

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

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNDA
SDF-1 / CXCR4 GENLERİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tayfun KARA

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Süleyman Salih ZOROĞLU

İSTANBUL

2013

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

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNDA
SDF-1 / CXCR4 GENLERİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tayfun KARA

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Süleyman Salih ZOROĞLU

İSTANBUL

2013

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince, eğitimime katkıları olan bilgi ve deneyimlerini benim ile paylaşan ve tez konumun belirlenmesinden yazım aşamasına kadar her aşamada, her türlü desteği sağlayan, kıymetli bilim insanı, değerli tez danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Süleyman Salih Zoroğlu'na;

Uzmanlık eğitimim sırasında çocuk psikiyatrisi alanındaki genel bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, destekleri her zaman yanımda hissettiğim, asistanlık eğitimimde büyük emekleri ve katkıları olan bu alanda çalışmamda motivasyon kaynağı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Nahit Motavallı Mukaddes'e, Doç. Dr. Osman Abalı'ya, Doç. Dr. Behiye Alyanak'a, Doç. Dr. Ayşe Kılınçaslan'a, ve Uzm. Dr. Murat Coşkun'a; Tezimin her aşamasında destek ve ilgilerini esirgemeyen Prof. Dr. Bedia Ağaçhan'a, Sinem Bireller'e, Çağla Oruç'a, Zeynep Birsu Çinçin'e; Tez verilerinin değerlendirilmesi aşamasında destek ve ilgisini esirgemeyen Doç. Dr. Eda Tahir Turanlı'ya;

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan çok büyük mutluluk duyduğum, asistan arkadaşlarıma, psikolog, hemşire, pedagog, sosyal çalışmacı, sekreter ve diğer personellere; Psikiyatri ve Çocuk Nörolojisi rotasyonlarım sırasında beraber çalıştığım ve istifade ettiğim değerli hocalarım, asistan arkadaşlarım ve diğer personellere; Çalışmama katılan tüm çocuk, ergen ve ailelerine, kendilerinden çok şey öğrendiğim tüm hasta ve danışanlarıma;

Bu uzmanlık tez çalışması, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:29031, Tezim için gerekli desteği sağlayan İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne;

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan sevgili annem Saime Kara ve babam Siahmet Kara'ya, aynı evi paylaştığım ve desteklerini hiç esirgemeyen sevgili kız kardeşlerim Fatma Kara ve Selma Kara'ya teşekkür ederim.

Dr. Tayfun KARA

2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET

SUMMARY

GİRİŞ

1.GENEL BİLGİLER

1.1.Otizm Spektrum Bozukluğu

1.1.1 Tarihçe ve Tanımlama

1.1.2 Otizm Spektrum Bozukluklarına genel bakış

1.1.3 Otistik Bozukluk

1.1.3.1 Epidemiyoloji

1.1.3.2 Etiyoloji ve Patogenez

1.1.3.3 Nöroanatomik ve Nörofizyolojik Faktörler

1.1.3.4 Psikolojik Kuramlar/Nöropsikiyatrik Modeller

1.1.3.5 Biyokimyasal Faktörler

1.1.3.6 İmmünolojik Faktörler

1.1.3.7 Klinik Görünüm

1.1.4 Asperger Sendromu

1.1.5 Atipik Otizm

1.2 Otizm ve Genetik

1.2.1 OSB ve Genetiğe Genel Bakış

1.2.2 Genetik çalışmalarda sık kullanılan yöntemler

1.2.3 Genetik Polimorfizm ve RFLP

1.2.4 Bağlantı analizleri ve OSB

1.2.5 Sitogenetik Olarak Gözlenebilen Kromozomal Anomaliler

1.2.6 Kopya Sayısı Farklılıkları (Copy number variation, CNV) ve OSB

1.2.7 Tek Gen Hastalıkları/Sendromik durumlar ve OSB

1.2.8 Genetik kökenli metabolik durumlar ve OSB

1.3 Otizm ve Kemokinler

1.3.1 Kemokinlere Genel Bakış

1.3.2 Stromal Hücre Kaynaklı Faktör-1 (SDF-1) ve SDF1-3'A Polimorfizmi

1.3.3 CXC Kemokin Reseptör 4 (CXCR4) ve CXCR4 C138T

Polimorfizmi

1.3.4 Kemokinler ve OSB

1.1.1. 2.YÖNTEM VE GEREÇLER

2.1 Seçilen Örneklerin Tanımı

2.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

2.3 İncelenen Polimorfik Gen Bölgelerine Ait Primer Dizileri

2.4 Kullanılan Gereçler

2.5 Kullanılan Çözeltiler

2.5.1. Agaroz Jel Elektroföresi'nde Kullanılan Çözeltiler

2.5.1.1 Etidyum Bromür (10 mg/ml)

2.5.1.2 Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5x)

Tamponu

2.5.1.3 50x Tris- Asetik asit -Etilen Diamin Tetra Asetat (TAE)

Tamponu

2.5.1.4 5X Tris- Borik Asit -Etilen Diamin Tetra Asetat (TBE)

2.6. Kullanılan Yöntemler

2.6.1. İnvitrogen Purelink Genomik DNA Kit ile Kandan DNA İzolasyonu

2.6.1.1 DNA İzolasyonunda Kullanılan Kit İçeriği ve Hazırlık Aşaması

2.6.1.2 Kan Örneklerinden Lizat Hazırlanması

2.6.1.3 DNA'ya Bağlanma

2.6.1.4 DNA Yıkama Aşaması

2.6.1.5 DNA Elüsyon Aşaması

2.6.1.6 DNA Saklama

2.6.1.7 DNA Safılık Tayini

2.6.1.8 DNA Konsantrasyonlarının Hesaplanması

2.6.2. PZR'de Kullanılan Kimyasal Maddeler

2.6.2.1 DNA Taq polimeraz enzimi (5U/μl) (Fermentas EPO402)

EP0402)

2.6.2.2 10 X DNA Taq PZR Tamponu (NH₄)₂SO₄'lü (Fermentas2.6.2.3 MgCl₂ (25mM/ml, Fermentas EP0402)

2.6.2.4 dNTP'ler (100 μmol/ml) (Fermentas R0171)

2.6.3. İncelenen Gen Bölgelerinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması

2.6.4 %3'lük AgaroZ Jel Hazırlanması

2.6.4.1. PZR Ürünlerinin AgaroZ Jel'e Yüklenmesi

2.6.4.2. PZR Ürünlerinin Kontrolü

2.6.5. CXCR4 C-138T polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

2.6.6. SDF1 3'A polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

2.7 Klinik Teşhisler ve Hasta Grupları

2.7.1 Veri Formu

2.7.2 Çocukluk Otizmi Değerlendirme Ölçeği (ÇODÖ)

2.8 İstatistiksel Uygulamalar

2.8.1 P (Anlamlılık Değeri)

2.8.2 Ki Kare Testi (X^2)

2.8.3 t Testi

2.8.4 ANOVA (varyans analizi)

2.8.5 Risk Hesapları

2.8.5.1 Relatif Risk

2.8.5.2 İhtimal Oranı

2.8.5.3 Yüklenen Kesit

2.8.6 Aile temelli ilişki analizleri

2.8.6.1 Haplotip temelli haplotip relatif risk analizi

2.8.6.2 Kalıtılabilme eşitsizliği testi (KET) (TDT)

2.8.6.3 Genişletilmiş Kalıtılabilme Eşitsizliği Testi (GKET)

3.BULGULAR

4.TARTIŞMA

5.KAYNAKLAR

6.EKLER

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Yaygın Gelişimsel Bozukluk Başlığı Altındaki Hastalıklar

Tablo 2: Otistik Spektrum Bozukluklarda Ayırıcı Tanısal Özellikler

Tablo 3: Otistik Bozukluk için DSM-IV Kriterleri

Tablo 4: DSM-IV Asperger Sendromu Tanı Ölçütleri

Tablo 5: DSM-IV Başka Türü Adlandırılmayan-Yaygın Gelişimsel Bozukluk Tanı Ölçütleri

Tablo 6: Otizm ile ilişkili olduğu bilinen genlerin listesi

Tablo 7: Çoğaltılacak polimorfik bölgelere ait primer dizileri

Tablo 8: CXCR4 polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları

Tablo 9: SDF1 polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları

Tablo 10: BclI enzimi için kesim protokolü

Tablo 11: PvuII enzimi için kesim protokolü

Tablo12: Zeka Düzeyleri

Tablo 14: CARS skorları ve yaşa göre dağılımı

Tablo 15: Sosyodemografik verilerin dağılımı

Tablo 16 : CXCR4 C138T C→T genotip ve alel dağılımı

Tablo 17 : SDF-1 G801A G→A genotip ve alel dağılımı

Tablo 18 : SDF-1 G801A G→A TDT analizi

Tablo 19 : SDF-1 G801A G→A HRR analizi

Tablo 20 : CXCR4 C138T C→T TDT Analizi

Tablo 21 : CXCR4 C138T C→T HRR Analizi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: CXCR4 C-138T polimorfizmine ait jel görüntüsü

Şekil 2: SDF1 3'A polimorfizmine ait jel görüntüsü

KISALTMALAR

A: Adenin

ADDM : Autism and Developmental Disabilities Monitoring

AGAT: L-arjinin:glisin amidinotransferaz

ANOVA: Analysis of Variance, Varyans Analizi

APA: Amerikan Psikiyatri Birliği

AS: Asperger Sendromu , Asperger Bozukluğu

ASD: Autism Spectrum Disorder

AO: Atipik Otizm

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

BTA-YGB: Başka Türli Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk

BWS: Beckwith-Wiedemann sendromu

C: Sitozin

CARS: Childhood Autism Rating Scale

CNV: Copy Number Variation, Kopya Sayısı Varyasyonu

CDC: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, Centers for Disease Control and Prevention

ÇDB: Çocukluğun Dezintegratif Bozukluğu

CXCR4: Chemokine receptor type 4

ÇODÖ: Çocukluk Otizmi Değerlendirme Ölçeği

DEHB: Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu

DİOB: Düşük İşlevli Otistik Bozukluk, Low Functioning Autistic Disorder

DNA: Deoksiribonükleik Asit

dNTP: Deoxyribonucleotide Triphosphate, Deoksiribonükleotid Trifosfat

DSM: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-, Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal Elkitabı

EDTA: Etilen Diamine Tetra Asetat

EEG: Elektroensefalografi

E/K:Erkek/Kız

FISH: Fluorescent in situ hybridization

FKU: Fenilketonüri

FMR: Fragile X mental retardation

G: Guanin

GABR: Gama Aminobutirik Asid Reseptör Geni

GAMT: guanidinoasetatmetiltransferaz

5-HIAA: 5-Hidroksi-İndolasetik Asit

5-HT: 5-hydroxytryptamine

HLA: Human leukocyte antigen

HRR: Haplotip Relatif Risk

HVA: Homovalinik Asit

IACAPAP: The International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions

ICD: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, Hastalıkların ve Sağlık Problemlerinin Uluslararası İstatiksel Sınıflaması

Ig: immünglobulin

IFN:İnterferon

IL: İnterlökin

IQ: Intelligence Quotient, Zeka Bölümü

KET: Kalıtılabilme Eşitsizliği Testi

KES: Kreatin Eksikliği Sendromları

KS: Klinefelter Sendromu

LKS: Landau-Kleffner sendromu

MBP: Miyelin Temel Protein, Myelin Basic Protein

MCP 1: monocyte chemoattractant protein

MECP2: Metil-CpG-Bağlayıcı Protein 2, Methyl CpG Binding Protein 2

MHFG: 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol

MMR: Measles, mumps and rubella, kızamık-kabakulak-kızamıkçık

µl: Mikrolitre

MRG: Magnetik Rezonans Görüntüleme

mRNA: Messenger RNA, Mesajcı RNA

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

NAFP: nöron-akson filament proteine

NF: Nörofibromatozis

NLGN: Nöroligin Geni

NO: Nitrik Oksit

NSD1: Nuclear receptor binding protein

OB: Otistik Bozukluk

OKB: Obsesif Kompulsif Bozukluk

OSB: Otizm Spektrum Bozuklukları

OXTR: Human Oksitosin Reseptör Geni, İnsan Oksitosin Reseptör Geni

PZR/PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Polymerase Chain Reaction

PTEN: Phosphatase and tensin homolog

PWS: Prader-Willi Sendromu

RFLP: Restriksiyon Parçaları Uzunluk Polimorfizmi, Restriction Fragment Length Polymorphism

RR: Relatif Risk

SCL6A4: Human Serotonin Transporter Gene, İnsan Serotonin Taşıyıcı Geni

SDF1: stromal cell derived factor-1

SDS: Sodyum Dodesil Sülfat

SLOS: Smith-Lemli-Opitz Sendromu

SNP: Single Nucleotide Polymorphisms

SOD: Süperoksit Dismutaz

SSRI: Seçici Serotonin Gerilim İnhibitörleri

T: Timin

TAE: Tris-Asetik asit-Etilen Diamin Tetra Asetat

TBE: Tris-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetat

TDT: Transmission Disequilibrium Test

TSK: Tübero Sklerozis Kompleksi

TSC1-2: Tuberous Sclerosis Gene 1 ve 2

X^2 : Chi Square, Ki Kare

UV: ultraviyole

YİOB: Yüksek İşlevli Otistik Bozukluk, High Functioning Autistic Disorder

YGB: Yaygın Gelişimsel Bozukluk

ZB: Zeka Bölümü

ZG: Zeka Geriliği

ÖZET

OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNDA SDF-1 ve CXCR4 GENLERİNİNİNCELENMESİ

Giriş ve Amaç: Otizm spektrum bozuklukları (OSB) sosyal etkileşim ve iletişim, tekrarlayıcı sınırlı davranış ve ilgi alanlarını içeren yaygın anormallikler ile karakterize nörogelişimsel bozukluklar grubudur. Kemokinler hücreler tarafından salgılanan proteinler veya sitokinleri içerir. Bazı kemokinler proinflamatuvar olarak kabul edilirken, diğer homeostatik kabul edilenler ise normal süreçlerde doku bakımı ve gelişimi için hücrelerin göçünü kontrol ederler. Stromal hücre kaynaklı faktör-1 (SDF-1) ve reseptörü olan CXCR4, lökositler ve kök hücreler için kemoatraktan gibi davranarak inflamasyonda ve hematopoezde önemli rol oynamaktadır. OSB genetik ve çevresel bileşenleri de içeren kompleks bir patofizyolojiye sahiptir. Araştırmacılar otizm ile ilişkili bir dizi nadir gen değişikliği ya da mutasyonları ortaya çıkarmışlardır. Aynı zamanda OSB inflamatuvar bir bileşene sahip kabul edilmektedir. Kemokinlerin OSB için potansiyel rolü olduğu bilinmektedir ve tutarsız kemokin düzeyleri (beyin dokusu, serebrospinal sıvı, plazma ve amniotik sıvı) OSB tanısı alan bireylerde çeşitli davranış bozuklukları ve hastalığın kendisi ile ilişkili bulunmuştur. Son araştırmalar kemokinlerin sinir hücre greftlerinin olgunlaşması ve göçünün düzenlenmesine katıldığını ortaya çıkarmıştır. Kortikal nöronlar arası dağılımdaki değişikliklerin genetik mutasyonlar ile ilişkili olduğu ve bunun hücrelerin erken gelişim dönemindeki migrasyonunu bozabileceği bulunmuştur. Bu çalışmada Stromal cell-derived factor-1 SDF-1 ve CXCR4 gen polimorfizmleri ile OSB gelişme riski arasındaki ilişkinin araştırılmasını hedefliyoruz.

