

ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAĞDAT'TAKİ OTİSTİK HASTALARDA BİYOKİMYASAL VE
İMMÜNOLOJİK PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI

Rana RASHEED

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2023

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Rana RASHEED tarafından hazırlanan “**Bağdat'taki Otistik Hastalarda Biyokimyasal ve İmmünolojik Parametrelerin Araştırılması**” adlı tez çalışması 13/07/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Ebru ÖZDENİZ

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Maytham T. QASIM

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Ebru ÖZDENİZ
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mine TÜRKTAS
Biyoloji Anabilim Dalı
Gazi Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Fiziki Coğrafya Anabilim Dalı
Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Bağdat'taki Otistik Hastalarda Biyokimyasal ve İmmünolojik Parametrelerin Araştırılması**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (13/07/2023).

Rana RASHEED

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAĞDAT'TAKİ OTİSTİK HASTALARDA BİYOKİMYASAL VE İMMÜNOLOJİK PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI

Rana RASHEED

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ebru ÖZDENİZ
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Maytham T. QASIM

Bu çalışma, toplumda büyük önem taşıyan klinik bir çalışmayı, yani otistik hastaların bağışıklık durumunun değerlendirilmesini ve buna uygun çözümler bulma girişimini ele aldığı için önemlidir. Çalışma, sitokinleri İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-27 (IL-27), İnterlökin-37 (IL-37), İnterlökin-29 (IL-29), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ) ve İmmünoglobulinleri (IgG, IgM) ölçerek bağışıklık durumunu değerlendirmek için tasarlanmıştır. OSB araştırmalarıyla ilgili temel sorunlardan biri, aynı terim altında toplanan ve aynı zorlukları paylaşımlarına rağmen farklı patofizyolojik mekanizmalara sahip farklı patolojiler olarak göz ardı edilemeyen çok çeşitli fenotiplerdir. Bu anlamda, metabolomik profil çalışması gibi yeni teknikler, sistemik değişikliklerle ilişkilendirilebilecek düşük moleküler ağırlıklı metabolitlerin global analizini gerçekleştirme potansiyeli sayesinde OSB'nin farklı fenotiplerinin kökeninin açıklığa kavuşturulmasına katkıda bulunabilir. Bu bulgular, bağışıklık sistemi değişiklikleri, bu değişikliklere karşı savunmasızlık için aday genler ve bu değişikliklerin nörogelişim üzerindeki etkisi hakkında kanıtları derleyebilecek bir immünojenetik teori potansiyeline işaret etmektedir.

2023, 62 sayfa

ANAHTAR KELİMELELER: Autism, IgG, IgM, IL-6, IL-27, IL-37

ABSTRACT

Master of Science Thesis

INVESTIGATION OF BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN AUTISM PATIENTS LIVING IN BAGHDAD

Rana RASHEED

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ebru ÖZDENİZ
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Maytham T. QASIM

This study is important because it addresses a clinical study of great importance in the community, namely the assessment of the immune status of autistic patients and an attempt to find appropriate solutions. The study was designed to assess immune status by measuring cytokines Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-27 (IL-27), Interleukin-37 (IL-37), Interleukin-29 (IL-29), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ) and Immunoglobulins (IgG, IgM). One of the main problems with ASD research is the wide variety of phenotypes that are grouped under the same term and cannot be dismissed as different pathologies with different pathophysiological mechanisms, although they share the same challenges. In this sense, new techniques such as metabolomic profiling may contribute to clarify the origin of the different phenotypes of ASD, thanks to their potential to perform a global analysis of low molecular weight metabolites that may be associated with systemic alterations. These findings point to the potential for an immunogenetic theory that could compile evidence on immune system alterations, candidate genes for vulnerability to these alterations, and the impact of these alterations on neurodevelopment.

2023, 62 pages

Keywords: Otizm, IgG, IgM, IL-6, IL-27, IL-37

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Doç. Dr. Ebru ÖZDENİZ’e sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Rana RASHEED

Çankırı, Temmuz 2023



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1 Otizm Spektrum Bozuklukları ve Bağışıklık Sistemi	4
2.1.1 Merkezi sinir sistemi ve bağışıklık sistemi	4
2.1.2 OSB'de bağışıklık sistemi değişiklikleri	5
2.2 Metabolomik Profil.....	7
2.3 İmmünoglobulinler (Ig)	7
2.4 CRP Seviyeleri.....	10
2.5 Hiper Serotonemi ve Otizm.....	11
2.6 Otizmde Stres Nörohormonları	12
2.7 Epidemiyoloji.....	14
2.8 Bağışıklık Sistemi	15
2.8.1 Doğal bağışıklık.....	16
2.8.2 Epitel tabakası.....	17
2.8.3 Fagositik hücreler	17
2.8.4 Doğal öldürücü hücreler	18
2.9 Sitokinler.....	19
2.10 Otizmin İmmünolojik Özellikleri	19
2.11 Otizmin İmmünojenetik Teorisi	21
2.12 Otizmin Nöroimmünolojisi	22
2.13 Otizm ve Sitokinler	23
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1 Materyal.....	27

3.1.1	Veri formları	27
3.1.2	Çocukluk otizm derecelendirme ölçeği.....	27
3.1.3	Kan örneği.....	28
3.1.4	Hücre içi sitokin tayini	28
3.2	Yöntem	29
3.2.1	Örnek seçimi.....	29
3.2.2	Çalışmaya dahil edilen vakalar için dahil edilme kriterleri	29
3.2.3	Çalışmanın hariç tutulma kriterleri	30
3.3	İmmünoglobulin Ölçümü	31
3.4	İstatistiksel Analiz.....	31
3.5	Etik Kurul Onayı	32
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	33
4.1	Sonuçlar	33
4.2	Çalışmaya Katılan Hastaların Demografik Özellikleri	33
4.3	Hasta Grubunda Ölçek Puanları ile İmmünolojik Parametreler Arasındaki İlişki.....	36
4.4	İmmünoglobulin Çalışması	38
4.5	Bağışıklık Sistemlerinin İncelenmesi.....	40
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	45
	KAYNAKLAR	47
	EKLER.....	56
	ÖZGEÇMİŞ.....	62

SİMGELER DİZİNİ

dL	Desilitre
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde



KISALTMALAR DİZİNİ

GCSF	Granülosit koloni uyarıcı faktör
IFN- γ	İnterferon- γ
IL-6	İnterlökin-6
IL-27	İnterlökin-27
IL-29	İnterlökin-29
IL-37	İnterlökin-37
OSB	Otizm spektrum bozuklukları
TNF- α	Tümör nekroz faktörü- α



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1	Cinsiyet dağılımı.....	34
Çizelge 4.2	Yaş dağılımı.....	34
Çizelge 4.3	Evdeki toplam çocuk sayısı	34
Çizelge 4.4	Ebeveyn yaş dağılımı.....	34
Çizelge 4.5	Anne ve babaların eğitim durumu	34
Çizelge 4.6	Anne ve babanın çalışma durumu.....	35
Çizelge 4.7	Ailenin ortalama aylık geliri	35
Çizelge 4.8	Hasta ve kontrol grubu verilerinin immünolojik parametre bakımından karşılaştırılması.....	35
Çizelge 4.9	İmmünolojik parametre arasındaki korelasyon.....	37
Çizelge 4.10	Hasta grubunda gerileme varlığına göre immünolojik parametrelerdeki değişim.....	37
Çizelge 4.11	OSB ve kontrol grubunun immünoglobulin analizi.....	38

1. GİRİŞ

Yunanca "kendi kendine" anlamına gelen autos kelimesinden türetilen "otizm" terimi ilk kez İsviçreli psikiyatrist Bleuler (1911) tarafından yetişkin hastalardaki şizofrenik semptomatolojiyi (kendi içine kapanma ile sosyal geri çekilme) tanımlamak için kullanılmıştır. Ardından, Avusturya kökenli Amerikalı psikiyatrist Kanner (1943)'te bu terimi on bir çocukta prekoks (yaşamın ilk yılından itibaren) semptomatolojisi, evrimi ve çevreyle duygusal ilişkilerin bozulmasıyla karakterize edilen özel bir sendromu tanımlamak için kullanmıştır. Avusturyalı psikiyatrist Asperger (1944), Kanner tarafından tanımlanan çocuklarda izole edilmiş olağanüstü yetenekleri ve bazen korunmuş bir dil görünümüyle ayrılan "otistik eğilimli kişilikleri" belirlemiştir. Ancak, tarihçi Carrey (1995)'e göre, otizmin ilk tanımını 1828 tarihli "entelektüel fonksiyonların lezyonu tarafından üretilen mutizm" hakkındaki anılarında yer alan Itard tarafından gerçekleştirilmiştir.

O zamandan beri farklı etiyolojik modeller geliştirilmiştir. Bazı araştırmacılar otizmi infantil şizofrenide, diğerleri ise postviral ensefalopatilerde saklamışlardır. Önerilen çeşitli etyopatogenik hipotezlere (psikodinamik, psikobiyolojik, genetik, vb.) rağmen, hiçbir biyolojik belirteç tanımlanmamış ve hiçbir spesifik psikopatolojik süreç vurgulanmamıştır. Kesin sonuçların ve fikir birliğinin eksikliği göz önüne alındığında, otizmi karakterize etmek için "sendrom" kavramının kullanılması muhtemelen en uygun olanıdır. Otizm, DSM-IV-TR ve ICD-10 tarafından sosyal etkileşimlerin yanı sıra sözel ve sözel olmayan iletişimde bozulma ve davranışsal stereotipiler açısından tanımlanan erken ve küresel bir gelişimsel bozukluğu olarak kabul edilebilir. Ancak otistik sendromun klinik heterojenliği sorunuyla karşı karşıya kaldığımızda bu da otizmin "alt tipleri" veya "alt gruplarının" varlığına işaret eder.

Yapılan çalışmalarda, bir yanda sözel dilin ve davranışsal stereotipilerin tamamen yok olduğu otistik bir çocuk ile diğer yanda iyi düzeyde dil üretimi olan ancak sözel ve fikirsal stereotipileri (geviş getirme, sabit fikirler ve kısıtlı ilgi alanları) olmayan iletişim bozuklukları olan otistik bir çocuk arasında, aynı patolojinin varlığında olunmadığı ve bu

iki çocuğun otizm için tanı kriterlerine iyi yanıt verdiği görülmektedir. Biyolojik sonuçların (nöro-anatomik, biyokimyasal veya genetik) heterojenliği ve tekrarlanma zorluğu, otizmde muhtemelen etiyolojik heterojenliği kapsayan hem klinik hem de biyolojik "alt tiplerin" (endofenotipler) varlığına işaret ediyor gibi görünmektedir. "Sendromik olmayan otizm" (izole otistik sendrom) kavramının aksine "sendromik otizm" (genetik bir hastalığa işaret eden diğer belirtilerle ilişkili otistik sendrom) kavramının ortaya çıkışı da "otizm"in etiyolojik heterojenliğine işaret etmektedir. Ancak bu kavramın varlığı teknolojinin ilerlemesine ve mevcut bilgi birikimine bağlıdır. Çünkü sendromik olmayan otizmin birkaç yıl içinde sendromik otizm olarak kabul edilebileceğini öngörmek mümkündür, eğer örnek olarak yeni genetik hastalıklar tanınırsa, daha iyi bir bilgi birikimine ve ayrı klinik belirtiler veya ilişkili biyolojik anormallikler için ek bir etkin araştırmaya izin verecektir (Volkmar *et al.* 2004). Bu perspektifte, özellikle nöroanatomik, biyokimyasal ve genetik araştırmalar alanında otizm hakkındaki ulusal biyolojik bilgi birikimini değerlendirmek bizim için önemli görülmektedir.

Otizm Spektrum Bozuklukları (OSB), karakteristik olarak yaşamın ilk yıllarında başlayan, sosyal, iletişimsel ve bilişsel gelişimde gecikme, duraklama ve sapmaların görüldüğü bir grup nöropsikiyatrik yakınmayı tanımlamaktadır. Son çalışmalara göre OSB 88'de 1 sıklıkta görülmektedir. OSB'nin etiyolojisi henüz netlik kazanmamış olsa da genetik geçişin yüksek olduğu açıktır. Bağışıklık sistemi ile ilgili genler bağışıklık sistemini düzenler ve bu genlerdeki değişiklikler bağışıklık sistemine de dokunabilir. Bağışıklık sistemi ile ilgili birçok gen üzerinde yapılan çalışmalarda, OSB'li hastalarda kontrol grubuna kıyasla farklılıklar ortaya çıkmıştır (Niehus and Lord 2006). Epidemiyoloji çalışmalarında, yaşamın erken dönemlerinde enfeksiyon geçirenlerde ve ailesinde otoimmün hastalık öyküsü olanlarda OSB tanılarının artması (Molloy *et al.* 2006), bağışıklık sistemindeki değişikliklerin ve otoimmünitenin otizmin etiyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Otoimmünitenin otizmin etiyolojisinde rol oynayabileceği ilk kez 1971 yılında otistik bir vakanın ailesinde çok sayıda otoimmün hastalık bulunması üzerine gündeme gelmiştir. OSB'de immün sistem disfonksiyonu ve otoimmün hastalık sıklığında artış, beyin dokusu proteinlerine karşı anti-beyin antikolları, sitokin anormallikleri, postmortem otistik bireylerin beyin dokularında ve

gövdede immün aktivasyon, inflamatuvar sitokin ve kemokin üretiminde artışlara neden olmuştur (Morgan *et al.* 2010).

Bu bilgiler doğrultusunda tez çalışması toplumda büyük önem taşıyan klinik bir çalışmayı, yani otistik hastaların bağışıklık durumunun değerlendirilmesini ve buna uygun çözümler bulma girişimini ele alması bakımından önem taşımaktadır. Bu doğrultuda tez çalışmasında, Sitokinlerin ölçümü İnterleukin-6 (IL-6), İnterleukin-27 (IL-27), İnterleukin-37 (IL-37), İnterleukin-29 (IL-29), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interferon- γ (IFN- γ), İmmünoglobulinlerin (IgG, IgM, IgA) ve bazı biyokimyasal testlerin ölçümü (SGOT, SGPT, SALK SCR., GSH, Glutasyon Kan Testi) amaçlanmıştır.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Otizm Spektrum Bozuklukları ve Bağışıklık Sistemi

2.1.1 Merkezi sinir sistemi ve bağışıklık sistemi

Otizmli bireylerde bağışıklık sistemi farklılıkları yaklaşık 30 yıldır araştırılmaktadır. CNS ve periferik bağışıklık sisteminin birbirinden ayrıldığı düşünülmektedir. CNS'de lenfatik drenaj yoktur, bu nedenle bağışıklık hücreleri CNS ile etkileşime giremez. Nöronların yenilenme kapasitesi çok düşüktür ve zarar verici bağışıklık reaksiyonları, CNS nöronlarına zarar verebilir. Kafatası, beyin dokusunun şişmesini ve bunun getireceği ödem ve iltihabı engeller. Nöronların MHC molekülünü ifade etmediği ve bu nedenle T hücreleri tarafından tanınmadığı düşünülmektedir. Yukarıda bahsedilen nedenler ve aralarındaki bağlantıları, MSS ve periferik bağışıklık sisteminin diğerlerinden ayrıldığı görüşünü desteklemektedir (Bailey *et al.* 2006). Tüm bu görüşlere rağmen, bağışıklık sistemi ve CNS'nin etkileşime girdiği açıktır. CNS, kan beyin bariyeri, akrosit ve mikroglae gibi hücrelerin lokal immün etkileri sayesinde, çoğunlukla immün baskılama fonksiyonları sayesinde sistemik immün reaksiyonlardan korunur. Mikroglial ve astrositler sitokin reseptörlerini eksprese eder, bu nedenle immünolojik uyarılardan etkilenirler (Carson *et al.* 2006).

CNS ve bağışıklık sisteminin etkileşime girdiği bilinmektedir. Merkezi sinir sistemi ve bağışıklık sistemi arasındaki karmaşık bağlantılar yaşamı başlatır ve yaşam boyunca devam eder (Steinman 2004). MHC I, sitokinler ve kemokinler, plastisite, onarım ve fonksiyon kazanma gibi nöro gelişim aşamalarında rol alırken, bazı nöro peptitler de bağışıklık sistemi, lenf nodu ve dalak innervasyonunun uyarılması veya baskılanmasında görev alır. T hücrelerinin CNS'ye geçişi, 2005 yılında Engelhart tarafından açık bir şekilde tarif edilmiştir. T hücreleri, CNS'de hasar onarımı ve nöroenez açısından karmaşıktır. T hücrelerinin nöronları doğrudan mı yoksa sitokinler gibi çözünür barış koruyucularla mı etkilediği belirsizdir.

2.1.2 OSB'de bağışıklık sistemi değişiklikleri

OSB'de bağışıklık sistemini araştıran çalışmalar üç ana gruba ayrılabilir:

- T hücreleri ve NK hücrelerine odaklanan hücresel bağışıklık çalışmaları
- Basitçe antikor titreleri, immün globülinler ve dokuya özgü antikorlara odaklanan humoral bağışıklık çalışmaları
- Maternal-fetal tolerans ve immün reaktivite çalışmaları olarak sınıflandırılabilir.

Bağışıklık sisteminin OSB etiyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir. OSB ve sağlıklı kontrol gruplarını karşılaştıran çalışmalarda, OSB grubunda T ve B hücre sayısında ve lenfosit yanıtında azalma, monosit sayısında artış, sitokin profilinde çarpıklık, anormal immunoglobulin seviyeleri saptanmıştır. Anahtar grubuna benzetilen OSB'de IgG, IgG2, IgG4 düzeylerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Croonenberghs *et al.* 2002).

