuklarda uygulanabilmektedir. Testler bu dönemde sosyal gelişim açısından kritik önemi olan ortak dikkat, hayali oyun ve sosyal oryantasyonun sorgulanması üzerine yapılandırılmıştır (Johnson, 2008). 18. ayın altındaki çocuklarda da kullanılabilecek otizme özgül tarama testlerinin geliştirilmesine çalışılmaktadır (Sigman, 2004).

Otizm taraması için ortak görüş, her toplumun kendine en uygun tarama modelini seçmesi, tarama yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olması, 18.-24. ay arası yapılması ve aile bildirimine öncelik verilmesi yönündedir. Amerikan Pediatri Akademisi (APA), tüm çocukların 18.-24. ay arası rutin sağlam çocuk izlemlerinde otizme özgül bir tarama testiyle taranmasını önermektedir (Gümüşlü, 2010).

2.2.2. Ayırıcı tanı

Otistik bozuklukta uygun tedavinin seçimi, ayırıcı tanının yapılması ve prognoz ile ilgili beklentilerin belirlenmesi açısından çok önemlidir. Aileden hastanın erken gelişim öyküsü alınmalı ve ruhsal durum muayenesi tamamlanmalıdır. Hastalığın tablosu hastadan hastaya farklılık gösterse de tüm bireylerde belirtiler 3 yaşından önce farkedilir (Volkmar ve ark., 2002).

Otizmin ayırıcı tanısı, öncelikli olarak YGB spektrumundaki diğer hastalıklar ile yapılmalıdır. Bu hastalıklar aşağıda sıralanmaktadır.

- **Asperger Bozukluğu:** Asperger bozukluğunda, otizimden farklı olarak dil becerileri ve bilişsel yetiler erken dönemlerden başlayarak korunmuştur ve sorun akademik işlevlerde değil daha çok sosyal iletişim becerilerindedir; bu nedenle hastalar daha geç dönemde aileleri tarafından getirilirler. Bu hastalarda sıradışı ve işlevsiz takıntılı oldukları ilgi alanlarının bulunması da oldukça önemli bir özelliktir (Volkmar ve ark., 2002; Gökler, 1998).

- **Rett Bozukluğu:** Kısa süren normal bir gelişim dönemi sonrası başlayan baş çevresinde küçülme, amaçlı el hareketlerinde azalma, karakteristik el yıkama tarzı stereotipiler, ciddi psikomotor gerilik ile karakterize ve genellikle kızlarda görülen

bir hastalıktır (Volkmar ve ark., 2002). Rett'in aksine otizmde amaçlı el kullanımında bir bozukluk görülmez ve yıkım ilerleyicidir (İşeri ve Bodur, 2007).

- **Dezintegratif Bozukluk:** Klinik olarak otizme benzeyen ancak belirgin bir normal gelişim sonrası genellikle 3 ya da 4 yaşlarından sonra belirtilerin ortaya çıktığı bir hastalıktır. Ortaya çıkma yaşı ve öncesinde belirgin olarak kazanılmış bazı yetilerin kaybının olması nedeniyle otizmden ayrılır (Volkmar ve ark., 2002; Ünal, 1998).

- **Elektif Mutizm:** Hastanın bir ya da birden fazla ortamda seçici olarak konuşmama durumudur. Otizmden farklı olarak, hastalar belli ortamlarda konuşurlar ve konuşmadıkları zaman beden dili ile kendilerini ifade etmeye çalışırlar. Zeka düzeyleri de genellikle normal ya da normalin üstündedir (Paul, 2002).

- **Uyaran Eksikliği ve Bebeklik Depresyonu:** Birincil bakım veren kişiler tarafından ihmale uğramış ve ciddi uyaran eksikliği bulunan hastalarda da sosyal ilişki ve dil becerilerinde gecikme görülebilir. Uyaran eksikliği giderildiğinde hastalarda kısa sürede ilerleme sağlanır (Volkmar ve ark., 2002).

- **Mental Retardasyon:** Otistik hastaların ayırıcı tanısında hafif ve orta düzeyde mental retardasyon da gözönünde tutulmalıdır. Mental retardasyonu bulunan hastalarda varolan sosyal beceriler çoğu zaman bilişsel ve iletişimsel becerilerle uyumludur. Ayrıca otistik hastalarda fiziksel gelişim normaldir. Ancak mental retardasyonu olan hastalarda çoğu zaman fiziksel gelişim de yaşlılarından geridir (Volkmar ve ark., 2005).

- **Erken Başlangıçlı Şizofreni:** Erken başlangıçlı şizofrenide ise belirtiler başlamadan önce hastaların tümüyle normal oldukları uzun bir dönem bildirilmektedir. Ayrıca işitsel ve görsel hallusasyonlar, üzerine psikotik bir tablo binmediği sürece otistik bozuklukta görülmez (Uslu ve Demirergi, 1995).

- **Genetik Sendromlar:** Frajil-X, Down sendromu, Angelman sendromu, tuberoksleroz, nörofibromatozis gibi genetik bazı hastalıklar ile birlikteliği sıktır (Volkmar ve ark., 2002).

- **Metabolik Hastalıklar:** Fenilketonüri, histidinemi, adenilosüksinat liyaz eksikliği gibi metabolik hastalıklar ile birlikte giden otistik belirtiler bildirilmiştir (Page, 2000).

2.2.3. Tanıda istenmesi gereken diğer tetkikler

Çocuğun klinik bulguları tek başına otizmle açıklanamıyorsa kraniyal görüntüleme tekniklerinden yararlanılabilir (Filipek ve ark., 1999). Klinik nöbet varsa, nöbet dışlanamıyorsa ve gerileme öyküsü varsa EEG istenmelidir. Tübero skleroz

açısından derinin Wood lambasıyla incelenmesi gerekebilir. Ailede bilişsel işlevleri kısıtlı bireylerin varlığı ya da dismorfik özellikler, genetik değerlendirme yapılmasını gerektirebilir. Mikrodelesyon sendromlarında her olguda tipik dismorfik bulguların olmadığı dikkati çekmiştir, bu nedenle otistik çocuklarda fenotip normal olsa da mikrodelesyon sendromlarını dışlamak açısından array comparative genomic hybridization (array-CGH) sitogenetik incelemelerini rutin tanıda uygulamaya başlayan klinikler bulunmaktadır (Gümüşlü, 2010).

2.3. Hastalığın Prognozu

Otizm tanısının erken gelişim dönemlerinde konulması ve uygun uyaran veren aile ortamı prognozu olumlu yönde etkilemektedir. Otistik teşhisi alan bir bireyin beraberinde başka hastalık öyküsüne sahip olması prognozu olumlu veya olumsuz etkileyebilmektedir.

Örneğin; kliniğe epilepsi nöbetlerinin eşlik ettiği vakalarda dil ve sosyal becerilerde bozulma meydana gelebilir (Volkmar ve ark., 2002). Sahip oldukları yetersizliklerin ve zorlukların farkına varan daha yüksek fonksiyonlu otistik hastalarda anksiyete ve depresyon gibi sorunlar ortaya çıkabilir (Volkmar ve ark., 2005). Otizm tablosuna epilepsi gibi organik sorunlar eşlik ettiğinde prognoz olumsuz etkilenmektedir (Sadock ve Sadock, 2003).

Beş-altı yaşlarında iletişime yönelik konuşma becerisinin olması, performans zeka bölümü düzeyinin yüksek olması, eğitime yanıtın olması olumlu prognostik ölçütlerdir (Volkmar ve ark., 2005).

2.4. Beyine Özgü Proteinler

Nöronların rejenerasyon kapasitesi oldukça düşüktür ve zarar verici immün reaksiyonlar, MSS nöronlarını hasarlayabilir. Kafatası, beyin dokusunun şişmesini ve bunun getireceği ödem ve inflamasyonu önler.

Fetal dönemde sinir sisteminde meydana gelen hücrel hasarlar en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir ve klinik, radyolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerle saptanmaktadır. Biyokimyasal ölçümlerin avantajı henüz klinik ve radyolojik bulgular ortaya çıkmadan önce beyin lezyonları hakkında bilgi verebilmesidir. Beyin hasarını tanımlayıcı biyokimyasal bir belirteç; duyarlı, özgül,

tekrarlanabilir ve yüksek prediktif değere sahip olmalı, konsantrasyonu beyin hasarının yaygınlığı ile uyumlu olmalı ve birçok biyolojik sıvıda (kordon kanı, amnion sıvısı, beyin omurilik sıvısı, idrar) ölçülebilmelidir. Beyine özgü proteinler düşük moleküler ağırlığa sahiptir, santral sinir sisteminde yüksek konsantrasyonda bulunur ve hücrel hasar oluştuğunda erken dönemde biyolojik sıvılarda saptanabilirler. Dolayısıyla beyine özgü proteinlerin prenatal (doğum öncesi) ve perinatal dönemde (gebelikte 28.aydan doğuma kadar) fetomaternal biyolojik sıvılarda saptanması beyin hasarının erken tanı ve takibinde doğrudan gösterge olarak önemli olabilir (Portakal ve Deren, 2010).

Beyine özgü proteinler ilk olarak Moore ve McGregor tarafından 1965 yılında tanımlanmıştır. Araştırmacılar sığır, fare, tavşan ve maymunların beyin ve karaciğer dokularında yaptıkları protein saflaştırma çalışmaları sırasında üç proteinin beyin fraksiyonlarında yüksek konsantrasyonda olduğunu ancak karaciğer fraksiyonlarında bulunmadığını saptamışlardır. Kromatografik ve elektroforetik ayrılma özelliklerine göre bu proteinleri 14-3-2 ve 14-3-3 olarak adlandırmışlar ve beyin dokusu ile ilgili sonraki çalışmalarda glial fibriller asidik protein (GFAP), büyüme ile ilişkili protein, miyelin bazik proteini ve N-asetil aspartat beyin dokusundan izole edilmiştir. Bu proteinler genellikle küçük ve asidik yapıdadır, geniş protein ailelerine sahiptir ve beyin dokusunun yanı sıra diğer dokularda da bulunur (Portakal ve Deren, 2010).

Beyine özgü proteinler hücre içi ve dışı fonksiyonları nedeniyle travmatik, enfeksiyöz ve dejeneratif kaynaklı birçok nöropatolojide yer alır. Dolayısıyla son 30 yıldır nörobilimcilerin ilgisini çekmektedir. Pre/perinatal dönemde kord kanı, maternal serum, amniyon sıvısı ve BOS'ta beyine özgü proteinlerin ölçümü risk tayini, tedavi hedeflerinin belirlenmesi ve prognoz takibinde önemli rol oynayacaktır (Portakal ve Deren, 2010).

2.5. Nörodejeneratif Hastalıklar ve Gelişimsel Dönem

Nörodejeneratif hastalıklar, hem klinik hem patolojik olarak birçok ortak özellik gösterir. Değişik türdeki hastalıklar, belli yaş gruplarında belli bir nöron grubunu tutan proteinlerle meydana gelir. Olayla ilgili protein, ilgili nöron gruplarında toplanıp nöron ölümüne (işlevsizliğine) yol açarak o hastalığa özgü semptomların ortaya çıkması sonucu hastalık ismi tanımlanır. Modern biyokimyasal yaklaşım, bu ortak noktaların altındaki temel protein bozukluğunu ortaya koyup yeniden sınıflandırmayı zorunlu

kılmaktadır. Ancak patofizyolojik olarak, protein birikiminin belirleyici faktör olup olmadığı birçok sporadik hastalıkta kesin değildir (Gültekin, 2009).

Yetişkinlerin nörodejeneratif hastalıkları genellikle ileri yaş grubunda görülür. Spesifik nöron gruplarının kaybı sonucu MSS'de belli bölgelerde atrofi görülür. Histopatolojide ise, nöron kaybı, *reaktif gliosis* ve bazı hastalıklarda spesifik nöronal veya glial inklüzyonlar gözlenebilir. Bu hastalıklar klinik, patolojik ve biyokimyasal yönden değişik şekillerde sınıflandırılabilir. Klinikte akinetik-rijid ve hiperkinetik hareket bozuklukları, demanslar, otonom bozukluklar, ataksiler gibi sınıflamalar yapılırken biyokimyasal olarak sinir hücrelerinde biriken proteinin tipine veya birikimin genetik mekanizmasına göre; tauopatiler, alfa-sinükleinopatiler, poliglutamin bozuklukları olarak sınıflandırma yapılabilir.

Çocuklukta bir takım anatomik-histolojik değişikliklere paralel, gelişim basamakları oluşur. Beyin sapına inen inhibitör yolların gelişimi ile hayatın 2-3. ayında endojen ağlama azalır, yenidoğan refleksleri kaybolur, çevreye ilgi artar, melatonin sentezinin artması ile uyku düzene girer, 7-10. ayında prefrontal korteks tabakaları arasında yatay bağlantıların artışı ile işlevsel bellek (working memory) gelişir (Herschkowitz, 1997). Öğrenme sürecinde uzun süreli bellek yeni mRNA ve protein sentezi ile sağlanırken, kısa süreli bellek ise sık aktive olan nöronlarda aktivasyon eşiğinin düşmesi ve mevcut proteinlerin modifikasyonu ile sağlanır (Anlar, 2006). Sinapsların nöronal aktiviteye bağlı olarak yeniden yapılanması, aynı zamanda depolarize olan nöronların aralarındaki sinaptik bağlantıların artması gibi beyindeki kalıcı değişikliklerle gelişimsel basamaklar kazanılır. Bu düzenlemelerin oluşmasında büyüme faktörleri ve ekstitatör nörotransmitterler etkilidir. Büyüme faktörlerinin yapımı nöronal uyarım sırasında presinaptik uçtan glutamat salınımı tarafından arttırılır. Aktif olmayan nöronlar büyüme faktörlerini almadıkları için küçülürler. Beynin gelişimini, yaptığı etkinliklerin derecesi ve türüne bağlı olarak geliştirir (Anlar, 2006).

Erken yaşlarda beyinde daha fazla plastisite olduğunu gösteren gelişimsel nörobilim alanındaki çalışmalar, müdahale çalışmalarının mümkün olduğunca erken başlaması gerektiğini vurgulamaktadır. Nöronların büyümesi doğumdan sonra önemli ölçüde artmaz iken hücreler arasındaki sinirsel bağlantılar (sinaps) 3 yaşına kadar hızla oluşur (Hanno, 2003). Çocuğun beyin dokusunun doğumda olgunlaşmamış olması ve belirgin şekilde deneyimlerle değiştirilebilir olduğunun gösterilmesiyle hem erken

müdahalenin hem de bu deneyimlerin zamanlama önemi ortaya çıkmıştır (Halfon, 2001). Bu nedenle özellikle, hassas dönemler veya bazı gelişmelerin oluşması için fırsat pencereleri adı verilen dönemler tespit edilmiştir (Wynder, 1998). Örneğin, fonoloji (ses bilimi) için hassas dönemler fetal hayatın 6. ayından bir yaşa kadar olan zamandır (Ruben, 1997). Dili öğrenme için 1-7 yaş, sosyal-emosyonel gelişimde 0-2 yaş kritik dönemler olarak kabul edilir (Ruben, 1997). Tezimizde daha önce de belirtildiği gibi 0-3 yaş dönemi sinapsin üretimi ve sonraki dönemde korunması için hayati önem taşımaktadır. Bu nedenle bu dönemde yetersiz stimülasyonun sonraki gelişim dönemleri üzerinde büyük ve kalıcı olumsuz etkileri olabilir (Koltuk, 1998). Son olarak, Weaver ve ark., (2004) yaptıkları bir çalışmada gelişimin erken dönemlerinde çevresel faktörlerin, beyin ve sinir sisteminin gelişimini kontrol eden genlerin ekspresyonunu direk olarak etkilediğini savunmuşlardır.

2.6. Glial Fibriller Asidik Protein

Glial fibriller asidik protein molekülüne ait bilgileri kavrayabilmemiz için öncelikle sinir hücresinin yapısını tanımamız ve bu proteinin hücrelerdeki konumunu bilmemiz gerekiyor.

Sinir hücreleri, nöronlar ve glia hücreleri olarak 2 ana sınıfa ayrılabilir. Glia hücreleri, beyinde nöronlardan 10 kat fazla bulunur ve bu nöronların arasına yerleşerek sinir hücresini sarar (Duman ve Yılmaz, 2008).

MSS'deki glialar iki ana gruba ayrılabilir:

A) Makroglia hücreleri

B) Mikroglia hücreleri

2.6.1. Makroglia hücreleri

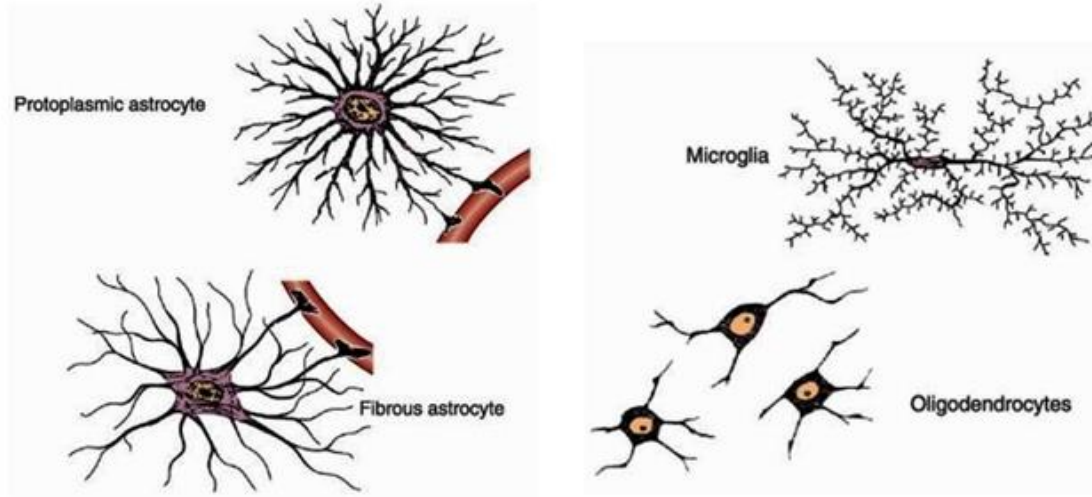
i. Oligodendrositler: MSS'de aksonların elektriksel yalıtımını sağlayan miyelini yapar (Şekil 2.1).

ii. Astrositler: Çok sayıdaki uzantıları nedeniyle yıldız şeklinde GFAP yapılmış ara filamanlar içerir (Şekil 2.1).

iii. Ependim Hücreleri: Beyin ventrikülleri ve omurilik kanalını döşeyen, epitelyum hücreleridir (Şekil 2.2).

2.6.2. Mikroglia hücreleri

Kısa uzantılara sahip, küçük hücrelerdir. Sinir dokusunda, fagositik ve antijen sunan hücreler olarak davranırlar (Duman ve Yılmaz, 2008) (Şekil 2.1 ve 2.2).