Yöntem: Çalışmaya İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalında takip edilen, DSM-IV Tanı Ölçütlerine göre OSB’li olan, 2 – 18 yaşları arasındaki 101 çocuk ve biyolojik anne babaları alınmıştır. Ayrıca DSM-IV Ölçütleri ve Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (Childhood Autism Rating Scale-CARS) kullanılarak OSB tanısı doğrulanmış ve belirtilerin dağılımı ve sorunların şiddeti saptanmıştır. Anne baba ve çocuk üçlüsünde DNA izolasyonu için 10 cc’lik kan örnekleri steril EDTA’lı tüplere alınmıştır, Kan lökositlerinden elde edilen DNA örneklerinde SDF-1 ve CXCR4 polimorfizmleri saptamak için PCR (Polimeraz zincirleme reaksiyonu), RFLP (Restriksiyon parçaları uzunluk polimorfizmi) ve agaroz jel elektroforezi teknikleri kullanılmıştır.

Bulgular: Anne baba ve çocuk üçlüsünden alınan kanların incelenmesi ve aile temelli kalıtılabilme eşitsizliği testleri (KET) sonucunda hem SDF1 ve CXCR4 genleri otizm ile

anlamli derecede iliskili gsterilmemistir.

Sonuç: Bu çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular SDF-1 ve CXCR4 genlerinin OSB fenotipinin oluşumunda ve patofizyolojisinde rolü olmayacağını ortaya koymaktadır. Bu alanda yapılacak daha geniş genetik epidemiyolojik ve moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.



SUMMARY

ASSOCIATION ANALYSIS OF SDF-1 and CXCR4 GENES IN AUTISM SPECTRUM DISORDER

Background and Aim: Autism spectrum disorders (ASD) are a group of neurodevelopmental disorders characterized by pervasive abnormalities in social interaction and communication, and repetitive and restricted behavioral patterns and interests. Chemokines are a family of small cytokines, or signaling proteins secreted by cells. Some chemokines are considered pro-inflammatory and others are considered homeostatic and are involved in controlling the migration of cells during normal processes of tissue maintenance or development. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) and its unique receptor CXCR4, play important roles in inflammation and hematopoiesis by acting as chemoattractants for leukocytes and stem cells. The pathophysiology of ASD is complex with both genetic and environmental components. Scientists have identified a number of rare gene changes, or mutations, associated with autism. ASD are recognized as having an inflammatory component. A potential role of chemokines in ASD has been suggested and discrepant levels of chemokines (brain tissue, cerebrospinal fluid, plasma and amniotic fluid) were also found associated with the disease and several behavioral impairments in individuals diagnosed with ASD. Recent investigations disclosed that chemokines participated in the regulation of migration and maturation of neural cell grafts. Changes in the distribution of cortical interneurons have been associated with genetic mutations that disrupt the migration of these cells during early development. In this study, we aim to investigate a possible association between SDF-1 and CXCR4 polymorphisms and the risk of developing ASD.

Method: All cases were taken from children and adolescents who consecutively referred to Istanbul Faculty of Medicine, Department Child and Adolescent Psychiatry, Autism Unit. Participants were 101 children, aged 2–18 year-old, who met DSM-IV criteria for ASD. Childhood Autism Rating Scale-CARS was used to assess the severity of symptoms. 10cc blood sample of 101 mother father and affected child trios were taken to sterile EDTA test tube for DNA isolation. Polimerase chain reaction (PCR), restriction fragment length polymorphism (RFLP) and agarose gel electrophoresis are used to assess SDF-1 and CXCR4 genes polymorphism in DNA samples.

Results: After analysing trio blood sample and using family based approaches like transmission disequilibrium test (TDT) we found no significant association between SDF-1

and CXCR4 genes and autism.

Conclusion: The findings of this study suggest that SDF-1 and CXCR4 might appears not to be a viable candidate gene for the pathogenesis of autism and have a role in the development of ASD phenotype. We need larger epidemiologic, genetic and molecular studies in this area.



GİRİŞ

Otizm spektrum bozuklukları (OSB) sosyal etkileşim, iletişim ve sınırlı ve tekrarlayıcı davranışlar olmak üzere üç alanda hafiften ağıra değişen bulguların olduğu otistik bozukluk, Aperger sendromu ve başka türlü adlandırılmayan yaygın gelişimsel bozukluğu (YGB-BTA) içeren bir gruptur (1). Otizmin etiyolojisinin karmaşık olduğu, birçok olgunun altında yatan patolojinin netlik kazanmadığı bilinmektedir ve yapılan epidemiyolojik çalışmalarda otizmin kompleks bir etiyolojisinin olduğu, en büyük rolün spesifik genetik faktörler olduğu, bunun yanı sıra karmaşık biyolojik ve psikolojik işlevlerin de etkili olduğu görüşü önem kazanmıştır (2). Otistik çocuğa sahip olan ailelerde yapılmış olan aile ve ikiz çalışmaları artmış otizm riskinden söz etmektedir. Otistik çocuğu olan ailelerde kardeşlerde eş hastalanma oranı %4.5'e ulaşmaktadır. Kromozomal anomalileri inceleyen çalışmalar da pek çok kromozomal bozukluğa otizmin eşlik ettiği bildirilmektedir ve sıklığı %10- %37 arasında değişmektedir (3). OSB tanısı almış bireyin ailesinin diğer üyelerinde OSB görülme sıklığının populasyon normallerinden fazla olduğu klasik aile çalışmalarıyla gösterilmiştir. Kardeşlerde OSB tanısı varsa bir sonraki çocukta OSB olma riskinin diğer normal popülasyona oranla 25 kat arttığı belirtilmiştir (4). Otizmin genetik geçişli bir hastalık olduğu ile ilgili kanıtlar %90 gibi yüksek oranlarda bildirilmiş olsa da, genetik faktörler heterojen karmaşık ve çoğunluğu az anlaşılır olarak bilinmektedir (5). Eldeki veriler ışığında bütün etiyolojik etkenler düşünüldüğünde otizmin kalıtsal geçişi ile ilgili en tutarlı faktörler genetik faktörlerdir. Zamanla yapılan epidemiyolojik ve genetik çalışmaların artışı OSB ve genetik ilişkisini kuvvetlendirmiştir (6).

Kemokin kelimesi; kemotaktik ve sitokin kelimelerinden türetilmiştir (7). Kemokinler hematopoezin düzenlenmesinde, lökosit matürasyonunda ve göçünde, lenfoid dokuların gelişiminde, T ve B lenfositlerin hedeflerini bulmalarında, anjiogenezde, apoptozda, anti-tümör aktivitede, hücre iskeletinin düzenlenmesinde, hücreler arası sıkı bağlantılarda ve hematopoetik hücrelerin spesifik anatomik bölgelere yerleşmesinde rol alan proteinlerdir (8). Farklı kemokinler Santral sinir sistemi (SSS)' nin endojen hücrelerini oluşturan astrositler, oligodendrositler, mikroglia ve nöronlar tarafından sentezlenmektedir (9). Bu endojen hücrelerin tümü fonksiyonel kemokin reseptörü de eksprese etmektedirler (10). Glial kemokinlerin SSS enflamasyonunda önemli rol oynadıklarını gösteren çalışmalar vardır (11). Tüm nörodejeneratif hastalıklar kemokin ekspresyonu, lokal glial hücre aktivasyonu ve

lökosit göçü ile birlikte (12). SDF 1 ve CXCR4 embriyonik beyinde de yüksek oranda saptanmıştır ve bu kemokin ve ligandların bloke edilmesi ile nöronal kök hücre migrasyonunun da (göçünde) inhibe edildiği görülmüştür(13). Genetik lezyonların internöronal gelişimin kurulu moleküler mekanizmalarını bozarak otizm ve şizofreni gibi hastalıklarda davranış bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmada azalmış 22q11.2 geni dozunun kortikal gelişim sirkülasyonunu CXCR4 aracılığı ile bozarak internöronal göç ve konumlamayı bozduğu tespit edilmiştir(14). Eldeki veriler immün sistem bozukluklarının OSB patofizyolojisinde yeri olduğunu düşündürmektedir. Sitokinlerin OSB için biyolojik yatkınlık belirleyicileri olarak kullanılabileceği düşünülmüştür(15). SDF-1/CXCR-4 etkileşiminin bozulması hematopoetik, kardiyovasküler ve nöral sistem gelişimini negatif yönde etkilemektedir ve embriyonel gelişim defektif olmaktadır. Bu fenotipik değişiklikler SDF-1/CXCR-4 etkileşiminin embriyonel progenitörlerin göçünde önemli rol oynadığını göstermektedir (16) Yapılan MRI çalışmaları erken gelişim dönemi boyunca nöronlarda migrasyon probleminin şizofreni ve otizm etiyolojisinde önemli bir rol aldığını desteklemektedir (17).

Tüm bu bulgular bir araya geldiğinde SDF-1 ve CXCR4 genlerinin otizm patofizyolojisinde aday olabileceği düşünülmektedir. İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalında takip edilen, DSM-IV Tanı Ölçütlerine göre OSB'li olan, 2-18 yaş arası 101 çocuk ve bu çocukların biyolojik anne ve babaları katılımın gönüllülük esasına dayalı olduğu şekilde çalışmaya alınmıştır. DSM-IV Ölçütleri ve Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (Childhood Autism Rating Scale-CARS) kullanılarak OSB tanısı doğrulanmış ve belirtilerin dağılımı ve sorunların şiddeti saptanmıştır. Alınan kan örneklerinden izole edilen DNA'lardan SDF-1 G801A G→A ve CXCR4 C138T C→T polimorfizmi incelenmesi yapılmıştır. Prevalansında artma olduğu bilinen ve etiyolojisinde belirsizlikler bulunan OSB tanısı alan çocuklarda SDF-1, CXCR4 genlerinin polimorfizminin hastalık riski ve özelliklerine olası etkisini araştırdık. Bu konuda yapılan sınırlı sayıda çalışma ve literatür mevcuttur, çalışmamızın otizm etiyopatogeneze ışık tutacağı kanaatindeyiz.

1.GENEL BİLGİLER

1.1.OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUKLARI

1.1.1.Tarihçe ve Tanımlama:

Yunanca'da autos (kendi) ve ismos (durum veya harekete ait bir ek) kelimelerinden oluşan "otistik" sıfatı kullanılmıştır ve sonrasında "otizm" ismine dönüşmüştür. İlk defa Bleuler (1911) tarafından kullanılan otizm terimi, şizofreninin temel belirtilerinden biri olarak gözlemlendiği ben merkezci düşünmeyi tanımlamak için kullanılmıştır(18). İlk kavramlar yetişkin psikiyatrisinden alındığından bu gibi bozukluklar psikoz olarak tanımlanmış. Otizm Spektrum Bozuklukları (OSB) hayatın ilk yıllarında sosyal etkileşim, iletişim ve kognitif gelişimde spesifik kayıplarla giden nöropsikiyatrik hastalıklar grubudur (19). Mental retardasyonla ilişkilidir fakat davranışsal özellikleri oldukça farklı olup diğer gelişimsel geriliklerden kolaylıkla ayırt edilmektedir (20). Yaygın gelişimsel bozukluklardaki (YGB) “Yaygın” terimi, otizmde geniş ve farklı alanlarda sorun olduğunu, “Gelişimsel” terimi ise, sosyal ilişki ve iletişim alanlarını da kapsayan çoklu gelişimsel yetersizlikleri belirtir (21,22).

Heller ağır gelişimsel problemler, stereotipiler ve konuşma kaybının eşlik ettiği bebeklik demansını 1930 yılında tanımlamıştır. Potter “Çocukluk Şizofrenisi” ölçütlerini 1933 yılında önermiştir. İlk olarak otistik bozukluk tanımlaması 1943 yılında Leo Kanner tarafından yapılmıştır. Kanner 1943 yılında yayınladığı makalesinde “*Autistic disturbances of affective contact*” çarpıcı davranışsal benzerlikleri olan 11 çocuktan bahsetmiştir (23). Kanner, otizm terimini şizofreni terimini de yazına kazandıran Bleuler'den almıştır (24). Bu 11 vaka serisi (3 kız, 8 erkek) yayınında, Kanner ilk defa çocukluğa özgü tanı ölçütlerini vererek bu durumdan “infantil otizm” adı ile söz etmiştir. Vakaların insanlarla iletişim kurma güçlüğü, ekolali, zamirlerin tersten kullanımı, tekrarlayıcı amaçsız hareketler, aynılıkta ısrar etme ve değişime direnç gibi ortak özellikleri mevcuttur (25). Bu çocuklarda tanımladığı diğerlerine karşı soğuk ve mesafeli olma ve dil işlevlerinde bozukluk gibi özellikler halen otizm sınıflaması ölçütleri içinde yer almaktadır (23). Daha sonraları, Asperger “Otistik Psikopati” 1944 yılında ve Bender “Çocukluk Şizofrenisi”1947 yılında, Rank “Atipik Çocuk” gibi kavramları 1955 yılında kullanmışlardır (25).

Kanner otizm tanımını 1943'te yapmasına karşın 1952'de yayınlanan DSM-I'de yer almamıştır. 1968'te DMS-II'nin yayınlanması ile otizm ayrı bir antite olarak yer bulmuştur

(26). Kanner ve Eisenberg (1956) ‘erken bebeklik otizmi’ için tanı ölçütleri geliştirmiş, davranışsal iki özelliğin; diğerlerinin farkında olmama ve uzak durma ve rutinlerindeki değişikliğe karşı aşırı direncin tanı için gerekli olduğunu belirtmişlerdir. Belirtilerin en geç 24. ayda olması gerektiğini ifade etmişlerdir (27). Rutter 1978’de Kanner’in bildirisine benzer olarak otistik bozuklukta 4 özellikten söz etmiştir. Rutter ‘çocukluk çağı otizmi – *childhood autism*’ olarak isimlendirdiği durum için 4 temel özellikten söz etmiştir: 1) Sosyal gelişimde bozulma, 2) Dil gelişimde gecikme ve sapma, 3) Aynılıkta ısrar ve 4) Belirtilerin 30. aydan önce ortaya çıkması (2).