TGF-beta, hücre göçü, apoptoz ve bağışıklık kuralında yer almasına rağmen, CNS'nin büyümesi ve korunmasında da karmaşık olabilir. Ashwood *et al.* (2008a), 2-4 yaş arası OSB tanılı 143 çocuğu normal gelişim gösteren, sağlıklı kontroller ve OSB olmayan gelişim geriliği olan çocuklarla karşılaştırmış ve OSB'li çocuklarda TGF-beta düzeylerinin düşük çıktığını belirlemiştir. OSB'li erişkin bireylerde TGF-beta düzeyleri de geçiş grubuna göre daha düşük çıkmıştır. MIF, proinflamasyon lehine doğal bağışıklığın düzenleyicisidir. MIF genetik polimorfizminin ve boyunun OSB ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Leptin, lenfositler ve adipositlerden salgılanan bir hormon/sitokindir. Leptin, kan-beyin bariyerini geçebilen, IL-6 ve IL-12'ye benzer bir inflamatuvar sitokindir. Plazma leptini OSB'li çocuklarda normal gelişim gösteren çocuklara göre daha yüksek olduğu ve gerileme ile gelişen otizme benzetilen OSB'de erken başlangıçlı otizmden kaynaklanmıştır (Ashwood *et al.* 2008b). Otizimli bireylerin ölüm sonrası beyin dokusu incelemelerinde leptin düzeylerinde artış saptanmıştır.

OSB'de periferik kan mononükleer hücrelerinde TNF-alfa, IL-1 beta ve IL-6'nın switch grubuna benzetilerek arttığı bildirilmiştir. IFN- γ , IL-1 RA ASD, anahtar grubuna benzetilerek artmış, IL-6 ve TNF-alfa ise artma eğilimi göstermiştir (Croonenberghs *et al.* 2002).

OSB ve immünogenetik bağışıklık sistemi ile ilgili genler: makrofaj inhibitör faktörü MIF tirozin reseptörü MET, serin ve treonin kinaz c geni PRKCB1, protein fosfataz ve tensin homolog geni PTEN, reelin, insan lökosit antijeni HLA-DRB1-04, IL-4 reseptörü, eşlik eden CB4 boş aleli çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Sinir sistemini ve bağışıklık sistemini düzenleyen otizmle ilgili genler tanımlanmıştır: PTEN (PI3K'nın negatif düzenleyicisi), MET (tirozin kinaz reseptörü), kalsiyum kanalı ca(V)1.2 (L-tipi kalsiyum kanalı) (Splawski *et al.* 2004). Bu genler doğuştan gelen bağışıklığı düzenler ve bu genlerdeki değişiklikler hem bağışıklık hem de sinir sistemlerini etkiler.

Otizmin etiolojisinde farklı gen ekspresyonları da rol oynayabilir. ASD'de immünoloji ile ilişkili genlerin ekspresyon farklılıkları da tarif edilmiştir. Postmortem neokortikal bölge beyin dokularında bağışıklık sistemi bağlantılı genlerin transkripsiyonunun arttığı belirlenmiştir. Otizmli ve kontrol hastalarının superior temporal girusları karşılaştırıldığında farklı gen ekspresyonları saptanmıştır. Beyin dokusunun yanı sıra diğer dokularda da gen ekspresyon analizleri yapılmıştır. NK hücreleri, kan çalışmaları ve serebellar doku gibi OSB ve gelişme geriliği olmayan sağlıklı çocukların kan örnekleri incelendiğinde, NK hücreleri ve sitotoksik CD 8+ fonksiyonu ile ilişkili genlerde ekspresyon farklılıkları bulunmuştur. ASD'li çocuklarda çeşitli NK hücre reseptörü ve efektör moleküllerinin artırılmış görünümü tespit edilmiştir. Fonksiyonel çalışmalarda, NK hücrelerinde azalmış sitotoksik aktivite belirlenmiş ve IL-2 ile NK hücre uyarımı sonrasında benzer ifade profilleri gözlenmiştir. NK hücreleri, CNS'yi etkilemesi muhtemel sitokinler ve sitotoksik ürünler üretir. NK hücreleri, otoimmünitenin hem kontrolünde hem de aktivasyonunda rol oynar (Perricone *et al.* 2008).

İnsan MHC kompleksi HLA olarak bilinir ve 6. kromozomun kısa kolunda yaklaşık 3,500 kilobazlık bir segmentte yer alır. Otistik bozuklukta doku uyumluluk antijenlerinin

(HLA) dağılımı ile klinik bulguların ilişkisi araştırıldığında, otistik belirtilerin şiddeti ile HLA antijenlerinin arasında bir ilişki bulunamamıştır (Alyanak *et al.* 2002).

2.2 Metabolomik Profil

Yap *et al.* (2010), otistik çocukların idrarında nükleer manyetik rezonans tabanlı bir platform kullanan triptofan-nikotinik asit metabolik izinde bir değişiklik olduğunu bildirmektedir. Diğer araştırmacılar, OSB hastalarında sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS) (Ming *et al.* 2012) ve nükleer manyetik tını ile idrar örneklerinde amino asitlerin, karbonhidratların ve oksidatif stres yollarının metabolizmasında değişiklikler bulmuştur. Genel olarak ASD, triptofan, pürinler, nikotinik asit, B6 vitamini ve artan oksidatif stresin metabolik yollarıyla ilgili plazma ve idrar numunelerinin metabolomlarındaki değişiklikler ve ayrıca bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerle ilişkilendirilmiştir.

Son zamanlarda West *et al.* (2014), daha önce idrarda tanımlanmayan aspartat, kreatinin, sitrat, DHEA-S, glutamat, izolösin ve glutarat metabolik yollarındaki değişiklikleri tanımlamıştır. Bu nedenle, plazma metabolik analizi, bu bozukluğun patofizyolojik araçlarının daha fazla çalışılması ve metabolik profillerin spektrum içinde sınıflandırılması potansiyeli ile uygun bir araç gibi görünmektedir.

2.3 İmmünoglobulinler (Ig)

İmmünoglobulinler (Igs) veya antikorlar, tüm omurgalılarda spesifik bağışıklık tepkisinin hümmoral bileşenini oluşturur (Vaillant *et al.* 2021). IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE, insanlarda Ig'lerin bilinen beş sınıfı veya izotipidir. Bunlar, ağır zincirlerinin benzersiz yapısal ve antijenik özellikleri ile birbirinden ayırt edilebilir (Schroeder and Cavacini 2010).

Ig'ler, önemli yapısal ve işlevsel heterojenlikleri nedeniyle (muhtemelen tüm serum proteinlerinin en dikkate değer olanı) yalnızca immünokimyasal yöntemler kullanılarak ölçülebilir. Bu yöntemlerin her birinde, Ig'ler, özellikle her bir ağır zincir sınıfına özgü

epitoplara (antijenik determinantlar) yönelik, hayvanlar tarafından üretilen serumlara karşı bir antijen işlevi görür. Ana serum Ig sınıflarını (IgG, IgA ve IgM) ölçmek için kullanılan pek çok immünokimyasal teknik arasında üç tanesi göze çarpmaktadır: radyal immünodifüzyon, roket immünoelektroforez veya elektroimmünoassay (Slater 1975) ve immünonefelometri. Düşük konsantrasyonu nedeniyle, IgE ölçümü daha hassas yöntemler gerektirirken, IgD ölçümü klinik ortamlarda henüz kullanışlı değildir.

Yukarıda açıklanan yöntemlerin her birinin yararları ve sakıncaları vardır. İmmunonefelometri, antijen-antikor komplekslerinin oluşumunun getirdiği ışık saçılımını ölçmek için ölçülen serum örneğine bir anti-Ig serumunun (duruma bağlı olarak G, A veya M) eklenmesine dayanır. Çok sayıda numuneyi otomatik olarak analiz edebilme, dikkate değer ölçüde kısa sürede sonuç üretebilme avantajına sahiptir ve ayrıca difüzyona dayalı olmadığı için çeşitli boyutlarda Igs polimerlerinin varlığı yol açmaz. Bu yöntemin ana dezavantajı ya immün kompleksleri ya da immünolojik olmayan moleküler agregatları "kontamine etmenin" bir sonucu olarak numune bulanıklığının getirebileceği girişimdir (Lamari *et al.* 2000).

Hatta bazı araştırmalar, interferon- γ ve IL için pozitif olan hücre sayısının düşük olduğunu gösteren T hücre alt kümelerinde bir dengesizlik bildiriminin yanı sıra, OSB'li çocuklarda IgA, IgG, IgM ve toplam IgE antikorlarının arttığını ileri sürmüştür (Siniscalco *et al.* 2016). Ek olarak, otistik bireylerde gıda aşırı duyarlılığı hakkında konuşurken gluten (buğday, çavdar, arpa ve yulaftan) ve kazein (süt ürünlerinde) vurgulanmıştır. OSB teşhisi konan 150 çocukla yapılan bir çalışmada, kontrol grubunun %1'ine karşı bunların %87'sinde glutene karşı IgG antikorları tespit edilmiştir. Kazein ile ilgili olarak, otistik çocukların %90'ında, kontrol grubunun %7'sine karşı bu proteine karşı IgG bulunmuştur. Bu, esas olarak bu gıdaların alımına ilişkin bağışıklık sisteminde bir anormallik olduğuna dair güçlü kanıtlar olarak kabul edilmektedir (Goines and Ashwood 2013).

Hümmoral bağışıklık açısından bakıldığında, OSB'li çocukların, alerjik tipte bir tepkinin kanıtı olarak yüksek IgE seviyeleri, ayrıca IgG'nin yüksek serum yükseklikleri ve nöronal

elementlere karşı otoantikor katılımı gösterdiği bulunmuştur ve bu durum bir otoimmün yanıtın kanıtı olarak yorumlanmıştır (Price *et al.* 2010).

Yaşları 3 ile 12 arasında değişen 25 otistik çocuğun bağışıklık sistemleri Gupta (1996) tarafından incelenmiştir. Bu otistik çocuklarda aynı anda kandaki T hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri ve IgM, IgA, IgE, IgG1, IgG2, IgG3 ve IgG4 seviyeleri test edilmiştir. İncelenen tüm çocukların bağışıklık sistemleri ciddi şekilde tehlikeye girdiği, ancak tek tip bir modelin oluşmadığı ortaya çıkmıştır. 25 hastadan 24'ünde (%56 artış) hem serum IgM hem de IgE seviyeleri yükselmiştir. İki küçük çocukta seçici IgE eksikliği bulunmuştur. Beş hastada düşük serum IgA seviyeleri bulunurken, ikisinde seçici IgA eksikliği ve ikisinde IgA eksikliği belirlenmiştir. Hastaların %5'inde IgG alt sınıf seviyeleri düşüktür. Düşük IgG1 (1), IgG2 (1), IgG3 (1) ve IgG4 (2) düzeylerinin tümü gözlemlendiğinde, bu genel bir IgG eksikliğine işaret etmektedir. Sadece iki vakada, hastalar artmış IgG1 seviyeleri göstermiştir.

Antikorlar (IgG) hamilelik sırasında anneden fetüse aktarılır: 13. haftada fetal dolaşımında fark edilebilirler, 30. haftada konsantrasyonu annenininkinin yarısı kadardır ve doğumda anneyi bile aşar. Fetüsün kan-beyin bariyeri, gelişimi sırasında değişir ve bu IgG antikorlarına izin verir, yani onu tahriş etme ve gelişmekte olan fetüsün beynine ulaşma yeteneğine sahiptirler. Kemirgenlerdeki eğitimler, hamile hayvanların annelerinden aktarılan insan oto antikorlarına maruz kaldıklarında ASD'leri anımsatan davranış değişikliklerinin meydana geldiğini, ancak bu antikorlara sahip olmayan bir kişiden alındığında olmadığını göstermiştir. Bu insan antikorları ile tedavi edilen maymunlarda beyin hacminde değişiklikler ve davranış bozuklukları da görülmüştür.

Fetal beynin hedefleri, bu antikorların bağlandığı antijenler: laktat dehidrojenaz A ve B, sipin, stres kaynaklı fosfoprotein 1, kollapsin 1 yanıt aracı proteinleri ve 2 ve Y- gibi proteinlerdir. OSB'li çocukların annelerinin %23'ü, bu antijenlerin belirli kombinasyonlarına karşı tepki gösterirken; kontrollerin yalnızca %0,67'sinde bu durum meydana gelmiştir. Öte yandan, bu annelerin %23'ünün çocukları, bu antikorlara sahip olmayan OSB'li çocukların annelerine benzer şekilde ileri düzeyde stereotipik

davranışlara sahiptir. OSB'li çocukların annelerinde enfeksiyonlar veya sitokin sinyalinin düzensizliği gibi bağışıklık sorunlarına işaret eden başka göstergeler de vardır.

2.4 CRP Seviyeleri

Yetersiz beslenmiş hastalarda değiştirilebilecek başka bir özellik, akut faz yanıtıdır. Söz konusu yanıt sırasında indüklenen tüm proteinler arasında en önemlilerinden biri, teşhise yardımcı olarak ve enflamatuvar, enfeksiyöz veya doku yıkım süreçleriyle ortaya çıkan hastalıkların evriminde kullanılan bir protein olan C-Reaktif Protein'dir (CRP) (Sproston and Ashworth 2018).

CRP, yalnızca hepatositler tarafından üretilen ve sentezi proinflamatuvar sitokinler, örneğin interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve Tümör Nekroz Faktörü (TNF) Tanaka *et al.* (2014) tarafından modüle edilen glikosile edilmemiş bir proteindir. CRP'nin büyüklüğü, enflamatuvar veya enfeksiyöz durumun uzamasını yansıtırken, azalması klinik iyileşmeyi ve terapötik müdahalenin etkinliğini temsil eder (Kumar *et al.* 2011).

Çeşitli klinik durumlarda başta CRP olmak üzere akut faz yanıtı üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır (Lobo *et al.* 2003, Pepys and Hirschfield 2003, Aydın 2018). Bununla birlikte, yetersiz beslenen çocuklarda doku hasarı veya enfeksiyon durumlarında bu protein hakkında çok az çalışma vardır. Bu bağlamda, mevcut çalışmalar birbiriyle örtüşmemektedir ve hepsi ciddi ya da ciddi beslenme yetersizliği olan çocuklar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Schulze (2003), yetersiz beslenen enfekte marazmatiklerde yüksek CRP konsantrasyonları belirlemiştir. Shen *et al.* (2020), çelişkili olarak, kwashiorkor'lu çocuklarda bu proteinde belirgin bir artış olduğunu, ancak marasmatik çocuklarda olmadığını bildirmiştir. Öte yandan, Underwood *et al.* (2005), ciddi şekilde yetersiz beslenen çocuklarda akut faz proteinlerinde bir azalmaya olduğunu tespit etmiştir.

2.5 Hiper Serotonemi ve Otizm

İlk kez, Schain and Freedman (1961) altı otistik çocukta serotonineminin yükseldiğini bildirdiğinden beri, çocukluk otizmiyle ilişkili hiper serotonemi kavramı birçok yazar tarafından yeniden keşfedilmiştir. Hiper serotonemi, başlangıçta inanıldığı gibi (Ritvo *et al.* 1970) trombositoz ile değil, trombositlerdeki serotonin artışıyla bağlantılı görünmektedir (Petit *et al.* 1995).

Bu hiper serotonemi, otistik çocukların %30'undan fazlasında bulunur ancak otizme özgü değildir (Bursztejn *et al.* 1988).

Artan araştırmalara rağmen, otistik hiper serotoneminin mekanizmaları henüz aydınlatılamamıştır. Ferrari *et al.* (1988), hiper serotonemi ile ana otistik bozuklukların yoğunluğu (geri çekilme, karşı çıkma, ekolali, görünürdeki duygusuzluk, ayrılık kaygısı, klişeler, kas gerginliği, hiperaktivite, hipoaktivite ve tavırcılık) arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Hoshino *et al.* (1986), serbest triptofanın (triptofan, muz, çikolata veya barbunya gibi gıdalarda bulunabilen 5-HT'nin bir amino asit öncüsüdür) plazma seviyeleri ile CPRS (Çocuk Psikiyatrik Derecelendirme Ölçeği) ile elde edilen otizmin küresel şiddeti arasında pozitif korelasyon bulmuştur. WWPAS (Werry-Weiss-Peters Etkinlik Ölçeği) tarafından derecelendirilen hiperaktivite ve Tsumori-Image'ın Gelişim Bölümünden (QD) elde edilen zihinsel gelişim, otistik çocuklarda serotonin seviyesi ile zihinsel yetersizlik (IQ) arasında önemli bir ilişki gözlemlenmemektedir (Leboyer *et al.* 1999). Diğer çalışmalar, otistik hastalardan oluşan bir popülasyonda, 5-HT düzeylerinin, sinirsel şifrelerin sertliği ile olumlu bir şekilde bağlantılı olduğunu göstermiştir (Petit *et al.* 1995).

Son olarak, aile araştırmaları otistik deneklerde ve onların birinci derece ailelerinde (baba, anne ve kardeşler) hiper serotonemiden kaynaklandığını göstermiştir (Leboyer *et al.* 1999), bu da hiper serotoninemiye genetik bir katkının varlığının kanıtıdır.

2.6 Otizmde Stres Nörohormonları

Klinik gözlemler, otistik çocuklarda panik ataklara kadar gidebilen kaygı sıklığının altını çizmektedir (yokuş veya yükseklik korkusu, musluklar veya tuvaletler aktığında panik ataklar vb.) (Haag *et al.* 2005).

Fizyolojik olarak, basınç cevabının iki ana eksenine sahiptir: anında tepkiye yol açan sempatik sinir sistemi eksenine (noradrenalin ve adrenalin) ve beklenti ve düzenleme mekanizmalarında yer alan hipotalamik-hipofiz eksenine (ACTH, β -endorfin ve kortizol). Dopaminin, bir hidroksilasyon adımıyla, başka bir enzimatik adımla adrenalinin sentezine izin veren noradrenaline dönüştürülür. Plazma β -endorfinleri ACTH (yani, POMC: propiomelanokortin) ile aynı hipofiz öncüsünden türetildiğini ve kan-beyin bariyerini tahriş etmediğini vurgulamak da önemlidir. Dolaşımdaki bu β -endorfinler bu nedenle opioidlerin merkezi aktivitesini (analjezik özellikler dahil) temsil etmez ve ACTH ile aynı şekilde stres nörohormonları olarak düşünülmelidir.