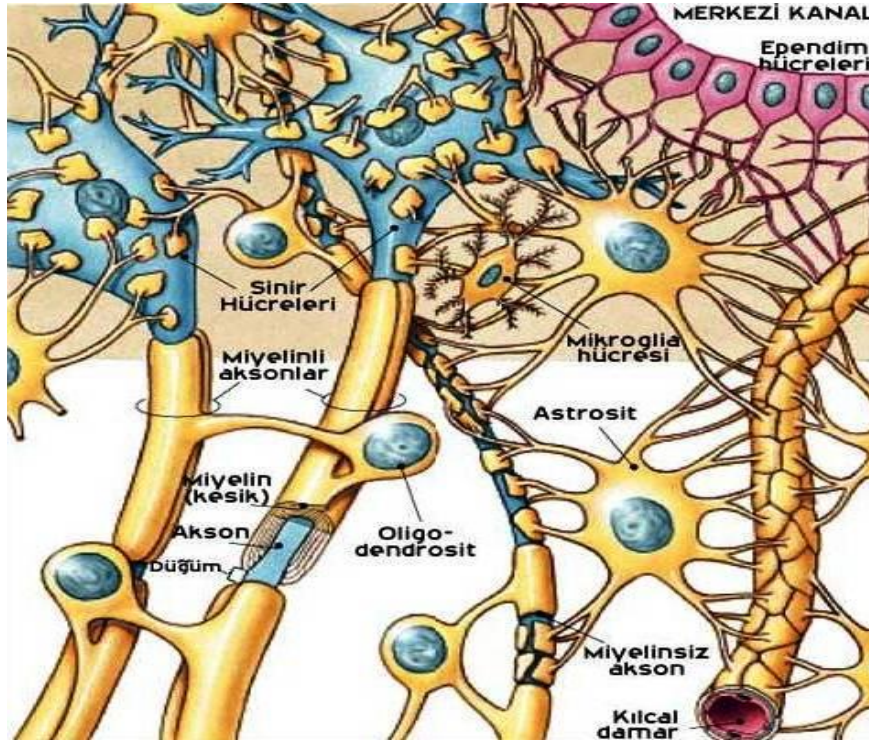


Şekil 2. 1. Astrosit, mikroglia ve oligodendrositlerin gösterimi

GFAP, 50 kDa ağırlığında intraselüler bir proteindir. Normal beyinde bulunan fibröz astrositlerin stoplazmalarında bol miktarda bulunmaktadır. GFAP esas olarak astrositlerden eksprese edilen bir intermediyer filamentdir. Bundan dolayı selektif bir marker olarak kullanılmaktadır. Ratlarda yapılan çalışmalarda astrositik intermediyer filamentlerin *reaktif gliozisde* çok önemli bir rol oynadıkları gösterilmiştir (Gomi ve ark., 1995). GFAP, MSS'de uzun dönem sağlıklı miyelinizasyonun gerçekleşmesi için şart olan bir proteindir (Liedtke ve ark., 1996).

Astrositler, beyin hacminin yaklaşık % 20-50'sini oluşturur (Eng ve ark., 2000). Astrositlerin özelleşmiş formları serebellar kortekste Bergamann Hücresi, retinada Müler Hücresi, nörohipofizde Pitüsit'ler ve 3. ventrikülün duvarında Tanisit'ler olarak adlandırılır (Garcia-Segura ve ark., 1996). Astrosit, Şekil 2.2'de gösterildiği gibi MSS'de çok önemli fonksiyonlara sahiptir. Bu hücreler hücre göçünü etkiler, matrix proteinlerinin, adhezyon moleküllerinin ve büyüme faktörünün önemli bir kaynağıdır. Nörotransmisyonunda önemli bir rol oynayarak extraselüler ortamın iyonik kompozisyonunu düzenler, kan-beyin bariyerinin fonksiyonuna ve stabilitesine katkı

sağlar. Sinir hücrelerine metabolik destek sağlar ve nörodejeneratif hastalıklar patofizyolojisinde de rolü vardır (Morte ve ark., 2004).



Şekil 2. 2. Sinir hücrelerinin şematik gösterimi

MSS’de hasar olduğu zaman glial hücreler, hücresel cevabı başlatırlar. MSS, glial hücrelerin reaksiyonunu *gliosis* olarak verir. Dolayısıyla GFAP ekspresyonunda artış olur. Astrositler, nöronal hasara cevap olarak ekspresyonu artırırırlar. GFAP, MSS’nin hasarı sonrası gelişecek olan morfojenizde önemli bir materyaldir. Fetal dönemde son derece az miktarlarda iken, beyin gelişimiyle yoğunluğu artmaktadır (Baydas ve ark., 2003). MSS’nin reaktif süreçlerindedir astrosit stoplazmaları içinde artmış miktarlarda bulunduğu gösterilmiştir. Oligodendria ve ependim hücrelerinde de bulunur. Cerrahi patolojide kullanımı yararlı olduğu bilinmektedir.

GFAP, ekstraaksiyel yerleşimli tümörlerin invazyonlarının tanımlanmasında faydalı olduğu gibi normal koroid pleksusta bulunmadığı halde koroid pleksus tümörlerinde GFAP salınımı bulunmuştur. GFAP’ın bir hücre içinde tespit edilmesi o hücrenin GFAP ürettiğini göstermez. Örneğin; makrofajlar, *fagositoz* sayesinde stoplazmaları içinde GFAP içerebilirler. GFAP kullanımı ile neoplastik ve reaktif glia hücresi birbirinden ayrılamaz. Normalde beyaz cevherde bulunan GFAP+ fibröz astrositler, korteks yerleşimli olan aynı tipteki hücelere oranla daha yoğun olarak

bulunmaktadır. Bu nedenle beyaz cevherin reaktif süreçlerinin değerlendirilmesinde GFAP yarar sağlamaz. GFAP boyanma şiddeti ile astrositik tümör derecelendirmesi arasında ilişki bulunmamaktadır. Astrosit kökenli tümörlerde GFAP ile eş zamanlı olarak vimentin de salınabilir. GFAP'ın fazla ekspresyonu *kronik reaktif gliozise* neden olmaktadır. MSS hasarlarından sonra GFAP'ın yararlı ve nöroprotektif etkileri mevcut olup bunun yanı sıra *reaktif gliozise* yol açması nedeniyle MSS rejenerasyonunu engellediği düşünülmektedir (Anderson ve ark., 2003). Beyin iskemisinin *ciddi reaktif gliozisi* tetiklediği bildirilmiştir (Olson ve McKeon, 2004). Bu nedenle bazı nöropatolojik durumların, GFAP regülasyonu ve dolayısıyla da *reaktif gliozisle* ilişkili olduğu düşünülebilir (Gençer, 2007).

Daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi, McCall ve ark. (1996) GFAP'ın, olgun astrositlerin major intermediyer filament proteini olduğunu ve astrosit farklılaşmasındaki anahtar olaylardan birinin GFAP ekspresyonunun başlangıcı olduğunu göstermişlerdir. MSS'de olgunlaşmamış astrositler genellikle major intermediyer protein olan vimentin olarak ifade edilir. Astrositlerin olgunlaşması, vimentin ve GFAP ekspresyonu arasında bir geçiş olur. Astrositler olgunlaştıkça GFAP ekspresyonu artmaktadır (Gomes ve ark., 1999). Olgunlaşmamış astrositler başlangıçta vimentin salgılamak, olgun astrositler GFAP salgılamak (Dahl, 1981). Bundan dolayı GFAP astrosit olgunlaşma belirteci olarak tanımlanır. Nöronal-glia etkileşimde GFAP'ın rol oynadığı bildirilmiştir (McCall ve ark. 1996). Böylece GFAP düzeyindeki değişiklikler nöron-nöron ve nöron-glia arasındaki bağlantıda bozulma ile sonuçlanabilir.

Bir başka çalışmada GFAP'ın astroglialara özgü Tip III ara filament protein olduğu açıklanmıştır. Ara filament proteinler, yüksek ökaryotlarda bulunan 8-10 nm'lik fibröz proteinlerdir. Hücre iskeletinin oluşması, sitoplazmik alan organizasyonu, mitoz ve hücre hareketinin sağlanmasında rol oynar. Fosforilasyon, proteoliz, asetilasyon, glikolizasyon ve deiminasyon en sık gözlenen translasyon sonrası değişikliklerdir (Lazarides, 1982).

GFAP küçük ve asidik bir proteindir (pI 4.6). En az beş izoformu vardır: α , β , γ , σ ve ϵ . İzofomu α olanı, astroglialarda en fazla bulunur (Reeves ve ark., 1989). GFAP çeşitli uyarılara yanıt olarak N-terminalindeki beş bölgeden fosforillenir ve bu fosforolisyanlar Thy7, Ser8, Ser13, Ser17 ve Ser38 şeklindedir (Inagaki ve ark., 1990).

GFAP, hücre yapı ve hareketi, mitoz, sinyal iletimi, kan-beyin bariyerinin fonksiyonel olması gibi birçok hücresel olayda rolü vardır. Astrositin şekil ve mekanik

dayanıklılığını sağlar. Olgun hücrelerdeki GFAP fonksiyonları “knockout” fare çalışmaları ile ortaya konmuştur. Bu farelerde hipokampus ve spinal kordun beyaz maddesi yoktur, astrosit fonksiyonları dejeneredir, miyelinizasyon anormaldir ve kan-beyin bariyeri bozulmuştur. Bu çalışma GFAP’ın miyelinizasyonun uzun süreli devamlılığında rol oynadığını göstermektedir (Goss ve ark., 1991). Antisens RNA çalışmalarında GFAP içermeyen astrositlerin nöronlar ile bağlantı oluşturmadıkları saptanmıştır. Yine bu çalışmalarda GFAP’ın purkinje hücre iletiliminin devamlılığında önemli olduğu gösterilmiştir (Weinstein ve ark., 1991).

Glial nedbe dokusu, dejeneratif durumların bir sonucudur ve glial fibriler asidik proteinin up-regülasyonu ile oluşur (Eng ve Ghirnikar, 1994). Çoğunlukla astrositler, ependimal hücreler, schwann hücreleri ve duysal ganglionların satellit hücrelerinden ekspresse olur. Glial hücre hasarına yol açan birçok durumda GFAP regülasyonu bozular. Akut serebral hasar sonrası GFAP salınır ve hasarlı olan kan-beyin bariyerini geçerek dolaşıma ulaşır. İskemik inme sonrasında iki-dört günde serum GFAP düzeyleri yükselir, bu artış beyindeki infarkt alanı ile paraleldir (Herrmann ve ark., 2000). İntraserebral kanama sonrası serum GFAP hızla artar (Foerch ve ark., 2006). Subaraknoid kanama sonrası akut dönemde serum GFAP konsantrasyonu ile beyin hasarının şiddeti arasında korelasyon saptanmıştır (Vos ve ark., 2006). GFAP, fokal beyin hasarının uzun süreli izlenimi ve prognozu tayininde önemlidir (Nylén ve ark., 2007). Astroglial tümörlerde serum GFAP’ın yükseldiği bildirilmiştir (Jung ve ark., 2007).

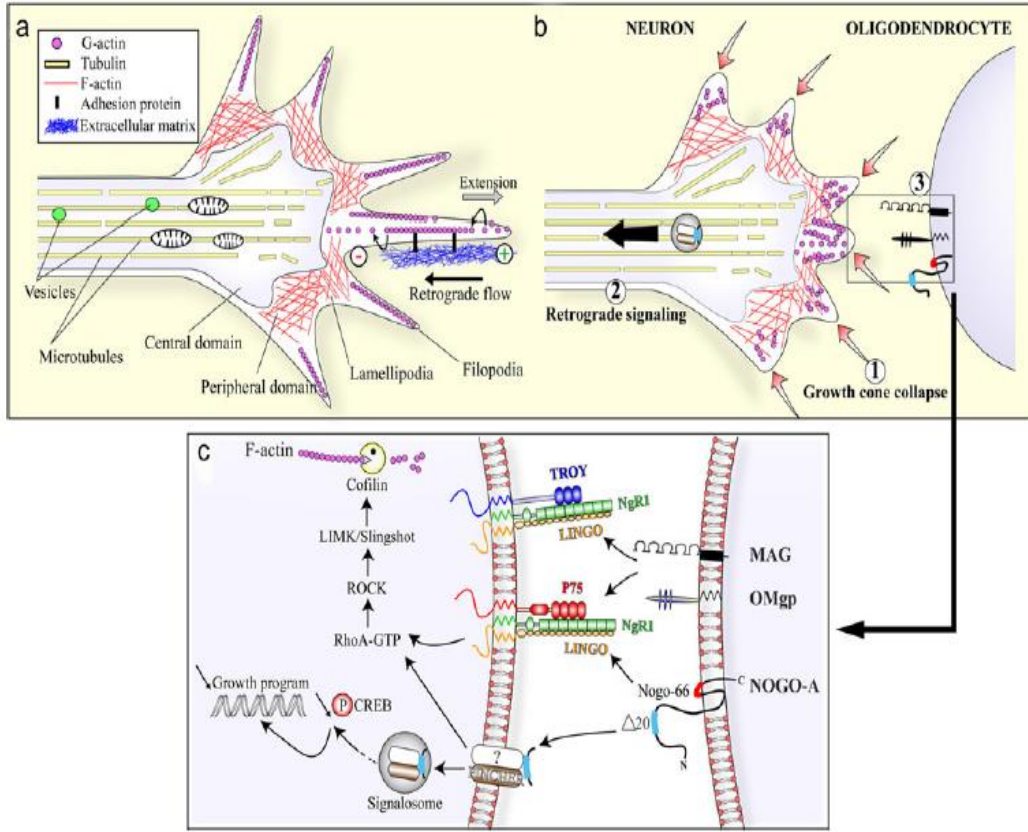
Yapılan araştırmalarda GFAP’ın astrosit olgunlaşmasında önemli bir belirteç olduğu gösterilmiştir. Astrosit olgunlaşmasının eksikliğinde GFAP düzeyinin azaldığı görülmüştür (Gomes ve ark., 1999; Genç, 2007).

2.7. Nogo-A

Nörodejenerasyon ve nöroplastisite sürecinde rol oynayan faktörlerden birisi ve Nogo ailesinin bir üyesi olan Nogo-A molekülüdür. Nogo ailesinin A, B ve C gibi birçok üyesi olmasına rağmen bunlardan sadece Nogo-A, MSS’de hasar sonrasında sinir liflerinin büyümesini engeller ve güçlü bir şekilde inhibitör etki göstermektedir (GranPre ve ark.,2002; Huber ve ark.,2002). Bu etkinin Nogo-A’nın amino terminalindeki spesifik ucundan kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Nogo-A, C-terminalinde 200-aa retikulon dahil olmak üzere yaklaşık 1200 amino asitten oluşmuş bir trans membran proteinidir. (Chen ve ark., 2000; GrandPre ve ark., 2000). Bu protein memelilerin MSS'deki miyelinlerinde bulunur ve buradan saflaştırılmış en güçlü nöron büyüme inhibitörlerinden birisidir (Spillmann ve ark., 1998). Nogo-A, yetişkinlerin MSS'sinde ağırlıklı olarak oligodendrositlerde sentezlenir. (Huber ve ark., 2002; Wang ve ark., 2002b). Nogo-A'nın oligodendrositler tarafından endojen yüksek ekspresyonu, yaralanmış omurilik bölgesi etrafında biraz daha artmaktadır (Huber ve ark., 2002). Nogo-A, miyelin oluşumundan önce gelişmekte olan ve olgunlaşmamış nöronlar tarafından güçlü bir şekilde eksprese edilir. Bu nedenle Nogo-A; korteks, hipokampus ve dorsal kök gangliyon gibi MSS'nin bölgelerinde yüksek bir seviyeye ulaşır (Huber ve ark., 2002; Peng ve ark., 2011).

Yapılan literatür taramasında, Alzheimer gibi bazı nörodejeneratif rahatsızlıklarda Nogo-A molekülünün düzeylerinin incelendiği görülmüştür (Bordet ve ark., 2010). Bazı çalışmalarda Nogo-A'nın nöronların büyüme ve fibroblastların uzama durumlarına karşı inhibitör etki gösterdikleri ifade edilmiştir (Huebner ve ark., 2011). Yapılan deneysel bir çalışmada Nogo-A ekspresyonunun kainik asid ile indüklenerek epilepside artmış olduğu gösterilmiş ve bu ratlarda Nogo-A'nın hipokampustaki nöronal büyümeyi inhibe ettiği yönünde bulgular elde edilmiştir (Meier ve ark., 2003). Başka bir çalışmada temporal lob epilepsisinde Nogo-A ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (Bandtlow ve ark., 2004). Öte yandan kindling oluşturulan rat modelinde, hipokampusta artan Nogo-A'nın *epileptogenesis* sürecindeki sinaptik düzenlemeden kısmen sorumlu olduğu bildirilmiştir (Takeda ve ark., 2007).



Şekil 2. 3. Sinaptik plastisite Nogo-A'nın regülatör olarak görev yapması

Nöronlarda ya da glial hücrelerde eksprese edilen Nogo-A, lezyon sonrası sinapsın oluşum ve temaslarının stabilitesini sağlamada kontrolü sağlayabilecek bulgulara ulaşıldı. Nogo-A'nın *sinaptogenez* ve sinaptik iletim üzerindeki etkileri konusunda bilginin çoğu hipokampusun elektrofizyolojik incelemeleri ve gelişimi üzerindeki çalışmalarından elde edilmiştir. Buna karşın, eldeki verilerden çok az bir kısmı da Nogo-A blokajında yaralanmış yetişkin MSS'deki sinapsları fonksiyonel olarak teşvik etmesidir. Oligodendrositlerden eksprese edilen Nogo-A aynı zamanda gelişmekte olan büyüyen beyinde büyüme kısıtlayıcı olarak rol oynamaktadır (Şekil 2.3).

2.8. Ubikuitin Karboksi Terminal Hidrolaz-L1 enzimi

Ubikuitin, tüm ökaryotik hücrelerde bulunan ısıya dayanıklı, küçük (8.5 kDa) bir proteindir (Ciechanover ve ark., 1978). 76 aminoasiten oluşan ubikuitinin primer yapısı yüksek oranda korunmuştur (Rodwell, 2000).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ubikuitin-proteazom yolağının hücre döngüsü proteinlerinin tümör baskılayıcı moleküller, onkogenler, transkripsiyon faktörleri ve anti-apoptotik proteinlerin regülasyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir (Inoue ve ark., 2006). Hücre içi protein döngüsünden iki ana proteolitik sistem sorumludur. Bunlar, Lizozomal Sistemi ve Ubikuitin-Proteazom Sistemi'dir. Lizozomlar, keşfedilen ilk proteolitik sistemlerdir. 1980'lerin başında da ubikuitin-proteazom sisteminin önemi anlaşılmıştır. Proteazom prokaryot ve ökaryotlarda bulunan multikatalitik olan enzimatik bir komplextir. Protein yıkımının rolü sadece toparlanma olmakla kalmayıp hücre döngüsü ve hücre bölünmesi gibi başlıca hücre içi işlemlerin düzenlenmesine kadar geniş bir göreve sahiptir (Martinez ve ark., 2005).