Bebeklikten başlayan bu durumun, çocukluğun daha sonraki dönemlerinde veya ergenlikte başlayan psikozlardan farklı olması nedeniyle 1970 yılına gelindiğinde ikisini ayırtma gereksinimi duyulmaya başlanmıştır (25). Tanımlamayı genişleten Wing ve Gould (1979) Otistik Spektrum Bozuklukları ifadesini kullanmış, üç temel alanda (*triad*) (sosyal karşılıklılık, iletişim ve sınırlı ilgi alanı veya tekrarlayıcı davranışlar) yer alan belirtilerin her birinin değişen şiddette ve birçok farklı şekillerde ortaya çıkabileceğini belirtmişlerdir(28). Otizm, ilk olarak ICD-8’de (*International Classification of Diseases 8th edition*) (1967), ancak şizofreninin alt gruplarından biri olarak uluslararası sınıflandırma sistemlerinde yer almıştır (29). ICD-9’ da çocukluk çağına başlayan psikoz kategorisine bebeklik otizmi alt grubu dahil edilmiş, otizmin erişkin şizofrenisi ile ilişkili olduğu düşünüldüğünden psikoz terimi sürdürülmüştür. Yine Kanner’in tanımlamasına benzer olarak 1980’de DSM-III (Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal Elkitabı) sınıflama sisteminde yaygın gelişimsel bozukluklar içinde “infantil otizm” olarak yer almıştır (30). Burada ‘Yaygın Gelişimsel Bozukluklar’ başlığı altında ‘Erken Bebeklik Otizmi’, ‘Çocukluk Başlangıçlı Yaygın Gelişimsel Bozukluk’ ve ‘Atipik Yaygın Gelişimsel Bozukluk’ şeklinde sınıflanmıştır (29). 1987 DSM III-R ‘de YGB genel başlığı adı altında “Otistik Bozukluk”, “Başka Türü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel bozukluk” (YGB-BTA) tanıları yer almıştır (25). DSM-III-R’ de üç alt alana (sosyal ilişkide bozukluk, iletişim alanında bozukluk, kısıtlı aktivite örüntüsü) ait 16 belirtiden 8’ inin bulunması halinde tanı konabileceği belirlenmiştir. DSM-III-R başlangıç yaşı esas tanı kriteri olmaktan çıkması ve tanısal aralığın genişlemesi nedeniyle eleştirilmiş (30) ve 3 gelişimsel alandaki (sosyal gelişim, iletişim becerileri, sembolik ve imgesel oyun) en az birer bozukluğu ve semptomların 3 yaşından önce başlamasını öngören DSM-IV kriterleri benimsenmiştir (31).

YGB DSM-IV’de (1994) beş alt gruba ayrılmıştır (tablo-1) (31). Otistik Bozukluk tanısı için, 3 alandaki (sosyal gelişim, iletişim becerileri, sembolik ve imgesel oyun) 12 belirtiden en az 6 tanesinin olması ve belirtilerin 3 yaşından önce başlaması öngörülmüştür.

Otistik Bozukluk ICD–10'da (Hastalıklar ve Sağlık Problemlerinin Uluslararası İstatistiksel Sınıflaması) Yaygın Gelişimsel Bozukluklar (YGB) başlığı altında sınıflanmış ve DSM-IV' deki benzer şekilde tanımlanmıştır (31).

Asperger 1944'te benzer özellikler gösteren çocuklar tarif etmiştir (32). Asperger'in tanımından sonra yayınlanan iki rapor (28,33) tanımlanan bu çocukların değişen derecede benzer belirtileri olan ve otizmin devamı niteliğindeki durumlar olduğunu bildirmiştir. Asperger Sendromu' nun adı bu tariflemeyi yapan Avusturyalı çocuk doktoru Hans Asperger' den gelmektedir. Asperger, 1944 yılında, yaşlılarıyla empati kuramayan, sözel olmayan iletişim becerisi olmayan, fiziksel olarak sakar olan bir grup çocuk tanımlamıştır (12). Otizm alanında bir uzman olan Wing bu durumu Asperger Sendromu olarak tanımlamış ve 1981' de ingilizce bir makale ile dünyaya yaymıştır (34). Sendrom ICD-10 ve DSM-IV'te elli yıl sonra Asperger Bozukluğu (AS) olarak tanınmıştır (35).

Bazı otizm tanısı alan çocukların benzer belirtileri gösteren kardeşleri veya diğer aile bireylerini "Geniş otizm fenotipi" tanımlayabilir. Bu terminoloji otizm spektrum bozukluğunun geniş fenotipi ile ilgili artan farkındalığı yansıtmak amacıyla aday genlerde mutasyona sahip olan kardeşleri sınıflandırmak için kazandırılmıştır. Mevcut sınıflama sistemlerinde yer almamasına karşın, OB zeka geriliğinin olması ve olmamasına göre Zeka Bölümü (ZB) puanı 70'in altındaysa Düşük İşlevli Otistik Bozukluk (DİOB), 70 ve üstündeyse Yüksek İşlevli Otistik Bozukluk (YİOB) olarak adlandırılır. Bu iki durum temel belirtiler açısından benzerlikler gösterse de, düşük işlevli olan ilk grupta sosyal alanda bozulma daha ağır, sorun oluşturan davranışlar daha fazla ve klinik seyir daha kötüdür (36,37).

Tablo 1: Yaygın Gelişimsel Bozukluk Başlığı Altındaki Hastalıklar

1.	Otistik Bozukluk (OB)
2.	Başka Türü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk (BTA-YGB)
3.	Asperger Sendromu (AS)
4.	Çocukluğun Dezintegratif Bozukluğu (ÇDB)
5.	Rett Sendromu

Otizm spektrum bozuklukları (OSB) Sosyal etkileşim, iletişim ve sınırlı ve tekrarlayıcı davranışlar olmak üzere üç alanda hafiften ağıra değişen bulguların olduğu grubu otistik bozukluk, Asperger sendromu ve başka türlü adlandırılmayan yaygın gelişimsel bozukluk

(YGB-BTA) tanıları tanımlar. İçlerinde belirtilerin daha ağır olduğu durumlar otistik bozukluk, hafif formlar ise Asperger sendromu ve belirtilerinden bazılarını taşıyan ama tüm tanı kriterlerini karşılamayan ya da belirtileri çok hafif düzeyde olan bireyler ise YGB-BTA tanısı almaktadırlar(1). YGB çatısı altında yer alan ve daha nadir görülen Dezintegratif Bozukluğu (ÇDB) ve Rett Sendromu ise; normal bir gelişim dönemini takiben, edinilmiş becerilerin yitirildiği ve toplumsal etkileşimde ciddi bir bozulmanın ortaya çıktığı daha ağır tablolara işaret etmektedir (1).

DSM-5 için tasarlanan yeni otizm tanı ölçütlerini Amerikan Psikiyatri Birliği (APA) onaylamıştır (38,39). YGB terimi altında toplanan OB, AS, ÇDB ve BTA-YGB tanı kategorileri; “Otizm Spektrum Bozukluğu” tanısı altında birleştirilecek ve Rett Sendromu, genetik altyapısı nedeniyle bu tanıya dahil edilmeyecektir. Otizm spektrum bozukluğu belirtilerinin kümelendiği alanların sayısı üçten ikiye indirilecektir. “Sınırlı ve yineleyici ilgi, davranış ve etkinlikler” alanı varlığını korurken, toplumsal etkileşim ve dil alanları “sosyal etkileşim/iletişim eksiklikleri” adı altında birleştirilecektir. Otizm spektrum bozukluğu tanısı için “sosyal etkileşim/iletişim eksiklikleri” alanındaki üç ölçütten üçünün; “sınırlı ve yineleyici ilgi, davranış ve etkinlikler” alanındaki dört ölçütten en az ikisinin karşılanması gerekecektir. “Sınırlı ve yineleyici ilgi, davranış ve etkinlikler” alanına duysal uyarılara karşı aşırı ya da yetersiz tepki gösterme ve duysal uyarılarla olağandışı biçimlerde ilgilenme ölçütü eklenecektir. Belirtilerin erken çocukluk döneminde ortaya çıkma zorunluluğu hala geçerli olmasına karşın, çevreden gelen sosyal taleplerin kişinin sınırlı kapasitesini aştığı daha geç dönemlere kadar belirtilerin tam anlamıyla fark edilememe ihtimali de vurgulanacaktır (39).

YGB teriminin, klinik uygulamada geçerliliğini korumasına karşın, son yıllarda akademik literatürde yerini otizm spektrum bozukluğu terimine bıraktığı görülmektedir(40). Bu eğilimin önemli nedenleri; YGB ve YGB-BTA terimlerinin bir arada kullanılmasından kaynaklanan karmaşıklığı gidermek, belirtilerin hafiften ağıra değişen bir sürekliliği temsil ettiği bir spektrum şeklinde düşünülmesi gerektiğini ortaya koymak, YGB alt kategorileri arasındaki ayrım yeterince açık bir şekilde yapılması, otizm alt grupları yerine tek bir kategorinin kullanılması ile otizmle ilgili tedavi ve araştırma çalışmalarının daha tutarlı ve kolay bir şekilde yürütmesine zemin hazırlamaktır (41,42,43) DSM-IV’e göre klinik olarak YGB tanısı alan çocukların % 91’inin DSM-5 ölçütlerine göre de tanı almayı sürdürdüğü gösterilmiştir (44). Burada OSB, DSM-IV sınıflama sistemine göre kategorize edilen 3 ana alt başlık halinde özetlenecektir: Otistik Bozukluk, Asperger Bozukluğu, Atipik Otizm.

1.1.2 Otizm Spektrum Bozukluklarına Genel Bakış

Otistik Spektrum Bozuklukları (OSB) ifadesini Wing ve Gould 1979'da kullanmış ve üç temel alanda (sosyal karşılıklılık, iletişim ve sınırlı ilgi alanı veya tekrarlayıcı davranışlar) yer alan belirtilerin her birinin değişen şiddette ve birçok farklı şekillerde ortaya çıkabileceğini belirtmişlerdir (42). OSB başlığı altında de 3 ayrı bozukluk tanımlanmıştır: Otistik Bozukluk (OB), Asperger Bozukluk (AS), Atipik Otizm (AO) (28). (Tablo 2)

Tablo 2: Otistik Spektrum Bozukluklarda Ayırıcı Tanısal Özellikler			
Özellik	OB	AS	AO
<i>Tanuma Yaşı (ay)</i>	0 - 36	Çoğunlukla > 36	Değişken
<i>Cinsiyet Oranı</i>	E > K	E > K	E > K
<i>Becerilerde Kayıp</i>	Değişken	Çoğunlukla Yok	Çoğunlukla Yok
<i>Sosyal Beceriler</i>	Çok Zayıf	Zayıf	Değişken
<i>İletişim Becerileri</i>	Çoğunlukla Zayıf	Orta	Orta – İyi
<i>İlgi Alanı</i>	Değişken	Belirgin	Değişken
<i>Aile Öyküsünde Benzer Sorunlar</i>	Bazen	Sıklıkla	Bazen
<i>Epileptik Nöbet</i>	Çoğunlukla	Çoğunlukla Yok	Çoğunlukla Yok
<i>Baş Çevresinde Azalma</i>	Hayır	Hayır	Hayır
<i>Zeka Bölümü</i>	Ağır ZG - Normal	Normal	Ağır ZG - Normal
E: Erkek, K: Kız, ZG: Zeka Geriliği			

OSB karşılıklı sosyal etkileşim ve iletişimin niteliksel bozukluğu yanı sıra, sınırlı, tekrarlayıcı ve basmakalıp davranış paterni, ilgi ve faaliyetler ile karakterize yaygın nörogelişimsel bozukluklar grubudur. Bu üç çekirdek semptom otizmde 3 yaşından önce başlamakta iken, asperger sendromunda ise sosyal ve davranışsal bozuklukların normal bir dil gelişimi varlığında 3 yaşından önce belirginleşmesi ile karakterizedir. BTA yaygın gelişimsel bozukluklar ise otizm tanısını için gerekli olan bu üç semptom grubunun tamamını karşılamayan veya daha geç başlangıç yaşı olanlarda teşhis edilir. Bu bozukluklardan erkekler kızlara oranla yaklaşık dört kat fazla etkilenmektedir ve OSB prevalansı yaklaşık %0,5-1 (45,46) dir Otistik bozukluk hem DSM-IV-TR hem de ICD-10 (47)'da yaygın gelişimsel bozukluklar (YGB) başlığı altında sınıflanmış ve her iki kılavuzda da benzer şekilde tanımlanmıştır. YGB başlığı altında bazı yönleriyle farklı olmakla birlikte, temel olarak birbirine benzeyen otizmle ilişkili değişik bozukluklar vardır. Günlük uygulamada YGB yerine “otizm spektrum bozuklukları” terimi de kullanılmaktadır.

1966 yılında Andreas Rett yirmi iki olguluk vaka serisini yayınlayarak kız çocuklarından görülen, stereotipik el hareketleri, demans, otistik belirtiler, ataksi, kortikal atrofinin eşlik ettiği tablodan “serebroatrofik hiperamonyemi” olarak söz etti. Rett sendromu kız çocuklarında görülmekte ve 12 yaş itibarıyla yapılan bir çalışmada 0.6-1.0/10.000 sıklığında görüldüğü bildirilmektedir (48,49). Başın büyüme hızında azalma, amaca yönelik el hareketlerinde kaybolma, tipik el yıkama stereotipleri ve ciddi psikomotor geriliğin çok kısa süren normal bir gelişim periyodundan sonra ortaya çıkması ile karakterize bir durumdur. Tanımlanan olguların büyük çoğunluğu kız olmakla beraber, literatürde bildirilmiş erkek olgular da vardır. Otistik belirtilerin ön plana çıktığı bir dönem ancak seyri otizmden belirgin şekilde farklıdır. MECP2 (metil-CpG-bağlayıcı protein 2) geninde çeşitli mutasyonlar sporadik vakaların %75-90’ında, ailesel vakaların %50’sinde bildirilmektedir (37,1). Bozukluğa X kromozomunda bulunan metil-CpG bağlayan protein 2’yi kodlayan MECP2 geninde ortaya çıkan yeni mutasyonun neden olduğu düşünülmektedir. Homozigot erkek bireyler yaşamla bağdaşmaz, intrauterin abortusla sonuçlanır (50). Malnutrisyon, kardiyak sorunlar, solunum problemleri, artmış nöbetler gibi komplikasyonlar nedeniyle hayatın ilerleyen dönemlerinde kaybedilmektedirler. En önemli ayırıcı tanı ölçütü 5. aydan itibaren baş çevresi gelişiminde duraklama olmasıdır. Rett sendromu DSM-IV’te YGB çatısı altında olmakla beraber DSM-V te yapılan değişiklikler ile otizm spektrum bozuklukları tanısına dahil edilmemiştir.

Çocukluğun dezintegratif bozukluğunda 2 yıldan daha fazla bir süre (genellikle 3-4 yıl) süren normal bir dönem sonrasında davranış değişiklikleri ve gerileme ortaya çıkar. Theodore Heller 1908 yılında yaşamın ilk 3 yılında normal gelişimi takiben “infantil demans” ismini verdiği gelişimsel gerilemelerin gözüktüğü bir bozukluk tanımlamıştır. Oldukça nadir görülmekte olan geç başlangıçlı bu bozukluğun tanısını koyabilmek için durumu açıklayan herhangi başka tıbbi bir durum ile ilişkisi olmaması gerekmektedir (31,50). Olguların çoğunda diğer otizm olgularında gözlenenenden daha fazla zeka geriliği ve epilepsi oranı görülmekte ve progressif nörolojik kötüleşme görülmektedir. Alıcı ve ifade edici dilin yanı sıra sıklıkla mesane ve barsak kontrolü ile beden koordinasyonunda kayıp meydana gelir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar oldukça azdır ve toplum prevalansının 1.1-6.4/100.000 arasında değiştiği, erkeklerde kızlara göre 3-8 kat daha fazla görülmekle olduğu ileri sürülmektedir (51,52). Sosyal çekilme, basit ritüeller ve alışılmadık duyuşal davranışlar, el ve parmak stereotipleri gibi otizme benzeyen davranış özellikleri ortaya çıkar. Çoğu zaman bir nedeni bulunamayan bu durum, başlangıç paterni, seyir ve sonuçları itibarıyla otizmden ayrılır (2).