Otistik hastalarda yürütülen çeşitli araştırmalar, bu iki stres yanıtı ekseninin nörohormonlarını idrar, plazma veya tükürükte ölçmüş, ancak bunları hiçbir zaman aynı anda incelememiştir. Üriner kortizol ölçümleri, hipotalamus-hipofiz ekseninin temel işleyişini yansıtır çünkü idrar toplama, strese bir tepki durumuna karşılık gelen kan numunelerinin aksine, genellikle stressiz bir durumda ve birkaç saat boyunca gerçekleştirilir:

- Sempatik sinir sisteminin (SNS) stres yanıtı, otizmde adrenalin, noradrenalin ve ana metabolitlerinin (MHPG: 3-metoksi-4-hidroksi feniletiklikolik; VMA: vanillmandelik asit) plazma veya idrar dozları kullanılarak değerlendirilmiştir. Plazma norepinefrin ölçümleri, otistik hastalarda kontrol gruplarına göre sürekli olarak anlamlı bir şekilde gelişmiş görünmektedir; diğer SNS nöromediatörlerinin çevresel ölçümleri, daha çelişkili sonuçlar vermiştir (Minderaa *et al.* 1994). Bununla birlikte, idrar ölçümleri çoğunlukla normaldir, bu da SNS'nin temel işleyişinin değişmediğini gösterir. Son olarak ne dopaminin periferik ölçümleri ne de ana metabolitlerinin (DOPAC: 3-4

dihidroksifenilasetik asit ve HVA: homovanilik asit) periferik veya merkezi ölçümleri konusunda bir fikir birliği olmaması ilginçtir.

- Hipotalamik-hipofiz eksenini ile ilgili olarak ACTH, β -endorfinler (BE) ve kortizolün periferik ölçümleri tutarsız ve çelişkili sonuçlar vermektedir (Tordjman *et al.* 1997). Bununla birlikte, en yeni araştırmalar, özellikle BE'lerin C-terminal ucunun plazma seviyeleri olmak üzere, infantil otizmde periferik BE'lerde önemli bir artış olduğunu bildirmektedir (Cazzullo *et al.* 1999). İdrar veya plazma kortizol dozajlarının hemen hemen tüm çalışmalarda normal görüldüğünü not etmek çok önemlidir, bu da daha önce gördüklerimizle karşılaştırıldığında yine hipotalamik-hipofiz ekseninin normal temel işleyişini gösterir. Söz konusu idrar ölçümlerini ve ayrıca plazma kortizolün yarı ömrünün uzun olduğunu hatırlatmaktadır.

Genel olarak, çeşitli çalışmaların sonuçları, otistik hastalarda hem SNS düzeyinde (yüksek plazma noradrenalin) hem de hipotalamus-hipofiz eksenini düzeyinde (periferik BE yüksek) anormal derecede artmış bir stres tepkisinin varlığına işaret ediyor gibi görünmektedir. Bu iki eksenin temel işleyişi normal görünmektedir. Bu, çocuksu otizmde aşağıdaki hipotezleri önerir:

- Stres tepki sistemlerinin tam seviyesinde olabilecek organik anormallikler;
- Stres tepki eksenlerinin fonksiyonel hiperaktivitesi;
- Yorumlanamayan, anlaşılamayan ve kontrol edilemeyen en ufak bir duyuşsal uyaranda bile aşılabilecek, böylece büyük kaygıların ortaya çıkmasını tetikleyecek, anormal derecede düşük bir stres eşiğı;
- Genellikle zararsız olan ve kaygı uyandırmayan uyarıları stresli hale getirebilen çevresel uyarıların bilişsel düzeyde farklı bir algısı;
- Strese verilen tepkileri düzenleyen uyum mekanizmaları, strese verilen bu tepkilerin kendilerini ifade edememesi, kendilerini davranışsal ve duygusal düzeyde dışsallaştırması.

2.7 Epidemiyoloji

1990'ların başından bu yana, farklı sağlık sistemleri tarafından sistematik sürveyans oluşturma ihtiyacının altını çizen OSB yaygınlık çalışmalarında kaydedilen artışlar hakkında kamuoyunda dikkate değer bir artış olmuştur. OSB'nin erken ve güvenilir bir şekilde teşhis edilmesini sağlayan biyolojik belirteçlerin bulunmaması nedeniyle, semptomların gelişimini etkileyebilecek farklı etiyolojik faktörlerin açıklığa kavuşturulmasına yardımcı olmaya çalışan epidemiyolojik çalışmalar, bu bozukluğun araştırılmasında büyük önem kazanmıştır (Sun *et al.* 2015).

Otizmin yaygınlığına ilişkin ilk araştırmalar 4-5/10,000 civarında rakamlar bildirmiştir. Daha sonraki çalışmalarda rakamlar önemli ölçüde artmıştır. Bertrand *et al.* (2001), Amerika Birleşik Devletleri'nde 30-60/10,000'lik bir oluşum öngörmüştür. İspanya'da, Kanarya Adaları'nda yapılan bir araştırma, yaygınlığı 1/164 olarak tahmin etmiştir; çoğu araştırma, erkeklerin kızlara göre daha yüksek yaygınlık gösterdiğini (4-5/1) ve sosyal gruplar açısından hiçbir fark olmadığını kabul etmektedir (Sun *et al.* 2015, Bertrand *et al.* 2001). Amerika Birleşik Devletleri'nde Hastalık Kontrol Merkezi, 14 eyalette "Otizm ve Gelişimsel Yetersizlikleri İzleme" (ADDM) sürveyans sisteminde istatistiksel verilere dayalı olarak OSB hakkında önemli bir epidemiyolojik çalışma yürütmüştür. Araştırmacılar, çalışmaya katılan 14 eyalet arasında ortalama 1/88 yaygınlık tahmin etmiştir. Cinsiyete göre ayrıldığında, 14 eyalette 2,7 ile 7,2 arasında değişen erkekler lehine bir oran ile 1/54 erkek ve 1/252 kız prevalansı belirlenmiştir. Etnik farklılıklarla ilgili olarak, Hispanik olmayan beyaz çocuklar arasındaki yaygınlık 12/1,000 olarak belirlenmiştir. Bu oran siyah ve hispanik çocuklardan önemli ölçüde daha yüksektir (sırasıyla 10,2 ve 7,9/1000). Bu çalışmanın yayılmasından sonra ortaya çıkan sonuç, Depastas and Kalaitzaki (2022)'yi 2004 ve 2008 yılları arasında Birleşik Krallık'taki doktorlar tarafından kaydedilen ve "General Practice" veri tabanına kayıtlı verilere dayanarak 8 yaşındaki çocuklar üzerinde epidemiyolojik bir çalışma yapmaya teşvik etmiştir. Araştırmacılar 2008 yılında yaklaşık 4/1,000 çocukta prevalans tespit etmişlerdir; bu rakam önceki çalışmalara kıyasla kayda değer bir artışı temsil etse de Amerika Birleşik Devletleri'nde kayıtlı 11/1,000'den önemli ölçüde düşüktür. Ancak aradaki fark kısmen Amerikan çalışmasının ADDM'de farklı profesyoneller tarafından

toplanan otistik semptomların varlığına dayalı bir yaygınlık tahmin sistemine dayanması, İngiliz çalışmasının ise sadece doğrulanmış vakaları saymasından kaynaklanıyor olabilir. Her durumda, OSB'nin görülme sıklığında önemli bir artış olduğu görülmektedir; bu artış gerçek bir insidans artışından kaynaklanabileceği gibi tanı ve erken teşhis sistemlerinin iyileştirilmesi veya tanı kriterlerinde yapılan değişiklikler gibi diğer faktörlere de bağlı olabilir (Sun *et al.* 2015, Bertrand *et al.* 2001).

Iraklı çocuklar arasında görülme sıklığı giderek artan otizm, Irak'ta yaygınlaşan hastalıklardan biridir (Al-Zaidi 2021), çocuk üzerindeki etkileri hayatının ilk üç yılında açıkça görülebilen otizm, uluslararası sağlık kuruluşları tarafından yapılan araştırmalara göre, erkekleri kadınlardan dört kat daha fazla etkilemektedir.

2.8 Bağışıklık Sistemi

Bağışıklık, hastalığa, özellikle bulaşıcı hastalığa karşı direnç olarak açıklanır. Bağışıklık sistemi hücreleri, kemik iliğindeki hematopoietik kök hücrelerden gelişir. Bu hücreler, sitokinler ve hormonlar gibi uyarıcı moleküllerin etkisi altında miyeloid veya lenfoid hücrelere farklılaşırlar. Miyeloid hücre dizisi nötrofiller, bazofiller ve eozonofiller gibi monositler ve granülositlerden oluşur. Dokularda, monositler makrofajlara ve bazofiller mast hücrelerine farklılaşır. Lenfoid hücre çizgisi; T hücreleri, B hücreleri ve doğal öldürücü hücreler (NK) içerir. T hücreleri timusta, B hücreleri ise kemik iliğinde olgunlaşır. Olgunlaşan hücreler dolaşıma katılır ve dolaşımdaki patojenlerle rahat etkileşim alanları sağlayan dalak ve lenf düğümleri gibi ikincil bağışıklık dokularına yerleşir. Hematopoietik kök hücrelerin lenfoid veya miyeloid hücrelere farklılaşmasında ve immün sistemin genel işleyişinde rol oynayan immün sinyal faktörlerine sitokinler denir. Sitokinler lökositler, mikrogliya, endotel hücreleri, fibroblastlar ve adipositlerden salgılanır. Bağışıklık sistemi ile sınırlı olmayan birçok vücut fonksiyonu üzerinde lokal ve sistemik etkilere sahiptir. Sitokinler üretildikleri hücreyi, yakındaki hücreleri ve uzaktaki hücreleri etkileyebilirler (Alagbe *et al.* 2008).

Konak savunma mekanizması, mikroorganizmaları tanımak ve yok etmek için organizmada doğal olarak hazır bulunan ve enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu bariyeri

oluşturan "doğal direnç- doğal bağışıklık" ile herhangi bir patojenle karşılaştıktan sonra doğal direnci takiben ortaya çıkan ve enfeksiyonlara karşı daha etkin bir savunma sağlayan "kazanılmış direnç- kazanılmış bağışıklık"tır.

Doğuştan gelen direncin ana yapı taşları epitel tabakası, NK hücreleri, kompleman sistemi, fagositik hücreler ve sitokinlerdir.

Kazanılmış bağışıklığın yapı taşları, T ve B lenfositleri ve bunların ürünleridir. T lenfositleri hücresel bağışıklıktan sorumlu hücrelerdir ve B lenfositleri humoral bağışıklıktan sorumludur. Humoral bağışıklık tepkileri, antijenle reaksiyona girebilen antikorların oluşumuyla sonuçlanır. "İmmünoglobulin" (Ig) adı verilen tüm antikorlar benzer yapıdaki proteinlerdir ve serum enjeksiyonu ile pasif olarak başka bir kişiye aktarılabilirler. Bağışıklık yanıtı iki aşamadan oluşur; tanıma fazında antijen sunan hücreler (ASH) ve T lenfositler. Efektör fazda ise antikorlar ve efektör T lenfositler antijeni yok etmede etkilidir (Wing and Gould 1979).

2.8.1 Doğal bağışıklık

Doğuştan gelen bağışıklık, güçlü bir erken savunma sistemidir, adaptif bağışıklık devreye girmeden önce birçok enfeksiyonu kontrol edebilir ve yok edebilir. Doğuştan gelen bağışıklık da adaptif bağışıklığın etkili farklılaşmasında rol oynar. Edinilmiş bağışıklık, kısmen doğal direnç mekanizmalarını kullanarak enfeksiyonlarla mücadelede genellikle etkilidir. Kısacası, doğuştan gelen direnç ve adaptif bağışıklık arasında ikili bir iletişim vardır. Doğuştan gelen direncin ana yapı taşları epitel tabakası, NK hücreleri, kompleman sistemi, fagositik hücreler ve sitokinlerdir (Wing and Gould 1979).

Doğuştan gelen bağışıklığın yapı taşları, konakçı hücrede bulunmayan ancak farklı mikroorganizmalar için ortak olan yapıları tanır. Doğal bağışıklık aynı etkenle her karşılaşmada benzer bir yanıt oluştururken, kazanılmış bağışıklık bir kez karşılaştığı mikroorganizma ile sonraki karşılaşmalarında çok daha etkili bir yanıt oluşturur, bu olay bağışıklığın hafızası olarak adlandırılır (Abbas *et al.* 2007).

2.8.2 Epitel tabakası

Deri, sindirim ve solunum sistemleri gibi mikroorganizmaların vücuda ortak giriş kapıları, enfeksiyonlara karşı fiziksel ve kimyasal bariyeri oluşturan epitel tabakası ile kaplıdır. Epitel hücreleri bakterileri öldürebilen peptid ürünler üretir.

2.8.3 Fagositik hücreler

Dolaşımdaki fagositik hücrelerden gelen nötrofiller ve monositler enfeksiyon bölgesine giderler, oradaki mikroorganizmaları tanırlar ve onları içeriye alarak hücre içi yıkım işlemini gerçekleştirirler. Dolaşımda polimorf nükleer lökositler olarak da adlandırılan nötrofiller, beyaz kan hücrelerinin çoğunluğunu ve inflamatuvar reaksiyonların erken evresini oluşturur (Camcıoğlu 2013). Kandaki nötrofil sayısı mm^3 başına yaklaşık 4,000-10,000'dir. Dolaşımdaki mikroorganizmaların yanı sıra damar dışındaki enfeksiyon odağına geçerler, mikroorganizmaları sindirirler ve birkaç saat içinde ölürlür. Nötrofiller kemik iliğinden kaynaklanır ve granülosit koloni uyarıcı faktör (GCSF) tarafından uyarılır. Mikropların girişinden saatler sonra enfeksiyon bölgesine göç eden nötrofiller, inflamasyon bölgesine göç etmediklerinde apoptoza uğrarlar ve karaciğer ve dalakta sabit makrofajlar tarafından fagositozlanırlar (Camcıoğlu 2013).

Mononükleer fagosit sistemi, doğal ve kazanılmış bağışıklıkta rol oynayan ve ana işlevi fagositoz olan hücrelerden oluşur. Bu hücreler kemik iliğinde şekillenir, dolaşımda olgunlaşır ve farklı dokularda aktif hale gelir. Monositler; Fagositoz yetenekleri, T lenfositlerine antijen sunumu, interlökin-1 (IL-1), IL-6, Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α), LL37 katelisinidin üretimi nedeniyle immün yanıtın önemli bir hücre alt grubudur. Kandaki monosit sayısı mm^3 başına 500-1,000 arasındadır. Nötrofillerden farklı olarak ekstravasküler dokularda daha uzun yaşarlar ve dokularda makrofaj olarak adlandırılırlar. Makrofajlar bulundukları dokulara göre farklı isimler alırlar. Örneğin, merkezi sinir sisteminde mikrogial hücreler, karaciğerin vasküler sinüsoidlerinde Kupffer hücreleri, akciğerlerde alveolar makrofajlar ve kemikte osteoklastlar olarak adlandırılırlar. Mikroorganizma ile karşılaşan subepitelyal makrofajlar, TNF ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinleri salgılar. Proinflamatuvar sitokinlerin etkisiyle kapiller endotel hücresinin

geçirgenliği artar ve fagositler enfeksiyon bölgesinde yoğunlaşmaya başlar. Aktif makrofajdan salınan IL-1, TNF- α hipotalamusu etkileyerek hipotalamo-hipofiz-adrenal eksen aktivasyonu, ateş, iştahsızlık, yorgunluk ve uyku değişikliklerine neden olur. Ek olarak, proinflamatuvar sitokinler, akut evre proteinlerinin (C-reaktif protein, fibrinojen, haptoglobin) karaciğerden duyurulmasını uyarır. Hem makrofajlar hem de nötrofiller, antikor ve kompleman reseptörlerine sahiptir. Bu şekilde, antikorlar, kompleman veya her ikisi ile kaplanmış mikroorganizmaların fagositozu artırılır. Fagosit edilmiş mikroorganizmalar, reaktif oksijen radikalleri, antimikrobiyal katyonik peptitler ve lizozim tarafından parçalanır. Doğuştan gelen bağışıklığın anahtar hücrel bileşeni dendritik hücrelerdir (DC). Derideki Langerhans hücreleri de dahil olmak üzere bu tür hücreler, hücre dışı antijenleri yavaş yavaş fagositize eder ve ASH gibi davranarak antijeni T lenfositlerine sunar.

2.8.4 Doğal öldürücü hücreler

Doğal öldürücü (NK) hücreler, büyük granüler lenfosit morfolojisine sahip kemik iliği kaynaklı hücrelerdir. Doğuştan gelen bağışıklığın elemanları olan NK hücreleri başlıca kan, dalak ve karın sıvısında bulunur. Fenotipik olarak, CD3-CD16+CD56 $\pm$ NK hücreleri, kendiliğinden litik aktivite, negatif yüzey Ig ekspresyonu gösteren, yapışkan olmayan ve fagositik olmayan hücrelerdir. Antikora veya antijenik stimülasyona ihtiyaç duymadan hedef hücreleri öldürme yeteneğine sahiptirler. Spesifik olmayan bir şekilde mitojenler ve IFN- γ , IL-2, IL-12, IL-15, IL-18 tarafından aktive edilirler. NK hücreleri, virüs bulaşmış hücreleri yok eden ilk yanıt verenlerdir. NK hücrelerinin enfekte ve enfekte olmayan hücreleri nasıl ayırt ettiği açık olmasa da hücre yüzeysel reseptörlerinin lizis mekanizmasında bir rol oynadığına inanılmaktadır. NK hücreleri, iki tip hücre yüzeyi reseptörü ifade eder. Akış sitometrisinde eksprese ettikleri yüzey molekülleri (CD16, CD56) ile NK hücrelerini saptamak mümkündür. NK hücreleri, periferik kan lenfositlerinin %5-15'ini oluşturur (Camcıoğlu 2013).

2.9 Sitokinler

Sitokinler, lenfositlerin klonal bölünmesinde rol alan, efektör hücrelerin performansında rol alan, doğal ve kazanılmış bağışıklığın en etkili oluşumunda görev alan, immünomodülatör moleküller ve immün sinyal faktörleri olarak tanımlanan, immün kompetan olan ve olmayan hücreler tarafından üretilen moleküllerdir. Esas olarak sitokinler ve kemokinler olan bu moleküllerin bazı ortak özellikleri vardır: Aynı sitokin farklı hücreler tarafından üretilir ve farklı hücre tipleri üzerinde etki gösterebilir (pleiotropizm), tek bir hücre ise farklı etkilere sahip farklı sitokinleri sentezleyebilir. Sitokinler arasında doğrudan anti-viral aktiviteye sahip IFN'ler özel bir öneme sahiptir. Üç grupta toplanan IFN'ler (tip I, II ve III), DC'ler, T lenfositler ve NK hücreleri gibi bazı bağışıklık sistemi yapı taşlarının uyarılması sonucu sentezlenir. Anti-viral etkilerinin yanı sıra, IFN'lerin makrofajları ve NK hücrelerini uyarma gibi önemli aktivatör rolleri vardır (Kawai and Akira 2006).