2.8.1. Ubikuitin sistem

Ubikuitin-proteazom sistemi ökaryot hücrelerde önemli bir proteolitik yoldur. Yıkım için substratların izlenmesi ve bunların o anki proteolitik kırılması iki ana aşamadır. Ubikuitin-proteazom sistemi hücrel homeostazın devamlılığına ve protein kalite kontrolüne yardımcı olur. Fakat bu sistemi hücre canlılığı için vazgeçilmez yapan, temel hücre içi işlemlerindeki düzenleyici rolü olmasındandır. Bu temel işlemler arasında hücre döngüsünün ilerlemesi, hücre bölünmesi, transkripsiyon ve sinyal mekanizmaları sayılabilir (Martinez ve ark., 2005).

Ubikuitin-proteazom sistemi hücrel homeostaz için gerekli olan hücre döngüsü düzenlenmesi, apoptoz, reseptör sinyalleşmesi, endositoz ve diğerleri gibi çok sayıda önemli süreçte rol oynar. Hücre büyümesi ve proliferasyonu; tümör baskılayıcıların, protoonkogenlerin ve sinyal ileti komponentlerin ubikuitin aracılı yıkımı ile kontrol edilir. Bunların doğal sonucu olarak ubikuitin-proteazom sistem bileşenlerinden biri ya da daha fazlasındaki bozukluk insan hastalıklarındaki önemli sebeplerden biri olarak düşünülmektedir (Dawson, 2008).

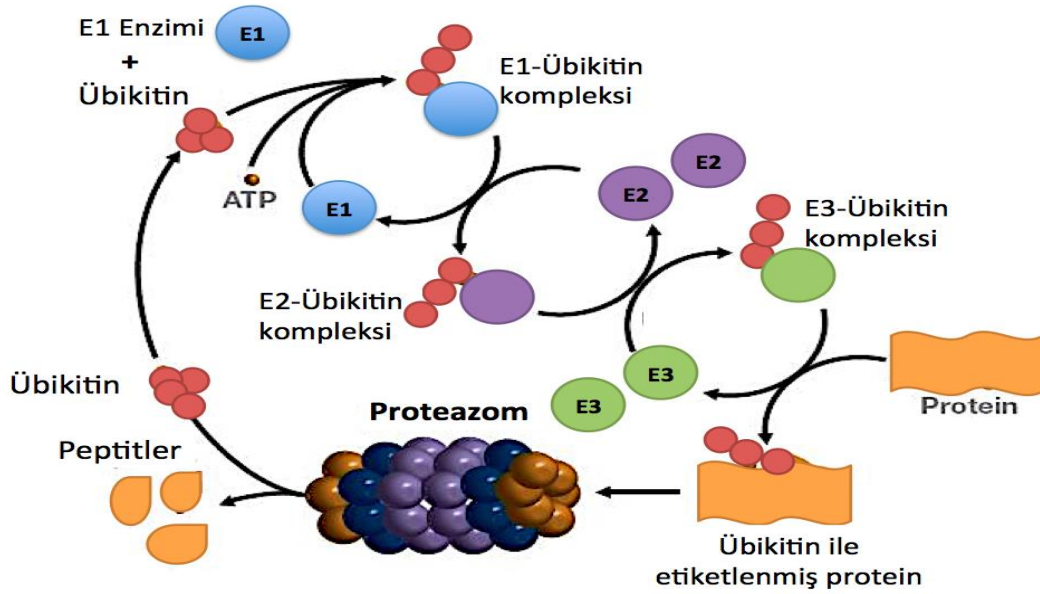
2.8.2. Ubikuitinasyon mekanizması

Regülatör proteinlerin ubikuitin aracılı yıkımı birçok metabolik olayda önemli rol oynar (King ve ark., 1996). Diğer proteinler için bir post-translasyonel modifikasyon işareti olarak etki eder. Ubikuitin, hedef proteinlerin bir çoğuna adenosintrifosfat (ATP) eşliğinde kovalent bağlanarak çeşitli regülatör prosesleri yönlendiren yüksekçe korunmuş bir proteindir (Kızıltunç ve Şahin, 1997). Kısa ömürlü

ve hatalı proteinler, sitozolde ATP bağımlı ubikuitin aracılı sistem ile yıkılır (Güney ve Bilgihan, 2002). Hedef proteinlere ubikuitin eklenmesi ATP bağımlı arka arkaya çalışan üç esansiyel enzim gerektirmektedir. Bunlar, ubikuitin aktive edici enzim (E1), ubikuitin konjuge edici enzim (E2) ve ubikuitin ligazdır (E3).

Ubikuitinin karboksil (C)-terminalindeki glisin kalıntısı, E1 tarafından uyarılır ve burada ATP gereklidir (Dawson, 2008). Ubikuitin adenilatın ara formu oluşur ve PPI salınır. Bunu takiben ubikuitin E1'deki sistein kalıntısına tioester bağı ile bağlanır ve adenoazinmonofosfat (AMP) açığa çıkar. Aktif ubikuitin, E2 enziminin sistein kalıntısına transfer edilir (Spataro ve ark., 1998). E3 enzimi, sistemin en önemli substrat belirleyici faktörü olarak çalışır. Ubikuitin, hedef proteinlerin lizin rezidülerine esas olarak ϵ -amino gruplarından, kendi C-terminal grubu ile izo-peptid bağı oluşturarak konjuge olur. Ubikuitinin kendisinde 7 tane lizin rezidüsü bulunur. Önceki ubikuitinde bulunan bu lizin rezidülerine yeni ubikuitinler eklenerek devam eden ubikuitin eklenme döngüsü oluşur. Bu yolla, bir hedef proteininde poli-ubikuitin zincirleri oluşturulabilir. Eğer hedef protein üzerindeki poli-ubikuitin zinciri bağlanmayı başarırsa ve ubikuitin parçaları dört veya daha fazla ise bu 26S proteazom için tanıma sinyali olarak etki eder. Proteazom daha sonra hedef proteini ATP'ye bağımlı yolla parçalar (Dawson, 2008) (Şekil. 2.4).

Ubikuitin toksik hasar, yüksek sıcaklık, viral enfeksiyon ve besin yoksunluğu gibi stresli koşullar altında anormal ve kısa ömürlü proteinlerin yıkımında görev alır (Osada ve ark., 1997). Ubikuitin molekülü anormal bir hücrenin malign hücreye dönüşümüyle ilgili hücre içi sinyaller, hücre proliferasyonu, bağışıklık yanıtı ve transkripsiyonun düzenlenmesi gibi birçok moleküler homeostatik mekanizmaya katılır (Spataro ve ark., 1998).



Şekil 2. 4. Ubikuitinasyon mekanizması

2.8.3. Ubikuitinin nörodejeneratif hastalıklardaki rolü

Ubikuitinlenmiş proteinlerin dejenere olmuş nöronlar içinde anormal nörofilamentlerin meydana getirdiği hücre içi inklüjin'lere bağlandığı tespit edilmiştir (Lowie ve ark., 1988; Perry ve ark., 1987). Bu inklüjinler değişik nörodejeneratif hastalıklarda değişik isimler almaktadırlar. Alzheimer hastalığına 'Spesifik Nörofibrilleri Tangıls', Parkinson hastalığında 'Lewy Badiler' ve motor nöron hastalığında 'İnklüjin Badiler' isimlerini alırlar (Cole ve Timiras, 1987; Manetto ve ark., 1989). Genel olarak hastalıktaki anormal hücre içi filamentlerin immünohistokimyasal metodlarla ubikuitinlendiği ve ubikuitinin bu yapılara bağlanarak bu anormal yapıları ortadan kaldırmak için görev yaptığı sanılmaktadır (Brion ve ark., 1991).

Diğer taraftan Ubikuitin Karboksi Terminal Hidrolaz-L1 enzim (UCH-L1) molekülü de, nöronal yaralanma ve kan beyin bariyeri bozukluklarında son zamanlarda kullanılan önemli ve yeni bir biyomarker olarak kabul edilmiştir (Thompson ve ark., 1983). UCH-L1 nöronlar, nöroendokrin sistem ve beyin tümör hücrelerine son derece özgün olan ubikuitin polimerlerini monomerik forma dönüştüren bir enzimdir. Bu görevi dolayısıyla da ubikuitin-proteazom sisteminde önemli bir rol oynar. UCH-L1 enziminin Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, Alzheimer hastalığı, Amyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkisi araştırılarak çoğunlukla

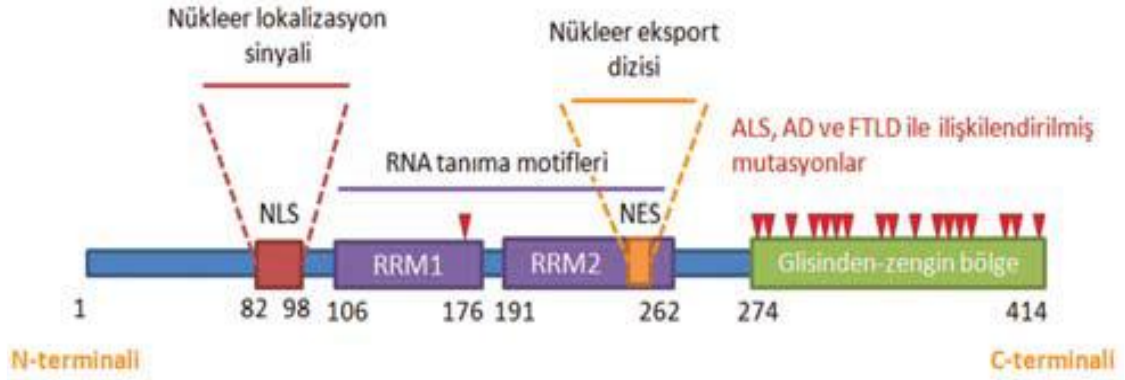
nöronlarda yoğunlaşmış sitoplazmik bir enzimdir (Lewis ve ark., 1983; Liu ve ark., 2010). UCH-L1'in BOS ve kandaki artan konsantrasyonu, nöron yıkımı ve kan beyin bariyeri geçirgenliğindeki artış ile ilişkilendirilmiştir (Blyth ve ark., 2011). Anevrizmal subaraknoid kanama, travmatik beyin hasarı (TBI), felç ve neonatal hipoksik-iskemik ensefalopatinin de dahil olduğu çok sayıda nörolojik rahatsızlıklarda UCH-L1 konsantrasyonunun yüksek olduğu bildirilmiştir. TBI sonrası, kan UCH-L1 seviyesi yaralanmanın şiddeti, taburcu edilme süresi ve yaralanmadan sonraki 6 aylık süreçle ilişkilendirilir (Mondello ve ark., 2012a). Dikkate değer bir şekilde bu nöronal protein kaybı yaralanmadan hemen sonra, BOS ve kanda kolayca saptanabilir. Bu durumda potansiyel nöroprotektif stratejiler için değerli bir zaman kazanımı sağlar (Brophy ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada epileptik bozukluğu bulunan hastalarda nöbet sonrası BOS'taki UCH-L1 seviyelerinin yükseldiği ve tekrar eden tonik-klonik nöbet geçiren hastalar ile tek nöbet geçiren hastaların karşılaştırılmasında, tekrar eden tonik-klonik nöbet geçiren hastaların seviyelerinin diğer gruba göre daha yüksek UCH-L1 seviyelerine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışma ile UCH-L1'in epileptik bozukluk sonrası nöronal hasar için bir markır olabileceği ileri sürülmüştür (Li ve ark., 2013). Yine başka bir çalışmada epileptik bozukluğu bulunan hastalarda geçirilen nöbet sayısının artması ile hem BOS hem de plazma UCH-L1 düzeylerinin arttığı bildirilmiş ve bu sonuçların klinisyenlerin daha doğru bir tanı yapmada yardımcı olabileceği belirtilmiştir (Mondello ve ark., 2012b).

2.9. Transaktif Yanıt DNA Bağlayıcı Protein-43

Transaktif Yanıt DNA Bağlayıcı Protein-43 (TDP-43), 43 kDa ağırlığında bir proteindir. İlk olarak HIV1 virüsünün TDP-43 dizisine bağlanarak transkripsiyonun baskılama özelliğine sahip bir protein olarak tanımlandı. Daha sonra *Kistik Fibrozis*'de alternatif kırılma işlemini düzenleyen bir faktör olduğu görüldü. Tüm dokularda yüksek miktarda sentezlenen 414 aminoasit uzunluğundaki TDP-43 proteini, omurgasızlardan memelilere kadar bütün canlılarda evrimsel olarak çok iyi korunmuştur. Sağlıklı hücredeki lokalizasyonu çekirdekte olan TDP-43, DNA/RNA bağlayıcı, heterojen ribonükleer protein A/B (hnRNP) ailesine ait bir proteindir ve bir dizi farklı görevi vardır (Cohen ve ark., 2011; Ou ve ark., 1995; He ve Smith., 2009).

TDP-43'ün C-terminal kısmı işlevsel bölgeleri, nükleer lokalizasyon ve nükleer eksport sinyalleri, nükleik asitlere bağlandığı iki RNA tanıyıcı motifi, glisin amino asitince zengin ve protein-protein ilişkilerinden sorumlu yerdir (Şekil 2.5).



Şekil 2. 5. TDP-43 geni

TDP-43'ün, bir nükleer lokalizasyon sinyali (NLS), iki RNA tanıma motifi, bir nükleer eksport dizisi (NES) ve C-terminal bölgesi vardır. Nörodejenerasyona neden olan mutasyonların büyük çoğunluğunu içeren C-terminal bölgesi, hem TDP-43'ün diğer proteinlerle olan ilişkilerinden sorumludur, hem de alternatif kırılma ve transkripsiyonel baskılama için gereklidir, dolayısıyla bu bölgedeki mutasyonlar protein işlevini olumsuz etkiler (Cohen ve ark.,2011; Baloh, 2011).

C-terminal bölgesi hem diğer hnRNP proteinleri ile olan ilişkiler için, hem de alternatif kırılmanın ve transkripsiyonel baskılamanın kontrolü için gereklidir. mRNA'ya ve DNA'ya bağlanabilen TDP-43, RNA metabolizmasının farklı aşamalarını (mRNA kırılması, stabilitesi, translasyonu ve gen transkripsiyonunu) çekirdek ile stoplazma arasında mekik dokuyarak (NLS ve NES sayesinde) düzenler. C-terminal bölgesi TDP-43 agregasyonu için kritiktir. Normal şartlarda çekirdekte bulunan protein, patolojik durumda inklüzyonlar halinde stoplazmada ve distrofik nöronların uzantılarında (nöritlerde) agregat olur. Buna karşılık TDP-43 inklüzyonları hücre çekirdeğinde oldukça nadirdir. TDP-43'ün hücre çekirdeğinden eksilmesi, stoplazma ve nöritlerdeki inklüzyonların neden olduğu toksik işlev kazanma mekanizmasına ek olarak, bir işlev kaybı türü mekanizmanın varlığına da işaret etmektedir (Cohen ve ark., 2011; Baloh, 2011; Buratti ve Baralle, 2009).

TDP-43'de tanımlanmış olan, biri hariç tüm mutasyonların C-terminalinde bulunması, bu bölgedeki yapı ve işlev değişikliğinin -henüz bilinmeyen bir mekanizmayla- nörodejenerasyonu tetiklediğini düşündürmektedir. Hastalık durumunda

sadece C-terminalini içeren, farklı uzunluklarda fragmentlere parçalanan ve fosforile olan TDP- 43 proteini bu haliyle agregasyona çok yatkındır (Baloh, 2011; Kwong ve ark., 2008).

İnsanda TDP-43 patolojisi çalışmaları üç farklı sonuç halinde özetlenebilir:

- (i) TDP-43 proteininin normalde lokalize olduğu çekirdekten çıkarak sitoplazmada agregat oluşturması, bugüne kadar bilinen TDP-43 hastalıklarında ortak ve tutarlı bir patolojidir.
- (ii) TDP-43 patolojisinin hücre-içi dağılımı farklı nörodejeneratif hastalıklarda değişkenlik göstermektedir.
- (iii) TDP-43 patolojisi, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) veya Frontotemporal Lober Dejenerasyonu'na yani sinir hücrelerinin ilerleyici bozulma süreci ile tanımlanan rahatsızlığa özgü değildir. Pek çok nörodejeneratif hastalıkta ve 65 yaş üstü sağlıklı bireylerde sıklıkla görülmektedir (Calamini ve ark., 2011; Baloh, 2011; Geser ve ark., 2010; Neumann ve ark., 2006).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Grupları

Bu araştırmaya etik kurul onayı alındıktan sonra Mayıs 2014 ve Ocak 2015 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Psikiyatri Polikliniğine başvuran, ailesinin onayı alınmış, yaşları 3-12 arasında değişen 60 çocuğun çalışmaya dahil edilmesi planlandı. Bunun için 2 klinik grup seçildi. Birincisi, 30 çocuktan oluşan otizm grubunu ve ikincisi, 30 çocuktan oluşan kontrol grubunu teşkil eder.

Kan örneklerinin alınması sırasında hastaların herhangi bir alerjik durumlarının, akut enfeksiyonlarının, sistemik hastalıklarının olmamasına, ayrıca son zamanlarda kullanmış oldukları ilaçların olmadığına dikkat edilmiştir. Bu araştırma projesi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik ve ilaç Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'ndan 01.04.2014 tarihinde onay almıştır.

3.1.1 Otizm grubu

Değerlendirilmeye alınan çocuklar konuşma ve sosyal iletişim alanında var olan yakınmalar nedeniyle hastanemize başvuran hastalardan DSM-IV kriterlerine göre otizm tanısı almış, farmakolojik tedavi almamış 30 çocuk (19 erkek, 11 kız) seçilmiştir. Araştırmanın otizm grubu, çalışmaya dahil edilirken otistik semptom şiddeti derecelendirme ölçeği olarak, Childhood Autism Rating Scale (CARS) puanı esas alınmıştır.

CARS (Çocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği-Childhood Autism Rating Scale)

Her madde, 1 ile 4 arasında yarım derecelik puanlama ile derecelendirilmektedir. Ayrıca görüşmeci, hasta ile ilgili gözlemlerini de not eder. Toplam puanı 30'un üzerinde olan çocuklar otizm tanısı alır ve puan arttıkça hastalığın şiddeti de artar. Bu ölçeğin ülkemizdeki geçerlilik ve güvenilirliğine dair ilk veriler 1996 yılında Sucuoğlu ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir.

CARS, her dört puanlık bir ölçekte puan hesaplanması yaparak 15 kategoriden oluşuyor. Bir birey için toplam puan 37-60 aralığında olduğunda ağır, toplam puan 30-

36 aralığında olduğunda ise orta, 0-36 aralığı ise hafif- orta derecede otistik olarak kabul edilir.

CARS, 15 alt ölçekten oluşmaktadır (Schopler ve ark., 1980) (Bkz. EK-2).