OSB genellikle mental retardasyonla ilişkili olmakla birlikte, diğer gelişimsel bozukluklardan davranışsal ve gelişimsel özelliklerinin farklı olması ve bu farklılığın zeka seviyesine bağlanamaması ile ayrılmaktadır (36). OSB’de Zeka Geriliği sıklığı yaklaşık %70 civarında olduğu saptanmıştır (53). Otistik çocukların yaklaşık %40-50’sinin ZB puanı 50’nin altında; %30’unda 50 ile 70 arasında; %20-30’unda ise 70 ve üstündedir. Başka bir ifadeyle olguların %70’i DİOB, %30’u ise YİOB grubundadır.

OSB tanısı alan hastaların sayısında artış görülmekte, bunun ile ilgili birçok neden ileri sürülmektedir. Nedenlerden en önemlisi, kullanılan tanı ölçütlerindeki değişikliklerdir. Kullanılan tanı ölçütlerinin yıllar içinde değişmesi ve kapsamın genişlemesi, daha önce tanı almayan olguların tanı almasına neden olmuştur (54). Araştırmalarda kullanılan yöntemlerdeki (örneklem seçimi, örneklemin büyüklüğü, kullanılan ölçekler, tanıyı koyanların deneyimi) farklılıklar da bir diğer neden olarak belirtilmektedir. Yıllar içerisinde Zeka Geriliği tanı sıklığının azalması, daha önce bu grupta yer alan olguların OB tanısı alan grup içine girdiğini düşündürmektedir (55). Bunun yanında OSB ile ilgili bilgi ve farkındalığın artması (56), hem daha fazla olgunun kliniklere başvurmasına hem de klinisyenler tarafından daha kolay ve daha doğru şekilde tanınmasına neden olmuş, tanı yaşının düşmesini sağlamıştır. Ancak sıklıktaki artışın yukarıda belirtilen nedenlerden mi kaynaklandığı yoksa gerçek bir artışın olup olmadığı ile ilgili daha yeni çalışmalara gereksinim vardır. YGB teriminin, klinik uygulamada geçerliliğini korumasına karşın, son yıllarda akademik literatürde yerini otizm spektrum bozukluğu terimine bıraktığı görülmektedir (40). Biz de bu yazıda otistik bozukluk, Asperger Sendromu ve başka türlü adlandırılmayan yaygın gelişimsel bozukluğu içine alan otizm spektrum bozuklukları ifadesini tercih edeceğiz.

1.1.3 Otistik Bozukluk

Otistik Bozukluk (OB), çocukluk çağıının önemli nöropsikiyatrik hastalıklarından birisidir, belirtileri yaşamın ilk üç yılında içinde başlayan, iletişimde ve sosyal ve duygusal etkileşimde bozulma ile birlikte sınırlı ve kısıtlayıcı ilgi alanı ile karakterize bir bozukluktur. OSB olgularının %20-40’ını otistik bozukluk tanısı alanlar oluşturmaktadır. DSM-IV’ de OB tanısı için, 3 alandaki (sosyal gelişim alanında en az iki, iletişim becerileri alanında en az bir, tekrarlayıcı davranışlar ve kısıtlı ilgi alanında en az bir) 12 belirtiden en az 6 tanesinin olması ve belirtilerin 3 yaşından önce başlaması öngörülmüştür (57) (Tablo 2).

Tablo 3: Otistik Bozukluk için DSM-IV Kriterleri

A.En az ikisi 1.maddeden ve birer tanesi 2. ve 3. maddelerden olmak üzere 1., 2. ve 3. maddelerden toplam 6 veya daha fazla belirtinin bulunması: 1. Aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı ile kendini gösteren toplumsal etkileşimde nitel bozulma: a. Toplumsal etkileşimi sağlamak için yapılan el-kol hareketleri, alınan vücut konumu, takınılan yüz ifadesi, göz göze gelme gibi bir çok sözel olmayan davranışta belirgin bozulmanın olması, b. Yaşlılarıyla gelişimsel düzeyine uygun ilişkiler geliştirememe, c. Diğer insanlarla eğlenme, ilgi ve başarılarını kendiliğinden paylaşma arayışı içinde olmama (örn. ilgilediği nesneleri göstermeme, getirmeme, belirtmeme), d. Toplumsal veya duygusal karşılıklar vermeme. 2. Aşağıdakilerden en az birinin varlığı ile belirlenen iletişimde nitel bozulma: a. Konuşulan dilin gelişiminde gecikme ya da dilin hiç gelişmemiş olması (el, kol veya yüz hareketleri gibi diğer iletişim yollarını bunun yerine koyma girişimi eşlik etmemektedir), b. Konuşması yeterli olanlarda, başkalarıyla söyleşiyi başlatma veya sürdürmede belirgin bir bozukluğun olması, c. Basmakalıp, yineleyici ya da özel bir dil kullanma, d. Gelişim düzeyine uygun çeşitli imgesel veya toplumsal taklitlere dayalı oyunları kendiliğinden oynamama. 3. Aşağıdakilerden en az birinin varlığı ile kendini gösteren davranış, ilgi ve etkinliklerde sınırlı, yineleyici (stereotipik) örüntülerin olması: a. İlgi düzeyi ya da odaklanma açısından anormal, bir veya daha fazla sınırlı, tekrarlayıcı ilgi örüntüsü içinde kapanıp kalma, b. Özgül, işlevsel olmayan gündelik işlere veya törensel davranış biçimlerine hiç esneklik göstermeksizin sıkı sıkıya uyma, c. Basmakalıp ve yineleyici motor mannerizmler (örn. parmak şıklatma, el çırpma veya vurma, karmaşık vücut hareketleri), d. Eşyaların parçalarıyla sürekli uğraşıp durma. B. Aşağıdaki alanlardan en az birinde, 3 yaşından önce gecikmelerin veya olağandışı bir işlevselliğin olması; 1.Toplumsal etkileşim, 2.Toplumsal iletişimde kullanılan dil veya 3.Sembolik ya da imgesel oyun. C. Bu belirtiler Rett Bozukluğu veya Çocukluğun Dezintegratif Bozukluğu ile daha iyi açıklanamaz.

1.1.3.1 Epidemiyoloji

Otizm ile ilgili son çalışmalar ışığında prevalansın bütün otizm spektrum bozukluğu için % 0.5 - 1.1 arasında olduğu saptanmıştır (3). Latin Amerika, Afrika, İtalya, Hindistan, Ortadoğu, Macaristan ve Çin’de görece olarak az görüldüğü öne sürülmekle birlikte tüm dünyada otizm prevalansının birbirine yakın olduğu bildirilmektedir. Etnik, ırk, sosyal, aile, yaşam biçimi ve eğitim düzeyi gibi değişkenler hastalığın görünüm sıklığını etkilememektedir (58,59,60). Otistiklerin %70’inin MR olduğu bilinsede bütün spektrum ele alınınca bu oran %20’dir (18). Günümüzde ‘The Autism Society of America’ nın (Amerika Otizm Derneği) araştırmalarına göre, otizmin toplumda görülme sıklığı 1/500, National Autistic Society

(Ulusal Otizm Derneği –İngiltere)’ e göre ise bu oran; 1/110’dur (61). 1970’lerde 2–5/10.000, 1980’lerde 6–9/10.000 arasındaki oranlardan bahsedilirken, son yıllarda yapılan çalışmalarda hem OB hem de YGB için daha yüksek sıklıklar rapor edilmektedir (62). Son 40 yılda yapılmış 34 epidemiyolojik çalışmanın verilerini gözden geçirildiği bir yazında, genel toplumdaki OB sıklığı için ortalama 13/10.000, YGB için ise 36.6/10.000 oranlarını bildirmiştir (63). Güney Kore’ de okullarda otizm spektrum bozukluğunu tarayan güncel bir çalışmada OSB yaygınlığının %2.6 olduğunu öne sürmüştür (64). Brick Township, New Jersey’de yapılan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) vaka bulma çalışması prevalansın otizm için 40/10,000 (1/250) ve bütün YGB’ler için 67/10,000 (1/149) olduğunu bildirilmiştir (65). 1966-1998 yılları arasında 23 prevalans çalışmasının verilerinin gözden geçirildiği bir çalışmada OSB prevalansı için 14,3/10.000 gibi bir oran bulunmuştur (66). Çocuk sağlığı ve gelişiminin 7, 18, 24 ve 72 aylık iken izlendiği Birleşik Krallık’ta yapılan bir epidemiyolojik çalışma, beş yaşından küçük çocuklarda prevalansın otizm için 16.8/10,000 (1/595) ve YGB’ler için 63/10,000 (1/159) olduğunu bildirdi (67). Bu oranlar altı yaşından küçük çocuklarda prevalansın otizm için 22/10,000 (1/455) ve YGB’ler için 59/10,000 (1/169) şeklinde rapor edilmesi ile teyit edildi (45). ABD’de yakın zamanda yapılan iki çalışma üç-on yedi yaş arasındakilerden 1/91 ve üç-sekiz yaş arasındakilerden 1/110 oranında çocuğun YGB tanısı aldığını bildirmiştir (45, 68).

Cinsiyet açısından bakıldığında erkek/kız, CDC verilerine göre, erkeklerde (1/54) kızlara (1/252) oranla 5 kat daha sık olarak görüldüğü tahmin edilmektedir. Klinik başvurularda ise bu oranın erkek cinsiyet yönünden daha da arttığı görülmektedir (54,63). Erkeklerde kızlara göre 4-5 kat daha fazla görülmesine rağmen otistik bozukluk olan kız çocuklarında durumun daha ağır seyrettiği ifade edilmektedir (69). Zeka geriliğinin birlikteliği göz önüne alındığında ise Zeka Bölümü düştükçe kız oranının arttığı (E/K: 2/1), Yüksek İşlevli grupta ise E/K oranının 6/1–8/1 arasında olduğu gözlenmektedir. Klinik görünümüne bakıldığında belirtiler kızlarda genellikle daha ağırdır ve zeka geriliği daha sıktır (2).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise hem Amerika’da hem de Avrupa’da YGB’lar için oldukça yüksek oranlar bildirilmiştir. CDC’nin geniş veri tabanlı verilerine göre Amerika’da tüm ırk, etnik grup ve sosyoekonomik gruplar arasında OSB’ nun 1/88 oranında görüldüğü, Yine CDC verileri Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika’ dan OSB prevalansının %1 civarında olduğunu öne süren birçok çalışmaya ait verileri de sunmaktadır(67).

Mevcut epidemiyolojik çalışmaların farklı örneklem sayıları, dizaynları, tanısal kriterler, kullanılan tanısal araçlar nedeni ile kıyaslanması zor görünmektedir. Bununla birlikte 8 yıl boyunca aynı metodolojiyi kullanan CDC’nin Otizm ve Gelişimsel Bozukluklar

İzlem Ağı (ADMM) verilerine göre Amerika’ da OSB sıklığında artış olduğu bulunmuştur IACAPAP (The International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions) OSB sıklığındaki artışın sebebinin gerçek bir artıştan daha çok YGB’un hem sağlık profesyonelleri hem de ebeveynler tarafından daha çok bilinmesi ve tanınması, tanı kriterlerinin eskiye oranla daha geniş olarak tanımlanması nedeni ile olduğunu düşünmektedir (56).

1.1.3.2 Etiyoloji ve Patogenez

Otizmin etiyojisinin karmaşık olduğu ve birçok olgunun altında yatan patolojinin netlik kazanmadığı bilinmektedir ve yapılan epidemiyolojik çalışmalarda otizmin kompleks bir etiyojisinin olduğu sonucuna varılmıştır. Kanner otizmin kalıtsal bir bozukluk olduğunu belirtmiş, 1950’lerde ise anormal ebeveynliğe bir tepki olarak ortaya çıktığı iddia edilmiştir. 1960’ların son dönemlerinde otizmin biyolojik temeli daha fazla kabul görmeye başlamış, tıbbi bir hastalık veya obstetrik sorunlardan kaynaklanan beyin hasarı sonucu geliştiği düşünülmüştür (36,37,18). Ancak 20 yılı aşkın süredir otizmin etyolojisinde, en büyük rolün spesifik genetik faktörlere ait olduğu, bunun yanısıra karmaşık biyolojik ve psikolojik işlevlerin de etkili olduğu görüşü önem kazanmaya başlamıştır (2). Yapılan çalışmaların önemli bir kısmı sadece Klasik Otizm’i, bazıları ise üç grubu (OB, AS, AO) içermektedir. Son yıllarda otizm prevalansında artış, kalıtsal olmayan risk faktörlerinin üzerinde önemli tartışma başlatmıştır. Yapılan çalışmalarda bu risk faktörlerinin önemli bir kısmının prenatal dönemde etkili olduğu saptanmıştır (70,71). Prenatal dönemde; intrapartum ilaç kullanımının (thalidomide, valproik asit gibi), maternal infeksiyonların (sifiliz, su çiçeği, herpes, kızamık, influenza gibi), genel anestezi ilaçların kullanımının, maternal hastalıkların (diabet, venöz trombüs, hipotroidi gibi), postnatal dönemde de hipoksik iskemik durumların, kafa travmalarının, geçirilen infeksiyonların (herpes, su çiçeği, kızamık, kızamıkçık, kabakulak gibi), kimyasal maddelerin, civa ve thimerosal içeren aşıların kullanımının otizm için risk faktörleri olduğu saptanmıştır (72,73). Doğum öncesindeki, sırasındaki ve sonrasındaki etmenler ile otizm arasında bir ilişki olduğunu gösterilmiştir (74). Hiçbir risk faktörü tutarlı olarak otizmle ilişkili bulunmazken, farklı çalışmalarda gebelik ve doğuma ait bazı problemler (ileri anne yaşı, gebelikte kanama, travma, ilaç kullanımı, viral enfeksiyon, kısa gebelik süresi, düşük doğum tartısı, postmatürite, anormal geliş şekilleri ile yeni doğan döneminde görülebilen bazı sorunların (düşük Apgar skoru, ağlamada gecikme, apne, solunumsal distres sendromu, hiperbilirubinemi) otistik belirtileri olan çocuklarda daha sık

olduğu belirtilmiştir (2). Günümüzde bu sayılan risk etmenlerin hiçbirisinin otizme özgül olmadığı ve öngörücü olarak da kullanılamayacağı kabul görmüştür (75,76). Ayrıca natural killer ve T hücre fonksiyonlarında azalma, immünglobulin düzeylerinde farklılaşma gibi immunolojik faktörlerin, kemokin, nöropeptit ve nörotropin seviyelerinde farklılaşma, serotonin artışı, endojen opioidlerde (enkefalin, endorfin) ve dopamin düzeylerindeki değişkenliklerin ve de başta amigdala ve serebellum olmak üzere hipokampus, singulat, parietal lop, beyin sapı, talamus ve frontal lop yapı değişikliklerinin hastalığın gelişmesinde önemli olduğu saptanmıştır (77,78,79).