Genel olarak, sitokinler ve kemokinler, ASH'ler, lenfositler ve diğer hücreler arasındaki iletişimi sağlayan ana araçlar olarak düşünülmelidir; Doğuştan gelen bağışıklığa dayalı bu araçların, kazanılan tepkinin türünü ve sertliğini belirleyen özelliklere sahip olduğu unutulmamalıdır. Doğuştan gelen bağışıklığın araçları ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde rol oynayan sitokinler arasında IFN- α , β , TNF, IL-1, IL-12, IL-10, IL-6, IL-15, IL-18, IL-19, IL-20, IL-22, IL-23, IL-24 ve IL-27 vardır. Spesifik antijenin T lenfositler tarafından tanınması, kontrol lenfosit başlangıcı, büyümesi ve farklılaşmasına yanıt olarak oluşan yani adaptif bağışıklıkta rol oynayan sitokinler, IL-2, IL-4, taşıyıcı büyüme faktörü-beta olarak özetlenmektedir (TGF- β) (Camcıoğlu 2013).

2.10 Otizmin İmmünolojik Özellikleri

Elde edilen veriler, immünolojik yanıtta değişikliklerin otizm spektrum bozukluğu (ASD) ile bağlantılı olduğunu göstermektedir. Düzenli bağışıklamadan sonra saptanabilir kızamıkçık antikor titresi olmayan bir çalışmada on üç otistik çocuktan beşi, kontrol hastalarına kıyasla periferik kan mononükleer hücre (PBMC) mitojenik stimülasyonuna azalmış bir yanıt göstermiştir (Lord *et al.* 2000).

Bununla birlikte, birkaç çalışma, OSB'li çocukların doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinde düzensizlikler sergilediğini ortaya koymuştur. Ayrıca, İnterlökün 1 reseptör antagonistinin (IL-1RA) yüksek olması monosit-makrofaj soyunun gelişmiş bir hücresel tepkisini düşündürmektedir. Otistik çocuklar üzerinde yapılan araştırmalar, periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBMC), kontrollere kıyasla monositik-makrofaj soyunun hücreleri için bir uyarıcı olan lipopolisakkaritler (LPS) ile tümör nekroz sorunu (TNF-a) ve interlökün 1b (IL-1b) gibi ileri düzeyde proinflamatuvar sitokinleri ürettiğini ortaya koymuştur (Chakrabarti and Fombonne 2001).

Serumda yüksek immünoglobulin E (IgE) ve immünoglobulin G (IgG) seviyeleri ve nöronal bileşenlere karşı otoantikorların varlığı, OSB'li çocuklarda otoimmün bir yanıtın belirtileri olarak anlaşılmıştır. OSB'li çocuklarda hem TH1 hem de TH2 sitokinlerinin seviyesi daha yüksektir. Singh (1996)'a göre, OSB'li çocuklardan alınan tam kan kültürlerinin süpernatantında TH1 sitokinleri (IL-12 ve IFN-g) tespit edilmiştir. Gupta (1996) monoklonal antikorlar kullanarak OSB'li çocuklarda IL-4 içeren CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin oranının kontrollere kıyasla daha yüksek olduğunu, IFN-g CD4+ ve IL2 CD4+, IFN-g CD8+ ve IL-2 CD8+ T hücre alt popülasyonlarının oranının ise OSB'li çocuklarda kontrollere kıyasla daha düşük olduğunu bulmuştur.

Öte yandan, OSB'yi otoimmün hastalıklarla ilişkilendiren kanıtlar vardır ve bu hastalıkların prevalansı OSB'li kişilerin yakın ailelerinde daha yüksektir. Bununla birlikte, otizm ile immünolojik işlev bozukluğu arasında bir ilişki bulan araştırmaların çoğu, tanı araçlarını kullanmamış ve bunun yerine otizm tanısı için yalnızca DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. American Psychiatric Association) kriterlerine güvenmiştir. ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule) ve ADI-R (Autism Diagnostic Interview-Revised) yapısı ve birçoğunun tutarsız olması ve yeniden üretilmemesi, bildirilen immünolojik bulgular konusunda fikir birliğine varılmamasına yol açmıştır.

2.11 Otizmin İmmünogenetik Teorisi

İmmünoloji alanından elde edilen kanıtlar, davranış sorunları olan kişilerin, CD4+ T hücreleri tarafından salgılanan TH2 sitokinlerine doğru bir sapma ile, değişmiş bir bağışıklık tepkisine sahip olduğunu göstermektedir (Müller *et al.* 1999).

Şizofreni, davranış problemlerinin bir modeli olarak iyi bir şekilde belgelenmiştir ve bu durumda kanda, beyin omurilik sıvısında ve ölüm sonrası beyinde değerlendirilen sitokinlerin ve gelişim faktörünün görünümünde anormallikler oluşmuştur. Şizofreni, özellikle beyin gelişimi sırasında sitokinlerin ve büyüme hormonlarının kontrolündeki problemlerle ilişkilidir ve bu, şizofrenlerin beyinlerinde tanımlanan birçok moleküler anormallikten sorumlu olabilir (Nawa *et al.* 2000).

Bu çalışmanın sonuçları diğer gruplarda tekrarlanamasa da keşfedilen sitokinler, ekolojik koşullarla birleştiğinde şizofreninin ortaya çıkışından sorumlu olabilecek genetik bir eğilim olduğu fikrini doğrular.

Bununla birlikte, IL-6, IFN-g, dönüştürücü büyüme faktörü alfa (TGFA) ve IL1a'nın hepsinin, sitokin nakavt hayvanlar, anti-sitokin antikorları ve antagonistler kullanılarak yapılan çeşitli araştırmalarda temel olduğu gösterilmiştir. Grip ile enfekte olduklarında, ortaya çıkan ateş, iştahsızlık, halsizlik ve akciğer iltihabında rol alırlar. IL-6 ve nöropoietik sitokin ailesinin diğer üyelerinin, hücre kültüründe nöron ve glia büyümesi üzerinde düz aidiyetleri olabileceği tespit edilmiştir. Çoğalma, ölüm, hayatta kalma, dendrit rejenerasyonu ve gen görünümü gözlemlenebilir birçok sonuçtan sadece birkaçıdır (Gadient and Patterson 1999). Bu hayvan modelinin kullanılması, araştırılmakta olan genlerin hastalığa yatkınlığı gerçekten etkileyip etkilemediğini belirlemesine olanak tanır.

Otizm gibi davranışsal bozuklukların etiyopatogenezinde immünogenetik değişkenlerin rol oynadığına dair kanıt olmamasına rağmen, çeşitli çalışmalar HLA kompleksinin belirli ruh sağlığı durumlarının ortaya çıkışı, riski ve terapötik yanıtı üzerindeki etkisini

göstermiştir. Çalışmalar şizofreni ile HLA-DRB1*0101, otizm ile HLA-DR4 (46, 52) ve bipolar bozukluk ile HLA-A10 ve HLA-B27 arasında önemli bağlantılar bulmuş olsa da, bağlantının türü ve şiddeti etnik grup, hastalık ve klinik performansa göre değişmektedir (Üçok *et al.* 2005).

Bununla birlikte, bir kişinin belirli bir hastalığa yakalanma riskini artıran belirli bir HLA genine veya aleline sahip olması, hastalığın o kişide kesinlikle kendini göstereceğini garanti etmez. Aynı zamanda kızamıkçık virüsü, sitomegalovirüs veya henüz çalışılmamış diğerleri gibi otizmle ilgili bazı enfeksiyöz ajanlara intrauterin maruz kalmaya bağlı immün disfonksiyon, bunun sonucunda spesifik neuregulinler ve glial proteinlerin değişmesi, HLA-A2 ve otizm duyarlılığı ile ilişkili olabilir.

Benzer şekilde, MET geni otizmle ilişkilendirilmiştir ve bu gen sadece beyin korteksi ve serebellumdaki nöronların organizasyonunda değil, aynı zamanda sindirim sisteminin gelişimi ve onarımında ve uzaktaki monositlerin bükülmesinde de rol oynar. T hücreleri ve antijen sunan dendritik hücreler tarafından aktive edilir. Otizmde GABA erjik patofizyolojik değişiklikler hipotezi, MET gen sinyali gibi internöronal büyümeye dahil olan genlerdeki mutasyonların yanı sıra diğer duyarlılık genleri, epigenetik değişiklikler ve çevresel faktörlerin otizmin ortaya çıkmasında bir rol oynayabileceğini önermektedir. Otizm, beyin gelişimi boyunca kritik zamanlarda anormal immünolojik aktivitenin neden olabileceği beynin nöronal devrelerindeki bozulma ile karakterize edilir (Ashwood *et al.* 2006).

2.12 Otizmin Nöroimmünolojisi

İnsanlarda ve hayvanlarda, sosyal motivasyon mekanizmalarına kısmen, dopamin (DA) ile bağlantılarını bitiren oksitosin (OXT) gibi nöropeptitler aracılığıyla sinyal gönderilerek aracılık edilir. OKT sinyaline ek olarak, endojen opioid, dopaminerjik, kanabinoid, kolinerjik ve glutamaterjik cihazların üretimi, sosyal oyunların ödül yönünü sayarak, ilişkisel sosyal davranışların hakemliğinde önemli bir rol oynar.

ASD'li denekler, orbitofrontal-striatal-amigdala devresinde anormallikler gösterir; özellikle sosyal uyaranlara tepki olarak, yüz tanıma, sosyal onay ve reddetme. Bu hastalarda OKT'nin normal regülasyonunun çok erken aşamalarda kesintiye uğradığı, bunun da sosyal ödül mekanizmalarının işlev bozukluğuna müdahale ettiği ileri sürülmüştür; bu, sosyal uyaranlar ile motivasyonel değerler arasında kesin bir ilişkiyi önler.

Otistik bireylerde nörotransmisyon sistemlerinde bozulma ve/veya işlev bozukluğu olduğu öne sürülmüştür; örneğin, ASD'nin büyümesine katkıda bulunan bozulmuş GABA Aergic yayını düşündüren kanıtlar vardır; gama-aminobütirik asit (GABA) (Solís-Añez *et al.* 2007) yetişkinlikte ana inhibitör nörotransmitterdir, beyinde GABA inhibitör nörotransmitter görevi görür, gelişmekte olan ve perinatal retro boyunca bu nörotransmitter belirli hücre gruplarını depolarize eder ve kalsiyum akışını tetikler (Ca²⁺). GABA'nın gelişim sırasındaki çok yönlü aktiviteleri göz önüne alındığında, GABAergic sinyallemede anormal bilgi dağılımına ve ASD'de nörogelişimsel bozuklukların ortaya çıkmasına neden olabilecek bir dengesizlik olması şaşırtıcı değildir.

Öte yandan, glutamat (GLU), memelilerde AMPA ve kainat reseptörleri yoluyla uyarıcı bulaşmaya aracılık eden önemli bir nörotransmitterdir. Daha önce bahsedildiği gibi, eksitasyon ve rezerv arasındaki dengedeki değişiklik, OSB'deki hastalık mekanizmalarından biri olarak gelecekte olmuştur; yanı sıra, ASD, epilepsi ve glutamaterjik sinaptik yayın arasında bir komorbidite faktörü ile biten AMPA, bu denge için uyarıcı kutbu sağlar; AMPA reseptörlerinin yoğunluğundaki bir azalma, insan hastada ASD ile doğrudan ilişkilendirilmiştir.

2.13 Otizm ve Sitokinler

Proteomik analizler; sitokinler, kemokinler, eşlik eden proteinler, yapışma molekülleri ve gelişim faktörleri gibi plazma proteinlerinin yüksekliklerinin otizmde değiştiğini göstermektedir. Otizmlili hastalarda pro-inflamatuar sitokin (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12p40), makrofaj yer değiştirme inhibitör faktörü (MIF) ve trombosit kaynaklı gelişim faktörü (PDGF) seviyelerinin arttığı belirtilmiştir. Bu sitokinlerin plazmadaki yüksek seviyeleri,

zayıf mesaj becerileri ve sosyal etkileşimlerde azalmış davranış ile ilişkilendirilmiştir. Kemokinlerin (CCL2 ve CCL5) plazma yükseklikleri OSB'de normalden daha yüksektir ve bu da sosyal davranış becerilerinin kaybı ile ilişkilidir. Buna paralel olarak, OSB'de anti-inflamatuar sitokin değiştirici gelişim faktörü-beta (TGF- β) yüksekliğinin azaldığı ve bunun da sosyal davranış becerilerinin kaybı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Kutuk *et al.* 2020).

Sitokinlerin, örneğin TNF-a, IL-1 β ve TGF- β ailesinin, gp130 ligand ailesinin üyelerine ek olarak, nöronal eylem üzerinde düz aidiyetleri dengelediği bulunmuştur. Örneğin, TNF-a, önemli bir hücre çeşitliliği tarafından inflammatuar bir olay boyunca salınır, ancak iltihaplanmadaki payına ek olarak, nöronal proliferasyonu, hücre ölümünü modüle edebilen ve sinaps "budama" sürecinde önemli bir rol oynayan bir moleküldür. Diğer nöropoietik sitokinler, örneğin IL-1 β ve IL-6 da sinir sistemindeki nöron varlığı, çoğalması ve yeni sinapsların yaratılması ve hücre farklılığı ve göç süreçleri üzerindeki etkilerini gösterir.

Kronik bir nöroinflammatuar süreç söz konusu olduğunda, astrositlerin ve mikroglia hücrelerinin aktivasyonu tarafından üretilen kümülatif zarar verici eşyalar, başlangıçtaki nöro-yıkıma katkıda bulunur. Belirti, güvenlik nöral hasarının, CNS'deki sinaptik etkilerin hasarını içerebileceğini önermektedir. Ek olarak, mikroglia hücreleri nörotoksik hasara tepki verir ve tetiklenen mikroglia ile astrosit arasındaki etkileşim, sırayla, interlökin-6'nın (IL-6) lokal salınımını indükleyebilir, bu da astrositik reaktiviteye ve nöroproteksiyona neden olur (Al-Ayadhi 2005). IL-6'nın, örneğin fetal immün yanıt sendromu (FIRS) ve ASD gibi şikayetlerde deneyimsel kompulsif aidiyetleri hızlandırmaktan sorumlu anahtar bir sitokin olduğu öne sürülmüştür. FIRS'li çocukların amniyotik sıvısında artırılmış IL-6 seviyesi bulunmuştur; otoimmün bozukluklarda aynı sitokinin anormal ekspresyonu ve işlevi, bazıları ASD ile, örneğin Alzheimer hastalığı (AD) gibi nörolojik bozukluklarla ilişkilidir. Anne enfeksiyonu; yanı sıra, ana sitokin, özellikle IL-6 ile fetal temasın, ASD'nin büyümesini indükleyebilen potansiyel bir ekolojik tetikleyici olduğu varsayılmıştır. Bununla birlikte, anneden türetilen IL-6'nın OSB'nin büyümesini desteklemek için yeterli olup olmadığı veya belirli genetik polimorfizmlerin de gerekli olup olmadığı henüz net değildir.

IL-6, IL-1 ile birlikte, yorgunluk, mutsuzluk, açlık hasarı, sinirlilik halleri, bir göreve odaklanma yeteneğinin azalması ve sosyal izolasyon ile damgalanan büyük bir enflamatuvar sürecin eşlik ettiği davranışta adaptif bir değişiklik olan hastalık davranışının düzenlenmesinde rol oynar. Buna ek olarak, IL-2 ve IL-4'ün tekrarlayan tipteki davranışları ve muhakeme süreçlerini etkilediği gösterilmiştir. IL-2 tedavisi tırmanma davranışında artışa ve OSB'li deneklerin tekrarlayıcı bir özelliğine neden olmaktadır. IL-4 Knock-out (KO) fareler, belki de OSB'li kişilerde CNS T-hücre fonksiyonunun kaybına bağlı olarak bilişsel bozukluk göstermektedir (Bryn *et al.* 2017).

TGF- β OSB'li hastalarda değişmiştir; bu sitokin büyüme, apoptoz, hücre göçü ve hem IS hem de CNS'nin yönetiminin çeşitli yönlerine katılır. Periferik kanda, post-mortem beyinlerde ve BOS'ta bulunan düşük seviyelerin aksine, kontrol konularıyla karşılaştırıldığında OSB'li hastalarda yüksek TGF- β seviyeleri deneyimlenmiştir.

OSB ile ilişkili sitokinlerden bir diğeri makrofaj migrasyon inhibitör faktörüdür (MIF), bu beyin dokusunda yapısal olarak konuşulan ve nöral ve endokrin sistemler üzerinde önemli bir etkiye sahip olan pro-inflamatuvar bir bağışıklık bekçisidir. Otistik hastalarda MIF'in organizatör bölgesinde en az iki polimorfizm ilişkilendirilmiştir; ayrıca, MIF'in plazma seviyesi kontrol deneklerine kıyasla otistik kişilerde yükselir; Otizmlı ve yüksek plazma MIF seviyesine sahip kişiler, sosyal davranıştaki değişikliklerle ilgili belirti ve semptomların çoğunda daha ciddi değişiklikler gösterir (Goines and Ashwood 2013).

IL-17A, Th17 lenfositleri, nötrofiller ve periferik kan mononükleer hücreleri gibi farklı insan bağışıklık hücreleri tarafından şekillendirilen pro-inflamatuvar bir sitokindir. Sade otizmlı hastalarda IL-17A'nın (%67,9) orta ila hafif otizmlı hastalara (%17,6) kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğu belirtilmiştir; bu durum, bu sitokin seviyelerinin otizmin sertlik derecesiyle ilişkili olduğunu göstermektedir, net olmayan şey ise IL-17A'nın serum seviyelerindeki artışın sadece otizmin önemi mi olduğu yoksa bu sitokinin otizmde patojenik bir rolü olup olmadığıdır.

Çalışmamızda, OSB'nin etiyopatogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunmak amacıyla, Bağdat Çocuk Psikiyatrisi Kliniği'ne başvuran 0-5, 5-10 yaş arası çocuklarda

ve aynı yaş aralığındaki sağlıklı çocuklarda immünitinin değeriendirilmesi ve bu amaçla immün profil, hücre içi sitokin ve karaciğer fonksiyon testleri ele alınacaktır.