Bunlar:

- 1) İnsanlarla ilişki
- 2) Taklit
- 3) Duygusal tepki
- 4) Vücut kullanımı
- 5) Nesne kullanımı
- 6) Değişikliklere uyum sağlama
- 7) Görsel tepki
- 8) Dinleme tepkisi
- 9) Tat, koku ve dokunma tepkileri ve kullanımı
- 10) Korku ya da ürkeklik
- 11) Sözel iletişim
- 12) Sözel Olmayan iletişim
- 13) Etkinlik düzeyi
- 14) Entellektüel yanıtın düzeyi ve uygunluğu
- 15) Genel izlenimler

Her bir alt başlık normal / şiddetli anormallik arasında puanlanır:

- 1- Çocuğun davranışı yaşına göre normal sınırlardadır.
- 2- Hafif anormallik
- 3- Orta derecede anormallik
- 4- Şiddetli anormal davranış

3.1.2. Kontrol grubu

Herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 30 sağlıklı çocuk (20 erkek, 10 kız) çalışmaya dahil edilmiştir. Araştırmanın kontrol grubu, ruhsal ya da kronik bedensel bir hastalık nedeniyle hastanede izlemi olmayan aşı ya da kontrol amaçlı olarak Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvurmuş, yaş ve

cinsiyet bakımından hasta grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermeyen bir grup sağlıklı çocuktan oluşmuştur.

3.2. Numunelerin Alınması, Transferi ve Laboratuvar Çalışması

Kan örnekleri, 12 saat açlıktan sonra 08.00–10.00 saatleri arasında serum için antikoagülanlı olan etilen diamin tetra asetik asit’li (EDTA) tüplere alındı. Oda sıcaklığında yarım saat bekletilen kanlar 4000 g’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra analiz anına kadar -70 °C’de muhafaza edildi.

Alınacak kan örnekleri, köpük kutular içerisinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına transfer edildi. Köpük kutular 24 saat öncesinde buzdolabında bekletilerek, içerisinde ise dört bir tarafına, -80 derecede bekletilmiş buz aküleri yerleştirilecek ve ağzı koli bantları ile kapatılarak ısı teması kesildi.

Kan örnekleri Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışılmıştır. Bu amaçla -80 °C’de saklanan serum örnekleri, buz akülerinin olduğu strafor köpük kutuda ve 3,5 saat içerisinde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalından, örneklerin çalışılacağı Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına transfer edilmiştir.

Klinik gruplardan alınacak kan, ticari olarak satılmakta olan GFAP, Nogo-A, UCH-L1 ve TDP-43 moleküllerine ait ELISA kitleri ile kantitatif analiz yapılarak, otistik grubu ve kontrol grubu değerleri karşılaştırıldı.

3.3. Araştırmada Kullanılan Gereçler

1-DMS-IV kriterlerine göre otizm tanısı almış farmakolojik tedavi almamış 30 çocuktan alınan kan örnekleri (kan serumları).

2- Herhangi bir sistemik bozukluğu olmayan sağlıklı 30 çocuktan alınan kan örnekleri.

3- Human glial fibriler asidik protein (GFAP) ELISA Kit

4-Human anti-Nogo-A antibody (Nogo-A Ab) ELISA Kit

5-Human ubiquitin karboksi terminal hidrolaz L1 (UCHL1) ELISA Kit

6-Human TAR DNA bağlayıcı protein 43 (TDP-43) ELISA Kit

7-1000 ml ölçütte olan cam mezür

8-Vorteks

9-Çözelti kabı

10-Distile su

- 11-ELISA test cihazı
- 12-10 adet cam tüp
- 13-Doz ayarlı multi kanallı pipet
- 14-Santrifüj
- 15-Shakerlı Etüv Cihazı
- 16-ELISA plate yıkama cihazı
- 17-Plate Bandı
- 18-ELISA Plate Yıkama Sıvısı

3.4. Serumda GFAP Ölçümü

3.4.1. Kullanılan kitin içeriği

- 1) GFAP monoklonal antikoru ile kaplanmış 96'lık plate
- 2) Standart Çözeltisi (0.5ml×1)
- 3) Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz Çözeltisi (6ml×1)
- 4) Stop Çözeltisi (6ml×1)
- 5) Kromojenik reaktif A (6ml×1)
- 6) Kromojenik reaktif B (6ml×1)
- 7) Biotinle işaretlenmiş anti GFAP antikoru (1ml×1)
- 8) Standart dilüsyon çözeltisi (3ml×1)
- 9) Yıkama Çözeltisi (20ml×30)×1

3.4.2. GFAP ölçümünün prensibi

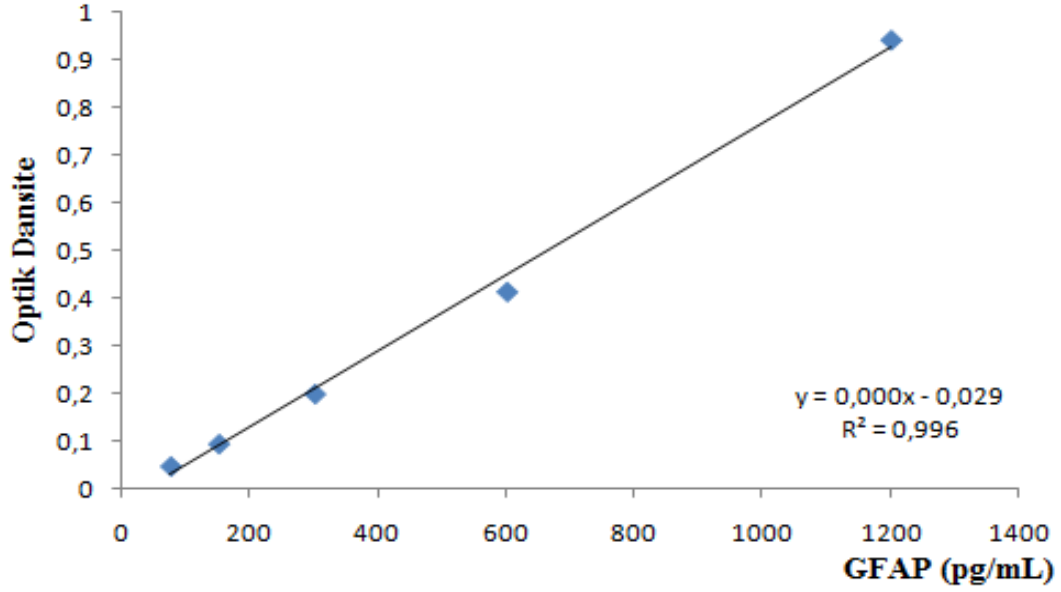
Bu kit insana ait biyolojik sıvı örneklerinde GFAP konsantrasyonlarını ölçmek için çift bağlı antikor sandviç yöntemini esas alan enzim bağlı immunosorbent ölçümüdür. GFAP içeren örnekler, GFAP monoklonal antikoru ile kaplanmış plate kuyucuklarına eklenerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra biyotinle işaretlenmiş GFAP antikoru ve streptavidin-HRP çözeltisi ile immune kompleks oluşturulur. Bağlanmamış enzimler ortamdan yıkama sayesinde temizlenerek, A ve B renk substratı eklenir. Çözelti rengi mavi renkten sarı renge dönüşür. Örneklerdeki renk şiddeti, örneklerdeki GFAP konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.4.3. Ölçüm prosedürü

- 1-Standart stok solusyonu (20 ng/mL), standart dilüsyon çözeltisi kullanılarak belli konsantrasyonlarda (20 ng/mL-10 ng/mL-5 ng/mL-2,5 ng/mL-1,25 ng/mL) dilüe edildi.
- 2-Kör kuyucuklarına herhangi bir ekleme yapılmadı.
- 3-Standartlar standart kuyucuklarına azalan konsantrasyonlarda 50µl eklendi.
- 4-Serum örneklerinden 40µl eklendi.
- 5-Serum örneklerinin olduğu kuyucuklara 10 µl GFAP antikorundan eklendi.
- 6-Standart ve serum örnek kuyucuklarına streptavidin-HRP çözeltisinden 50µl eklenerek plate üzeri membran ile örtüldü ve 60 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 7-Yıkama çözeltisi ile plate 5 kez yıkandı.
- 8-Renk gelişmesi için, kromojenik reaktif A ve B çözeltilerinden 50'şer µl eklenerek plate üzeri membran ile örtülüp 10 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 9-İnkübasyon sonrası platenin bütün kuyucuklarına HCl asit içeren stop çözeltisi eklenerek renk değişiminin inhibisyonu sağlanır ve 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansitesi tespit edildi.

3.4.4. Hesaplama

Kör kuyucukları sıfır kabul edilerek, standart çözeltilerinin konsantrasyonları ve optik dansiteleri ile grafik çizilerek, kit prospektüsünde tanımlandığı şekliyle doğrusal bir grafik elde edildi. Serum örneklerinin optik dansiteleri de bu grafiğe yerleştirilerek GFAP konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1. GFAP standart grafiği

Kullanılan kitin ölçüm aralığı ve hassasiyeti

Ölçüm Aralığı : 5 pg/ml→2000 pg/ml.

Ölçüm Hassasiyeti : 2.48 pg/ml.

Paket boyutu : 96'lık plate

Kit ömrü ve Depolama : 2-8 °C'de 6 ay, -20 °C de 12 ay

3.5. Serumda Nogo-A Ölçümü

3.5.1. Kullanılan kitin içeriği

- 1- Nogo-A monoklonal antikorlu ile kaplanmış 96'lık plate
- 2- Standart Çözeltisi (0.5ml×1)
- 3- Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz Çözeltisi (6ml×1)
- 4- Stop Çözeltisi (6ml×1)
- 5- kromojenik reaktif A (6ml×1)
- 6- kromojenik reaktif B (6ml×1)
- 7- Biotinle işaretlenmiş anti Nogo-A antikorlu (1ml×1)
- 8- Standart dilüsyon çözeltisi (3ml×1)
- 9- Yıkama Çözeltisi (20ml×30)×1

3.5.2. Nogo-A ölçümünün prensibi

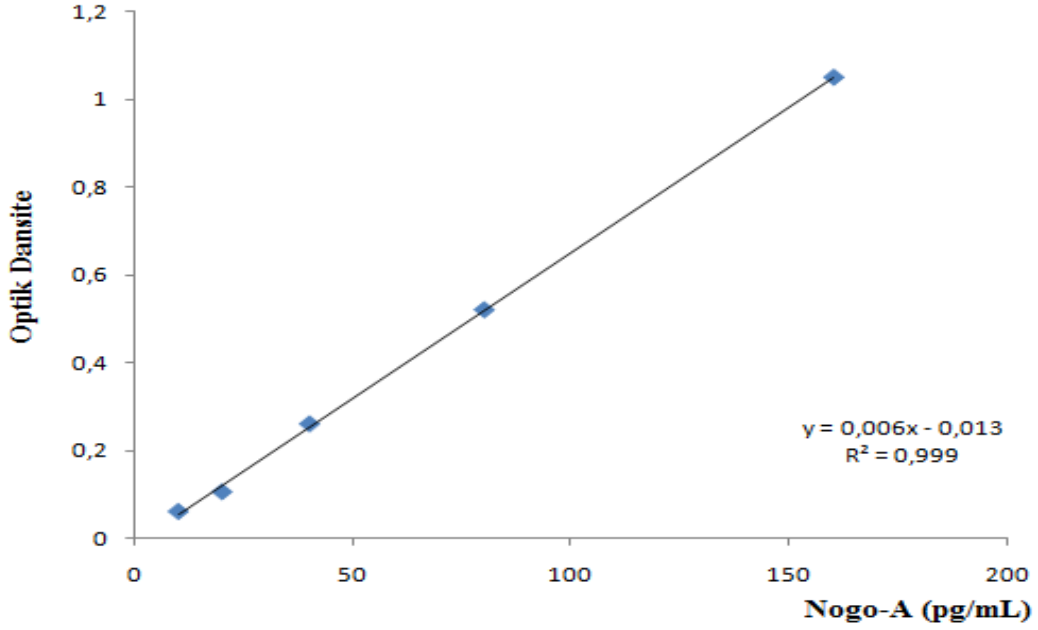
Bu kit insana ait biyolojik sıvı örneklerinde Nogo-A konsantrasyonlarını ölçmek için çift bağlı antikor sandiviç yöntemini esas alan enzim bağlı immunosorbent ölçümüdür. Nogo-A içeren örnekler, Nogo-A monoklonal antikor ile kaplanmış plate kuyucuklarına eklenerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra biyotinle işaretlenmiş Nogo-A antikor ve streptavidin-HRP çözeltisi ile immune kompleks oluşturulur. Bağlanmamış enzimler ortamdan yıkama sayesinde temizlenerek, A ve B renk substratı eklenir. Çözelti mavi renkten sarı renge dönüşür. Çözeltinin renk şiddeti, örneklerdeki Nogo-A konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.5.3. Ölçüm prosedürü

- 1-Standart stok solusyonu (20 ng/mL), standart dilüsyon çözeltisi kullanılarak belli konsantrasyonlarda (20 ng/mL-10 ng/mL-5 ng/mL-2,5 ng/mL-1,25 ng/mL) dilue edildi.
- 2-Kör kuyucuklarına herhangi bir ekleme yapılmadı.
- 3-Standartlar standart kuyucuklarına azalan konsantrasyonlarda 50µl eklendi.
- 4-Serum örneklerinden 40µl eklendi.
- 5-Serum örneklerinin olduğu kuyucuklara 10 µl Nogo-A antikorundan eklendi.
- 6-Standart ve serum örnek kuyucuklarına streptavidin-HRP çözeltisinden 50µl eklenerek plate üzeri membran ile örtüldü ve 60 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 7-Yıkama çözeltisi ile plate 5 kez yıkandı.
- 8-Renk gelişmesi için, kromojenik reaktif A ve B çözeltilerinden 50'şer µl eklenerek plate üzeri membran ile örtülüp 10 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 9-İnkübasyon sonrası platenin bütün kuyucuklarına HCl asit içeren stop çözeltisi eklenerek renk değişiminin inhibisyonu sağlanır ve 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansitesi tespit edildi.

3.5.4. Hesaplama

Kör kuyucukları sıfır kabul edilerek, standart çözeltilerinin konsantrasyonları ve optik dansiteleri ile grafik çizilerek, kit prospektüsünde tanımlandığı şekliyle doğrusal bir grafik elde edildi. Serum örneklerinin optik dansiteleri de bu grafiğe yerleştirilerek Nogo-A konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. Nogo-A standart grafiği

Kullanılan kitin ölçüm aralığı ve hassasiyeti

Ölçüm Aralığı : 1 pg/ml-300 pg/ml.

Ölçüm Hassasiyeti : 1 pg/ml.

Paket Boyutu : 96'lık plate.

Kit ömrü ve Depolama : 2-8 °C'de 6 ay, -20 °C de 12 ay

3.6. Serumda UCH-L1 Ölçümü

3.6.1. Kullanılan kitin içeriği

- 1- UCH-L1 monoklonal antikoruna ile kaplanmış 96'lık plate
- 2- Standart Çözeltisi (0.5ml×1)
- 3- Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz Çözeltisi (6ml×1)
- 4- Stop Çözeltisi (6ml×1)
- 5- Kromojenik reaktif A (6ml×1)
- 6- Kromojenik reaktif B (6ml×1)
- 7- Biotinle işaretlenmiş anti UCH-L1 antikoruna (1ml×1)
- 8- Standart dilüsyon çözeltisi (3ml×1)
- 9- Yıkama Çözeltisi (20ml×30)×1

3.6.2. UCH-L1 ölçümünün prensibi

Bu kit insana ait biyolojik sıvı örneklerinde UCH-L1 konsantrasyonlarını ölçmek için çift bağı antikor sandiviç yöntemini esas alan enzim bağı immunosorbent ölçümüdür. UCH-L1 içeren örnekler, UCH-L1 monoklonal antikoruna ile kaplanmış plate kuyucuklarına eklenerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra biyotinle işaretlenmiş UCH-L1 antikoruna ve streptavidin-HRP çözeltisi ile immune kompleks oluşturulur. Bağlanmamış enzimler ortamdan yıkama sayesinde temizlenerek, A ve B renk substratı eklenir. Çözelti mavi renkten sarı renge dönüşür. Örneklerdeki renk şiddeti, örneklerdeki UCH-L1 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.6.3. Ölçüm prosedürü

- 1-Standart stok solusyonu (20 ng/mL), standart dilüsyon çözeltisi kullanılarak belli konsantrasyonlarda (20 ng/mL-10 ng/mL-5 ng/mL-2,5 ng/mL-1,25 ng/mL) dilüe edildi.
- 2-Kör kuyucuklarına herhangi bir ekleme yapılmadı.
- 3-Stantardlar standart kuyucuklarına azalan konsantrasyonlarda 50µl eklendi.
- 4-Serum örneklerinden 40µl eklendi.
- 5-Serum örneklerinin olduğu kuyucuklara 10 µl UCH-L1 antikorundan eklendi.

6-Standart ve serum örnek kuyucuklarına streptavidin-HRP çözeltisinden 50µl eklenerek plate üzeri membran ile örtüldü ve 60 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.

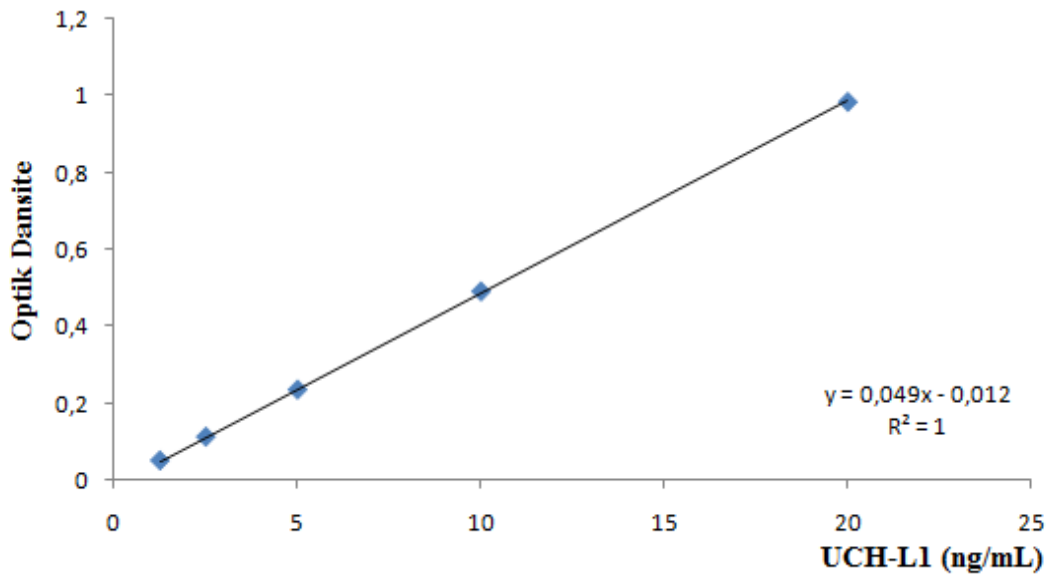
7-Yıkama çözeltisi ile plate 5 kez yıkandı.