Otistik çocuğa sahip olan ailelerde yapılmış olan aile ve ikiz çalışmaları artmış otizm riskinden söz etmektedir. Otistik çocuğu olan ailelerde kardeşlerde eşhastalanma oranı %4.5'e ulaşmaktadır. Kromozomal anomalileri inceleyen çalışmalar da pek çok kromozomal bozukluğa otizmin eşlik ettiği bildirilmektedir ve sıklığı %10- %37 arasında değişmektedir (3). Bazı olgularda kromozom fragil bölgelerinde sayısal artış ve submikroskopik delesyonlar saptanmıştır. Serotonin üzerinden gidilen çalışmalar sonunda, 17. kromozomda yer alan serotonin transporter geni ve serotonin 2A reseptör geni promotor bölge polimorfizmleri ve çeşitli mutasyonlar saptanmıştır (80,81). Yapılan diğer çalışmalarda 3. kromozomda, GAT ve OXTR geni, X kromozomunda MeCP2, NLG3, NLG4 genlerinin otizmden sorumlu genler olduğu bildirilmiştir. HLA bölgesi genlerinin araştırıldığı çalışmada HLA -B44, -B57, -DR4, -DR14 vs ile Otizm arasında ilişki olduğu sonucuna varılmıştır (82,83). Tıbbi bozuklukların (tuberoskleroz, infantil spazm, serebral lipidozis, fragil X sendromu, epilepsi) görülme sıklığının artmış olduğu bilinmektedir. Otizm spektrum bozukluklarda tıbbi bozuklukların görülme sıklığı ile ilgili çelişkili sonuçlar olmakla birlikte, ağır ve çok ağır zeka geriliği eşlik ediyorsa tıbbi bozuklukların daha yaygın bulunabileceği bazı yazarlar tarafından ifade edilmiştir (57,22).

YGB'li ve geç regresyonlu olan çocukların küçük bir grubunda LKS (Landau-Kleffner sendromu) vardır. Bu çocuklar nöbetler (epileptik afazi) ve/veya derin uykuda ciddi EEG anomalileri ile ilişkili ani veya kademeli olarak izole dil regresyonları gösterirler (84). Genel olarak hem nöbetler hem de dil bozulması EEG anomalilerinin düzelmesi ile iyileşmektedir. Altıncı ve yedinci kafa sinirlerinin tek taraflı veya çift taraflı felci ile tarif edilen Moebius sendromu gülümsemeyi ve gözleri tamamen kapatmayı önleyen yüz felci ile karakterizedir. Sıklıkla göz yaşı ile ilgili anormal durumlar, nöbetler, işitme kaybı ve ekstremitte anomalileri ile ilişkilidir. Moebius sendromlu çocukların yaklaşık %30'unda YGB gelişmektedir (85). Çocukluk çağı aşıları regresif-başlangıçlı otizmin farkına varıldığı dönemlerde uygulanmasından dolayı ilgi odağı olmuştur. Yaklaşık %50 koruyucu thimerosal içeren

organik civanın kullanıldığı bazı aşılar ve hiç civa içermeyen kızamık-kabakulak-kızamıkçık (MMR) gibi aşılar çalışılmıştır. Ebeveyn görüşleri önemli olmasına rağmen çoklu çalışmalar ve bilimsel kanıtlar aşılama ve otizm arasında herhangi bir ilişkiyi desteklememiştir (86). Heterojen 40 çalışma ile yapılan bir metanalizde perinatal ve neonatal risk faktörlerinin Otizm gelişimi açısından kanıtların oldukça düşük olduğunu ve tek bir faktörün etyolojide rol alamayacağını önermiştir (87). Uzunlamasına bir çalışmada ağırlığı 2 kg' dan düşük doğan çocuklarda otizm sıklığının 5 kat artmış olduğu gösterilmiştir (88). Yapılan güncel bir çalışmada gebelik boyunca Valproat kullanımı ile bebekte otizm gelişme riski arasında önemli bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Yapılmış olan bu geniş kayıt çalışmasında ebeveyn psikiyatrik hastalığı ve epilepsi için düzenleme yapıldıktan sonra da anlamlılığın korunduğu gösterilmiştir (89). Annenin gebeliği boyunca özellikle de ilk trimesterde SSRI' lara maruziyetin bebekte OSB gelişme riskini arttırabileceği gösterilmiştir (90).

Otizmin etyolojisinde başka birçok çevresel faktörün (Nikel, Kadmiyum, Vinil klorid, Trikloroetilen, Civa gibi) suçlu olabileceği iddia edilse de bunlar ile ilgili yeterli kanıt bulunmamaktadır (91). D Vitamini eksikliği ve artmış otizm riski ilişkisi önerilmekle birlikte daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (92). Artmış ebeveyn yaşı (hem annede hem de babada) ile otizmlili bir çocuğa sahip olma arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (93,94). Bu bulgu ise muhtemelen genetik yapıdaki değişimlere ve de novo spontan mutasyonlara bağlı gibi görünmektedir (95). Metaller, spesifik antijenlere karşı kazanılmış immünitede yer alan lenfoid alt grupların uygunsuz aktivasyonuna yol açabilir. Bununla ilgili bazı patolojiler kronik inflamatuvar süreçler ile otoimmün hastalıkları kapsayabilir. Bu durum civaya karşı otoimmün yanıtın geçici varlığının gösterilmesiyle kanıtlanmıştır (96,97,98). Birçok çalışma, metallerin neden olduğu immün regülasyon dengesizliğinin inflamatuvar sitokinlerin yetersiz veya aşırı üretimine yol açabileceğini göstermiştir (99,100,101). Bu patolojik süreçlerinde otizmin etiyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmüştür.

OSB, bazı biyolojik ve nörolojik bozukluklar ile normal popülasyona göre çok daha sık olarak bir arada bulunmaktadır. Serebral palsy ve Down sendromu ile spesifik bir bağlantı belirtilmemiş ancak bazı çalışmalarda her iki durumun otizm ile birlikte görülmesinden(co-existence) söz edilmiştir. epidemiyolojik çalışmalarda bu durumu destekler niteliktedir ancak mental retardasyonun rolü dışlandığında bu oranın azalacağı bildirilmektedir (102). Bunlar arasında Fenilketonüri, Tüberoskleroz, Frajil X Konjenital Rubella, Down Sendromu daha sık olmakla birlikte Angelman sendromu, Adenilosüksinat liyaz eksikliği, Prader-Willi sendromu, Williams sendromu, Sotos sendromu, Duchene müsküler distrofi, Cowden Sendromu, Moebius sendromu, nörokütan hastalıklar (nörofibromatozis, Cornelia de Lange,

İto'nun hipomelanozu), lipidozlar ve diğer dejeneratif hastalıklar (infantil nöronal seroid lipofusinoz) metabolik hastalıklar (fenilketonüri, konjenital hipotiroidizm)' in da otistik bozuklukla ilişkisi olduğu gösterilmiştir (67,85,103). Mitokondriyal solunum zincir bozuklukları ile otizm birlikteliği nadir bildirilmesine rağmen, artmış plazma laktat konsantrasyonları sıklıkla rapor edilmiştir (95). Doğuştan kreatin metabolizma bozuklukları olan KES (Kreatin Eksikliği Sendromları), Smith-Lemli-Opitz Sendromu (SLOS) ve nörolojik bulgular ile giden birçok hastalığın otistik bozukluklar ile ilişkili olduğu bilinmektedir ve yazının ilerleyen bölümlerinde de detaylandırılacaklardır. Otizme eşlik eden medikal bozukluklar için farklı oranlar bildirilmektedir, çeşitli çalışmalarda bu oran %0' ile %16 arasındadır, küçük ölçekli çalışmalarda daha yüksek oranlar (%24) bildirilmektedir (3).

1.1.3.3 Nöroanatomik ve Nörofizyolojik Faktörler

Bu alanda ilk major çalışmalar özellikle hipokampus, subikulum, septal nükleuslar ve bazı amigdala alt çekirdeklerinde küçük, yoğunlaşmış nöronlar bildirdiler. Ayrıca purkinje hücre yoğunluğunda azalma ve beyin ağırlığında artıştan söz edilmiş, serebral kortekste anomaliden söz edilmemiştir (3). Şimdilerde OSB beyin gelişiminde farklı zamanlarda ortaya çıkan değişiklikler sonucu oluşan nörogelişimsel bir hastalık olduğu düşünülmektedir. OSB' da hayatın ilk iki yılında normal beyin gelişiminde aşırı büyüme olduğu ve sonrasında beyin 'empati devresi' nin (amigdala, ventromedial prefrontal korteks, temporo-parietal bileşke, orbito-frontal korteks, ön singulat ve ilişkili diğer beyin bölgeleri) fonksiyon ve yapısında net farklılıklar olduğu gösterilmiştir (104). Otizmde farklı ve geniş çaplı nöronal sistemlerin etkilendiğini düşündüren sosyal, dil ve davranış sorunları vardır. Yapılan nöropatolojik çalışmalarda beyin korteksi, hipokampus, amigdala, mamiller cisimcik, mediyal septal çekirdek ve anterior singulatta gelişimsel anormallikler bildirilmiştir (37,18). Bu alanlarda hücrelerin daha küçük olduğu ve dentritik dallanmaların azaldığı ve birim başına düşen hücre sayısının arttığı görülmüştür (2). Limbik sisteme ait yapılar çoğunlukla etkilenmektedir ve bu bölgelerin birbiri ile sıkı bağlantıları bulunmaktadır. Limbik sistem, özellikle de amigdala, sosyal ve duygusal işlevlerle ilişkili nöronal sistemin merkezidir. Amigdala ve/veya hipokampusta doğum sonrası maymunlarda oluşturulan lezyonlar; sosyal yalıtım, göz temasının olmaması, yüz ifadesinin olmaması ve motor stereotipler gibi otizmin çekirdek belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bir hipoteze göre, otizm amigdala – korteks döngüsünün anormalliklerinden kaynaklanmaktadır (105).

Otistik bireylerde frontal ve parietal loplar arasındaki fonksiyonel bağlantılarda da farklılıklar olduğu, bu durumun ise otistiklerde detayları işlemenin, bütünsel bilgiyi algılama sürecine göre görece olarak daha duyarlı olması ile ilişkilendirilmiştir (106). Yapılan görüntüleme çalışmaları, otistik vakalarda beyin volümünün arttığını (hem gri hem de beyaz cevherde) ve ventriküllerde genişleme olduğunu göstermektedir. Bu artış en fazla, temporal, pariyetal ve oksipital loblarda olurken frontal loblarda böyle bir farklılık bulunmamaktadır (107). İki-üç yaşındaki otistik çocuklarda normal çocuklardan daha fazla (%12) serebral gri cevherin olduğu, ancak bu durumun daha büyük çocuk ve ergenlerde gözlemlenmediği belirtilmiştir (8). Sağ anterior singulat girus boyutunda azalma, kaudat nukleus hacminde artma, korpus kallosumun ön, gövde ve arka bölgelerinde ise azalma diğer MRG bulgularındandır (108).

Ayrıca bazı MRG çalışmalarında serebellar vermal lobüllerde hipoplazi gösterirken, nöropatolojik olarak serebellumda Purkinje hücrelerinde azalma saptanmıştır. Fonksiyonel MRG çalışmalarında ise yüzü algılama sırasında, temporal lobun ventral yüzündeki fusiform girus bölgesinde aktivasyonda azalması olduğu gösterilmiş, bu bulgunun da sosyal alandaki bozukluk ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Ayrıca sosyal ve duygusal yargı ile ilgili görevler sırasında amigdalada aktivasyon azalması bildirilmiştir (109).

Epileptik nöbetlerin otistik çocuklarda %4–32 oranında görüldüğü bildirilmektedir. Bu, genel topluma göre (%0,4–0,6) önemli derecede yüksektir (2,36,37). Otistik çocuklarda epilepsi nöbeti olmasa bile % 11’inde ise elektroensefalografide (EEG) subklinik epilepsiyi gösteren epileptiform boşalmaların olduğu bildirilmektedir. Nöbetler en sık erken çocukluk ve erken ergenlik dönemlerinde başlamaktadır (110). Otizme özgü EEG bulgusu olmamakla birlikte, olguların %10-83’ünde EEG anormallikleri gösterilmiştir. Otizmde en sık görülmekte olan anormallikler yaygın ya da fokal diken veya yavaş ve paroksizmal diken ve dalga aktivitesidir (18). EEG anormallikleri beynin herhangi bir bölgesini seçmeksizin korteksin her tarafında oluşabilir. Nöbetleri olanlarda daha düşük ZB olduğu, EEG anormalliğinin ise kötü gidişle ilişkili olduğu bildirilmektedir (105,111).

1.1.3.4 Psikolojik Kuramlar/Nöropsikiyatrik Modeller

Erken bebeklik otizminin etyolojisinde rolü olan temel etmenler yapılan yoğun çalışmalara karşın henüz aydınlatılamamıştır. Önceleri Kanner’in hastalıkta duygusal etkenlerin rol oynayabileceği öngörüsü; daha sonraları ise çocukların duygusal gereksinimlerini karşılamakta yetersiz olan “buzdolabı” annelerin hastalığın ortaya

çıkmasında önemli olduğu görüşü yaygınlık kazanmıştır (30). Kanner, tanımladığı çocukların ebeveynlerinin yüksek eğitim düzeyinde olduğunu, obsesif kişilik özelliklerine sahip, mükemmeliyetçi, entelektüel, hırslı, çocuklarına karşı ilgisiz ve yeterince duygusal ilişki kuramayan bireyler olduğunu belirtmiştir (18,112). İlk başlarda bu hastalığın nedeni olarak yetersiz ve sorunlu anne-çocuk ilişkisi neden olarak gösterilmiş ancak daha sonra yapılan çalışmalar, aile işlevlerinde bozulma ya da psikodinamik etmenlerin bu bozukluktaki olası önemini desteklememiş ve etiolojide yapısal ve nörobiyolojik temelin varlığını kanıtlar nitelikte olmuştur (113). Ancak bu gözlemler sonraki dönemlerde doğrulanamamış, otistik ve otistik olmayan çocukların ebeveynlerinin kişilik özellikleri, çocuk yetiştirme ve aile dinamiklerini karşılaştıran çalışmalarda bir farklılık gösterilememiştir (2). Otistik çocukların ebeveynlerinin sosyal dil becerilerinde ve sözel anlatım becerilerinde yetersizlikler gösterdikleri ve bunun kişilerin eğitim ve zeka düzeyi ile ilişkilendirilemeyeceği öne sürülmektedir. Son yıllarda otistik çocukların ailelelerinde normal popülasyona göre daha fazla oranda sosyal güçlükler, duygudurum ve anksiyete bozuklukları olduğu saptanmıştır (114). Baron Cohen tarafından 1995'te gündeme getirilen zihin körlüğü kuramı genişletilerek empati kurma ve sistematize etme kuramı ortaya konmuştur. Bu kurama göre bireylerde zeka yaşının altında bir empati becerisi söz konusudur. Bu teoriye göre otistiklerin empati kurma güçlükleri vardır ancak olayları kurallar ve sınıflamalar çerçevesinde anlama eğilimindedirler (3). OSB bilişsel/nöropsikolojik fonksiyonlarının en az üç alanında bir bozulma ya da anormallik vardır. Bunlar yürütücü işlev yetersizliği, Zihin kuramı yetersizliği, Zayıf merkezi bütünleşme (weak central coherence) başlıkları altında incelenebilir.

1. Yürütücü İşlevler: Bir amacı gerçekleştirebilmek için sorun çözme stratejileri oluşturma, uygun olmayan uyarıyı durdurabilme veya erteleyebilme, eylem planı yapabilme yetileri kısaca yürütücü işlevler olarak adlandırılır. Özellikle erişkinlik döneminde görülen OSB 'daki primer fenotiplerden biri yürütücü işlevler disfonksiyonudur (115).