3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Veri formları

Araştırmaya katılan tüm çocukların ebeveynleri sosyodemografik veri formunu (EK 3) doldurmuş, araştırmacı tarafından çocukların psikiyatrik değerlendirilmesi yapılmış, çocukluk çağı otizm derecelendirme ölçeği (CARS) puanlanmış ve hastaların dosyalarından bilgi alınmıştır. Sosyodemografik veri formunda çocuğun adı, soyadı, doğum tarihi, cinsiyeti, adres-iletişim bilgileri, kardeş sayısı, her bir ebeveynin yaşı, eğitim düzeyi ve ailenin ortalama aylık geliri yer almaktadır.

3.1.2 Çocukluk otizm derecelendirme ölçeği

Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODDÖ), otizmin tanılanmasında ve otizmlili çocukların diğer gelişimsel bozukluğu olanlardan ayırt edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (EK 4). Ölçek, aile ile görüşme ve çocuğun gözlemlenmesi sonucunda elde edilen bilgilere dayanılarak doldurulur. Görüşmeciler ölçeği puanlayarak çocuktaki otizmin derecesini belirleyebilir. Ölçekte yer alan maddeler insanlarla ilişki, taklit, duygusal tepkiler, bedenin kullanımı, nesnelerin kullanımı, değişime tepki, görsel tepkiler, dinleme tepkileri, tat, koku ve dokunmanın kullanımı, korku/sinirlilik, sözel iletişim, sözel olmayan iletişim, davranışın etkinlik düzeyi, zihinsel tepkilerin düzeyi ve genel izlenimler başlıkları altında toplam 15 maddeden oluşmaktadır. 30 ve üzeri puan alan çocukların otistik bozukluğa sahip olduğu kabul edilir. 30-36,5 arası puan hafif-orta otizmi, 37-60 arası puan ise ağır otizmi göstermektedir. CARS'ın otistik bozukluğu olan çocukları zihinsel gecikme, gelişimsel gecikme veya CTA-PDD olan çocuklardan ayırt etmede yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir (Perry *et al.* 2005).

3.1.3 Kan örneği

Periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) ile ilgili hücre içi sitokin seviyeleri, PKMH yüzey molekülü ekspresyonu ve NK hücre sitotoksik aktivitesi (NKCC), İmmünoloji Laboratuvarında, dışlama ve dahil etme kriterlerini karşılayan denekler ve sağlıklı kontrollerden antekübital venden heparinize tüplere kan alınarak değerlendirilmiştir.

Lenfosit alt gruplarının mutlak değerleri aşağıdaki Denklem (3.1) ile elde edilmiştir:

$$\text{Mutlak sayı}/\mu\text{L} = \frac{\text{Lökosit sayısı} \times \% \text{Lenfosit} \times \% \text{Antikor pozitifliği}}{10000} \quad (3.1)$$

3.1.4 Hücre içi sitokin tayini

Periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) heparinize kandan steril koşullar altında Ficoll (Sigma Chem. Co. St. Louis, MA) yoğunluk gradyan santrifüjü ile ayrılmıştır. Bu amaçla her bireyden 10 mL heparinize kan alınarak 1:2 oranında (Ficoll: kan) Ficoll üzerine yayılmış ve oda sıcaklığında 1780 rpm'de 25 dakika santrifüj edilmiştir. İnterfazdan toplanacak PKMH'ler 2,000 rpm'de soğutmalı santrifüjde iki kez fosfat tamponlu tuzlu su (PBS, phosphate-buffered saline) ile yıkanmış ve Neubauer hemositometresinde hücre sayımı yapıldıktan sonra deneylerde kullanılabilecek kadar buz üzerinde RPMI-1640 besiyerinde bekletilmiştir (Foster *et al.* 2007).

PKMH'lerin IFN- γ ve hücre içi sitokin seviyeleri, hücrelerin PMA/I ile uyarılmasını takiben ölçülmüştür. Periferik kan hücre içi sitokin seviyelerini tespit etmek için 1×10^6 hücre/mL 4 μL PMA/I ile 4 saat boyunca uyarılmış ve gece boyunca 37°C'de %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. Stimülasyondan sonra hücreler kültürden çıkarılmış, PBS ile bir kez yıkanmış ve hücre içi sitokin boyama adımları için hazırlanmıştır. Bu aşamada 100 μL hücre süspansiyonu fiksasyon ortamı ve ardından permeabilizasyon ortamı eklenerek inkübe edilmiş ve inkübasyonun ardından ilgili monoklonal antikorlar eklenerek FACSCalibur cihazında (Becton Dickinson, San Jose, CA) değerlendirilmiştir.

TNF- α , IL-6 serum seviyeleri deneysel immünoassay testi (ELISA) (Quantikine; R&D Systems, Minneapolis, MN) kullanılarak belirlenmiştir. Test, kuyucuklara tam olarak İnterlökün için bir monoklonal antikorun önceden yerleştirildiği sandviç tipi bir kantitatif immünoenzimatik teknik kullanmaktadır. Standartlar ve numuneler kuyucuklara pipetlenir ve eğer varsa Interleukin antikor tarafından immobilize edilir. Daha sonra bağlanmayan fazla antijenleri veya antikorları uzaklaştırmak için yıkanır. Kuyucuklara poliklonal antikora bağlanacak bir enzim eklenir (antikor+peroksidaz). Daha sonra, önceki birleşmenin fazlası yıkanır ve hidrojen peroksit ve tetrametilbenzidinden oluşan bir substrat eklenir, renkli bir ürün üreten bir redoks reaksiyonu meydana gelir. Reaksiyon güçlü bir mineral asit ile durdurulur ve rengin yoğunluğu, Windows CE yazılımı ile çalışan SUNRISE, TECAN ELISA okuyucuda ölçülen mevcut interlökün konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Örnek seçimi

Vaka grubu olarak, Irak'ın başkenti Bağdat'ta bulunan Bağdat Tıp Fakültesi Çocuk Psikiyatrisi Bölümü'ne başvuran ve OSB tanısı alan 1-12 yaş aralığındaki 100 çocuk, kontrol grubu olarak ise psikiyatrik muayenede tanı almamış ve herhangi bir gelişimsel gecikmesi olmayan benzer yaş aralığındaki 30 çocuk çalışmaya dahil edilmiştir (EK 1) (EK 2). Katılım gönüllülük esasına dayanmaktaydı.

3.2.2 Çalışmaya dahil edilen vakalar için dahil edilme kriterleri

- 1-12 yaş arasında olmak
- DSM- IV tanı ölçütlerine göre Otistik Bozukluk, Atipik Otizm (CTA-YDD) veya Asperger Bozukluğu tanısı almış olmak
- Çocukların ebeveynlerinin çalışmaya katılmayı kabul etmesi, dışlama kriterlerini karşılamadığı şeklinde belirlenmiştir.

3.2.3 Çalışmanın hariç tutulma kriterleri

- Kronik bir sistemik hastalığa sahip olmak,
- Akut ve kronik inflamatuvar hastalığa sahip olmak,
- Doğuştan metabolik hastalık,
- Epilepsi hastası olmak,
- Son 2 ay içinde psikotropik ilaç kullanan hastalar,
- Beta-blokerler ve kortizol gibi bağışıklık sistemine dokunan ilaçlar kullananlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Sosyodemografik veri formu çocukların ebeveynleri tarafından doldurulmuş ve çocuk gözlemlenerek otistik semptomların CARS-TF'ye göre derecelendirilmesi sonucunda puanlanmıştır.

Hasta grupları

Bu çalışma OSB hastası olan 100 Iraklı hasta üzerinde yapılmıştır. Bu çalışmadaki hastalar aşağıdaki gibi üç gruba ayrılmıştır;

- Birinci grup: 5 yaşından küçük OSB hastaları
- İkinci grup: 5-10 yaş arası OSB hastaları
- Üçüncü grup: 10 yaşından büyük OSB hastaları

Kontrol grubu

Kontrol grubu olarak çalışmaya katılmak üzere hastaneye sevk edilen ve psikiyatrik muayenelerinde herhangi bir tanı almayan 1-12 yaş arası çocuklar alınmıştır. Ebeveynler çalışma konusu hakkında bilgilendirildi ve onay formu alındı. Kontrol grubunun çalışmamıza katılmayı kabul eden ebeveynlerinden sosyodemografik bilgiler alınarak çocukların psikiyatrik muayeneleri ve ÇODÖ değerlendirildi ve herhangi bir psikiyatrik tanı alamayan çocuklar çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunun vaka grubu ile aynı

sosyoekonomik ve sosyokültürel düzeyde olmasına özen gösterilmiştir. Hücre içi sitokin seviyeleri, immünoglobulinler ve karaciğer fonksiyon testleri, hariç tutma ve dahil etme kriterlerini karşılayan kontrollerden antekubital venden heparinize tüplere kan alınarak İmmünoloji Laboratuvarında değerlendirildi.

3.3 İmmünoglobulin Ölçümü

IgG, IgM ve IgA immünoglobulinleri, radyal immünodifüzyon yöntemiyle (DP-Biocientífica-Argentina) ve IgE immünoglobulini, kemilüminesans yöntemiyle (Immulite-DPC-USA) belirlendi. Her iki yöntem de yaşa göre değişen referans değerlere sahiptir (Gülke and Wulf 1986).

3.4 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler STATA V.10 programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin özetlenmesinde tanımlayıcı istatistikler olarak

- Kategorik veriler için sayı ve yüzde
- Sayısal veriler için ortalama, standart sapma, minimum, maksimum ve medyan değerleri kullanılmaktadır.

Sürekli değişkenler, normal dağılıma uyanlar için Student-t testi, normal dağılıma uymayanlar için Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin birlikte değişimi, Pearson Korelasyon katsayısı (parametrik varsayımla) veya Spearman Korelasyon katsayısı (parametrik olmayan varsayımla) kullanılarak yapılmıştır. Karşılaştırmalarda iki yönlü hipotez kurulmuş ve anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir.

3.5 Etik Kurul Onayı

Bu tez çalışması için gerekli izinler Bağdat Tıp Üniversitesi Çocuk Psikiyatrisi ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan yazılı olarak alınmıştır. Ayrıca çalışma için gerekli etik grup onayı Bağdat Tıp Üniversitesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır. Tüm olguların anne ve/veya babaları, çalışmaya katılmadan önce Gönüllü Bilgi Formu'nu okumuş ve Bilgilendirilmiş Olur Formu'nu uygulamıştır. Tüm sağlıklı kontrollerin anne ve/veya babaları, çalışmaya katılmadan önce Sağlıklı Gönüllü Bilgi Formunu okumuş ve Bilgilendirilmiş Olur Formunu imzalamıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Sonuçlar

Çalışmaya 1-5 yaş arasında OSB tanısı almış 11 (kız 2; erkek 9) çocuk (grup 1), 5-10 yaş arasında OSB tanısı almış 22 (3 kız ve 19 erkek) çocuk (grup 2) ve 10-12 yaş altında OSB tanısı almış 67 çocuk (grup 3) ve 1-10 yaş altında herhangi bir psikiyatrik analizden yoksun ve gelişimsel gecikmesi olmayan 12 kız 18 erkek çocuk (toplam 30) olmak üzere toplam 130 çocuk dahil edilmiştir. OSB grubunda toplam 16 kız (%15) ve 84 erkek (%84) yer almıştır. Kontrol grubunda ise 12 kız (%40) ve 18 erkek (%60) vardı. İki grup arasında önemli bir değişiklik olmamıştır (p: 0,892).

OSB grubunun yaş ortalaması $6,53 \pm 0,96$, kontrol grubunun yaş ortalaması ise $6,98 \pm 1,03$ idi. Genel olarak, hasta ve kontrol gruplarının sosyodemografik özellikleri birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir. Sadece anne ve babanın çalışma durumunda farklılıklar gözlemlenmiştir. Kontrol grubundaki çocukların babaları çalışma oranı daha yüksekken ($p < 0,001$), Hasta grubundaki çocukların annelerinde çalışma oranı daha azdır ($p = 0,0408$). Bu durum hasta grubundaki çocukların daha fazla anne bakımına ihtiyaç duyduklarını göstermektedir.

4.2 Çalışmaya Katılan Hastaların Demografik Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen çocukların sosyodemografik özelliklerinin dağılımları aşağıdaki çizelgelerde ayrıntılı olarak verilmiştir. Çizelge 4.1’de cinsiyet dağılımı, Çizelge 4.2’de yaş dağılımı, Çizelge 4.3’te evdeki toplam çocuk sayısı, Çizelge 4.4’te ebeveyn yaş dağılımı, Çizelge 4.5’te anne ve babaların eğitim durumu, Çizelge 4.6’da anne ve babanın çalışma durumu ve Çizelge 4.7’de ailenin ortalama aylık geliri verilmiştir. Çizelge 4.8’de ise hasta ve kontrol verilerinin immünolojik parametre bakımından karşılaştırılması yapılmıştır.

Çizelge 4.1 Cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Otizm grubu					Kontrol grubu	
	Grup-1 (< 5 Yıl)	Grup-2 (5-10 Yaş)	Grup-3 (>10 Yıl)	Toplam (n)	Toplam (%)	N	%
Kız	2 (12,5%)	3(18,75%)	11 (%68,75)	16	%16	12	40
Erkek	9 (%10,71)	19 (%22,61)	56 (%66,66)	84	%84	18	60
Toplam	11 (%11)	22 (%22)	67 (%67)	100	100%	30	100

Çizelge 4.2 Yaş dağılımı

Yaşam yılları	Grup 1 (< 5 Yıl)	Grup-2 (5-10 Yaş)	Grup-3 (>10 Yıl)	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Min	Ort	Maks	N
OSB Grubu	2,02	6,94	10,64	6,53	0,96	1,03	3,63	11,6	100
Kontrol grubu	4,16	6,18	10,59	6,98	1,03	1,02	3,91	11,9	30

Çizelge 4.3 Evdeki toplam çocuk sayısı

Ailedeki çocuk sayısı	Otizm grubu	
	Sayı	%
1	55	55
2	30	30
3	10	10
4	3	3
6	2	2
Toplam	100	100

Çizelge 4.4 Ebeveyn yaş dağılımı

Ebeveyn yaşı (Yıl)	Ortalama	Standart sapma (SD)	Asgari	Medyan	Maksimum	N
Anne yaşı	32,01	2,63	25	32	43	100
Baba yaşı	36,21	2,96	29	33	45	100

Çizelge 4.5 Anne ve babaların eğitim durumu

Baba Eğitim Durumu	Otizm grubu		Kontrol grubu	
	N	%	N	%
Okuma-yazma bilmeyen	2	2	4	13
İlkokul	26	26	7	22
Ortaokul	17	17	8	28
Lise	40	40	9	31

Çizelge 4.5 Anne ve babaların eğitim durumu (Devam)

	Otizm grubu		Kontrol grubu	
	N	%	N	%
Baba Eğitim Durumu				
Üniversite	15	15	2	6
Toplam	100	100	30	100
Anne Eğitim Durumu	N	%	N	%
Okuma-yazma bilmeyen	8	8	4	12
İlkokul	42	42	6	20
Ortaokul	15	15	9	30
Lise	15	15	10	32
Üniversite	20	20	2	6
Toplam	100	100	30	100

Çizelge 4.6 Anne ve babanın çalışma durumu

	Otizm grubu		Kontrol grubu	
	N	%	N	%
İş Durumu (Herhangi biri veya Her ikisi)				
Çalışıyor	14	14	7	22
Çalışmıyor	86	86	23	78
Toplam	100	100	30	100

Çizelge 4.7 Ailenin ortalama aylık geliri

Aile Gelir Seviyesi	Otizm grubu		Kontrol grubu	
	N	%	N	%
0-1,000 \$	55	55	13	42
1,000-2,000 \$	25	25	10	34
2000+ \$	20	20	7	24
Toplam	100	100	30	100

Çizelge 4.8 Hasta ve kontrol grubu verilerinin immünolojik parametre bakımından karşılaştırılması

Parametre	Otizm grubu						
	<5 yıl Grup	5-10 yıl Grup	>10 yıl Grup	Ortalama	±SD	Asgari	Maksimum
CD4	34,21	34,93	35,56	34,52	6,13	16,69	40,26
IL-6 (pg/mL)	6,62	6,76	6,88	6,68	1,28	4,35	9,61
IL-27 (pg/mL)	1,22	1,24	1,27	1,23	0,67	1,03	2,06
IL-29(pg/mL)	3,70	3,77	3,84	3,73	0,06	3,06	4,61
IL-37 (pg/mL)	87,07	88,91	90,50	87,86	0,07	53	102,6
TNF-a (pg/mL)	37,01	37,80	38,47	37,35	6,13	14,6	140,62
IFN-γ (pg/mL)	8,56	8,74	8,90	8,64	2,33	5,95	13,51

Çizelge 4.8 Hasta ve kontrol grubu verilerinin immünolojik parametre bakımından karşılaştırılması (Devam)

Parametre	Otizm grubu						Maksimum
	<5 yıl Grup	5-10 yıl Grup	>10 yıl Grup	Ortalama	±SD	Asgari	
NK sitotoksitesi	13,33	13,61	13,85	13,45	2,79	10,7	18,26
Parametre	Kontrol grubu					P	
	Ortalama	±SD	Asgari	Maksimum			
CD4	37,38±2,72	±2,72	33,94	40,67		<0,02	
IL-6 (pg/mL)	3,41±0,92	±0,92	0,62	1,06		<0,001	
IL-27 (pg/mL)	1,17±0,63	±0,63	0,26	0,66		<0,001	
IL-29(pg/mL)	3,68±3,22	±3,22	1,96	4,63		0,572	
IL-37 (pg/mL)	45,7±0,96	±0,96	20,6	70,9		0,56	
TNF-a (pg/mL)	72±4,23	±4,23	70	76		0,012	
IFN-γ (pg/mL)	11,91±3,66	±3,66	9,31	16,87		0,008	
NK sitotoksitesi	21,77±3,14	±3,14	19,17	26,73		<0,001	

Hasta ve kontrol grupları IL-27; IL-29; IL-37; TNF- α ; IFN- γ ve NK hücre sitotoksite değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklılık göstermiştir.