8-Renk gelişmesi için, kromojenik reaktif A ve B çözeltilerinden 50'şer µl eklenerek plate üzeri membran ile örtülüp 10 dakika 37 °C'de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.

9-İnkübasyon sonrası platenin bütün kuyucuklarına HCl asit içeren stop çözeltisi eklenerek renk değişiminin inhibisyonu sağlanır ve 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansitesi tespit edildi.

3.6.4. Hesaplama

Kör kuyucukları sıfır kabul edilerek, standart çözeltilerinin konsantrasyonları ve optik dansiteleri ile grafik çizilerek, kit prospektüsünde tanımlandığı şekliyle doğrusal bir grafik elde edildi. Serum örneklerinin optik dansiteleri de bu grafiğe yerleştirilerek UCH-L1 konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.3).



Şekil 3. 3. UCH-L1 standart grafiği

Kullanılan kitin ölçüm aralığı ve hassasiyeti

Ölçüm Aralığı : 0.1 ng/ml→38 ng/ml.

Ölçüm Hassasiyeti : 0.05 ng/ml.

Paket boyutu : 96'lık plate.

Kit ömrü ve Depolama : 2-8 °C'de 6 ay, -20 °C de 12 ay

3.7. Serumda TDP-43 ölçümü

3.7.1. Kullanılan kitin içeriği

- 1- TDP-43 monoklonal antikoru ile kaplanmış 96'lık plate
- 2- Standart Çözeltisi (0.5ml×1)
- 3- Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz Çözeltisi (6ml×1)
- 4- Stop Çözeltisi (6ml×1)
- 5- Kromojenik reaktif A (6ml×1)
- 6- Kromojenik reaktif B (6ml×1)
- 7- Biotinle işaretlenmiş anti TDP-43 antikoru (1ml×1)
- 8- Standart dilüsyon çözeltisi (3ml×1)
- 9- Yıkama Çözeltisi (20ml×30)×1

3.7.2. TDP-43 ölçümünün prensibi

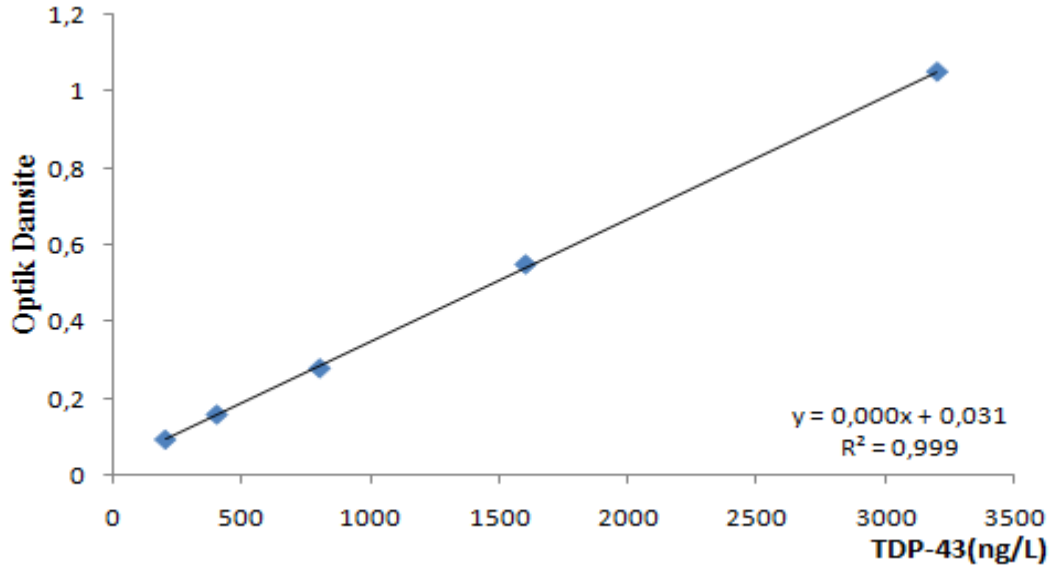
Bu kit insana ait biyolojik sıvı örneklerinde TDP-43 konsantrasyonlarını ölçmek için çift bağlı antikor sandiviç yöntemini esas alan enzim bağlı immunosorbent ölçümüdür. TDP-43 içeren örnekler, TDP-43 monoklonal antikoru ile kaplanmış plate kuyucuklarına eklenerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra biyotinle işaretlenmiş TDP-43 antikoru ve streptavidin-HRP çözeltisi ile immune kompleks oluşturulur. Bağlanmamış enzimler ortamdan yıkama sayesinde temizlenerek, A ve B renk substratı eklenir. Çözelti mavi renkten sarı renge dönüşür. Örneklerdeki renk şiddeti, örneklerdeki TDP-43 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.7.3. Ölçüm prosedürü

- 1-Standart stok solusyonu (20 ng/mL), standart dilüsyon çözeltisi kullanılarak belli konsantrasyonlarda (20 ng/mL-10 ng/mL-5 ng/mL-2,5 ng/mL-1,25 ng/mL) dilüe edildi.
- 2-Kör kuyucuklarına herhangi bir ekleme yapılmadı.
- 3-Stantardlar standart kuyucuklarına azalan konsantrasyonlarda 50µl eklendi.
- 4-Serum örneklerinden 40µl eklendi.
- 5-Serum örneklerinin olduğu kuyucuklara 10 µl TDP-43 antikorundan eklendi.
- 6-Standart ve serum örnek kuyucuklarına streptavidin-HRP çözeltisinden 50µl eklenerek plate üzeri membran ile örtüldü ve 60 dakika 37 °C’de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 7-Yıkama çözeltisi ile plate 5 kez yıkandı.
- 8-Renk gelişmesi için, kromojenik reaktif A ve B çözeltiilerinden 50’şer µl eklenerek plate üzeri membran ile örtülüp 10 dakika 37 °C’de ışıktan uzak bir ortamda inkübe edildi.
- 9-İnkübasyon sonrası platenin bütün kuyucuklarına HCl asit içeren stop çözeltisi eklenerek renk değişiminin inhibisyonu sağlanır ve 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansitesi tespit edildi.

3.7.4. Hesaplama

Kör kuyucukları sıfır kabul edilerek, standart çözeltiilerinin konsantrasyonları ve optik dansiteleri ile grafik çizilerek, kit prospektüsünde tanımlandığı şekliyle doğrusal bir grafik elde edildi. Serum örneklerinin optik dansiteleri de bu grafiğe yerleştirilerek TDP-43 konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.4).



Şekil 3. 4. TDP-43 standart grafiği

Kullanılan kitin ölçüm aralığı ve hassasiyeti

Ölçüm Aralığı : 20 ng/L→6000 ng/L.

Ölçüm Hassasiyeti : 10.49 ng/L.

Paket boyutu : 96'lık plate.

Kit Ömrü ve Depolama : 2-8 °C'de 6 ay, -20 °C de 12 ay

3.8. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistikler

Tüm istatistik analizler SPSS 17.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar kategorikal değişkenler için yüzde değerler olarak, sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. Demografik ve klinik özelliklere ait tek değişkenli verilerin karşılaştırılması için Ki-Kare testi, sürekli değişkenlerin karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon analizi için Spearman Korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık 0.05 olarak belirlendi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Çalışmaya 3-12 yaş arası 30 otistik bozukluk tanısı almış ve herhangi bir psikiyatrik tanı almayan, gelişimsel gecikmesi olmayan kontrol grubu 30 çocuk olmak üzere toplam 60 çocuk dahil edilmiştir. Çalışmaya kontrol grubundan 10 kız (%23.9), 20 erkek çocuk (%74.1) olmak üzere toplam 30 çocuk katılmıştır, OB grubundan ise 11 kız (%26.9), 19 erkek çocuk (%73.1) çocuk katılmıştır. Çalışmaya katılan kontrol grubundaki çocukların yaş ortalaması (4.36 ± 1.92 yıl), OB bozukluk grubunun yaş ortalaması (4.03 ± 2.18 yıl) olarak (yaş aralığı 3-12) bulunmaktadır. Çalışmaya katılan OB grubundaki olgulara CARS sınıflandırma testi uygulandı ve ortalaması (46.8 ± 6.8) çıktı. Çalışmaya katılan OB grubundaki olgulara IQ score testi uygulandı ve ortalaması (34.1 ± 17.7) olarak bulundu. (Tablo 4.1). Yapılan analizler öncesi numune ön işlemlerinde kontrol grubu ve otizm grubundan ikişer örneğin hemolizli ve lipemik görünüm vermesi sebebi ile çalışmaya dahil edilmemiştir. Her iki gruptan 28 kişinin ölçüm bulguları istatistiksel analizleri yapılarak tabloya geçirilmiştir.

Tablo 4. 1. Kontrol ve otizm gurubuna ait temel karakteristikler

	Kontrol Grubu	Otizm Grubu	P
N	28	28	
Yaş	4.36 ± 1.92	4.03 ± 2.18	U= 320.500 p=.551
Cinsiyet Erkek [n (%)]	20 (%74.1)	19 (%73.1)	$X^2= 0.007$; p= .934
CARS	-	46.8 ± 6.8	
IQ skoru	-	34.1 ± 17.7	

Veriler sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma, diğerleri yüzdelik dilimler şeklinde gösterilmiştir.

Tablo 4. 2. Kontrol ve otizm grubuna ait biyokimyasal değerler

	Kontrol Grubu	Otizm Grubu	P
N	28	28	
GFAP (pg/mL)	485.8 ± 133.6	174.7 ± 115.8	p<0,001
Nogo-A (pg/mL)	51.6 ± 17.2	74.5 ± 40.5	p>0,05
UCH-L1 (ng/mL)	6.06 ± 2.65	1.63 ± 1.17	p<0,001
TDP-43 (ng/L)	887.9 ± 327.7	313.7 ± 189.9	p<0,001

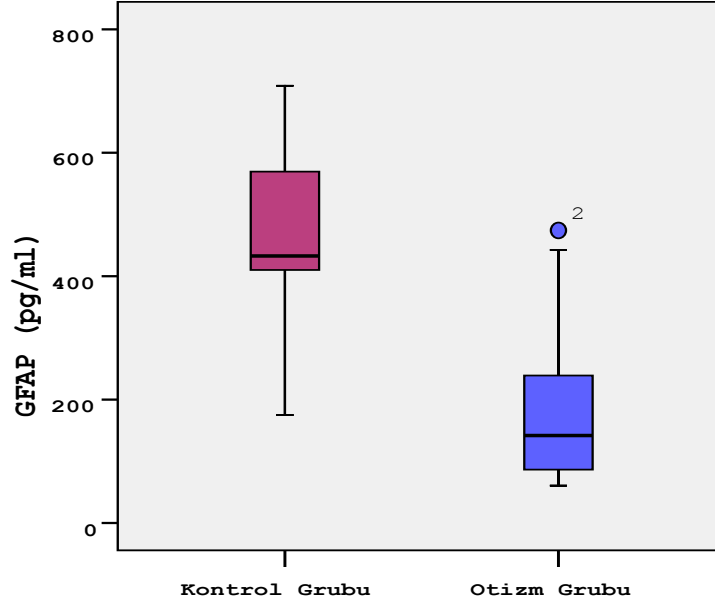
Veriler sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde gösterilmiştir.

4.1. GFAP Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları

Çalışmamızda kontrol grubu ile otistik grubun, GFAP düzeyleri açısından karşılaştırılması sonucunda, otistik grubun GFAP düzeylerinin (174.7 ± 115.8 pg/mL) kontrol grubu GFAP düzeylerine göre (485.8 ± 133.6 pg/mL) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ($p < 0,001$) olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2; Şekil 4.1).

Bazı postmortem çalışmalar, otistik çocuklarda mikrogial patolojinin önemli rol oynadığını öne sürmektedir (Vargas, 2005; Morgan, 2010; Tetreault, 2012; Morgan, 2012). Mikrogial işlemler sırasında nöronların etraflarının sarılması otizm patolojisinde bu hücre etkileşimlerinin önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır. Dahası çalışmalar otistik bireylerin beyinlerinde anlamlı düzeyde yüksek GFAP seviyelerinin varlığını rapor etmişlerdir. Bu bilgiler bize otizmde, mikrogial ve astroglial aktivasyonun varlığını göstermektedir (Frick, 2013).

Astroglial aktivasyonlar GFAP'ın hızla sentezlenmesini sağlamaktadır (Eng ve ark., 2000). Otizmde beyinde artmış GFAP seviyeleri gliozisi, reaktif yaralanma ve nöronal göç süreçlerinin bozulmasına işaret etmektedir (Laurence, 2005). Dolayısıyla otizmde mikrogial ve astroglial aktivasyonun intrasellüler alanda birikmesine ve daha sonra plazmaya geçmemesinden dolayı serum GFAP düzeylerinin düşük bulunmasına sebep olmuş olabilir. Ancak yapılan bir çalışmada Kirkman ve ark. (2008) otistik çocuklar ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını öne sürmektedir. Kirkman ve ark. (2008) çalışmalarında antikor cevabın neticelenmemesi sonucunda GFAP molekülü ile otizm arasında bir ilişkinin olmadığını öne sürmüşlerdir ancak, bu durum GFAP molekülünün otizm ile ilişkili olmadığı anlamına gelmemektedir. Öte yandan Kirkman ve ark. çalışmalarında manuel olarak enjekte edilen ticari antikorlar kullanmışlar ve sonuçları gösterirken de hassas kantitatif değerler olarak değil, sadece kalitatif değerler olarak göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise GFAP ölçümü için ticari kit kullanılmıştır. Ayrıca sonuçlar pg/ml düzeyi ile hassas kantitatif değerler olarak gösterilmiştir.



Şekil 4. 1. Kontrol grubu ile otizm grubu GFAP düzeylerinin karşılaştırılması

4.2. Nogo-A Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları

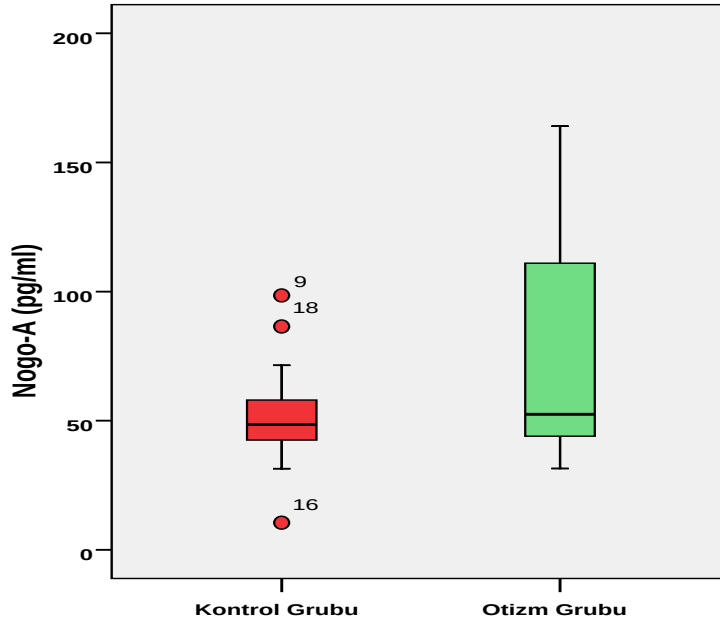
Çalışmamızın kontrol grubu ile otizm grubu Nogo-A düzeyleri açısından karşılaştırılması sonucunda, otizm grubu Nogo-A düzeyleri (74.5 ± 40.5 pg/mL) ile kontrol grubu Nogo-A düzeyleri (51.6 ± 17.2 pg/mL) arasında anlamlı bir farkın gözlenmediği ($p > 0,05$) istatistiksel olarak açıklandı (Tablo 4.2; şekil 4.2).

Nogo-A molekülü merkezi sinir sistemi yaralanması sonrasında aksonların kendi kendini tamir etmesini inhibe eden bir moleküldür. Nogo-A'nın reseptörü, büyümeye bağımlı süreçleri kısıtlayıp, mevcut MSS devresinin stabilizasyonunu sağlamaktadır (Kempf, 2013). Nogo-A, travma sonrası görüldükten ziyade alzheimer hastalığı, amiotrofik lateral skleroz ya da çoklu skleroz veya şizofrenik bozukluk gibi nörolojik ve psikiyatrik dejeneratif hastalıklarda da rol oynayabilir (Zorner, 2010). Nogo-A, sinir sisteminin gelişmesi esnasında, aksonların büyümesi ve filizlenmesi gibi düzenleyici bir fonksiyona sahip olabilir (Buffo ve ark., 2000).

Bu sebeple Nogo-A ekspresyonu erken postnatal gelişim döneminde azalabilir (Huber ve ark., 2002). Ancak çalışmamızdan elde edilen bulgularla otistik grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı düzeyde bir farklılık bulunmadı. Bu durum otistik çocuklarda Nogo-A'nın patofizyolojik bir rolünün olmadığını göstermez. Çalışmamızda Nogo-A'nın sadece serum düzeylerinin incelenmiş olması bu açıdan bir dezavantaj oluşturmaktadır. Bundan dolayı bundan

sonra yapılacak çalışmalar için BOS örneklerinin de araştırılması, Nogo-A'nın otizmdeki etkisini ve patofizyolojik rolünü anlamada daha yararlı olabilir.

Böyle bir sonucun alınmasında belki de beyin omirilik sıvı düzeyleri ve histopatolojik örnekler üzerinde bir incelemenin de etkisi olabilir. Ancak çalışmamızda elde edilen otistik çocuklara ait Nogo-A değerlerinin bundan sonra yapılacak çalışmalar için bir öngörü oluşturacağı düşüncesindeyiz.



Şekil 4. 2. Kontrol grubu ile otizm grubu Nogo-A düzeylerinin karşılaştırılması

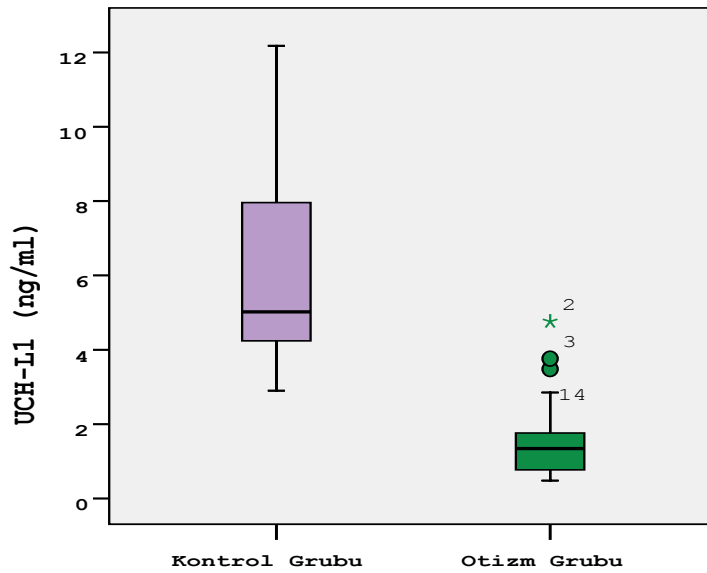
4.3. UCH-L1 Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları

Çalışmamızda kontrol grubu ile otistik grubun, UCH-L1 düzeyleri açısından karşılaştırılması sonucunda; otistik grubun UCH-L1 düzeylerinin (1.63 ± 1.17 ng/ml) kontrol grubu UCH-L1 düzeylerine göre (6.06 ± 2.65 ng/ml) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ($p < 0,001$) olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2; Şekil 4.3).