2. Zihin Kuramı: En temel tanımıyla, diğerlerinin zihinsel durumları hakkında çıkarımlar yapma yeteneği olarak tanımlanır. Baron-Cohen, Leslie ve Frith otizmde Zihin Teorisi'ni araştırmışlar ve otistik çocukların zihin teorisi yeteneği açısından hasarlanmış olduğunu göstermişlerdir. Psikopatoloji açısından Zihin Teorisi kavramı gittikçe artan derecede otizm spektrum bozukluğu olan çocuklarda davranışsal semptomları açıklamada etkili olmuştur. Günümüzde otistik çocukların ve AS olan erişkinlerin, öteki bireylerin zihin durumlarını kavramada derin zorluklar yaşadıkları yaygın kabul görmektedir (116).

3. Zayıf Merkezi Bütünleşme: OB' daki çekirdek belirtileri açıklamaya çalışan bir diğer kuram da zayıf merkezi bütünleşme kuramıdır. Bu kurama göre OB' da çevreden alınan

veriler, beyinde bir bütün olarak bir araya getirilip anlamlandırılmaz. Bu bireylerde normallerden farklı olarak bilgilerin bütününden çok ayrıntıları üzerinde durulur. Detaya odaklı bilgi işleme süreci vardır ve genelde yüksek düzey bütünleştirme ihmal edilir. Bu kurama göre OB'da görülen bazı bilişsel avantajların bütün-parça işleme farkından kaynaklandığı düşünülür (117).

Otizm ile üst sosyoekonomik durum arasında bir bağlantıdan söz edilmiş ise de 1980 ve 1990'lu yıllarda yapılan çalışmalar bunu desteklememiştir. Eğitimli anne babaların çocuklarının gelişimindeki sapmaları daha çabuk fark ettikleri ve bu nedenle kliniklere daha çok başvurdıkları düşünülebilir. Başka bir çalışmada şizofreni bakımından ise bu ailelerde artmış risk olduğu gözlenmiştir (118). Otizm tüm sosyal sınıflarda ve ülkelerde görülmektedir

1.1.3.5 Biyokimyasal Faktörler

Otistik çocukların kanlarında 5-hidroksi triptamin seviyesinin otistik olmayan çocuklara oranla yüksek olduğu gösterilmiştir. OB olan bireylerin %25 – 33'ünde, kandaki serotonin (5 – HT) düzeyinde artış olduğu gösterilmiştir (36). Serotonin beyin gelişiminde trofik etkisi olduğu, serotonin sisteminde bozulmaların Merkezi Sinir Sistemi (MSS) nöronlarının olgunlaşmasında (nöronal farklılaşma, nöroblast bölünmesi, hücre göçü, sinaps oluşumu gibi) bozulmaya neden olabileceği öne sürülmüştür (36,37). Bazı otistiklerde dopaminin en önemli yıkım ürünü olan homovalinik asitin (HVA) beyin omurilik sıvısındaki (BOS) düzeyinin yüksek olduğu bulunmuştur. Otistik çocuklarda noradrenerjik etkinlikteki azalmayı gösteren araştırmacılar idrarda 3-metoksi-4-hidroksifenil glikol (MHFG) düzeyinde de azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bir grup çalışmada da BOS'da opioid peptid düzeyleri araştırılmış ve özellikle kendine zarar verici davranışlarda bulunan ve ağrıya duyarsız olan bazı otistiklerde yüksek endorfin düzeyleri bulunmuştur. Güncel hipotezlerden biri de otizmin hipoglutamaterjik bozukluk olduğunu savunmaktadır (119,120). Beyinde artmış dopaminerjik aktivite, OB'de görülen aşırı hareketlilik ve stereotipiler ile ilişkilendirilmiştir (102). HVA'nın BOS'taki yüksekliğinin, artmış içe çekilme ve stereotipik hareketler ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu durum, dopamin düzeyini arttıran ilaçların (metilfenidat) otistik çocuklarda davranışsal sorunları arttırdığına ilişkin genel gözlem ile uyumludur (74). Ayrıca BOS'daki 5-hidroksi-indolasetik asit (5-HIAA; serotonin metaboliti) düzeyinin HVA düzeyine oranının artmasıyla belirti şiddetinde azalma gösterilmiştir (2). OB'de beta-endorfinler de dahil olmak üzere beyin opiyat peptitlerinin aşırı salgılanmasının önemli olabileceği düşünülmüştür. Otistik çocuklarda gözlemlenen bazı belirtilerin opiyat bağımlısı

olan kişilerdeki davranışlara benzemesi, doğum öncesi opiatlara maruz kalan bebeklerde otizm benzeri belirtilerin görülmesi ve opiat antagonisti uygulanan laboratuvar hayvanlarında sosyal gereksinimlerde artışın gözlenmesi bu öngörüyü desteklemektedir (18,36). Ancak otistik bireylerde opiat antagonisti olan naltrekson ile yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar vermiştir (36).

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda lipid peroksidasyonunun kontrollere göre otistik çocuklarda daha fazla görüldüğü ve lipid peroksidasyonunun oksidatif stresi doğruladığı bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan otizm ve oksidatif strese ilişkin çalışmalarda otistik çocuklarda kontrollere göre antioksidan enzim aktivitesi, lipid peroksidasyon ürünleri ve nitrik oksit (NO) seviyelerinde anlamlı değişiklikler saptanmıştır. Zoroğlu ve ekibi tarafından yapılan çalışmalarda otistik çocukların plazma nitrat ve nitrit ve adreno medullin seviyelerinin kontrollere göre daha yüksek olduğu, total nitrit seviyelerinin merkezi sinir sistemindeki NO aktivitesinin bir göstergesi olabileceği ve ayrıca adrenomedullinin otizm patogenezinde rol alabileceği önerilmiştir (121,122,123). Patogeneizde NO'nun muhtemel rolü olduğunun bir göstergesi olan total nitrat seviyesi dikkate değer biçimde yüksek bulunmuştur. NO seviyesindeki değişikliklerin otizm için anlamlı olabileceğine dair fikirler ortaya atılmıştır. Otizmde kayda değer şekilde artış gösteren nitrit seviyeleri patogeneizde NO'nun olası bir rolü olduğunun göstergesidir. Oksidatif hasarlanmaya karşı beynin hassas oluşu da yine NO'nun otizm nöropatofizyolojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir. OSB tanısı alan çocuklar ile kontrol grubu karşılaştırıldığı bir çalışmada süperoksit dismutaz (SOD) düzeyinde iki grup arasında anlamlı fark yokken NO düzeyi OSB tanılı hasta grubunda yüksek bulunmuştur ve korelasyon analizinde NO ve SOD arasında negatif korelasyon saptanmıştır (122). Bunun yanında NO ile lipid peroksidasyon ürünleri arasındaki korelasyon, NO ve ardından oluşan diğer moleküllerinin otizm patogenezindeki muhtemel rollerini desteklemekte olduğunu göstermektedir (122,123).

1.1.3.6 İmmünolojik Faktörler

Araştırma verileri, otizm patogenezinde immün sistemin önemli rol oynadığını ileri sürmektedir. Bunlardan bazıları lenfosit alt gruplarında değişiklikler, monosit/makrofaj hücre değişiklikleri, natural killer hücrelerinde değişiklik, serum immünglobulin sınıflarında değişiklikler, sitokin üretiminde değişiklikler, nöral antijenlere karşı oto antikor varlığı, artmış C4b null (kompleman 4b) aleli frekansı ve immün yanıt genlerine linkage verileridir (124). İmmün yetersizlik ve/veya bir otoimmün mekanizmaya ilişkin immün sistem işlevinde ya da

regülasyonunda olası bir anormalliğin otistik bozukluk gelişimine neden olabileceği görüşü 1970'li yıllardan bugüne kadar giderek kuvvetlenmiştir (125). OSB'larındaki sistemik immünolojik bozukluklar Santral Sinir Sistemi proteinlerine karşı gelişmiş antikorlar aracılığı ile gerçekleşen nöronal doku hasarıyla ve immün hücre fonksiyonunda bozukluk ile ilişkilendirilmiştir. Ancak OSB'lu bireylerde bildirilen immün bozukluklarla nörolojik değişikliklerin gelişimi ilişkisi açık değildir (126). OSB'larında immün sistem bozuklukları ile ilgili hipotezler erken nörogelişimde immün sistemin bilinen rolüne ve bu bozulmaların hastanın davranışını etkilemesine dayanmaktadır (126). İmmün sistemin düzenlenmesi genetik mekanizmalarca etkilenir ve bu bağlamda, bazı çalışmalarda 6. kromozomun insan lökosit bölümündeki immünmodülatör genlerin otizmle bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür (127,128,129). İmmünogenetik analizlerin uygulanmasıyla, SLE ve Romatoid Artrit gibi otoimmün hastalıklarda sözü edilen genlerin otistik popülasyonda da çokça bulunduğu gözlenmiştir (127,128,130). Otoimmün bozukluklar genel olarak ele alınırsa, aile bireyleri arasında otoimmün fenomenlerin prevalansı artış gösterir ki bu durum, otistik çocukları olan ailelerde de böyledir (131). Çalışmalar artmış otoantikor üretimine işaret etmektedir. Otistik hastaların %30-70'inde dolaşımda beyin dokusuna karşı otoantikorlar gösterilmiştir (132). Bunlar arasında serotonin reseptöre karşı, myelin basic proteine (MBP) karşı, nöron-akson filament proteine (NAFP) karşı, serebellar nörofilamentlere karşı, kaudat nükleusa karşı, beyin endotelial hücrelerine karşı ve beynin bizzat kendi dokusuna karşı otoantikorlar tespit edilmiştir (126). Ayrıca Purkinje hücreleri gliadin peptitlerine karşı antikorlar da gösterilmiştir (133). Otizmde saptanan bu otoantikorlar, otizm dışında diğer nörolojik hastalıklarda ve bazen normal bireylerde de gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar otistik hastaların %30-40'ında görülen hiperserotoninemi otoimmün mekanizmalarla ilişkili olabileceğini vurgulamıştır (134,135,136). Otistik çocuklarda T hücresinin aracılık ettiği immünitede eksiklikler ve T lenfositlerin mitojenlere olan proliferatif cevabında düşüklük bildirilmiştir (2,37). Ayrıca otistik grupta total lenfosit, total T hücresi, total CD4+ ve Tsi CD4+ sayılarının önemli derecede düşük; buna karşın Th CD4, B hücresi ve NK hücresi sayılarının normal sınırlar içinde olduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır (18,36). Anne ile embriyo veya fetüsün immünolojik uyumsuzluğunun OSB etyolojisine katkıda bulunabileceğine dair bulgular da mevcuttur. Bazı otistik çocukların lenfositlerinin annelerinin serumu ile reaksiyon vermesi, embriyonik nöral ya da ekstraembriyonik dokuların hamilelik döneminde hasar görmesi olasılığını gündeme getirmiştir. Bazı araştırmalarda serum ve BOS immünglobulin (Ig) düzeyleri normal bulunurken, bazılarında ise IgG, IgM ve IgA düzeylerinde yükseklikler tespit etmiştir(18). Viral ya da bakteriyel enfeksiyonların,

otoimmün bozuklukların başlamasında önemli olabileceğini düşündürmesi kayda değerdir. Otizmde virus enfeksiyonu aracılı bir otoimmunitenin rol oynadığı hipotezini desteklemek için epidemiyolojik, virolojik ve immunolojik çalışmalara ihtiyaç vardır. Sitokinlerin OSB etiyopatogeneğinde önemli rol oynayabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır (136). 10 otistik çocuk ve 4 kontrol erişkinle yapılan bir çalışmada otistik hastaların serumlarında artmış IFN- α düzeyleri saptanmış (137). Birçok çalışma, otistik bireylerde anormal humoral yanıtların varlığına yönelik raporlar sunmuştur.

1.1.3.7 Klinik Görünüm

Temel klinik özellikler sosyal, duygusal, sözel ve sözel olmayan becerilerde kısıtlılık ve sapmalar, tekrarlayıcı ritüelistik hareketler ve davranışlardır. Otizmin sendromik yapısından kaynaklanan heterojen bir doğası vardır. Bu heterojen yapıdan dolayı bilişsel, sosyal ve gelişimsel olarak benzer profiller sergilemeyebilirler. Yaşamın ilk üç yılında davranışsal anomaliler belirginleşir, değişik dönemlerde değişim gösterir ve yaşam boyu devam edebilir (138). Çoğu olguda belirtilerinin başlangıcı aşama aşamadır, yaklaşık %25-30'u "gerileyici" (regresyon) başlangıca sahiptir. Gerileyici gruptaki çocuklarda konuşma başlar ve sonra ya aşamalı ya da hızlı bir şekilde kaybolur (139).

Normal gelişen bir bebekten farklı olarak otistik süt çocukları tutulmaya veya kucaklanmaya tipik olarak tepki vermezler ve kucağa alınmak için herhangi bir girişimde bulunmazlar. Göz temasını başlatmada yetersiz olabilirler, kaçınabilirler ya da boşluğa bakabilirler. Sıklıkla "sancılı" olurlar ve zor yatıştırılırlar, yalnız bırakıldıklarında daha çabuk sakinleşirler. Duyusal durumlar ve uyku bozuklukları ilk yılda fark edilebilir (139). Otistik çocuklar, öpülmeye ve sevmeye karşı kayıtsız kalabildikleri gibi zaman zaman da aşırı tepkiler vererek kendilerine gösterilen ilgiye karşı gelebilirler. Bebeklik dönemine ait en önemli belirti ise göz teması kuramamalarıdır (140). Sıklıkla yaşamlarındaki en önemli kişileri (anne-baba) tanımaz ya da fark etmez gibi görünürler. Tanımadıkları kişiler ile yabancı bir ortamda yalnız kaldıklarında ayrılık kaygısı göstermeyebilirler. Etraflarının farkında değilmiş gibi görünmeleri nedeni ile ebeveynleri genelde işitme sorunlarının varlığından şüphe ederler. Nesneleri gösterme, verme ve paylaşma gibi etkileşim yollarını göstermezler, ara sıra alışılmadık duygusal tepkiler, sebepsiz ağlama ve gülmeler olabilir. Başka bir kişi ile ortak hedeflere ya da etkinliklere yönelik ortak dikkatin gelişmemiş olması çarpıcı özelliklerdendir. Taklide dayalı oyunları gelişmeyebilir ve başkalarının davranışlarını taklit etmeyebilirler (36,37).