4.3 Hasta Grubunda Ölçek Puanları ile İmmünolojik Parametreler Arasındaki İlişki

Çizelge 4.8’de, otistik bireyler ve sağlıklı kontrollerin serum IL-29, IL-39 ve TNF- düzeylerini karşılaştırılmaktadır. Otizm spektrum bozukluğu olan hasta ve sağlıklı kontroller başlangıçta benzer serum IL-29 konsantrasyonlarına sahiptir (ortalama değerler 3,69 ve 3,68 pg/mL, p=0,572). Serum IL-37 ve TNF- konsantrasyonları OSB hastalarında kontrol grubuna kıyasla başlangıçta daha yüksekti. Serum IL-29, IL-37 ve TNF- düzeyleri ile klinikopatolojik özellikler arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05). Serum IL-29, IL-37 veya TNF- düzeyleri ile sonuç arasında korelasyon bulunmamıştır (sırasıyla p=0,29, p=0,50 ve p=0,39).

Alt ve üst aralık IL-37 düzeylerinin yanı sıra ağırlıklı ortalamalar da OSB ve Kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık göstermemiştir (sırasıyla P=0,23 ve P=0,56). Iraklı popülasyonları içeren çalışmalar (serum çalışmaları), ağırlıklı ortalama IL-37 değeri 86,9 (53,0-102,6) pg/mL olan 100 çocuğu içermektedir. Ortalama ve üst aralık IL-37 seviyeleri OSB gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir

(sırasıyla $P=0,029$ ve $P=0,028$; kontrol grubu için ağırlıklı ortalama IL-37 45,7 (20,6-70,9) pg/mL).

Antijen sunan hücreler, IL-12 ailesinin bir üyesi olan sitokin interlökin 27'nin (IL-27) üretilmesinden sorumlu birincil hücrelerdir. IL-27, reseptörüne bağlandığında, bazıları bağışıklık tepkilerini baskılayabilen veya uyaraabilen çok sayıda hücre içi sinyal yolunu tetikler. Serum IL-27 düzeyi, ASD grubunda (ortalama 1,22 pg/mL; $p=0,001$) kontrol grubuna (ortalama 1,17 pg/mL) göre anlamlı şekilde daha yüksektir. OSB hastalarında önemli ölçüde yükselmiş serum IL-27 konsantrasyonları, geniş kutanöz ve pulmoner tutulum ile ilişkilidir, bu da potansiyel bir patojenik işlevi düşündürür ve IL-27'nin hastalık şiddetini ölçmek için yararlı bir biyo belirteç olabileceğini düşündürür (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 İmmünolojik parametre arasındaki korelasyon

	Spearman Korelasyon Katsayısı	P
CD4	0,789	<0,001
IL-6 (pg/mL)	0,084	0,761
IL-27 (pg/mL)	-0,527	<0,001
IL-29(pg/mL)	-0,867	<0,001
IL-37 (pg/mL)	0,797	0,013
TNF-a (pg/mL)	0,085	<0,001
IFN- γ (pg/mL)	-0,532	<0,002
NK sitotoksitesi	-0,876	<0,003

IL-6+T hücre parametresi ile CARS-TF skoru arasında çok yüksek ve pozitif bir korelasyon vardır. IFN- γ + T hücre parametresi ile CARS-TF skoru arasında orta ve negatif bir korelasyon vardır. NK sitotoksite parametresi ile CARS-TF skoru arasında çok yüksek ve negatif bir korelasyon vardır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 Hasta grubunda gerileme varlığına göre immünolojik parametrelerdeki değişim

Parametre	Gerileme var	Gerileme yok	P değeri
CD4	34,40	33,90	0,85
IL-6	6,30	6,00	0,55
IL-27	1,30	1,20	0,67

Çizelge 4.10 Hasta grubunda gerileme varlığına göre immünolojik parametrelerdeki değişim (Devam)

Parametre	Gerileme var	Gerileme yok	P değeri
IL-29	6,43	6,12	0,56
IL-37	1,33	1,22	0,69
TNF- α	6,55	6,24	0,58
IFN- γ	8,40	8,70	0,76
NK sitotoksitesi	13,20	13,40	0,80

Hasta grubunda gerileme olup olmaması immünolojik parametrelerden etkilenmemektedir.

4.4 İmmünoglobulin Çalışması

İmmünoglobulinlerin serum düzeylerine bakıldığında 16 hastada (%16) IgA düzeyi 5 mg/dL'nin altında saptandı; 13 hastada (%13) IgG 400 mg/dL'nin altında; 65 hastada (%65) IgM 250 mg/dL'den yüksek ve 78 hastada (%78) IgE 91 mg/dL'den yüksek olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 OSB ve kontrol grubunun immünoglobulin analizi

İmmünoglobulin	OSB Grubu					Kontrol grubu	
	Grup 1 (<5 Yıl)	Grup 2 (5-10 Yıl)	Grup 3 (>10 Yıl)	Ort.	Aralık (min-maks)	Ort.	Aralık (min-maks)
IgA (mg/mL)	0,33	0,34	0,34	0,34	0,219-0,487 (p=0,01)	0,328	0,217-0,486 (p=0,01)
IgG (mg/mL)	5,56	5,72	5,78	5,69	2,63-7,67 (P=0,01)	7,67	4,21-8,40 (P=0,01)
IgM (mg/mL)	0,75	0,78	0,78	0,77	0,29-0,88 (P>0,02)	0,88	0,36-0,98 (P>0,02)
IgE mg/mL)				BDL*	0	BDL	-

*Algılanabilir sınırın altında

Bu çalışmada, serum Ig seviyeleri hümorale immün yanıt için bir belirteç olarak kullanılmıştır. Araştırmacılar, otistik çocukların ve kontrollerin önemli ölçüde farklı serum IgG konsantrasyonlarına sahip olduğunu belirlemiştir. ASD grubunda ortalama IgG 5,61 mg/mL (2,36 ile 7,67), kontrol grubunda ise 7,67 mg/mL (5,5 ile 9,96) olarak

tespit edilmiştir. Yaş, cinsiyet ve alerji mevsimi dikkate alındığında anlamlılıkta bir değişiklik olmamıştır.

Otistik benzeri davranışlar sergileyen ancak çalışmamızda otizm tanısı için katı kriterleri karşılamayan OSB'li çocukların plazma IgG düzeyleri otistik bozukluk grubuna göre daha yüksektir (5,74 mg/mL, 4,21-8,40, p değeri 0,01'e eşit) ancak yine de kontrol grubundan önemli ölçüde düşüktür. Ek olarak, otistik çocuklarda serum IgM seviyeleri, tipik gelişmekte olan çocuklara göre anlamlı derecede düşük (0,76 mg/mL, 0,29-0,88, $P > 0,02$) ve kontrol gruplarından önemli ölçüde farklılık göstermiştir (0,88 mg/mL, 0,36-0,98, $P > 0,02$). Şaşırtıcı bir şekilde, iki grup arasındaki toplam IgA değerleri (0,329 mg/mL, 0,219-0,487) istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir. Buna benzer olarak, çeşitli tanı grupları arasında medyan IgE seviyeleri arasında çok fazla fark yoktur. Otizm spektrum bozukluğu olan bireylerde IgE seviyeleri genellikle çok düşüktür ve her denek grubunda tespit sınırının oldukça altındadır. Bununla birlikte, IgE seviyeleri, çeşitli teşhis kategorileri arasında belirgin bir şekilde farklılık göstermemiştir.

Bu çalışmada ve Ashwood *et al.* (2006) tarafından bulunan Ig seviyeleri klinik olarak düşük olmasa da otizmlili çocukların humoral fonksiyonlarının azalmış olması mümkündür. Bu çalışma, Ig seviyelerindeki değişikliklerin bağışıklık sistemi sorunlarının bir uyarı işareti olduğunu bulmuştur. Bununla birlikte, konakçı-patojen veya aşı-konakçı etkileşimlerinin otizm gelişimiyle nedensel olarak ilişkili olduğuna inanmıyoruz. En son araştırmalar, otistik çocuklarda bağışıklık sistemlerinin kritik gelişim aşamalarında uygunsuz bir şekilde kontrol edildiğini göstermektedir. Bağışıklık fonksiyonunu otistik davranışla ilişkilendiren en iyi kanıt, daha yüksek CARS skoru ile daha düşük immünoglobulin G seviyeleri (IgG) arasındaki korelasyondur. Daha genel bir OSB fenotipine sahip çocuklarda IgG seviyeleri, kontrol grubundaki çocuklardan daha yüksek olmasına rağmen, klasik otizmlili çocuklara göre istatistiksel olarak daha düşüktür. Mevcut çalışmadaki OSB grubu, otizme benzer davranışlar sergileyen ancak otizm popülasyonu kriterlerini tam olarak karşılamayan çocuklardan oluşuyordu. Bu çocuklar, üyelik kriterlerini karşılamadıkları için otizm grubuna dahil edilmemiştir. Bağışıklık gelişimi ve nörolojik büyümedeki sorunlarla ilgisi olan daha pek çok senaryo var. Başlangıç olarak, nöro gelişimlerdeki belirgin eşitsizliklerin birçok otistik çocukta

görülen immünolojik işlev bozukluğu ile hiçbir ilgisi olmaması mümkündür. Lütfen bu gözlemi ciddiye alın. İkinci olarak, multisistem bir hastalık sırasında Ig seviyelerindeki bir düşüş hastanın davranışını hemen etkileyebilir. Bunun nedeni, artan Ig seviyelerinin nörolojik sistem ve bağışıklık sistemiyle ilgili sorunlara işaret etmesidir. Bu nedenle, Ig seviyelerindeki düşüşün bu hastalıkların sadece istenmeyen bir sonucu olması akla yatkındır. Beyin sisteminde başarısızlığa yol açan altta yatan faktörü keşfetmek için öncelikle gözlemlenen olayın altında yatan süreci anlamamız gerekir.

4.5 Bağışıklık Sistemlerinin İncelenmesi

Bu çalışmada; 1-12 yaş arası OSB'li 100 çocuk ile gelişim geriliği olmayan 30 sağlıklı çocuğun bağışıklık sistemleri, bağışıklık profili, hücre içi sitokin düzeyi ve NK hücre sitotoksik aktivitesi açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmanın verileri üç şekilde değerlendirilmiştir: 1. OSB'li çocuklar ile kontrol grubunun bağışıklık sistemi verilerinin karşılaştırılması, 2. OSB grubunda otistik belirti sertliğinin (CARS skoru) immünolojik parametrelerle ilişkisi, 3. Otistik regresyon gelişen OSB'li çocuklar ile otistik regresyon olmayanların immün sistem verilerinin karşılaştırılması.

OSB grubu ile kontrol grubu bağışıklık sistemi verileri açısından karşılaştırılmış ve IL-6, IL-27, IL-29, IL-39, CD4+, IFN- γ CD4+ ve NK sitotoksikite değerleri açısından istatistiksel olarak birbirinden önemli değişiklikler ortaya çıkmıştır. Bağışıklık yanıtında rol oynayan hücreler üzerindeki moleküler antijenler "farklılaşma kümeleri" (CD) olarak adlandırılır ve hücrelerin tanınmasında belirteç görevi görürler. CD, IL-6 reseptörünün alfa zinciridir. Çalışmamızda, OSB grubundaki ortalama CD4 (p:0,023) yüzdesi değerleri sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük çıkmıştır. OSB ve sağlıklı kontrol gruplarını karşılaştıran çalışmalarda, OSB grubunda T ve B hücre sayılarında ve lenfosit yanıtında azalma olduğu bulunmuştur (Stubbs *et al.* 1977, Plioplys *et al.* 1994).

NK hücre sitotoksik aktivite karşılaştırması: Çalışmamızda, ortalama NKCC yüzdesi OSB grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde düşük olmasına rağmen (p<0,001), iki grup arasında NK hücre sayısında önemli bir fark tespit edilmemiştir (p 0,468). Warren *et al.* (1987), 31 OSB'de (kontrol grubu yok) sitotoksikiteyi değerlendirmiş ve OSB'li 12

katılımcının NK hücre sayısında azalma olmaksızın sitotoksitede azalma olduğunu bulmuşlardır. Bir sonraki çalışmalarında, NK hücre sayısında azalma olmaksızın, NK sitotoksitesinin ASD ve kontrol gruplarına kıyasla ASD'li hastaların %40'ında azaldığını bildirmişlerdir. Vojdani *et al.* (2008), OSB ve kontrol gruplarında NK hücre aktivitesini değerlendirmiş ve OSB grubunda NK hücre aktivitesinin azaldığını bildirmiştir. Enstrom *et al.* (2009), OSB ve kontrol gruplarını karşılaştırdıklarında, OSB grubunda NK hücre reseptör ve efektör moleküllerinin RNA görünümünün arttığını, ancak işlevsel olarak NK sitotoksitesinin azaldığını bulmuşlardır. Diğer çalışmalarda ve bizim çalışmamızda NK hücrelerinin sayısında bir azalma olmaksızın OSB grubunda NK sitotoksitesinde bir azalma olduğu sonucuna varılabilir. NK hücreleri doğuştan gelen bağışıklığın bir bileşenidir ve NK hücreleri virüsle enfekte olmuş hücreleri yok etmek için ilk yanıt verenlerdir. ASD grubunda NK hücre sitotoksitesindeki azalmanın viral enfeksiyonlara karşı savunmasızlığa neden olabileceği düşünülebilir. Kronik stres durumlarında (yetişkin hastalar) NKCC aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (Esterling *et al.* 1996).

Hücre sitokin düzeylerinin karşılaştırılması: Çalışmamızda IL-6+ CD4+ düzeyleri OSB ve kontrol gruplarında anlamlı farklılık ($p<0,001$) gösterirken OSB grubunda artmıştır. Çalışmamızla uyumlu bir çalışmada, OSB'de kandaki Th1 hücrelerinin ve IFN- γ + sitotoksik hücrelerin azaldığı, Th2 ve IL-4+ sitotoksik T hücrelerinin ise kontrol grubuna kıyasla arttığı bulunmuştur. Napolioni *et al.* (2013), OSB ve sağlıklı kardeşlerinin sitokin profillerini karşılaştırdıkları çalışmalarında iki koleksiyon arasında önemli bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. IL-6, Th2 hücrelerinden salgılanır ve CD4+ T hücrelerinin Th2'ye doğru farklılaşmasını ve IFN- γ aracılı aktivasyonun engellenmesini indükler. Çalışmamızda, OSB ve kontrol grubu arasında IL-27+, IL-29+ CD4+ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmamıştır ($p:0,800$). OSB ve kontrol gruplarında IL-27+, IL-29+ CD4+ seviyelerinde önemli bir değişiklik tespit etmeyen çalışmalar belirtilmiştir. OSB ve sağlıklı kardeşlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, sözel olmayan otistik çocuklar ve sözel otistik çocuklar sağlıklı kardeşleri ile karşılaştırıldığında, sözel olmayan otistik çocuklarda IL-6 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ($z=2,631$, $P=0,019$) bulunmuştur (Napolioni *et al.* 2013).

Çalışmamızda OSB ve kontrol gruplarında IFN- γ + CD4+ düzeyleri karşılaştırıldığında OSB hasta grubunda anlamlı bir düşüş saptanmıştır (p: 0,008). Manzardo *et al.* (2012), 5-10 yaş arası 99 OSB ve 40 sağlıklı kardeşi plazma sitokin düzeyleri açısından incelemişler ve OSB grubunda 29 sitokinden 8 sitokinin (IL1alfa, IL-6, GCSF, EGF, Fractalkine, MCP3, Mip1alfa, MIP1beta) düzeyleri daha düşük olarak ölçülmüştür.

Bu çalışmada OSB ve sağlıklı kardeşlerde TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde önemli bir değişiklik bulunmazken, Saresella *et al.* (2009) OSB ve kendi gruplarında TNF- α ve IFN- γ düzeylerini sağlıklı kardeşlerine kıyasla yüksek bulmuşlardır. Napolioni *et al.* (2013)'da OSB'li ve sağlıklı kardeşlerini karşılaştırmış ve IFN- γ seviyelerinde önemli bir değişiklik bulmamıştır. Düşük - γ seviyesi Manzardo *et al.* (2012) çalışmasıyla güvenilir bulunmuştur ve Tostes *et al.* (2012) IFN- γ , NO, vazoaktif intestinal peptid (VIP) seviyelerini OSB grubunda anahtar koleksiyonuna kıyasla daha yüksek bulmuş ve OSB'de artan IFN- γ oksidatif stres ile ilişkilendirilmiştir. IFN- γ doğrudan antiviral etkiye sahip bir sitokindir. Saresella *et al.* (2009) OSB'de, OSB'li hastaların kardeşlerinde ve sağlıklı bir kontrol grubunda otistik bağışıklık endofenotipini araştırmıştır. OSB hastaları, kardeşleri ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, OSB hastalarında kardeşlerine kıyasla TNF- α ve IFN- γ üreten CD4+ ve IFN- γ üreten CD8+ T hücrelerinin arttığı bulunmuştur. Singh (1996), plazma IL-12 ve IFN- γ seviyelerinin OSB'de anahtar koleksiyona kıyasla arttığını bildirmiştir. Ashwood *et al.* (2011), 66 OSB'li çocuk ile 73 sağlıklı kontrol çocuğunu bağışıklık parametreleri açısından karşılaştırdıkları çalışmalarında Periferik mononükleer hücreler PHA ile uyarıldıktan sonra GM-CSF, TNF- α , IL-13 üretimi artmış ve IL-12p40 azalmıştır. Uyarılmamış hücre kültüründe, ASD grubundaki IL-8 yükselmesi dışında her iki grupta da fark bulunmamıştır (Ashwood *et al.* 2011). Th2 hücreleri tarafından şekillendirilen IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi bazı sitokinler makrofaj aktivasyonunu inhibe eder ve Th1 hücre aracılı bağışıklığı baskılar. Th1 hücreleri esas olarak IFN- γ salgılar ve hücresel bağışıklıkta rol oynar (Wing and Gould 1979). Çalışmamızın sonuçlarına göre IL-6+ CD4+ seviyesi artmış, IFN- γ + CD4+ seviyesi ise azalmıştır. Bu bağlamda T helper aktivitesinin Th2 yönünde daha baskın olduğu düşünülebilir.