Çalışmamızda incelenilen moleküllerden bir diğeri UCHL-L1 molekülüdür. Yapılan literatür çalışmasına göre otizm tanısı alan çocuklarda UCHL-L1 molekülünün serum seviyelerinin ilk kez bizim çalışmamız ile incelendiği görülmüştür. Bununla birlikte otizm tanısı alan çocuklarda UCHL-L1 molekülünün TDP-43 molekül düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Davranış bozuklukları ve düzensizlikleri, insanda nöronal fonksiyonların anlaşılmasında en zayıf olan alanlarından birisidir.

Ubikuitinasyon, bir hedef proteine ubikitin molekülünün kovalent olarak bağlanması olup bazı nörolojik hastalıkları ve çoğu hücrel süreçleri regüle etmektedir. Angelman sendromu, otizmin en sık görülen genomik (dup15q) biçimlerinden bir tanesi olup sırasıyla bir ubikitin E3 ligaz olan UBE3A eksikliği veya aşırı olması neticesinde ortaya çıkmaktadır. Bu bulgular otizmde ubikuitinasyonun düzensiz bir şekilde gerçekleştiğinin önemli bir göstergesidir (Lee ve ark., 2014).

UCH-L1 molekülü, nöronlarda yüksek düzeyde ve spesifik olarak eksprese edilmekte ve proteazomal geçiş yolu vasıtasıyla parçalanacak proteinlerin ubikuitinasyon prosesinde rol oynamaktadır. Böylece normal ve patolojik süreçlerde oluşan oksidasyona uğramış veya yanlış katlanmış olan proteinlerin ortamdaki temizlenmesinde rol oynamaktadır (Diaz-Arrastia., 2014). Otizm fare modellerinde, UBA6 geni olmayan farelerde ubikuitinasyon ve otizm arasında ilişki olduğu bulunmuştur. Lee ve ark., beyinde UBA6 eksikliğinin otizme çok benzeyen bir fenotipe neden olduğunu ve OSB semptomlarının, çalışmalarında kullanılabilen bir fare modelini ortaya çıkardıklarını ifade etmişlerdir (Lee ve ark., 2015). Bu bulgulara ek olarak bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlarda otistik davranışların ortaya çıkmasında etkili olan ubikuitinasyon sürecinde diğer moleküllerin de rol aldığını ortaya çıkarmıştır



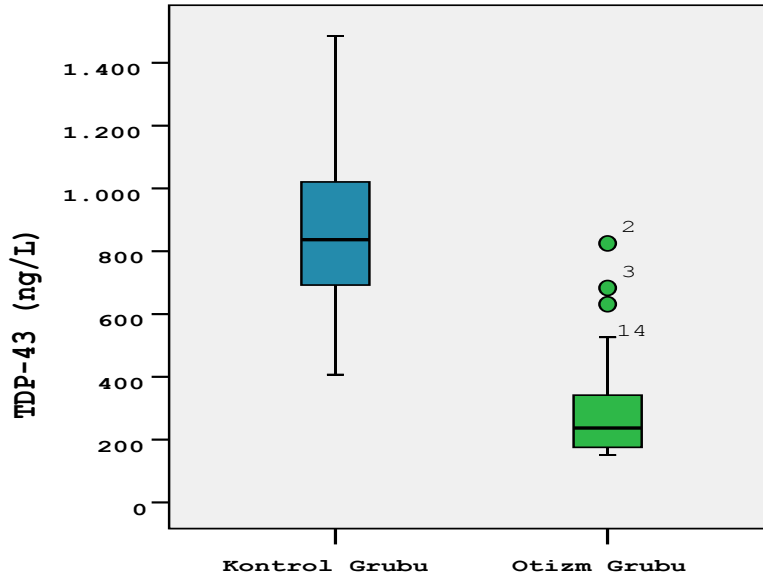
Şekil 4. 3. Kontrol grubu ile otizm grubu UCH-L1 düzeylerinin karşılaştırılması

4.4. TDP-43 Ölçümünün Bulgu ve Sonuçları

Çalışmamızda kontrol grubu ile otistik grubun, TDP-43 düzeyleri açısından karşılaştırılması sonucunda; otistik grubun TDP-43 düzeylerinin (313.7 ± 189.9 ng/L) kontrol grubu TDP-43 düzeylerine göre (887.9 ± 327.7 ng/L) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ($p < 0,001$) olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2; Şekil 4.4).

TDP-43, nükleositoloplazmik mekik konusunda yetenekli olan bir moleküldür. Çekirdek içerisinde, TDP-43, RNA'nın bağlanmasında ve micro RNA'nın fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir moleküldür. TDP-43 kendi mRNA'sının stabilitesini düzenleyebilecek bir potansiyele sahip olup, TDP-43 protein seviyelerinin ve farklı hücresel süreçlerin otoregülasyonunu etkileyebilecek bir mekanizma sağlar (Scotter ve ark., 2015).

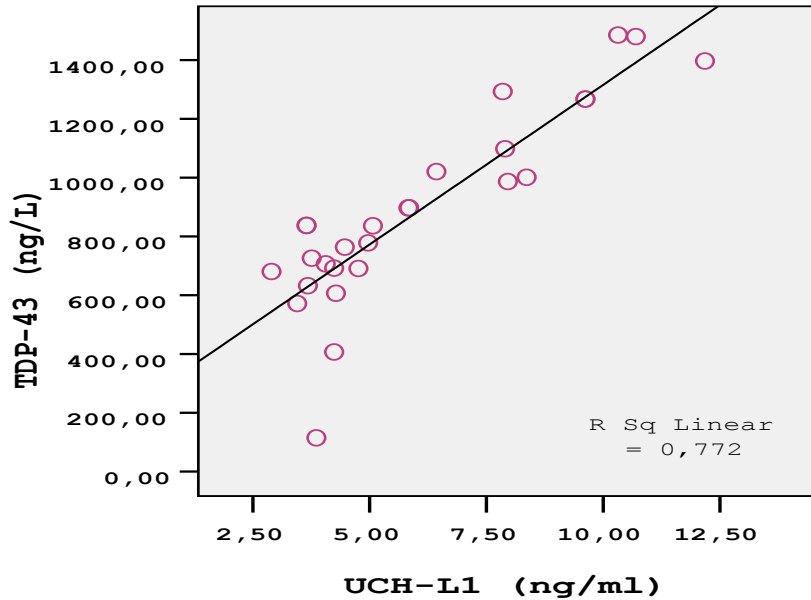
Bir başka çalışmada TDP-43 proteini, frontotemporal demensta bulunan kortikal nöronlar ve ALS'de bulunan spinal motor nöronlardaki birikmiş olan ubikuitinlenmiş nöronal sitoplazmik kalıntıların major komponenti olarak tanımlanmıştır (Neumann ve ark., 2006). Dolayısıyla TDP-43, stoplazmada bulunan ubikuitinlenmiş, hiperfosforilenmiş ve TDP-43'ün çekirdekten temizlenmesi ile ilişkili olan bir molekül olarak düşünülebilir.



Şekil 4. 4. Kontrol grubu ile otizm grubu TDP-43 düzeylerinin karşılaştırılması

4.5. TDP-43 ve UCH-L1 Arasındaki Korelasyon

Yaptığımız bu çalışmada yapılan korelasyon analizi sonucunda, TDP-43 ve UCH-L1 molekülleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon bulunmuştur. TDP-43 aşırı ekspresyonunu gösteren deneysel hayvan çalışmalarında, TDP-43 protein patolojisi ve hastalık fenotipleri özetlenmekte, ayrıca TDP-43'ün embriyo ölümüyle sonuçlanan toksikasyonun kazanılmasında rol oynadığını desteklenmektedir (Li ve ark., 2010; Wils ve ark., 2010). Bu bilgiler TDP-43'ün erken gelişimde hayati bir rol oynadığını açıkça göstermektedir. Bunlara ek olarak, ubikuitin proteazom sistem ve otofaji, TDP-43 homeostazisinin sürdürülmesinde rol üstlenmektedir (Scotter ve ark., 2015). Dolayısıyla, UCHL-L1 ve TDP-43'ün düşük serum seviyeleri ve bu moleküllerin birbirleri ile olan pozitif korelasyonları; otistik bozuklukta meydana gelen ubikuitinasyonun bozulma sürecinin bir göstergesi olarak düşünülebilir. Hücre içerisindeki hemen hemen bütün fizyolojik süreçlerde protein ubikuitinasyonunun gerçekleştiğinin bilindiği andan itibaren, bunun nöronal gelişim içerisinde ubikuitinasyonla ilişkili moleküler anormalliklere nasıl yol açtığına ileriiki çalışmalar ile çok daha sağlıklı bir şekilde ortaya konulacağını kanaatindeyiz (Şekil 4. 5).



Şekil 4. 5. Çalışma gruplarında TDP-43 ve UCH-L1 korelasyonu

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

- 1- Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, otizm tanısı alan çocuklar ve kontrol grubuna ait nöroplastisite, nörodejeneratif ve nöroprotektif molekül düzeylerinde farklılık bulunması, otizm sürecinde beyin biyokimyasında meydana gelen değişikliğin varlığını yansıtmaktadır.
- 2- Otizm tanısı alan çocuklarda nöroplastisite, nörodejeneratif ve nöroprotektif molekül düzeylerinde farklılık bulunması ile otistik çocuklarda nöronların büyümesi, gelişmesi ve birbirleri arasında kurdukları sinaps bağlantıları ve daha bir çok süreçte; nöroplastisite, nörodejenerasyon ve nöroproteksiyon sırasında sağlıklı çocukların nöronlarına göre farklı biyokimyasal süreçlerin gerçekleştiğini yansıtabilir.
- 3- Otizm tanısı alan çocuklarda serum GFAP düzeylerinin düşük çıkması otistik çocuklardaki otizmde mikrogial ve astroglial aktivasyonun bozulmasının ve GFAP moleküllerinin intrasellüler alanda birikmesinin bir işareti olarak düşünübilir.
- 4- Otizm tanısı alan çocuklardaki UCHL-L1 ve TDP-43 moleküllerinin düşük serum konsantrasyonları ve bu moleküllerin birbirleri ile istatistiksel düzeydeki pozitif korelasyonu, otizm sürecinde nöronda meydana gelen ubiquitinasyonun bozulma sürecinin bir göstergesi olarak düşünülebilir.
- 5- Çalışmamızda Nogo-A düzeyleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı olarak farklılık bulunmamıştır.
- 6- Elde edilen sonuçlar açısından çalışmamızın literatüre katkı sağlayacağı, bundan sonraki yapılacak çalışmalar için bir başlangıç oluşturacağı düşünülmektedir.

5.2. Öneriler

- 1- Deneysel ve hücresel çalışmalar yardımıyla, nöroplastisite ve nörodejenerasyon ve nöroprotektif süreçlerin otizm bozukluğundaki moleküler değişimlerinin tespit edilmesi, otizmin patofizyolojisinin aydınlatılmasına katkı sağlayabilir.
- 2- Daha fazla sayıda hasta ve kontrol grubunun dahil edildiği çalışmalar ile; GFAP, UCHL-L1 ve TDP-43 moleküllerinin otizmin tanısında biyomarker olarak kullanılıp kullanılmayacağının tespit edilmesinin, bu hastalığın tanı ve tedavi sürecini olumlu etkileyeceğini düşünmekteyiz.
- 3- Nöroplastisite, nörodejenerasyon ve nöroprotektif süreçlerde rol oynayan diğer moleküllerin incelenmesi ile, otistik bozukluğun tanı ve prognozunda kullanılabilecek biyomarkırların geliştirilebileceği kanaatindeyiz.
- 4- Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, GFAP ve vimentinin serum konsantrasyonlarının birlikte incelenmesi ile otistik bozukluktaki astrositlerin olgunlaşma düzeylerinin aydınlatılabileceği düşünülebilir.
- 5- Çalışmamızda incelenen GFAP, UCHL-L1 ve TDP-43 moleküllerinin, otistik çocuklarda karşılaşılan beyin genişlemesi ile ilişkisinin incelenmesinde bu bozukluğun etiyopatogenezinin anlaşılmasında da katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Ağırman, A., 2010, Otizm spektrum bozuklukları: Eşlik eden psikotik bulgular ve şizofreni ile karşılaştırılması, Doktora Tezi, *Bakırköy Prof. Mazhar Osman Ruh sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi*, İstanbul, 4-26.
- American Psychiatric Association, 1953, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (1sted). *Washington* DC: APA Press.
- American Psychiatric Association, 1980, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 3rd edition. *Washington*, DC: APA Press.
- American Psychiatric Association, 1987, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 3rd edition. Revised. *Washington*, DC: APA Pres
- American Psychiatric Association, 1994, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4 th edition. *Washington*, DC: APA Press.
- Anderson, M.F., Blomstrand, F., Blomstrand, C., Eriksson, P.S., Nilsson, M., 2003, Astrocytes and stroke: networking for survival? *Neurochem Res*, 28(2), 293-305.
- Anlar, B., Uysal, S., 2006, Mental-Motor Gelişme İçinde Çocuk Nörolojisi, *Alpofset*, Ankara,151-158.
- Baloh, R.H., 2011, TDP-43: The relationship between protein aggregation and neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration, *Febs j.*, 278 (19), 3539-49.
- Bandtlow, C.E., Dlaska, M., Pirker, S., Czech, T., Baumgartner, C., Sperk, G., 2004, Increased expression of Nogo-A in hippocampal neurons of patients with temporal lobe epilepsy, *Eur J Neurosci*,20 (1), 195-206.
- Baydas, G., Nedzvetskii, V.S., Tuzcu, M., Yasar, A., Kirichenko, S.V., 2003, Increase of glialfibrillary acidic protein and S100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: effectsof vitamin E. *Eur J Pharmacol*, 462 (1-3), 67-71.
- Belmonte, M., Carper, R., 1988, Neuroimaging in Child Neuropsychiatric Disorders, Bernard Garreau (ed), *Springer-Verlag*,157-171.
- Bilgiç, A., 2012, Bebek Ruh sağlığı (0-4 yaş) Temel Kitabı, Karabekirođlu, K. (yazar), *Ankara*, 459-480.
- Blyth, B.J., Farahvar, A., He, H., Nayak, A., Yang, C., Shaw, G., Bazarian, J.J., 2011, Elevated serum ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 is associated with abnormal blood-brain barrier function after traumatic brain injury, *J Neurotrauma*, 28 (12), 2453-62.
- Bodur, Ş., 2006, Otistik bozukluğu olan çocuklarda immünolojik belirleyiciler ve serum neopterin düzeyleri, Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı*, Ankara, 4-26.

- Bolton, P.F., Murphy, M., Macdonald, H., Whitlock, B., Pickles, A., Rutter, M., 1997, Obstetric complications of autism: Consequences or causes of the condition? *J Am Acad Child Adolesc Psychiatr*, 36, 272-281.
- Bordet, R., Dartigues, JF., Dubois, B., Goehrs, JM., Vernoux, L., Semah, F., Pasquier, F., Bidaut-Mazel, C., 2010, Participants of Round Table n°3 of Giens XXV. Biomarkers for the early stages of clinical development in Alzheimer's disease, *Therapie*, 65, 285-90.
- Brion, J.P., Power, D., Hue, D., Couck, A.M., Anderton, B.H., Flament-Durand, J., 1989, Heterogeneity of ubiquitin immunoreactivity in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease, *Neurochem Int*, 14 (2), 121-8
- Brophy, G.M., Mondello, S., Papa, L., Robicsek, S.A., Gabrielli, A., Tepas, J., Buki, A., Robertson, C., Tortella, F.C., Hayes, R.L., Wang, K.K., 2011, Biokinetic Analysis of Ubiquitin C-Terminal Hydrolase-L1 UCH-L1 in Severe Traumatic Brain Injury Patient Biofluids, *J Neurotrauma*, 28, 861–870.
- Bryson, S.E., 1996, Brief report: epidemiology of autism. *J Autism Dev Disord*, 26, 165-167.
- Buffo, A., Zagrebelsky, M., Huber, A.B., Skerra, A., Schwab, M.E., Strata, P., Rossi, F., 2000, Application of neutralizing antibodies against NI-35/250 myelin-associated neurite growth inhibitory proteins to the adult rat cerebellum induces sprouting of uninjured purkinje cell axons. *J Neurosci*, 20, 2275-86.
- Buratti, E., Baralle, F.E., 2009, The molecular links between TDP-43 dysfunction and neurodegeneration, *Adv Genet*, 66, 1-34.
- Calamini, B., Silva, MC., Madoux, F., Hutt, D.M., Khanna, S., Chalfant, M.A., 2011, Small molecule proteostasis regulators for protein conformational diseases. *Nat Chem Biol*, 8, 185-96.
- Carlson, M.L., 1998, Hypothesis: is infantile autism a hypoglutamergic disorder? Relevance of glutamate-serotonin interaction of pharmacotherapy, *J Neurol Trans*, 105, 525-535.
- Chen, M.S., Huber, A.B., van der Haar M.E., Frank, M., Schnell, L., Spillmann, A.A., Christ, F., Schwab, M.E., 2000, Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1., *Nature*, 403, 434–439.
- Ciechanover, A., Hod, Y. and Hershko, A., 1978, A heat-stable polypeptide component of an ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes, *Biochem Biophys Res Commun*, 81,4, 1100-5 p.
- Cohen, T.J., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q., 2011, TDP-43 functions and pathogenic mechanisms implicated in TDP-43 proteinopathies, *Trends Mol Med*; 17, 659-67.
- Cole, G.M., Timiras, P.S., 1987, Ubiquitin-protein conjugates in Alzheimer's lesions, *Neurosci Lett*, 79 (1-2), 207-12.