En sık başvuru yaşı 2-3 yaş arası dönemdir. Dil gelişimindeki gecikme, otistik çocukların ailelerinin genellikle ilk dikkatini çeken belirtidir (141). Ebeveynleri konuşmanın başlamamış olmasını fark eder, olguların yaklaşık %25'inde ise 8-18 ayda konuşma basamakları başlar, ancak bu dönemden sonra ya duraklama ya da gerileme (regresyon) gözlenir (109). Otizm anne-babayla bağ kuramama, diğer kişilere bağlanma geliştirememe ile kendisini göstermektedir. Otistik çocukların anne ve babaları çocuklarının kendilerine gereksinim duymadıklarını ifade etmektedirler (142,143). Konuşma dilinin gecikmesi veya hiç gelişmemesi, stereotipik ve yineleyici dil kullanımı, diğerleri tarafından başlatılan konuşmaya tepki vermeme, karşılıklı konuşma başlatmama ve sürdürmeme, şahıs zamirlerini karıştırma, kelimeleri kendine özgü kullanma, konuşmanın tonlama, ritm ve vurgulanmasındaki anormallikler olabilmektedir (143,144). Bu zorluklar diğer iletişim yolları ile (jest, mimik ve işaret gibi) telafi edilemez. Çünkü, otistik çocukların sözsüz iletişimde de problemler yaşadıklarına ilişkin araştırma bulguları bulunmaktadır. Özellikle iletişimde kullanılan yüz ifadesi, beden dilini kullanma ve anlama, hayret ve sempati gibi duygusal türdeki jest ve mimiklerin kullanımı bakımından, otistik çocukların yaşlıtlarının düzeyine ulaşamadıkları tespit edilmiştir. Bir şey söylendiğinde duymuyormuş izlenimi yaratırlar; isimleri söylendiğinde tepki vermeyebilirler. Sıklıkla gereksinimlerini karşılamak dışında kendiliğinden iletişim amaçlı bir konuşma başlatmazlar. Kendilerine özgü stereotipik ve yineleyici dil kullanımının hakim olduğu konuşma tarzların ekolalik konuşma olarak adlandırılmaktadır. Ekolalik konuşma, anında ve gecikmeli olarak iki şekilde olabilmektedir. Anında ekolali, o anda duyulan bir sesin tekrar edilmesi, gecikmeli ekolali ise, saatler ya da günler öncesinden duyulmuş olan bir sesin uygunsuz bir şekilde tekrar edilmesidir. Otistiklerin, konuşması mekaniktir ve iletişimsel olmaktan çok uyarıcıdır (145,146).

Otistiklerde basmakalıp (stereotipik) hareketler okul öncesi dönemde başlar. Bazıları zıplama, kollarını kanat çırpma şeklinde çırpma, kendi çevresinde dönme, eşyaları döndürme, dönen eşyalara özel ilgi, parmak ucunda yürüme, sallanma, eşyaları dizme, eşyaları gözüne yaklaştırarak seyretmedir. Ayakkabı numaraları, haritalar, telefon numaraları, tabelalar, doğum günleri gibi garip ilgi alanları olabilir. Aynılıkta ısrar gösterebilirler, günlük işleri hep aynı şekilde yapma, aynı yoldan eve gitme, yemek ritüelleri, yeni giysilere direnme, değişimlere karşı çıkma görülür. Oyuncaklar ve nesnelerle amaçsız ve imgeden uzak bir şekilde tek başlarına oynarlar. Oyunları ve etkinlikleri tekdüze ve tekrar edicidir ve çoğunlukla karşılıklı oyun gelişmez veya amaca yönelik değildir (23,47,147). Dönen cisimlere karşı ilgileri vardır ve nesnelerin duyumsal özellikleriyle aşırı ilgilenebilirler. Nesneleri koklayıp, ağızlarına alabilirler. Kendilerinin veya çevrelerinin günlük işlevlerinde

ve çevresel koşullarındaki değişikliklere olağanüstü tepkiler verebilirler. Otistik çocuklar "aynılığın korunması" konusunda aşırı ısrarcı davranmaktadırlar(145,146). El tercihi belirgin değildir; sıklıkla ambidekstirite (her iki eli birden kullanma) görülmektedir.

Okul öncesi (4-5 yaş) dönemde yaşlılardan farklı olarak, kısıtlı jest, mimikler, başkaları ile iletişime girmede isteksizlik, yaşıt aramama ve yaşıtlarıyla ilişkiyi sürdürememe çok belirgindir. Buna karşın normal gelişen bir çocukta iki yaşında diğer çocuklarla paralel oyun, üç yaşında ise karşılıklı oyun başlamaktadır (36,37). Karşı tarafın ne hissettiğini ve karmaşık duyguları anlamada zorluk dikkat çeker. Kısa cümleler, tekrarlayıcı konuşmalar söyleneni tekrarlama, monoton ses tonu vardır (3). Cansız nesnelere geliştirdikleri bağlanma, insanlara geliştirdikleri bağlanmadan daha belirgindir (148,149). Otistik çocukların %50-75'inde, 5 yaşına geldiklerinde konuşma gelişmemiştir (2,36). Geri kalan %25-50'lik kısmında ise konuşma gelişme de dil becerilerinde yukarıda da bahsettiğimiz kendine özgü biçim hakimdir. Zamirleri yerinde kullanmama, kendilerinden üçüncü tekil şahıs gibi bahsetme, ekolali, anlamsız yinlemeler (perseverasyon) ve kelime uydurma (neolojizm) bunlardan bazılarıdır . Sağlıklı gelişen çocukların alıcı dil becerileri ve anlama yetileri normalde konuşmaya başlamadan önce gelişirken, otistik çocukların konuşabilmekte olanları birçok şeyi anlamadan söyleyebilirler. Otistik çocuğun kelime hazinesindeki sözcükler, hatta tümceler bir süre sonra kaybolabilir (2,36). Grup oyunlarına katılmazlar ve daha çok tek kalmayı tercih ederler. Sosyal ortamlarda beceriksizlikler ve uygunsuzluklar gösterirler, empati kuramazlar (36,37).

Okul çağı öncesindeki çocuklarda, başkalarının ya da kendisinin düşüncelerini, duygularını ve inançlarını anlayabilme yetisinin (zihin kuramı – theory of mind) gelişmiş olması beklenir. Otistiklerde yüz ifadesinden ve ses tonundan başkalarının duygulanımını yorumlamada eksiklikler görülebilir. Yüz ifadesinde donukluk, bazen alışılmadık duygusal tepkiler, sebepsiz ağlama ve gülmeler olabilir (2, 23, 150). Okul çağı döneminde semptomlar dil gelişimi 5 yaşından önce başlayanlarda daha iyidir. okul çağında ani ve geç ekolali sıktır, zamirler ters söylenir, tonlama problemleri, neolojizm, tekrarlayıcı konuşmalar sıktır. Motor stereotipiler ağır zeka geriliği olanlarda devam etmektedir, işlevselliği iyi olanlarda azalmıştır. Stereotipiler yerlerini komplike ritüellere ve dar ilgi alanları ve ritüeller almıştır.

Ergenlik döneminde ise akranları tarafından farklı olarak algılanırlar. Sosyal ilişki kurmada yetersizlikleri, beceriksiz yaklaşımları, başkalarının ilgi, duygu ve düşüncelerine yanıt verememeleri nedeni ile arkadaşlık kurmaya yönelik girişimleri başaramayabilirler. Somut düşünme eğilimleri, sosyal beceriksizlikleri, anlaşılmas bazı ilgileri, oynak ya da künt

duygulanımları ve başka insanları anlamada güçlükleri nedeniyle çevreleri tarafından sıklıkla ‘garip’ ve ‘yalnız’ olarak nitelendirilirler (36, 37). Otizm, kronik bir bozukluktur ve yaşam boyu sürer, olgunlaşma ile semptomların görünüm ve şiddetinde değişiklikler görülür. Okul çağı çocuklarda ve ergenlerde bazı alanlarda olumlu gelişmeler, okul yaşına geldiğinde toplumsal işlevsellikte artma gibi olabilir. Bazı ergen otistiklerde davranışların daha bozulduğu, bazılarında ise tam tersi şekilde düzeldiği gözlenebilir. Dil gelişimi ve becerilerinin gelişiminde genel entelektüel düzeyi (IQ düzeyi 50’nin üzerinde) ve ailenin sosyoekonomik durumu en önemli belirleyicileridir (151,152). Sosyal uyumla ilgili ilerlemeler özel eğitim desteği alan otistiklerde görülebilmektedir (152). Genel olarak olguların %75’i zayıf uyum gösterir ve erişkin bakımına gereksinim duyarken, %25’inin klinik seyrinin daha iyi olduğu belirlenmiştir (153). Ama yinede sosyal etkinliklere katılma, iletişime başlama ve sürdürebilme konusunda uzman desteğine ihtiyaç duyduğu belirtilmektedir (22,77). Günlük hayatta anlamlı görevler, aile ilgisi, eğitimde kazanılan becerilerin günlük hayata aktarılmasındaki başarı, zamanın planlı-programlı geçirilmesi gibi özellikler klinik seyri olumlu etkileyen diğer etkenlerdir (153,154). Otizmde IQ düşüklüğü, epilepsi varlığı, kız olma ve ailede duygudurum bozukluğu olmasının ergenlik döneminde kötüye gidiş için risk etkenleri olabileceği bildirilmektedir (155). Erişkin döneminde de bir kısım hastada semptomlarda plato gözlenirken bir kısım hastada gerilemeler ya da ilerlemeler gözlenmektedir. Bu yaş grubunda bozulmalar olmasa da belirgin davranışsal sorunlar, değişime direnç, öfke nöbetleri, kendini ve başkalarını yaralama davranışları sıktır (3). Çocukluk döneminde otistik bozukluk tanısı alan ergen ve erişkinlerle yapılan bir çalışmada hastaların %54,8’ inin otistik bozukluk tanı kriterlerini karşılamaya devam ettiği, ergenlerin sosyal etkileşimde erişkinlerden, erişkinlerin ise tekrarlayan basmakalıp davranışlarda ergenlerden daha çok gelişme gösterdiklerini bildirmişlerdir, iletişim alanında ise anlamlı fark bulunamamıştır. Eşlik eden tıbbi problemler (epilepsi gibi) ve IQ skorları bozukluğun uzun dönemdeki seyrinde etkili bulunmaktadır (156).

Pek çok otistik çocukta aşırı hareketlilik, dikkat sorunları, öfke nöbetleri, saldırganlık, kendine zarar verici davranışlar, uyku bozuklukları gibi sorunlar görülebilir. Okul öncesi dönemdeki aşırı hareketlilik (hiperaktivite) yerine ergenlik döneminde azalmış aktivite (hipoaktivite) gözlemlenir. Öfke nöbetleri sıklıkla küçük yaşlardadır. Çevresindeki kişilere ve nesnelere karşı saldırganlık, ilaç tedavisi gerektirecek düzeyde ciddi olabilir. Daha çok Zeka Düzeyi düşük otistiklerde çok şiddetli olabilen kendine zarar verici davranışlar (başını vurma, dilini-dudağını zedeleme, parmağını ısırma) görülebilir (37,157). Duyusal uyaranlara (örneğin; ses, koku, tat, ağrı) karşı aşırı duyarlı ya da duyarsız olabilirler. İhtiyaçlara veya

değişikliğe bağlı olarak agresyon ve öfke nöbetleri gözlenebilir. Öz bakım becerilerinde problem, duyuşal hiposensitivite ve hipersensitivite, uyku sorunları, yeme reddi, yemek seçme ve pika gibi yeme sorunları da otistik çocuklarda sıktır (3,22). Komorbid psikiyatrik rahatsızlıklardan Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB), Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB), tik bozukluğu sık rastlandığı, kaygı bozukluğu ve depresyon özellikle yüksek işlevsellikli otizm ve asperger bozukluğunda başta olmak üzere OSB bireylerde görülebilmekte ve okul başarısı ile sosyal uyumunu bozabilmektedir. Araştırmalar otizmlı çocukların büyüdükçe daha çok depresyon ve kaygı gibi durumların arttığını göstermiştir (3,158). Otizmde zeka geriliği sık gözlenir. Otizmlı bireylerin %75-80'i zihinsel olarak çeşitli derecelerde geri olup yaklaşık %15-20'sinde aşırı derecede zeka geriliği bulunmaktadır (IQ: 35 altında). Otistik çocukların %10'nundan fazlasında ise ortalama veya üstü zeka görülmektedir. Çok azında ise olağandışı yetenekler olabilir (142). Yaklaşık yarısında IQ 50'nin altındadır; dörtte biri ise 70 ve üstü IQ'ya sahiptir(159). Otistik kızlarda IQ düzeyi, erkeklerden daha düşük bulunmuştur. Mental retarde otistik çocukların çoğunda nöbetler vardır. Ayrıca zeka düzeyinin düşük olması otistiklerde kötü prognoza işaret etmektedir (36).

1.1.4 Asperger Sendromu

1944'te Avusturya'lı pediatrik Hans Asperger sosyal olarak yaşatlarına kaynaşmakta zorluk çeken dört çocuk tanımlamış ve bu duruma 'otistik psikopati' adını vermiştir. Asperger bu çocukların, korunmuş entellektüel becerilerine rağmen jest, ses tonu gibi sözel olmayan iletişimde belirgin olarak yetersiz olduğunu, empati yeteneklerinin zayıf olduğunu, duyguları entellektüelize etme eğilimlerinin olduğunu ve konuşmalarının büyük bir kısmını, alışılmadık konulardaki ilgi alanlarının oluşturduğunu belirtmiştir. Otizm alanında bir uzman olan Wing bu durumu Asperger Sendromu olarak tanımlamış ve 1981' de ingilizce bir makale ile dünyaya yaymıştır (34). Asperger Bozukluğu ile ilgili son on beş yılda yapılan çalışmalarda bu hastalığın prevalansının arttığı bildirilmektedir. Tüm çalışmalarda erkeklerde görülme oranı artmış olmakla birlikte, yaklaşık olarak 10-36/10.000 sıklığında görüldüğü bildirilmektedir (50). Erkeklerde daha sık (E/K = 6/1) görülen bu durumun seyri oldukça stabil olmasına rağmen bazı psikiyatrik durumlar sık olarak tabloya eşlik edebilir (102). Asperger sendromu Yaygın Gelişimsel Bozukluklar grubunun en iyi bilinen alt tiplerinden biridir. Asperger sendromu DSM IV-TR tanı sınıflandırılmasında toplumsal etkileşimde bozulma (A tanı ölçütü), sınırlı basmakalıp ilgi alanı ve davranışları (C tanı ölçütü) içermesine rağmen dil ve bilişsel gelişimde bozukluğun olmaması (B tanı ölçütü) ile ayırt

edilir (31). Motor sakarlık ve dilin farklı kullanımını, dar kapsamlı bir konuyla çok fazla ilgilenme, tek yönlü laf kalabalığı bu kişilerde sık olarak görülmektedir (160). Güncel bir sistematik derleme sonucunda AS prevalansının 6/10.000 olduğu ve OSB/AS oranının ise 5:1 olduğu öne sürülmüştür (161). Yine benzer şekilde 2003 yılında yapılan bir değerlendirme çalışmasında prevalans oranlarının 0.03-4.84/1000 arasında değişiklik gösterdiği görülmüştür. Otizmin Asperger sendromuna olan oranı da 1.5:1 ile 16:1 arasında değişmektedir (162).