Serum veya plazmadaki IL-29 düzeylerinin OSB'li kişilerde analitik ve/veya prediktif bir gösterge olarak kullanılıp kullanılamayacağını araştıran çok az çalışma vardır. Bu çalışmalardan ikisinde istatistiksel olarak önemli olmamasına rağmen serum IL-29 düzeyinin swicth koleksiyonunda hasta grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Erturk *et al.* 2016). İstatistiksel olarak, metastazı olmayan hastaların serum IL-29 değerlerinin OSB'li hastalara göre daha yüksek olduğunu ($p=0,01$) ve OSB hastalarının başlangıç serum IL-29 değerlerinde ve sağlıklı panellerde fark edilebilir bir değişiklik olmadığını tespit ettik. Naumnik *et al.* (2012)'ın çalışmasına göre, evre IIIB KHDAK'li hastaların serum IL-29 seviyeleri, evre IV hastalığı olanlara göre daha yüksektir. Bu veriler, IL-29'un, çok sayıda çalışma tarafından desteklenen antianjiyojenik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Kemoterapiye cevap veren hastalarda, vermeyen hastalara göre daha ileri seviyede serum IL-29 değerleri vardır ($p=0,04$). Bu durum, IL-29'un antiproliferatif özelliklerinin kemoterapiye cevapta bir faktör olabileceğini göstermektedir.

Serum TNF- α değerlerinin aralığı 36,94 pg/mL (minimum 14,60 ve maksimum 140,62) ile Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. Tipik IL-6 seviyesi mililitre başına 6,61 pikogramdır (SD: 1,28) (minimum 4,35 ve maksimum 9,61). İstatistiklere göre, TNF- α ve IL-6 seviyeleri farklılık göstermektedir. Deneklerin %61,6'sının serumlarında IL-6 seviyelerinde artış görülmüştür. IL-6'daki artışın akut faz proteinlerinin üretimini teşvik etmesi mümkündür (Maggio *et al.* 2006). Proinflamatuvar sitokinlere bakıldığında, otizm belirleyicileri olarak en fazla potansiyel gösteren ikisi IL-6 ve TNF- α olmuştur. Toplumumuzda %24,2 olduğu tahmin edilen sorunlu IL-6 değerlerinin ortaya çıkışının anlaşılabilmesi, çalışmanın başlangıcından önce örneklem büyüklüğünün belirlenmesini imkânsız kılmıştır. Bu da örneklem büyüklüğünün hesaplanmasını zorlaştırmıştır.

IL-27, IL-6 ve IL-12/14 gibi pro- ve antiinflamatuvar etkilere sahiptir. APC'ler, gram-negatif veya gram-pozitif komensal bakterilere yanıt olarak IL-27'yi serbest bırakır ve IFN- γ , IL-27'nin pleiotropik aktiviteleri, IL-27R'yi eksprese eden T, B, NK, DC lenfositlerini ve monositleri/makrofajları etkiler. IL-27, Th1 farklılaşmasını, Th17 lenfosit proliferasyonunu, sitotoksik T aktivitesini, B lenfosit izotip değişimini ve doğuştan gelen bağışıklık hücrelerini etkiler (Villarino *et al.* 2004)

Nötrofiller, iltihaplanmayı azaltmaya yardımcı olan bir tür beyaz kan hücresidir. Nötrofil-endotel etkileşimi birkaç moleküler mekanizmayı içerir. IL-27, nötrofil yapışmasını ve sitotoksik granül oluşumunu baskılar.

IL-27, Th17 yanıtını kontrol ettiği için RA'da terapötik olabilir.¹⁵ Th1 aktivasyonu ve IFN salımı, Th17 yanıtlarını azaltır. IL-27 reseptörü, gp130 ve WSX-1'in bir heterodimeridir. IL-27 ve reseptör sinyalinin sonra STAT1 ve T-bet, IL-12 ve IFN-reseptör genlerini aktive eder. IFN-, IL-17'yi azaltır. IL-27, anti-enflamatuar IL-10 üreten indüklenmiş düzenleyici T hücrelerinin gelişimini artırır (Liu *et al.* 2014).

Son yıllarda, anti-inflamatuar IL-37 bu alanda önemli bir aktör olarak kabul görmeye başlamıştır. İnflamatuar ve otoimmün hastalıklarla ilgili giderek artan sayıda çalışma, hastalar ve kontrol denekleri arasında dolaşımdaki IL-37 seviyelerinde önemli farklılıklar olduğunu bildirmektedir. Bu bulgular, bu sitokinin hastalık bağlamındaki önemini vurgulamakta ve bir hastalık biyo belirteci olarak potansiyel yaygın faydası için destek sağlamaktadır. Kandaki IL-37 seviyelerinin hastalık aktivitesi veya şiddetinin bir biyo belirteci olarak hizmet edebileceği hipotezi, IL-37 seviyeleri ile inflammatuar patolojik belirteçler (C-reaktif protein, CRP ve eritrosit sedimentasyon hızı, ESR gibi) arasındaki ilişkileri gösteren raporlarla geçerlilik kazanmaktadır. Romatoid artrit (Li *et al.* 2014), sistemik lupus eritematozus, yetişkin başlangıçlı Still hastalığı, ankilozan spondilit, gut ve osteoartrit hastalarının yanı sıra kronik kalp yetmezliği olan hastalarda, dolaşımdaki IL-37 seviyeleri CRP ve/veya ESR ile pozitif korelasyon göstermektedir. Epitelyal yumurtalık kanseri, mide kanseri, multipl skleroz, omurilik yaralanması, akut iskemik inme ve kalp yetmezliği gibi çok çeşitli hastalıkların hepsinin IL-37 için öngörücü bir değere sahip olduğu gösterilmiştir (Lupia *et al.* 2014). Çalışmamızda Irak'ta 30 sağlıklı kişiden elde edilen verilerin değerlendirilmesine dayalı olarak serumdaki IL-37'nin ilk kapsamlı incelemesini ve meta-analizi sonuçlarını elde etmiş bulunmaktayız.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, immünolojik işlev bozukluğunun erken göstergelerinin varlığı, değişen bir bağışıklık gelişiminin göstergesi olabilir ve bu da beyin işlevi üzerinde geniş kapsamlı etkilere sahip olabilir. Doğrudan bağışıklık-sinir etkileşiminin hem yaşam boyu öğrenme hem de anıların pekiştirilmesi için gerekli olduğu yakın zamanda gösterilmiştir (Brynskikh *et al.* 2008). İmmünolojik işlev bozukluğuna katkıda bulunan mekanizmaların anlaşılması otistik davranışın altında yatan fizyolojik nedenlere ışık tutabilir. Nörolojik ve bağışıklık sistemleri arasında var olan güçlü etkileşim göz önüne alındığında, bu anlayış özellikle önemlidir. Ne yazık ki, şu anda otistik çocuklarda görülen immünolojik başarısızlığın nedenleri ve mekanizmalarına ilişkin bir anlayış eksikliği bulunmaktadır. Bununla birlikte, gelecekteki çalışmaların sonuçlarının anormal nörogelişimde bağışıklık sisteminin olası işlevi ve otizmin kökeni hakkında neler söyleyebileceğini görmek çok önemlidir.

Çalışmamızda incelenen 11 parametrenin 7'sinde hasta ve kontrol grupları arasında IL-6; IL-27; IL-29; IL-37; TNF- α ; IFN- γ , NK sitotoksitesitesi, CD4+ ve NKCC açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar bulduk. IL-6+, CD4+, IFN- γ CD4+, NKCC parametreleri ve CARS skoru arasında negatif veya pozitif korelasyonlar bulduk. OSB'li çocuklarda bağışıklık sisteminin düzensizliği sağlıklı beyin gelişimini engellemiş olabilir. Bulunan sonuçların otizmin etiyopatogenezinde mi yer aldığı yoksa hastalığın neden olduğu kronik strese bağlı ikincil değişiklikler mi olduğu net değildir. 1970'lerden bu yana OSB hastalarında çok sayıda immünolojik değerlendirme çalışması yapılmıştır. Bazı çalışmalar birbirini desteklerken, bir bütün olarak ele alındığında sonuçlar tutarsızdır.

Hipokolesteroleminin etiyolojisi ve OSB'nin belirtilerine olası katkısı henüz netlik kazanmamış olsa da serum total kolesterol düzeyleri Otizm Spektrum Bozukluğunun tanısında ve tanımlanmasında kullanılmak üzere değerli bir biyo belirteç olabilir. Aynı şekilde OSB'nin araştırılması ve tedavisine yönelik yeni yaklaşımlar üretebilmek için glisemi düzeyleri ile OSB arasındaki olası ilişkiyi araştıran çalışmaların genişletilmesi gerektiğini düşünüyoruz.

Hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir sosyodemografik fark bulunmamıştır. İlaç kullanmayan, epilepsi, metabolik hastalık, enfeksiyon veya herhangi bir kronik hastalığı olmayan hastalar dahil edilerek bağışıklık sistemini etkileyen faktörler devre dışı bırakılmaya çalışılmıştır. Ancak bağışıklık sistemi çok karmaşık, birçok yönden etkilenmeye ve etkileşime açık bir kaskad gibidir. Bu nedenle bağışıklık sistemi ve hastalık bağlantısının birkaç parametre ile değerlendirilmesi kapsamlı bir değerlendirme olmamakla birlikte hata payı yüksektir. Yaklaşık kırk yıldır devam eden çalışmalarda çelişkili sonuçlarla bağışıklık sistemi ve hastalığın etiyolojisinde mi yer aldığı yoksa değişikliklere ikincil mi olduğunu anlamak zordur. Çalışmamızın örneklem büyüklüğü son çalışmalara göre küçük olmakla birlikte daha büyük bir hasta ve kontrol grubu ile daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., Camcıoğlu, Y. and Deniz, G. 2007. Temel immünoloji: İmmün sistemin işlev ve bozuklukları. Medikal Yayıncılık, 336 page, İstanbul.
- Alagbe, O. O., Evans, D. L and Miller, A. H. 2008. Nervous, endocrine, and immune system interactions in psychiatry. American Psychiatric Publishing, 93-133.
- Al-Ayadhi, L. Y. 2005. Pro-inflammatory cytokines in autistic children in central Saudi Arabia. *Neurosciences Journal*, 10(2): 155-158.
- Alyanak, B., Uğur, A. K. A. R., Mukaddes, N. M and Oğuz, F. S. 2002. Otistik bozuklukta doku uyumu antijenleri (HLA) dağılımı ve klinik bulgularla ilişkisinin araştırılması. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 65(1).
- Al-Zaidi, R. R. 2021. Oral health status in autism patients children in Iraq. *NeuroQuantology*, 19(6): 54.
- Ashwood, P., Corbett, B. A., Kantor, A., Schulman, H., Van de Water, J and Amaral, D. G. 2011. In search of cellular immunophenotypes in the blood of children with autism. *PloS One*, 6(5): e19299.
- Ashwood, P., Enstrom, A., Krakowiak, P., Hertz-Picciotto, I., Hansen, R. L., Croen, L. A and Van de Water, J. 2008a. Decreased transforming growth factor beta1 in autism: a potential link between immune dysregulation and impairment in clinical behavioral outcomes. *Journal of Neuroimmunology*, 204(2): 149-153.
- Ashwood, P., Krakowiak, P., Hertz-Picciotto, I., Hansen, R., Pessah, I. N and Van de Water, J. 2011. Altered T cell responses in children with autism. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(5): 840-849.
- Ashwood, P., Kwong, C., Hansen, R., Hertz-Picciotto, I., Croen, L., Krakowiak, P and Van de Water, J. 2008b. Brief report: plasma leptin levels are elevated in autism: association with early onset phenotype?. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 38: 169-175.
- Ashwood, P., Wills, S and Van de Water, J. 2006. The immune response in autism: a new frontier for autism research. *Journal of Leukocyte Biology*, 80(1): 1-15.
- Asperger, H. 1944. Der "Heilpädagogische hort. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 57: 392-393.

- Aydin, H. I. 2018. Creatine transporter deficiency in two brothers with autism spectrum disorder. *Indian Pediatrics*, 55: 1-2.
- Bailey, S. L., Carpentier, P. A., McMahon, E. J., Begolka, W. S and Miller, S. D. 2006. Innate and adaptive immune responses of the central nervous system. *Critical Reviews in Immunology*, 26(2).
- Bertrand, J., Mars, A., Boyle, C., Bove, F., Yeargin-Allsopp, M and Decoufle, P. 2001. Prevalence of autism in a United States population: the Brick Township, New Jersey, investigation. *Pediatrics*, 108(5): 1155-1161.
- Bleuler, E. 1911. *Dementia praecox, oder Gruppe der Schizophrenien*. Deuticke, 420 page, Berlin.
- Bryn, V., Aass, H. C. D., Skjeldal, O. H., Isaksen, J., Saugstad, O. D and Ormstad, H. 2017. Cytokine profile in autism spectrum disorders in children. *Journal of Molecular Neuroscience*, 61: 1-7.
- Brynskikh, A., Warren, T., Zhu, J and Kipnis, J. 2008. Adaptive immunity affects learning behavior in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 22(6): 861-869.
- Bursztejn, C., Ferrari, P., Dreux, C., Braconnier, A and Lancrenon, S. 1988. Metabolism of serotonin in autism in children. *L'encephale*, 14(6): 413-419.
- Camcıoğlu, Y. 2013. Bağışıklık sistemi ve yetersizlikleri. İ.Ü. Cerrhpaşa Medical Faculty Continuous Medical Education Activities, 80, 9-16.
- Carrey, N. J. 1995. Itard's 1828 memoire on “Mutism caused by a lesion of the intellectual functions”: A historical analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 34(12): 1655-1661.
- Carson, M. J., Doose, J. M., Melchior, B., Schmid, C. D and Ploix, C. C. 2006. CNS immune privilege: hiding in plain sight. *Immunological Reviews*, 213(1): 48-65.
- Cazzullo, A. G., Musetti, M. C., Musetti, L., Bajo, S., Sacerdote, P and Panerai, A. 1999. β -Endorphin levels in peripheral blood mononuclear cells and long-term naltrexone treatment in autistic children. *European Neuropsychopharmacology*, 9(4): 361-366.
- Chakrabarti, S and Fombonne, E. 2001. Pervasive developmental disorders in preschool children. *Jama*, 285(24): 3093-3099.
- Croonenberghs, J., Wauters, A., Devreese, K., Verkerk, R., Scharpe, S., Bosmans, E and Maes, M. 2002. Increased serum albumin, γ globulin, immunoglobulin IgG, and IgG2 and IgG4 in autism. *Psychological Medicine*, 32(8): 1457-1463.

- Depastas, C and Kalaitzaki, A. 2022. The epidemiology of autism spectrum disorder and factors contributing to the increase in its prevalence. *Archives of Hellenic Medicine/Arheia Ellenikes Iatrikes*, 39(3).
- Enstrom, A. M., Lit, L., Onore, C. E., Gregg, J. P., Hansen, R. L., Pessah, I. N and Ashwood, P. 2009. Altered gene expression and function of peripheral blood natural killer cells in children with autism. *Brain, Behavior, and Immunity*, 23(1): 124-133.
- Erturk, K., Tastekin, D., Serilmez, M., Bilgin, E., Bozbey, H. U and Vatansever, S. 2016. Clinical significance of serum interleukin-29, interleukin-32, and tumor necrosis factor alpha levels in patients with gastric cancer. *Tumor Biology*, 37: 405-412.
- Esterling, B. A., Kiecolt-Glaser, J. K and Glaser, R. 1996. Psychosocial modulation of cytokine-induced natural killer cell activity in older adults. *Psychosomatic Medicine*, 58(3): 264-272.
- Ferrari, P., Marescot, M. R., Moulias, R., Bursztejn, C., Thiollet, M., Lesourd, B and Zarifian, E. 1988. Immune status in infantile autism. Correlation between the immune status, autistic symptoms and levels of serotonin. *L'encephale*, 14(5): 339-344.
- Foster, B., Prussin, C., Liu, F., Whitmire, J. K and Whitton, J. L. 2007. Detection of intracellular cytokines by flow cytometry. *Current Protocols in Immunology*, 78(1): 6-24.
- Gadient, R. A and Patterson, P. H. 1999. Leukemia inhibitory factor, Interleukin 6, and other cytokines using the GP130 transducing receptor: roles in inflammation and injury. *Stem Cells*, 17(3): 127-137.
- Goines, P. E and Ashwood, P. 2013. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicology and Teratology*, 36: 67-81.
- Gupta, S. 1996. Brief report: Dysregulated immune system in children with autism: Beneficial effects of intravenous immune globulin on autistic characteristics. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 26(4): 439-452.
- Gülke, L and Wulf, E. 1986. Immunoturbidimetric determination of IgG, IgA, IgM and haptoglobin with the SPEKOL 21: a comparison of methods using radial

- immunodiffusion and laser nephelometry. *Zeitschrift für Medizinische Laboratoriumsdiagnostik*, 27(6): 316-320.
- Haag, G., Tordjman, S., Duprat, A., Urwand, S., Jardin, F., Cukierman, A and Dumont, A. M. 2005. Psychodynamic assessment of changes in children with autism under psychoanalytic treatment. *The International Journal of Psychoanalysis*, 86(2): 335-352.
- Hoshino, Y., Yamamoto, T., Kaneko, M and Kumashiro, H. 1986. Plasma free tryptophan concentration in autistic children. *Brain and Development*, 8(4): 424-427.
- Kanner, L. 1943. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child*, 2(3): 217-250.
- Kawai, T and Akira, S. 2006. Innate immune recognition of viral infection. *Nature Immunology*, 7(2): 131-137.
- Kumar, H., Kawai, T and Akira, S. 2011. Pathogen recognition by the innate immune system. *International Reviews of Immunology*, 30(1): 16-34.
- Kutuk, M. O., Tufan, E., Gokcen, C., Kilicaslan, F., Karadag, M., Mutluer, T and Kutuk, O. 2020. Cytokine expression profiles in Autism spectrum disorder: A multi-center study from Turkey. *Cytokine*, 133: 155152.
- Lamari, F., Anastassiou, E. D., Dimitracopoulos, G and Karamanos, N. K. 2000. Immunochemical-based assays in the bioanalysis of immunoglobulins. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 23(6): 939-946.
- Leboyer, M., Philippe, A., Bouvard, M., Guilloud-Bataille, M., Bondoux, D., Tabuteau, F and Launay, J. M. 1999. Whole blood serotonin and plasma beta-endorphin in autistic probands and their first-degree relatives. *Biological Psychiatry*, 45(2): 158-163.
- Li, Y., Wang, Y., Liu, Y., Wang, Y., Zuo, X., Li, Y and Lu, X. 2014. The possible role of the novel cytokines il-35 and il-37 in inflammatory bowel disease. *Mediators of Inflammation*, 2014.
- Liu, F. D. M., Kenngott, E. E., Schroeter, M. F., Kuehl, A., Jennrich, S., Watzlawick, R and Hamann, A. 2014. Timed action of IL-27 protects from immunopathology while preserving defense in influenza. *PLoS Pathogens*, 10(5): e1004110.