- Courchesne, E., Redcay, E., Kennedy, D.P., 2004, The autistic brain: Birth through adulthood, *Current Opinion in Neurology*, 17, 489–496.
- Courchesne, E., Yeung-Courchesne, B.A., Press, G.A., 1988, Hypoplasia of cerebellar vermal lobules VI and VII in autism, *N Eng J Med*, 318, 1349-1354.
- Dahl, D., 1981, The vimentin-GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination, *J Neurosci Res*, 6, 741-748.
- Darıca, N., Abdioğlu, U. ve Gümüştü, S., 1992, Otizm ve Otistik Çocuklar, Özgür Yayınları, İstanbul.
- Davıdovıcz, H.M., 1996, Autistic Spectrum Disorder, Y. Frank (editor), Pediatric Behavioral Neurology, *CRC Press*, Boca Raton, s. 73-87.
- Dawson, S.P., 2008, Hepatocellular carcinoma and the ubiquitin-proteasome system, *Biochim Biophys Acta*, 1782 (12), 775-84.
- Diaz-Arrastia, R., Wang, K.K., Papa, L., Sorani, M.D., Yue, J.K., Puccio, A.M., 2014, Acute biomarkers of traumatic brain injury: relationship between plasma levels of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 and glial fibrillary acidic protein, *J Neurotrauma*, 1, 31 (1), 19-25.
- Duman, C., Yılmaz, S., 2008, Travmatik Beyin Hasarı Belirteçleri, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 6, 1, 33-41.
- Eng, L.F., Ghirnikar, R.S., Lee, Y.L., 2000, Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000), *Neurochemical Research*, 25, 1439–1451.
- Eng, L.F. ve Ghirnikar, R.S., 1994, Glial fibrillary acidic protein and astrogliosis. *Brain Pathol*, 4, 229-237.
- Erbil, N., 2008, Süperoksit dismutaz enzimini kodlayan gen (SOD2) ile otizm hastalığının ilişkisi, Yüksek Lisans Tezi, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kahramanmaraş, 5-11.
- Fazlıoğlu, Y., Eşme – Yurdakul, M., 2007, Otizmde Görsel İletişim Teknolojilerinin Kullanılması, *Morpa Kültür Yayınları*, İstanbul.
- Filipek, P.A., Accardo, P.J., Ashwal, S., Baranek, G.T., Cook, E.H Jr., Dawson, G., Gordon, B., Gravel, J.S., Johnson, C.P., Kallen, R.J., Levy, S.E., Minshew, N.J., Ozonoff, S., Prizant, B.M., Rapin, I., Rogers, S.J., Stone, W.L., Teplin, S.W., Tuchman, R.F., Volkmar, F.R., 2000, 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*, 55,4, 468-79.
- Filipek, P.A., Accardo, P.J., Baranek, G.T., 1999, The screening and diagnosis of autistic spectrum disorders, *J Autism Dev Disord*, 29, 439-484.
- Finegan, J.A., Qumington, B., 1979, Pre-peri and neonatal factors and infantile autism. *J Child Psychol Psychiatry*, 20, 119-128.

- Foerch, C., Curdt, I., Yan, B., Neumann-Haefelin, T., Steinmetz, H., Sitzer, M., 2006, Serum glial fibrillary acidic protein as a biomarker for intracerebral haemorrhage in patients with acute stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 77, 181-4.
- Folstein, S.E., Rosen-Sheidley, B., 2001, Genetics of Autism:Complex Aetiology for A Heterogenous Disorder, *Nat Rev Genet*, 2, 943–955.
- Fombonne, E., 2003, Epidemiological surveys of autism and other pervasive development disorders: An update, *J Autism Dev Disord*, 33, 365-382.
- Fombonne, E., 2009, Epidemiology of pervasive developmental disorders, *Pediatric Res*, 65 (6), 591-598.
- Frick, L.R., Williams, K., Pittenger, C., 2013, Micro glial dysregulation in psychiatric disease, *Clin Dev Immunol*, 608-54.
- Fuentes, J., Bakare, M., Munir, K., Aguayo, P., Gaddour, N., Öner, Ö., Mercadante, M., 2012, e-Textbook of Child and Adolescent Mental Health, In Rey JM (ed), *Geneva*, 1-3.
- Garcia-Segura, L.M., Chowen, J.A., Naftolin, F., 1996a, Endocrine glia: roles of glial cells in the brain actions of steroid and thyroid hormones and in the regulation of hormone secretion, *Frontiers in Neuroendocrinology*, 17, 180–211.
- Gençer, V., 2007, Gebelik Döneminde Oluşturulan Deneysel Hipotiroidinin 10., 15. Gün ve Yenidoğanda Fetal Beyin Dokusunda Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP) ve S100B Protein Ekspresyonuna Etkisi, *Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı*, Elazığ, 2007, 22. p.
- Geser, F., Robinson, J.L., Malunda, J.A., Xie, S.X., Clark, C.M., Kwong, L.K., 2010, Pathological 43-kDa transactivation response DNA-binding protein in older adults with and without severe mental illness, *Arch Neurol*, 67, 1238-50.
- Gillberg, C., Coleman, M. 1996, Autism and Medical Disorders: A Review of The Literature, *Dev Med Child Neurol*, 38, 191–202.
- Gokler, B., 1998, Asperger Bozukluğu. "Psikiyatri Temel Kitabı" içinde, Guleç C. ve Koroğlu, E. (ed), *Hekimler Yayın Birliği*, Ankara, 1111-1117.
- Gomes, F.C., Paulin, D., Moura Neto, V., 1999, Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and its implication in astrocyte differentiation, *Braz J Med Biol Res*, 32, 619-631.
- Gomi, H., Yokoyama, T., Fujimoto, K., Ikeda, T., Katoh, A., Itoh, T., Itohara, S., 1995, Mice devoid of the glial fibrillary acidic protein develop normally and are susceptible to scrapie prions, *Neuron*, 14, 29-41.
- Goss, J.R., Finch, C.E., Morgan, D.G., 1991, Age-related changes in glial fibrillary acidic protein mRNA in the mouse brain, *Neurobiol Aging*, 12, 165-70.
- Gousse, V., Plumet, M.H., Chabane, N., 2002, Fringe phenotypes in autism: a review of clinical, biochemical and cognitive studies, *Eur Psychiatry* 17, 120-128.

- GrandPre, T., Li, S., Strittmatter, S.M., 2002, Nogo-66 receptor antagonist peptide promotes axonal regeneration, *Nature*, 417, 547–51.
- GrandPre, T., Nakamura, F., Vartanian, T., Strittmatter, S.M., 2000, Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein, *Nature* 403, 439–444.
- Gültekin, Ş., H., 2009, Nöropatoloji (online), Oregon Health and Science University, <http://www.itfnoroloji.org/noropatoloji/noropatoloji.htm> (Ziyaret Tarihi: 10 Haziran 2015)
- Gümüşlü, U. E., 2010, Non-Sendromik (Primer) Otizm Hastalarında CGH-ARRAY Çalışması, Yüksek Lisans Tezi, *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Kocaeli, 1-11.
- Güney, Y., Bilgihan, A., 2002, Ubiquitin system, *T Klin Tıp Bilimleri*, 22 (6), 616-9 p.
- Hanno, P., 2003, Developmental neuroscience: implications for early childhood intervention and education. *Current Paediatrics*, 13, 58-63.
- He, Y., Smith, R., 2009, Nuclear functions of heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A/B, *Cell Mol Life*, 66, 1239-56.
- Herrmann, M., Vos, P., Wunderlich, M.T., de Bruijn, C.H, Lamers, K.J., 2000, Release of glial tissue specific proteins after acute stroke: a comparative analysis of serum concentrations of protein S- 100B and glial fibrillary acidic protein, *Stroke*, 31, 2670-7.
- Herschkowitz, N., Kagan, J., Zilles, K., 1997, Neurobiological bases of behavioral development in the first year, *Neuropediatrics*, 28 (6), 296-306.
- Howlin, P., 2005, Outcomes in autism spectrum disorders, *Wiley*, 201-222.
- Howlin, P., Goode, S., Hutton, J., Rutter, M., 2004, Adult outcome for children with autism, *J Child Psychol Psychiatry*, 45 (2), 212–29.
- Huber, A.B., Weinmann, O., Brosamle, C., Oertle, T., Schwab, M.E., 2002, Patterns of Nogo mRNA and protein expression in the developing and adult rat and after CNS lesions, *J Neurosci*, 22, 3553–67.
- Huebner, E.A., Kim, B.G., Duffy, P.J., Brown, R.H., Strittmatter, S.M., 2011, A multi-domain fragment of Nogo-A protein is a potent inhibitor of cortical axon regeneration via Nogo receptor 1, *J Biol Chem*, 286, 18026–36.
- Inagaki, M., Gonda, Y., Nishizawa, K., Kitamura, S., Sato, C., Ando, S., 1990, Phosphorylation sites linked to glial filament disassembly in vitro locate in a non-alpha-helical head domain, *J Biol Chem*, 265, 4722-9.
- Inoue, T., Shiraki, K., Fuke, H., Yamanaka, Y., Miyashita, K., Yamaguchi, Y., Yamamoto, N., Ito, K., Sugimoto, K., Nakano, T., 2006, Proteasome inhibition sensitizes hepatocellular carcinoma cells to trail by suppressing caspase inhibitors and AKT pathway, *Anticancer Drugs*, 17 (3), 261-68 p.

- İşeri, E., Bodur, S., 2007, Psikiyatri Temel Kitabı içinde, Gulec, C ve Koroğlu, E. (ed). *Hekimler Yayın Birliği*, Ankara, 809-811.
- Jane, E. Libbey, Thayne L. Sweeten, William, M. McMahon, 2005, Autistic disorder and viral infections, *Journal of Neurovirology*, 11, 1-10.
- Johnson, C.P., 2008, Recognition of autism before age 2 years, *Pediatrics in review*, 29, 86-96.
- Jung, C.S., Foerch, C., Schanzer, A., Heck, A., Plate, K.H., Seifert, V., 2007, Serum GFAP is a diagnostic marker for glioblastoma multiforme, *Brain*, 12, 1-6.
- Juul-Dam, M., Townsend, J., Courchesne, E., 2001, Prenatal, perinatal, and neonatal factors in autism, pervasive developmental disorder-not otherwise specified, and the general population, *Pediatrics*, 107, 1-6.
- Kanner, L., Eisenberg, L., 1956, Early infantile autism 1943–1955, *Am J Orthopsychiatry* 26, 55-65.
- Kanner, L., 1943, Autistic Disturbances of Affective Contact, *Nerv Child*, 2, 217–250.
- Kanner, L. ve Eisenberg, L., 1956, Child Psychiatry; Mental Deficiency, *Am J Psychiatry*, 112, 531-534.
- Kayaalp, L., Taştan, Y., Demir, T., Demir, D., Ertan, T., 1999, Otistik bozuklukta prenatal ve perinatal etkenler, *Türk Pediatri Arşivi*, 34, 43-46.
- Kempf, A., Schwab, M.E., 2013, Nogo-A represses anatomical and synaptic plasticity in the central nervous system, *Physiology (Bethesda)*, 28, 151-63.
- Kırcaali-İftar, G., 2007, Otizm spektrum bozukluğu, *Daktylos Yayınları*, İstanbul.
- Kızıltunç, A., Şahin, Y.N., 1997, Structure and function of ubiquitin system, *Mjau*, 29, 358-63 p.
- Kirkman, N.J., Libbey, J.E., Sweeten, T.L., Coon, H.H., Miller, J.N., Stevenson, E.K., Lainhart, J.E., McMahon, W.M., Fujinami, R.S., 2008, How relevant are GFAP autoantibodies in autism and Tourette Syndrome?, *J Autism Dev Disord*, 38, 333-41.
- King, R.W., Deshaies, R.J., Peters, J.M., Kirschner, M.W., 1996, How proteolysis drives the cell cycle, *Science*, 274 (5293), 1652-9 p.
- Koltuk, R., 1998, Inside the brain: Revolutionary discoveries of how the mind Works, *Prev Med*, 27 (2), 246-7.
- Kwong, L.K., Uryu, K., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., 2008, TDP-43 proteinopathies: neurodegenerative protein misfolding diseases without amyloidosis, *Neurosignals*, 16, 41-51.

- Lainhart J.E, Piven J, Wzorek M, Landa R, Santangelo SL, Coon H, Folstein S.E.1997, Macrocephaly in children and adults with autism, *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*,36, 2, 282-90
- Lamb, J.A., Moore, J., Bailey, A., 2000, MonacoAP. Autism: Recent Molecular Genetic Advances, *HumMol Genet*, 9, 861-868.
- Laurence, J.A., Fatemi, S.H., 2005, Glial fibrillary acidic protein is elevated in superior frontal, parietal and cerebellar cortices of autistic subjects, *Cerebellum*, 4, 206–10.
- Lazarides, E., 1982, Intermediate filaments: a chemically heterogeneous, developmentally regulated class of proteins, *Annu Rev Biochem*, 51, 219-50.
- Lee, H.J, Macbeth, A.H, Pagani, J.H, Young, W.S 2009, 3rd. Oxytocin: the great facilitator of life, *Prog Neurobiol*, 88, 2, 127-51.
- Lee, J.Y., Kwak, M., Peter, C.W., 2015, Impairment of social behavior and communication in mice lacking the Uba6-dependent ubiquitin activation system, *Behavioural Brain Research*, 281, 78–85.
- Lee, S.Y., Ramirez, J., Franco, M., Lectez, B., Gonzalez, M., Barrio, R., Mayor, U., 2014, Ube3a, the E3 ubiquitin ligase causing Angelman syndrome and linked to autism, regulates protein homeostasis through the proteasomal shuttle Rpn10, *Cell Mol Life*, 71, 14, 2747-58.
- Lewis, S.B., Wolper, R., Chi, Y.Y., Miralia, L., Wang, Y., Yang, C., Shaw, G., 1983, Identification and preliminary characterization of ubiquitin C terminal hydrolase 1 UCHL1 as a biomarker of neuronal loss in aneurysmal subarachnoid hemorrhage, *J Neurosci Res*, 88, 1475–84.
- Li, Y., Wang, Z., Zhang, B., Zhe, X., Wang, M., Bai, J., Lin, T., Zhang, S., 2013, Cerebrospinal fluid ubiquitin C-terminal hydrolase as a novel marker of neuronal damage after epileptic seizure, *Epilepsy Res*, 103, 205-10.
- Liedtke, W., Edelmann, W., Bieri, P.L., Chiu, F.C., Cowan, N.J., Kucherlapati, R., Raine C.S., 1996, GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination, *Neuron*, 17, 607-15.
- Liu, M.C., Akinyi, L., Scharf, D., Mo, J., Larner, S.F., Muller, U., Oli, M.W., Zheng, W., Kobeissy, F., Papa, L., Lu, X.C., Dave, JR., Tortella, F.C., Hayes, R.L., Wang, K.K., 2010, Ubiquitin-C-Terminal Hydrolase as a Novel Biomarker for stroke and Traumatic Brain Injury in Rats, *Eur J Neurosci*, 31, 722–32.
- Lombard, J., 1998, Autism a mitochondrial disorder?, *Med Hypothesis*, 50, 497-500.
- Lord, C., Bailey, A., 2002, Autism Spectrum Disorders, M. Rutter, E. Taylor (eds), Child and Adolescent Psychiatry, 4th edition, *Oxford*, Blackwell Publishing, pp. 636-663.
- Lowe, J., Blanchard, A., Morrell, K., Lennox, G., Reynolds, L., Billett, M., Landon, M., Mayer, R.J., 1988, Ubiquitin is a common factor in intermediate filament

- inclusion bodies of diverse type in man, including those of Parkinson's disease, Pick's disease, and Alzheimer's disease, as well as Rosenthal fibres in cerebellar astrocytomas, cytoplasmic bodies in muscle, and mallory bodies in alcoholic liver disease, *J Pathol*, 155, 1, 9-15.
- Li, Y., Ray, P., Rao, E.J., 2010, A Drosophila model for TDP-43 proteinopathy, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 3169–3174.
- Manetto V, Perry G, Tabaton M, Mulvihill P, Fried VA, Smith HT, Gambetti P, Autilio-Gambetti L., 1988, Ubiquitin is associated with abnormal cytoplasmic filaments characteristic of neurodegenerative diseases, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85, 12, 4501-5.
- Martinez-Vicente, M., Sovak, G., Cuervo, A.M., 2005, Protein degradation and aging, *Exp Gerontol*, 40 (8-9), 622-33 p.
- McCall, M.A., Gregg, R.G., Behringer, R.R., Brenner, M., Delaney, C.L., Galbreath, E.J., 1996, Targeted deletion in astrocyte intermediate filament (Gfap) alters neuronal physiology, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 6361-6366.
- McDougle, C.J., Erickson, C.A., Stigler, K.A., Posey, D.J., 2005, Neurochemistry in the pathophysiology of autism, *J Clin Psychiatry*, 66, 9-18.
- Meier, S., Bräuer, A.U., Heimrich, B., Schwab, M.E., Nitsch, R., Savaksan, N.E., 2003, Molecular analysis of Nogo expression in the hippocampus during development and following lesion and seizure, *FASEB J*, 17, 1153-5.
- Mesibov, G.B., Adams, L.W., Klinger, L.G., 1985, Autism: Understanding the Disorder, *Plenum Press*, New York.
- Modahl, C., Green, L., Fein, D., Morris, M., Waterhouse, L., Feinstein, C., Levin, H., 1998, Plasma oxytocin levels in autistic children, *Biol Psychiatry*, 43, 270-277.
- Mondello, S., Linet, A., Buki, A., Robicsek, S., Gabrielli, A., Tepas, J., Papa, L., Brophy, G.M., Tortella, F., Hayes, R.L., Wang, K.K., 2012a, Clinical utility of serum levels of ubiquitin C-terminal hydrolase as a biomarker for severe traumatic brain injury, *Neurosurgery*, 70, 666-75.
- Mondello, S., Palmio, J., Streeter, J., Hayes, R.L., Peltola, J., Jeromin, A., 2012b, Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) is increased in cerebrospinal fluid and plasma of patients after epileptic seizure, *BMC Neurol*, 12, 85.
- Moore, B.W., McGregor, D., 1965, Chromatographic and electrophoretic fractionation of soluble proteins of brain and liver, *J Biol Chem*, 240, 1647-53.
- Morgan, J.T., Chana, G., Abramson, I., Semendeferi, K., Courchesne, E., Everall, I.P., 2012, Abnormal microglial-neuronal spatial organization in the dorsolateral prefrontal cortex in autism, *Brain Res*, 1456, 72–81.
- Morgan, J.T., Chana, G., Pardo, C.A., Achim, C., Semendeferi, K., Buckwalter, J., Courchesne, E., Everall, I.P., 2010, Microglial activation and increased microglial

- density observed in the dorsolateral prefrontal cortex in autism, *Biol Psychiatry*, 68, 368-76.
- Morte, B., Manzano, J., Scanlan, T.S., Vennström, B., Bernal, J., 2004, Aberrant Maturation of Astrocytes in Thyroid Hormone Receptor 1 Knockout Mice Reveals an Interplay between Thyroid Hormone Receptor Isoforms, *Endocrinology*, 145 (3), 1386-1391.
- Halfon, N., Shulman, E., Hochstein, M., 2001, Brain Development in Early Childhood, Building Community Systems for Young Children, *ERIC*, 28.
- Nagy, E., Loveland, K.A., Thivierge, J., 2002, Prolonged brainstem auditory evoked potentials: an autism specific or autism non-specific marker/in reply, *Archives of general psychiatry*, 59, 288-290.
- Neumann, M., Sampathu, D.M., Kwong, L.K., Truax, A.C., Micsenyi, M.C., Chou, T.T., 2006, Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis, *Science*, 314, 130-3.
- Newschaffer, C.J., Fallin, D., Lee, N.L., 2002, Heritable and Nonheritable Risk Factors for Autism Spectrum Disorders, *Epi Rev*, 24, 137-153.
- Nylén, K., Csajbok, L.Z., Ost, M., Rashid, A., Blennow, K., Nellgard, B., 2007, Serum glial fibrillary acidic protein is related to focal brain injury and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage, *Stroke*, 38, 1489-94.
- O'Callaghan, T., 2010, "Thanks, Mom!". *Time Magazine* (Time, Inc.), <https://tr.wikipedia.org/wiki/> (Ziyaret tarihi: 08 Haziran 2010).
- Olson, E.E., McKeon, R.J., 2004, Characterization of cellular and neurological damage following unilateral hypoxia/ischemia, *J Neurol*, 227, 7-19.
- Osada, T., Sakamoto, M., Nishibori, H., Iwaya, K., Matsuno, Y., Muto, T., Hirohashi, S., 1997, Increased ubiquitin immunoreactivity in hepatocellular carcinomas and precancerous lesions of the liver, *J Hepatol*, 26 (6), 1266-73 p.
- Ou, S.H., Wu, F., Harrich, D., Garcia-Martinez, L.F., Gaynor, R.B., 1995, Cloning and characterization of a novel cellular protein, TDP-43, that binds to human immunodeficiency virus type 1 TAR DNA sequence motifs, *J Virol*, 69, 3584-96.
- Page, T., 2000, Metabolic approaches to the treatment of autism spectrum disorder, *J Autism Dev Disord*, 30, 463-469.
- Paul, R., 2002, Disorders of communication, "Child and Adolescent Psychiatry: A Comprehensive Textbook" 3. baskı icinde, *Lippincott Williams&Wilkin*, Philadelphia, 612-621.
- Peng, X., Kim, J., Zhou, Z., Fink, D.J., Mata, M., 2011, Neuronal Nogo-A regulates glutamate receptor subunit expression in hippocampal neurons, *J Neurochem*, 119, 1183-1193.