- Lobo, S. M., Lobo, F. R., Bota, D. P., Lopes-Ferreira, F., Soliman, H. M., Meélot, C and Vincent, J. L. 2003. C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest*, 123(6): 2043-2049.
- Lord, C., Cook, E. H., Leventhal, B. L and Amaral, D. G. 2000. Autism spectrum disorders. *Neuron*, 28(2): 355-363.
- Lupia, E., Pigozzi, L., Goffi, A., Hirsch, E and Montrucchio, G. 2014. Role of phosphoinositide 3-kinase in the pathogenesis of acute pancreatitis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(41): 15190.
- Maggio, M., Guralnik, J. M., Longo, D. L and Ferrucci, L. 2006. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 61(6): 575-584.
- Manzardo, A. M., Henkhaus, R., Dhillon, S and Butler, M. G. 2012. Plasma cytokine levels in children with autistic disorder and unrelated siblings. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 30(2): 121-127.
- Minderaa, R. B., Anderson, G. M., Volkmar, F. R., Akkerhuis, G. W and Cohen, D. J. 1994. Noradrenergic and adrenergic functioning in autism. *Biological Psychiatry*, 36(4): 237-241.
- Ming, X., Stein, T. P., Barnes, V., Rhodes, N and Guo, L. 2012. Metabolic perturbation in autism spectrum disorders: a metabolomics study. *Journal of Proteome Research*, 11(12): 5856-5862.
- Molloy, C. A., Morrow, A. L., Meinzen-Derr, J., Dawson, G., Bernier, R., Dunn, M and Lord, C. 2006. Familial autoimmune thyroid disease as a risk factor for regression in children with Autism Spectrum Disorder: a CPEA Study. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 36: 317-324.
- Morgan, J. T., Chana, G., Pardo, C. A., Achim, C., Semendeferi, K., Buckwalter, J and Overall, I. P. 2010. Microglial activation and increased microglial density observed in the dorsolateral prefrontal cortex in autism. *Biological Psychiatry*, 68(4): 368-376.
- Müller, N., Riedel, M., Ackenheil, M and Schwarz, M. J. 1999. The role of immune function in schizophrenia: an overview. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 249: 62-68.

- Napolioni, V., Ober-Reynolds, B., Szelinger, S., Corneveaux, J. J., Pawlowski, T., Ober-Reynolds, S and Huentelman, M. J. 2013. Plasma cytokine profiling in sibling pairs discordant for autism spectrum disorder. *Journal of Neuroinflammation*, 10: 1-12.
- Naumnik, W., Naumnik, B., Niewiarowska, K., Ossolinska, M and Chyczewska, E. 2012. Novel cytokines: IL-27, IL-29, IL-31 and IL-33. Can they be useful in clinical practice at the time diagnosis of lung cancer?. *Experimental Oncology*, 34: 348-353.
- Nawa, H., Takahashi, M and Patterson, P. H. 2000. Cytokine and growth factor involvement in schizophrenia—support for the developmental model. *Molecular Psychiatry*, 5(6): 594-603.
- Niehus, R and Lord, C. 2006. Early medical history of children with autism spectrum disorders. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, 27(2): 120-127.
- Pepys, M. B and Hirschfield, G. M. 2003. C-reactive protein: a critical update. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(12): 1805-1812.
- Perricone, R., Perricone, C., De Carolis, C and Shoenfeld, Y. 2008. NK cells in autoimmunity: a two-edg'd weapon of the immune system. *Autoimmunity Reviews*, 7(5): 384-390.
- Perry, A., Condillac, R. A., Freeman, N. L., Dunn-Geier, J and Belair, J. 2005. Multi-site study of the Childhood Autism Rating Scale (CARS) in five clinical groups of young children. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 35: 625-634.
- Petit, E., Herault, J., Martineau, J., Perrot, A., Barthelemy, C., Hameury, L and Müh, J. P. 1995. Association study with two markers of a human homeogene in infantile autism. *Journal of Medical Genetics*, 32(4): 269-274.
- Plioplys, A. V., Greaves, A., Kazemi, K and Silverman, E. 1994. Lymphocyte function in autism and Rett syndrome. *Neuropsychobiology*, 29(1): 12-16.
- Price, C. S., Thompson, W. W., Goodson, B., Weintraub, E. S., Croen, L. A., Hinrichsen, V. L and DeStefano, F. 2010. Prenatal and infant exposure to thimerosal from vaccines and immunoglobulins and risk of autism. *Pediatrics*, 126(4): 656-664.
- Ritvo, E. R., Yuwiler, A., Geller, E., Ornitz, E. M., Saeger, K and Plotkin, S. 1970. Increased blood serotonin and platelets in early infantile autism. *Archives of General Psychiatry*, 23(6): 566-572.

- Saresella, M., Marventano, I., Guerini, F. R., Mancuso, R., Ceresa, L., Zanzottera, M and Clerici, M. 2009. An autistic endophenotype results in complex immune dysfunction in healthy siblings of autistic children. *Biological Psychiatry*, 66(10): 978-984.
- Schain, R. J and Freedman, D. X. 1961. Studies on 5-hydroxyindole metabolism in autistic and other mentally retarded children. *The Journal of Pediatrics*, 58(3): 315-320.
- Schroeder, H. W and Cavacini, L. 2010. Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2): 41-52.
- Schulze, A. 2003. Creatine deficiency syndromes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 244: 143-150.
- Shen, L., Liu, X., Zhang, H., Lin, J., Feng, C and Iqbal, J. 2020. Biomarkers in autism spectrum disorders: Current progress. *Clinica Chimica Acta*, 502: 41-54.
- Singh, V. K. 1996. Plasma increase of interleukin-12 and interferon-gamma. Pathological significance in autism. *Journal of Neuroimmunology*, 66(2): 143-145.
- Siniscalco, D., Mijatovic, T., Bosmans, E., Cirillo, A., Kruzliak, P., Lombardi, V. C and Antonucci, N. 2016. Decreased numbers of CD57⁺ CD3⁻ cells identify potential innate immune differences in patients with autism spectrum disorder. *In Vivo*, 30(2): 83-89.
- Slater, L. 1975. IgG, IgA and IgM by formylated rocket immunoelectrophoresis. *Annals of Clinical Biochemistry*, 12(6): 19-24.
- Solís-Añez, E., Delgado-Luengo, W and Hernández, M. L. 2007. Autism, chromosome 15 and the GABAergic dysfunction hypothesis. *Investigacion Clinica*, 48(4): 529-541.
- Splawski, I., Timothy, K. W., Sharpe, L. M., Decher, N., Kumar, P., Bloise, R and Keating, M. T. 2004. CaV1. 2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell*, 119(1): 19-31.
- Sproston, N. R and Ashworth, J. J. 2018. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Frontiers in Immunology*, 9: 754.
- Steinman, L. 2004. Elaborate interactions between the immune and nervous systems. *Nature Immunology*, 5(6): 575-581.

- Stubbs, E. G., Crawford, M. L., Burger, D. R and Vandenbark, A. A. 1977. Depressed lymphocyte responsiveness in autistic children. *Journal of autism and childhood Schizophrenia*, 7(1): 49-55.
- Sun, L., He, C., Nair, L., Yeung, J and Egwuagu, C. E. 2015. Interleukin 12 (IL-12) family cytokines: Role in immune pathogenesis and treatment of CNS autoimmune disease. *Cytokine*, 75(2): 249-255.
- Tanaka, T., Narazaki, M and Kishimoto, T. 2014. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(10): a016295.
- Tordjman, S., McBride, P. A., Hertzog, M. E., Snow, M. E., Anderson, G. M., Hall, L. M and Cohen, D. J. 1997. Plasma β -endorphin, adrenocorticotropin hormone, and cortisol in autism. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 38(6): 705-715.
- Tostes, M. H. F. S., Teixeira, H. C., Gattaz, W. F., Brandão, M. A. F and Raposo, N. R. B. 2012. Altered neurotrophin, neuropeptide, cytokines and nitric oxide levels in autism. *Pharmacopsychiatry*, 45(6): 241-243.
- Underwood, J. G., Boutz, P. L., Dougherty, J. D., Stoilov, P and Black, D. L. 2005. Homologues of the *Caenorhabditis elegans* Fox-1 protein are neuronal splicing regulators in mammals. *Molecular and Cellular Biology*, 25(22): 10005-10016.
- Üçok, A., Akar, U., Polat, A and Yazici, O. 2005. Human leukocyte antigen alleles in patients with bipolar disorder in Turkey. *European Psychiatry*, 20(1): 83-83.
- Vaillant, A. A. J., Jamal, Z and Ramphul, K. 2021. *Immunoglobulin*. StatPearls Publishing, 23(6).
- Villarino, A. V., Huang, E and Hunter, C. A. 2004. Understanding the pro-and anti-inflammatory properties of IL-27. *The Journal of Immunology*, 173(2): 715-720.
- Vojdani, A., Mumper, E., Granpeesheh, D., Mielke, L., Traver, D., Bock, K and McCandless, J. 2008. Low natural killer cell cytotoxic activity in autism: the role of glutathione, IL-2 and IL-15. *Journal of Neuroimmunology*, 205(2): 148-154.
- Volkmar, F. R., Lord, C., Bailey, A., Schultz, R. T and Klin, A. 2004. Autism and pervasive developmental disorders. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 45(1): 135-170.
- Warren, R. P., Foster, A. N. N and Margaretten, N. C. 1987. Reduced natural killer cell activity in autism. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 26(3): 333-335.

- West, P. R., Amaral, D. G., Bais, P., Smith, A. M., Egnash, L. A., Ross, M. E and Burrier, R. E. 2014. Metabolomics as a tool for discovery of biomarkers of autism spectrum disorder in the blood plasma of children. PLoS One, 9(11): e112445.
- Wing, L and Gould, J. 1979. Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: Epidemiology and classification. Journal of Autism and Developmental Disorders, 9(1): 11-29.
- Yap, I. K., Angley, M., Veselkov, K. A., Holmes, E., Lindon, J. C and Nicholson, J. K. 2010. Urinary metabolic phenotyping differentiates children with autism from their unaffected siblings and age-matched controls. Journal of Proteome Research, 9(6): 2996-3004.



EKLER

EK 1. Onay formu

EK 2. Gönüllü bilgi formu (sağlıklı kontrol)

EK 3. Sosyodemografik veri formu

EK 4. Çocukluk otizmi derecelendirme ölçeği



EK 1. Onay formu

Araştırma öncesinde gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren yukarıdaki metni okudum. Bunlarla ilgili bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bana verilen tüm açıklamaları tamamen anladım. Belli bir süre kendi kendime düşündükten sonra gerekirse eşimin de onayı ile ocuęumun bu çalışmaya katılmasını kabul ediyorum.

Ebeveynin Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon:

Tarih:

İmza:

Araştırmacının Adı ve Soyadı:

Telefon:

Tarih:

İmza

EK 2. Gönüllü bilgi formu (sağlıklı kontrol)

I. Çocuğunuz 'Otizm spektrum bozukluğunda bağışıklık sistemi değişikliklerinin değerlendirilmesi (1-12 yaş)' adlı çalışmaya sağlıklı kontrol grubu olarak katılacaktır. Yapılacak inceleme için ön kolun uygun damarından kan alınacaktır. Bu incelemede bağışıklık sistemi hücrelerine ve faaliyetlerine bakılacaktır. Damardan kan alınması sağlık açısından bir risk oluşturmamaktadır. Bu değerlendirme kapsamında sosyodemografik veri formu doldurulacaktır. Bu çalışmaya yaklaşık 60 çocuğun katılması planlanmıştır. Hastane kaydı yapıldığı sürece görüşme ve muayeneler için herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. İstedığınız zaman araştırmacıyı bilgilendirerek çalışmadan çekilebilir ya da araştırmacı tarafından gerekli görüldüğünde araştırmadan çıkarılabilirsiniz. Çalışmayı kabul etmemeniz veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılmanız veya çekilmeniz durumunda hastalığınızla ilgili tedavinizde herhangi bir aksama olmayacağını bildiririz. Araştırma için yapılacak harcamalardan dolayı herhangi bir mali sorumluluk altında olmayacağınızı ve size herhangi bir ödeme yapılmayacağını bildiririz. Çocuğunuzdan alınacak örneklerden (serum vb.) elde edilen veriler ve kayıtlar bilimsel yayınlarda çocuğunuzun adı geçmeden kullanılabilecektir. Bu amaçlar dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir. Sizin ve çocuğunuzun kimlik bilgilerinin gizli tutulacağı konusunda sizi temin ederiz.

'Sayın Dr. xxxxx, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Anabilim Dalı'nda tıbbi araştırma yapılacağını belirtti ve bu araştırma ile ilgili üst bilgi tarafıma iletilti. Bu bilgilendirmeden sonra çocuğum böyle bir çalışmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildi.

Bu çalışmada yer alırsam, doktorla aramda saklanması gereken istatistiklerin gizliliğine büyük bir özenle yaklaşılabileceğini ve bu çalışmanın bir aşamasında tanınacağını kabul ediyorum. Araştırma etkilerinin akademik ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında bebeğimin kamuya açık olmayan istatistiklerinin dikkatli bir şekilde korunabileceğine dair yeterince güven duydum.

Teşebbüsün yürütülmesi süresince herhangi bir amaç belirtmeksizin araştırmadan çekilebilirim (Ancak, araştırmacıları zor durumda bırakmamak için çalışmalardan çekileceğimi araştırmacıya daha önce bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca, çocuğumun tıbbi durumunun zarar görmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırmadan çıkarılabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarda herhangi bir mali sorumluluk kabul etmiyorum. Tarafıma herhangi bir ödeme de yapılmayacaktır.

Araştırma uygulamasından doğrudan ya da dolaylı olarak kaynaklanabilecek herhangi bir sağlık aksaklığı durumunda her türlü tıbbi müdahalenin yapılacağına dair gerekli güvence verilmiştir (Bu tıbbi müdahaleler için de tarafıma maddi bir yük getirilmeyecektir).

EK 2. Gönüllü bilgi formu (sağlıklı kontrol) (Devam)

Araştırma süresince çocuğum bir sağlık sorunu ile karşılaştığında; xxxx numaralı telefondan (adresi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Anabilim Dalı Polikliniği) Dr.xxxx'i arayabileceğimi biliyorum.

Artık bu araştırmada yer almak zorunda değilim ve almayacağım. Aslında yürümeye başlayan çocuğumun araştırmaya katılımı konusunda herhangi bir zorlayıcı davranışla karşılaşmadım. Ayrıca, katılmayı reddedersem, bunun bebeğimin tıbbi bakımına ve tıp doktoru ile olan ilişkimize zarar vermeyeceğini de biliyorum.

Hatta bana verilen tüm açıklamaları tam olarak anladım. Olumlu bir düşünme sürecinden sonra, çocuğumun bu araştırma görevine bir "oyuncu" (denek) olarak katılmasına karar verdim. Bu davetiye bana olağanüstü bir memnuniyet ve gönüllülükle verilecektir.

Bu imzalı formun bir kopyası bana verilecektir.

EK 3. Sosyodemografik veri formu

1. Ad Soyad:	
2. Cinsiyet:	() Kız () Erkek
3. Doğum tarihi:	
4. Kardeş sayısı:	
5. Ne tür bir çocuk:	
6. Adres – Telefon:	
7. Evde birlikte yaşadığı kişiler:	
8. Anne:	() Sağ () Yaşamıyor
9. Baba:	() Sağ () Yaşamıyor
10. Ebeveynler:	() Birlikte () Ayrılmış/Boşanmış
11. Annenin yaşı:	
12. Babanın yaşı:	
13. Annenin eğitim durumu:	14. Babanın eğitim durumu:
a- () okuma yazma bilmeyen	a- () okuma yazma bilmeyen
b- () İlkokul	b- () İlkokul
c- () Ortaokul	c- () Ortaokul
d- () Lise	d- () Lise
e- () Üniversite	e- () Üniversite
15. Anne çalışıyor mu?	() Evet () HAYIR
16. Babam çalışıyor mu?	() Evet () HAYIR
17. Ailenizin ortalama aylık geliri (\$):	
a- () 0 – 1000	
b- () 1000 – 2000	
c- () 2000 ve üzeri	

EK 4. Çocukluk otizmi derecelendirme ölçeği

Childhood Autism Rating Scale (CARS)

The Childhood Autism Rating Scale (CARS) is a 15 item behavioral rating scale developed to identify children with autism and to categorize these behaviors from mild to moderate to severe. The total CARS score may range from a low of 15 (obtained when the child's behavior is rated as falling within normal limits on all 15 scales) to a high of 60 (obtained when the child's behavior is rated as severely abnormal on all 15 scales). The score represents placement on a continuum: the lower the score, the fewer autistic behaviors the child exhibits; the higher the score, the more autistic behaviors the child exhibits.

S.No		None 1	Mild 2	Moderate 3	Severe 4
1.	Relating to People				
2.	Emotional Response				
3.	Imitation				
4.	Body Use				
5.	Object Use				
6.	Adaptation to Change				
7.	Listening Response				
8.	Taste, Smell, Touch				
9.	Visual Response				
10.	Fear or Nervous				
11.	Verbal Communication				
12.	Activity Level				
13.	Nonverbal Communication				
14.	Level & Consistency of Intellectual Response				
15.	General Impression				

Grand Total _____

The Childhood Autism Rating Scale was completed utilizing information provided by grand total. Based on his/her observations and evaluation, grand total received from an overall rating score of all items, placing him within the respective autistic range.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Rana RASHEED

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-2023
---------------	---	-----------

Lisans	Bağdat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	1995-1999
--------	---	-----------