- Perry, G, Friedman, R, Shaw, G, Chau, V., 1987, Ubiquitin is detected in neurofibrillary tangles and senile plaque neurites of Alzheimer disease brains, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84, 9, 3033-6.
- Piven, J., Arndt, S., Bailey, J., Andreasen, N., 1996, Regional brain enlargement in autism: a magnetic resonance imaging study, *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 35, 530-536.
- Portakal, O. ve Deren, Ö., 2010, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 41 (3), 135-141.
- Prater, C.D., 2002, Autism: A medical primer, *American Family Physician*, 66, 1667-1680.
- Reddy, K.S., 2005, Cytogenetic Abnormalities and Fragile-X Syndrome in Autism Spectrum Disorder, *BMC Medical Genetics*, 6, 3.
- Reeves, S.A., Helman L.J., Allison, A., Israel, M.A., 1989, Molecular cloning and primary structure of human glial fibrillary acidic protein, *Proc Natl Acad Sci, USA* 86, 5178-82.
- Riva, D., 2000, Cerebellar contribution to behaviour and cognition in children, *Journal of Neurolinguistics*, 13, 215-225.
- Rodwell, V.R., 2000, Catabolism of proteins and of amino acid nitrogen, In Murray R.K. Et al. Eds. *Harpers Biochemistry*, 25th ed. Appleton and lange, 313-322 pp.
- Ruben, R.J., 1997, A time frame of critical/sensitive periods of language development, *Acta Otolaryngol*, 117 (2), 202-5.
- Rutter, M., Schopler, E., 1987, Autism and pervasive developmental disorders: Concepts and diagnostic issues, *J Autism Dev Disord*, 17, 159-186.
- Rutter, M., 1978, Diagnosis and definition of childhood autism, *J Autism Child Schizophr*, 8, 139-161.
- Rutter, M., Schopler, E., 1993, Classification of pervasive developmental disorders: some concepts and practical considerations, *J Autism Dev. Disord.*, 23 (3), 572-5.
- Sadock, B.J., Sadock, V.A., 2003, Pervasive developmental disorders, Kaplan&Sadock's Synopsis of Psychiatry: Behavioral Sciences Clinical Psychiatry, *Lippincott Williams & Wilkins*, Philadelphia, s:1208-1222.
- Santangelo, S.L., 2005, What is known about autism: genes, brain, and behavior, *Am J Pharmacogenomics*, 5 (2), 71-92.
- Scotter, E.L., Chen, HJ., Shaw, C.E., 2015, TDP-43 Proteinopathy and ALS: Insights into Disease Mechanisms and Therapeutic Targets, *Neurotherapeutics*, 5.
- Schopler, E., Reichler, R.J., de Vellis, R.F., Daly, K., 1980, Toward objective classification of childhoodautism: Childhood Autism Rating Scale (CARS), *J Autism Dev Dis.*, 10:91-103.

- Sigman, M., Dijamco, A., Gratier, M., Rozga, A., 2004, Early detection of core deficits in autism, *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 10, 221-233.
- Spataro, V., Norbury, C., Haris, A., 1998, The ubiquitin-proteasome pathway in cancer, *B J Cancer*, 77 (3), 448-455.
- Spillmann, A.A., Bandtlow, C.E., Lottspeich, F., Keller, F., Schwab, M.E., 1998. Identification and characterization of a bovine neurite growth inhibitor, *J Biol Chem.*, 273, 19283–19293.
- Sucuoğlu, B., Öktem, F., Akkök, F., Gökler, B., 1996, Otistik çocukların değerlendirilmesinde kullanılan ölçeklere ilişkin bir çalışma, *3P Dergisi*, 4, 116-121.
- Sudhir, G., 2000, Immunological Treatments for Autism, *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 30 (5), 475-479.
- Szatmari, P., Jones, M.B., 1991, IQ and the genetics of autism, *J Child Psychol Psychiatry* 32, 897-908.
- Takeda, Y., Kamida, T., Fujiki, M., Kobayashi, H., 2007, Hippocampal Nogo-A and neo-Timm's staining in amygdala kindling rats, *Neurol Res*, 29, 199-203.
- Tetreault, N.A., Hakeem, A.Y., Jiang, S., Williams, B.A., Allman, E., Wold, B.J., Allman, J.M., 2012, Microglia in the cerebral cortex in autism, *J Autism Dev Disord.*, 42, 2569-84.
- Thompson, R.J., Doran, J.F., Jackson, P., Dhillon, A.P., Rode, J., 1983, PGP 9.5-a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells, *Brain Res*, 278, 224–28.
- Ucuz, İ., 2014, D Vitamini eksikliğinin mental gelişim, davranış sorunları ve otizmle ilişkisi, Uzmanlık Tezi, *Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalı*, Erzurum, 22.
- Ünal, F., 1998, Çocukluğun Dezintegratif Bozukluğu, *Psikiyatri Temel Kitabı*, Guleç, C., Koroğlu, E. (ed), *Hekimler Yayın Birliği*, Ankara, 1103-1110.
- Vargas, D.L., Nascimbene, C., Krishnan, C., Zimmerman, A.W., Pardo, C.A., 2005, Neuro glial activation and neuro inflammation in the brain of patients with autism, *Ann Neurol*, 57, 67–81.
- Volkmar, F.R., Lord, C., Bailey, A., Shultz, R.T., Klin, A., 1985, Autism and pervasive developmental disorders, *J Child Psychol Psychiatry*, 45, 135-170.
- Volkmar, F.R., Lord C., Bailey, A., Schultz, R.T., Klin, A., 2004, Autism and pervasive developmental disorders, *J Child Psychol Psychiatry*, 45, 135–170.
- Volkmar, F.R., Lord C., Klin, A., 2002, Autism and the pervasive developmental disorders, "Child and Adolescent Psychiatry: A Comprehensive Textbook" 3. baskı içinde, *Lippincott Williams&Wilkins*, Philadelphia, 587-597.

- Volkmar, F.R., Rhea, P., Klin, A. ve Donald, C., 2005, Pervasive developmental disorders, "Kaplan and Sadocks comprehensive textbook of psychiatry" 8. baskı içinde, *Lippincott Williams and Wilkins*, Philadelphia, 3164-3182.
- Volkmar, F.R., Lord, C., Klin, A., Schultz, R., Cook, E.H., 2007, Autism and the Pervasive Developmental Disorders. In: A. Martin and F. Volkmar (eds): Lewis's Child and Adolescent Psychiatry: A Comprehensive Textbook. *Lippincott Williams & Wilkins*, Philadelphia, 384-400.
- Volkmar, F.R., Pauls, D., 2003, Autism, *Lancet*, 362 (9390), 1133-1141.
- Vos, P.E., van Gils, M., Beems, T., Zimmerman, C., Verbeek, M.M., 2006, Increased GFAP and S100 beta but not NSE serum levels after subarachnoid haemorrhage are associated with clinical severity, *Eur J Neurol*, 13, 632-8.
- Wang, S., Zhang, B. and Faller, D.V., 2002b, Prohibitin requires Brg-1 and Brm for the repression of E2F and cell growth, *Embo J.*, 21, 3019-28.
- Weaver, I.C., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M., Meaney, M.J., 2004, Epigenetic programming by maternal behavior, *Nat Neurosci*, 7 (8), 847-54.
- Weinstein, D.E., Shelanski, M.L., Liem, R.K., 1991, Suppression by antisense mRNA demonstrates a requirement for the glial fibrillary acidic protein in the formation of stable astrocytic processes in response to neuron, *J Cell Biol*, 112, 1205-13.
- Wing, L., 1997, The Autistic Spectrum, *Lancet*, 350, 1761-66.
- Wils, H., Kleinberger, G., Janssens, J., 2010, TDP-43 transgenic mice develop spastic paralysis and neuronal inclusions characteristic of ALS and frontotemporal lobar degeneration, *Proc Natl Acad Sci, USA*, 107, 3858-3863.
- Wimporly, D., 2002, Social timing, clock genes and autism: anew hypothesis, commentary, *Journal of intellectual Dis. Res.*, 46, 352-358.
- World Health Organization, 1994, International Classification of Diseases.10 th edition WHO, Geneva.
- Wynder, E.L., 1998, Introduction to the report on the conference on the 'critical' period of brain development, *Prev Med.*, 27 (2), 166-7.
- Zhao, X., Leotta, A., Kustanovich, V., Lajonchere, C., Geschwind, D. H., Law, K., 2007, Aunified genetic theory for sporadic and inherited autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 (31), 12831-12836.
- Zorner, B., Schwab, ME., 2010, Anti-Nogo on the go: from animal models to a clinical trial, *Ann NY Acad*, 1198, 22-34.
- Zoroglu, S.S., Yurekli, M., Meram, I., Sogut, S., Tutkun, H., Yetkin, O., Sivasli, E., Savas, HA., Yanik, M., Herken, H. and Akyol, O., 2003, Pathophysiological role of nitric oxide and adrenomedullin in autism, *Cell Biochem Funct*, 21, 55-60.

Zoroglu, S.S., Armutçu, F., Özen, Ş., Gurel, A., Sivasli, E., Yetkin, Ö., Meram, İ., 2004, Increased oxidative stress and altered activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes in autism, *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 254, 143–147.

EKLER

EK-1 Etik Kurul Onayı


İ.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KLINİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

43


Sayı : 83045809/604/02-8875
 Konu:

İstanbul/...../.....

04 Nisan 2014

Dahili Tıp Bilimleri Bölümü
 Başkanlığına

İlgi: 20.03.2014 tarihli, 19451483/604.01-1820 sayılı yazınıza

Bölümünüze bağlı Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Yard.Doç.Dr.İhsan ÇETİN'in danışmanlığında Uzm.Dr.M.Tayyib KADAK'ın yürütücülüğünde Ecz.İhsan TEZDİĞ, Uzm.Öğr.Dr.Gözde Narin COŞKUN ve Uzm.Öğr.Dr.Burcu GÖKALP ÖZCAN'ın yardımcılıklarında "Otizm Tanısı Alan Çocuklarda Nöroplastisite, Nörodeneratif ve Nöroprotektif Molekül Düzeylerinin İncelenmesi" başlıklı çalışma hakkında ilgi yazınız ve ekleri 01 Nisan 2014 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri Desteği (BAP) alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim


 Prof.Dr. Özgür KASAPÇOPUR
 Klinik Araştırmalar Etik
 Kurulu Başkanı

Eki:
 1 dosya

02 Nisan 2014
 Memur : G.Soydaner
 Şef : S.SELEK

M.C. KAYA

Not: Yanıtlarınızda yazınızın gün ve sayısının belirtilmesi rica olunur.
 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/İSTANBUL
 Telefon 0 (212) 414 32 52 Dahili: 22300 Faks: 0(212) 632 00 40 e-posta:etfetik@istanbul.edu.tr.

Etik Kurul Değerlendirme

GİRİŞİMSSEL OLMAYAN İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ETİK KURUL DEĞERLENDİRME	
ETİK KURULUN ADI	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, 34303 Kocamustafapaşa Fatih İstanbul
TELEFON	+90 (212) 414 32 52; 414 30 00/22300
FAKS	+90 (212) 632 00 40
E-POSTA	ctfetik@istanbul.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Otizm tanısı alan çocuklarda nöroplastisite, nörodeneratif ve nöroprotektif molekül düzeylerinin incelenmesi		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Uzm.Dr.Tayyip KADAK		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları		
	KOORDİNATORÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. İhsan ÇETİN		
	KOORDİNATORÜN UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Batman Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	Kültür Mh. Türkiye Petrolleri A. O. Biv. Pk:72060 Batman Merkez/batman		
	BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	Batman Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi/ Kültür Mh. Türkiye Petrolleri A. O. Biv. Pk:72060 Batman Merkez/batman		
UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ ☐ AKADEMİK AMAÇLI ☒			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	☐ Anket çalışması ☐ Retrospektif (geriye dönük) araştırma ☒ Girişimsel (invaziv) olmayan klinik araştırma ☐ Rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle (kan, idrar, gayta, doku, görüntü gibi) yapılan çalışma ☐ Hemşirelik faaliyetlerinin sınırı içerisinde yapılan araştırma ☐ Vücut fizyolojisi çalışması ☐ Antropometrik ölçümlere dayalı çalışma ☐ Yaşam alışkanlıklarının değerlendirilmesi çalışması DİĞER ☐ Diğer ise belirtiniz:			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	DİĞER			Açıklama:

Etik Kurul Kararı

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: A- 43	Tarih:01 Nisan 2014				
Yard.Doç.Dr.Ihsan ÇETİN'in danışmanlığında Uzm.Dr.M.Tayyip KADAK'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıda katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.						
ÇALIŞMA ESASI	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR						
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR (Başkan)	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Faik ÖZÇELİK (Başkan Yard.)	Genel Cerrahi	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Muhlis Cem AR (Raportör)	İç Hastalıkları Hematoloji	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Sebahattin SALP	Nöroloji	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mahmut Reha BAYAR	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	Yıllık izinli
Prof. Dr. Nuran Şenel BEŞE	Radyasyon Onkolojisi	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Zeki ÖNGEN	Kardiyoloji	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	Yıllık dışında
Prof. Dr. Ertan YURDAKOŞ	Fizyoloji	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Hatun Hanzade DOĞAN	Deontoloji	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Sibel Özmen ÖZYAZGAN	Farmakoloji	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Suphi VEHLİD	Halk Sağlığı	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr.Yusuf TUNALI	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	IÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Uzm. Dr. Mutlu NİYZOĞLU	İç Hastalıkları	İst. Eğitim ve Araştırma Hast.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Avukat Ayfer DİKMEN	Ticaret ve Sağlık Hukuku	Serbest Hukuk Bürosu	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Zümrüt GAMLI	Emekli Öğretmen	Sivil Üye	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* :Araştırma ile ilişki ** :Toplantıda Bulunma

EK-2 ÇOCUKLUK ÇAĞI OTİZM DERECELENDİRME ÖLÇEĞİ (CARS)

Ölçeğin her bir maddesi ile ilişkili davranışları puanlayın. **15** puan ekleyin ve sondaki ölçeği kullanın.

1. İnsanlarla İlişki	
2. Taklit	
3. Duygusal Tepki	
4. Vücut Kullanımı	
5. Nesne Kullanımı	
6. Değişikliklere Uyum Sağlama	
7. Görsel Tepki	
8. Dinleme Tepkisi	
9. Tad, Koku ve Dokunma Tepkileri ve Kullanımı	
10. Korku veya Ürkeklik	
11. Sözel İletişim	
12. Sözel Olmayan İletişim	
13. Etkinlik Düzeyi	
14. Entellektüel Yanıtın Düzeyi ve Uygunluğu	
15. Genel İzlenimler	
TOPLAM	

- 15-29** Otizm yok
30-36 Hafif-Orta Derecede Otistik
37-60 Aşırı Derecede Otistik

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İHSAN TEZDİĞ
Uyruğu : TC
Doğum Yeri ve Tarihi : BATMAN ve 19.01.1981
Telefon : 0532 527 3245
Faks : 0488 213 37 37
e-mail : ihsan_tezdig@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Batman Lisesi, merkez, BATMAN	1998
Üniversite	: İstanbul Üniversitesi, Beyazıt, İSTANBUL	2003
Yüksek Lisans	: Batman Üniversitesi, merkez, BATMAN	-
Doktora	: -	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2004-2015	İstanbul Eczanesi	Eczacı

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

Öğrenim gördüğü/görmekte olduğu başka programlar

Yerel yönetimler (Ön Lisans), Anadolu Üniversitesi, 2009-2013

Adalet Bölümü (Ön Lisans), Anadolu Üniversitesi, Anadolu Üniversitesi, 2014-?

Yer aldığı Projeleri

1. Savunuculuk, Eğitim ve Hizmetlere Ulaştırma Yolu ile Anne Sağlığının İyileştirilmesi Projesi (2005).
2. Türkiye üreme sağlığı programı sırdaş eczane projesi (2005).

Katılım Sağladığı Eğitimler ve Seminerler

1. Üreme Sağlığı ve Cinsel Sağlık Eczacı Eğitimi (26 Şubat-2 Mart 2005).
2. Türk eczacılar Birliği Eczacılık akademisi ‘Eczacılar için Temel muhasabe’ meslek içi eğitim katılım belgesi (16 Mayıs 2008).
3. Türk eczacılar Birliği Eczacılık akademisi ‘Fitoterapi’ meslek içi eğitim katılım belgesi (12 Mayıs 2012).
4. Türk eczacılar Birliği Eczacılık akademisi ‘Yönetici Eczacı Eğitimi’ meslek içi eğitim katılım belgesi (25-26 Eylül 2004).
5. Zadevital / Doğal besin destekleri tarafından Güç Ecza Deposu Kıbrıs Satış Etkinliği 2012 kapsamında, 18 Kasım 2012 tarihinde düzenlenen ‘Esansiyel yağ asitlerinin Genel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri’ semineri katılım belgesi (18 Kasım 2012).
6. ‘Bilgi ilaçtır’ konulu Uluslararası Eczacılık Kongresine katılım sağlandı (Kasım/2014.Ankara).