Asperger Sendromu ICD-10 ve DSM-IV' te Yaygın Gelişimsel Bozukluklar başlığı altında ayrı bir tanı olarak sınıflandırılmıştır. Tanı sıklıkla 5-6 yaşlarından sonra konur. Karakteristik belirtiler genelde 8-10 yaş civarı ortaya çıkar. AS tanısı alan çocuklar otistik bozukluk için tanımlanan çeşitli yeti alanlarında otistikler kadar bozulma göstermezler, belirtiler otizme göre daha geç yaşta gözlenebilir. AS olan çocuklarda 3 yaşından önce gelişimsel bozukluk belirgin değildir. Erken çocuklukta AS' lu bireylerin bir kısmı yalnızlıktan mutlu olan çocuklar olarak tanımlanırken bir bölümü ağlayan, yatıştırılması zor çocuklar olarak tanımlanırlar. Yürümenin gecikmesi ya da kaba motor hareketlerde beceriksizlikler görülebilir. Yaşından daha olgun ve akıllı izlenimi verebilirler. Bir kısmı bu yaşta özel ilgi alanı geliştirebilir, bir kısmı okumaya başlayabilir. Okul yıllarında belirtiler; daha belirgindir. Tanı sıklıkla bu yıllarda akran ilişkileri geliştirememeye şikayetleriyle konulur. Okulda sosyal zorluklar yaşayabilirler, arkadaşlık kurmak için uygunsuz yaklaşımlar sergileyebilirler. Zamanlarının büyük bir kısmını sınırlı ilgi alanlarıyla harcarlar ve bu ilgi alanları çok fazla zamanlarını aldığından genel olarak öğrenmeyi ve insanlarla ilişkiyi etkileyebilir. Dili tonlamasına ve vurgusuna göre anlamada, metaforik dili anlamada zorlukları vardır. Konuşma ya çok hızlıdır ya da akıcı değildir. Karşılıklı diyalogu sürdürmede zorluk yaşarlar. Konuşma sıklıkla teğetseldir ve gereksiz ayrıntılarla doludur. Göz kontağı kısıtlı olabilir ya da bakışlar uzun süreli, sert, delip geçen, boş, şaşırılmış şekillerde olabilir. Konuşmada jest ve mimiklerin kullanımı kısıtlıdır. Motor kontrol problemleri olabilir (163). Ergenlikte tanı koymak oldukça zor olabilir. Zorluk bu yaş grubunda ek tanımlar nedeniyle yaşanır. Bu dönemde sosyal ilişkiye ihtiyaç duymalarına karşın sosyal beceri eksiklikleri ve ortak kurallara uymadaki zorlukları nedeniyle yaşıtlarıyla ilişkide zorluklar yaşarlar. Özellikle okul uyumuyla ilgili sorun yaşarlar. Çocukluk döneminde aktif olanlar ergenlik döneminde sosyal fobi geliştirebilirler. Bu ergenlerin kendilerini birçok yönden yaşıtlarından farklı, alışılmadık ve tuhaf olduklarını fark etmeleri sosyal olarak kendilerini yetersiz hissetmelerine ve sosyal olarak geri çekilmelerine neden olabilir. Özellikle 13-19 yaş arasında sosyal çekilme belirginleşir. Ergenlik döneminde bazen alkol ve psikoaktif madde kullanımı görülebilir. Bazen empati yoksunluğu nedeniyle antisosyal

davranışlara da başvurabilirler (164). Klinisyene dikkatlerini tam olarak vermeyebilirler, yüz ifadeleri ve konuşma tonları monoton olabilir ya da rijid görülebilir. Direk göz kontağı kurmazlar, konuşma süresince çevreye bakabilirler. Birçok AS 'nın çok az sayıda 'gerçek' sosyal ilişkisi vardır. Düşünce yapıları kendilerine benzeyen insanlarla iletişim kurabilirler. Soğuk ya da bencil görünebilirler. Fiziksel yakınlığa ihtiyaç duymazlar. Belirtileri hafif olan bireyler sosyal hayata uyum sağlayabilirler, işe girip evlenebilirler. Belirtileri ağır olan bireyler erişkinlik döneminde de sosyal alanda zorluk yaşayabilirler. Bu dönemde kısmi uyum gelişmesine rağmen ben merkezci düşünme, dili kullanımda zorluklar, beden dili ve jestlerin kullanımında beceriksizlik genellikle kalıcı olmaktadır (165).

A. Aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı ile kendini gösteren toplumsal etkileşimde nitel bozulma: 1. Toplumsal etkileşim sağlamak için yapılan el kol hareketleri, alınan vücut konumu, takılan yüz ifadesi, göz göze gelme gibi birçok sözel olmayan davranışta belirgin bir bozulmanın olması. 2. Yaşıtlarıyla gelişimsel düzeyine uygun ilişkiler geliştirememesi. 3. Diğer insanlarla eğlenme, ilgilerini ya da başarılarını kendiliğinden paylaşma arayışı içinde olmama (örn. ilgilendiği nesneleri göstermeme, getirmeme ya da belirtmeme) 4. Toplumsal ya da duygusal karşılıklar vermeme B. Aşağıdakilerden en az birinin varlığı ile kendini gösteren davranış, ilgi ve etkinliklerde sınırlı, basmakalıp ve yineleyici davranış örüntülerinin olması: 1. İlgi düzeyi ya da üzerinde odaklanma açısından olağandışı, bir ya da birden fazla basmakalıp ve sınırlı ilgi örüntüsü çerçevesinde kapamış kalma 2. Özgül, işlevsel olmayan, alışageldiği üzere yapılan gündelik işlere ya da törensel davranış biçimlerine hiç esneklik göstermeksizin sıkı sıkıya uyma 3. Basmakalıp ve yineleyici motor mannerizmler (örn. parmak şıklatma, el çırpma ya da burma ya da karmaşık tüm vücut hareketleri) 4. Eşyaların parçalarıyla sürekli uğraşarak durma C. Bu bozukluk, toplumsal, mesleki alanlarda ya da önemli diğer işlevsellik alanlarında klinik olarak belirgin bir sıkıntıya neden olur. D. Dil gelişiminde klinik açıdan önemli genel bir gecikme yoktur (örn. 2 yaşına gelindiğinde tek tek sözcükler, 3 yaşına gelindiğinde iletişim kurmaya yönelik cümleler kullanılmaktadır). E. Bilişsel gelişimde ya da yaşına uygun kendi kendine yetme becerilerinin gelişiminde, uyumsal davranışta (toplumsal etkileşim dışında) ve çocuklukta çevreyle ilgilenme konusunda klinik açıdan belirgin bir gecikme yoktur. F. Başka özgül bir Yaygın Gelişimsel Bozukluk ya da Şizofreni için Tanı Ölçütleri karşılanmamaktadır.

Tablo 4: DSM-IV Asperger Sendromu Tanı Ölçütleri

1.1.5 Atipik Otizm / BTA-YGB

Başka Türü Adlandırılmayan yaygın gelişimsel bozukluk (BTA-YGB) otizme benzer gelişimsel ve davranışsal sorunların olduğu ancak daha geniş ve heterojen bir gruptur. Genellikle bilişsel ve iletişim becerileri otizmi olan çocuklardan daha iyidir. YGB-BTA ile

ilgili çalışmalar otizme göre oldukça azdır. Çalışmalarda kullanılan işlemler, tanı değerlendirmeleri ve ölçümlere göre sonuçlar değiştiğinden çalışmalar arasında karşılaştırma yapmak olası değildir (22,166). Son on yılda yapılan çalışmalarda otizme göre 1,5 kat daha sık görüldüğü ve 10.94-36.1/10.000 sıklığında görüldüğü tahmin edilmektedir. Tanı ilk görüşmede sıklıkla atlanır. Başlangıç otistik bozukluk kadar tipik değildir. Bu nedenle çoğu vaka okul yıllarında yaşadıkları sorunlar ile kliniğe başvururlar. Bazen duygudurum dalgalanmaları, öfke patlamaları ve saldırgan davranışlarla başvururlar. Sosyal ve toplumsal becerilerde eksiklik vardır, özellikle tekrarlayıcı ve stereotipik aktivite alanında OB ve AS olan bireylere göre daha az otistik belirtiler gösterirler. İletişim becerileri çok belirgin düzeyde değildir, dil gelişiminde gecikme ya da ekolali gibi dil problemleri otistik bozukluktaki kadar tipik belirtiler görülmeyebilir. Ancak fonolojik bozukluk sıktır. Düşüncede katılık ve ilgi alanı kısıtlılığı sıklıkla vardır. Uyum becerileri, dil gelişimi ve zeka düzeyi açısından OB ve AS arasında değerlendirilir (167). Otizmle benzer davranış özelliklerinin olduğu ancak belirtilerin eşik altı seyrettiği (6 ölçütten daha azının varlığı), üç belirti grubundan (toplumsal etkileşim ve sözel ifadede belirgin bozukluğa ve basmakalıp davranış ve sınırlı ilgi alanı) birinin bulunmadığı veya belirtilerin 3 yaştan önce başlamadığı durumlarda, olgular BTA-YGB tanısını alır (18,24,25). AO olan bireyler, alışılmadık duyarlılık ve atipik duygusal tepkiler (OB'de görüldüğü gibi) sergiler fakat daha iyi düzeyde bilişsel ve dil becerilerine sahiptirler. YGB-BTA terminolojisi yeni bir tanım olsa da arada kalan ve belirli bir tanı grubuna girmeyen hastaların olduğu eskiden beri bilinmekteydi. 1943 yılında Kanner otizmi tanımladıktan sonra, benzer özellikler gösteren, fakat Kanner'in tanımına uymayan sayısız olgu bildirimi mevcuttur. DSM-IV-TR'de belirtilen YGB-BTA üzerinde daha fazla araştırmaların yapılması gerektiği, çalışmaların halen sürdüğü bir tanısal kategori olarak gösterilmektedir (168,169). BTA-YGB için DSM-IV tanı kriterleri tablo 5'te verilmiştir;

Karşılıklı toplumsal gelişimde ağır ve yaygın bir gelişimsel bozukluk olmasının yanı sıra sözel ve sözel olmayan iletişim becerilerinin gelişmesinde bir bozukluk olmasının ya da basmakalıp davranış, ilgiler ve etkinlikler bulunmasına karşın özgül bir yaygın gelişimsel bozukluk, şizofreni, şizotipal kişilik bozukluğu yada çekingen kişilik bozukluğu için tanı ölçütlerini karşılamıyorsa bu kategori kullanılır. Başlangıç yaşının geç olması, semptomların atipik olması ya da gözlemlenen semptomların tanı koymak için yetersiz kalması yada bunların hepsinin bir arada bulunması nedeni ile Otistik bozukluk için tanı ölçütlerini karşılamayan klinik görünüm.

Tablo 5: DSM-IV BTA-YGB Tanı Ölçütleri

1.2 OTİZM VE GENETİK

1.2.1 OSB ve Genetiğe Genel Bakış

Otizmin etiyolojisinde genetik etmenlerin önemli rol oynadığını gösteren çeşitli çalışmalar vardır. Elimizdeki aile ve ikiz çalışmaları sonuçlarını içeren son kanıt ve bilgiler otizmin genetik bir hastalık olduğunu desteklemektedir (103). Otizmin genetik geçişli bir hastalık olduğu ile ilgili kanıtlar %90 gibi yüksek oranlarda bildirilmiş olsa da, genetik faktörler heterojen karmaşık ve çoğunluğu az anlaşılır olarak bilinmektedir (5). Karmaşık bir etiyolojiye sahip olan otizimli birçok olgunun altında yatan patolojinin netlik kazanmadığı bilinmektedir. Otizmin etiyolojisinde, en büyük rolün spesifik genetik faktörler olduğu, bunun yanı sıra karmaşık biyolojik ve psikolojik işlevlerin de etkili olduğu görüşü önem kazanmıştır (2). Otizm ile ilgili tek bir biyolojik veya klinik bulgu olmadığı gibi otizmin ortaya çıkmasında da tek bir genin sorumlu olmadığı düşünülmektedir; bu gün için en az onbeş genin patogeneze ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Otizmin patogenezinde genetik faktörler predominant etkilidirler. Birçok gen arasındaki etkileşme “idiyopatik” otizme neden olur fakat epigenetik faktörler ve çevresel etkenlere maruz kalma otizm ile ilişkili değişik durumlarda rol oynar. Genetik polimorfizm ve fenotipik heterojenite, otizmi incelenmesini komplike bir bozukluk haline getirir (170). Otizmde rol oynayan genetik faktörler üzerinde yapılan çalışmalar, insan genomundaki hemen hemen bütün kromozomların hastalıkta rol oynadığını ileri sürmekle birlikte en fazla 7q,2q ve 15q kromozomları öne çıkmaktadır (171). Otizm Mendel (tek gen) mutasyonu ya da Angelman sendromu veya frajil X sendromu gibi tek kromozom anomalileri ile izlenemez ve OSB ile bağlantılı genetik sendromların yalnızca OSB’ye yol açtığı da gösterilememiştir (172). Otistik çocuğa sahip olan ailelerde yapılmış olan aile ve ikiz çalışmaları artmış otizm riskinden söz etmektedir. Otistik çocuğu olan ailelerde kardeşlerde eş hastalanma oranı %4.5’e ulaşmaktadır. Kromozomal anomalileri inceleyen çalışmalar da pek çok kromozomal bozukluğa otizmin eşlik ettiği bildirilmektedir ve sıklığı %10- %37 arasında değişmektedir (3). Benzer şekilde otistik spektrumdaki bir çocuğun kardeşinin de etkilenmiş olma olasılığı % 2–6 iken, toplumdaki risk oranı %0,1–0,2 arasındadır (1, 8). Kardeşlerde OSB tanısı varsa bir sonraki çocukta OSB olma riskinin diğer normal popülasyona oranla 25 kat arttığı belirtilmiştir (4). Ek olarak kardeşlerde Otizm görülmesi bile, kardeşler iletişim ve sosyal becerilerle ilişkili değişik gelişimsel bozukluklar için daha fazla risk altındadır(103). Yapılan ikiz çalışmalarında monozigot ikizlerde otistik bozukluk için konkordans % 36-96 arasında iken dizigot ikizlerde konkordans %0-27 arasında

bulunmuştur (107). Birden fazla bireyin etkilendiği ailelerle yapılan genom taramaları, en az 10 genin karşılıklı etkileşimini göstermiştir. Otizmle ilişkili olduğu düşünülen genler 2, 7, 13, 15, 16 ve 19. kromozomlar üzerinde yer almaktadır (18,173,174). Aday gen çalışmalarında Kromozom 2,3,4,6,7,10,15,17 ve 22 üzerindeki çeşitli tek genlerde tekrarlama bulgularının otizm gelişimi için artmış risk ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(175). Tüm genom tarama çalışmalarında 5p14.1 ve 5p15 lokusunun genetik varyantlarında otizm riskinin artmış olduğu bildirilmektedir (176,177). Nöronal aktivitenin etkilediği genlerin ekspresyonunda kusurlu ayarlanmanın görünüşte farklı otizm mutasyonlarının ortak bir mekanizması olabileceği saptanmıştır. Neuroligin 3 ve 4: NLGN3 - NLGN4/Neurexin: NRXN1 - NTN3/Protocadherin 10: PCDH10 (nöronal hücre yapışma molekülleri); Na⁺/H⁺ Exchanger 9:NHE9 (endosomal alışveriş ve protein devir hızını ayarlayan molekül); ve Deleted in Autism1: DIA1 veya c3orf58 (protein yapımında önemli role sahip golgi kompleksinde lokalize olan bir molekülü kodlayan bir gen) gibi genlerin kusurlu ekspresyonu tespit edilmiştir (178). HLA bölgesi genlerinin araştırıldığı çalışmada HLA -B44, -B57, -DR4, -DR14 ile otizm arasında ilişki olduğu sonucuna varılmıştır (82,83). Genetik ve çevresel faktörlere ek olarak epigenetik faktörlerin de otizm için artmış risk ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Birçok genetik sendromun OSB ile birlikte görülmesi ve bu olgularda gen ekspresyonunun düzenlenmesine yardımcı olan birçok epigenetik faktörlerde de disregulasyon görülmesinin bu durumu açıkladığı görülmektedir (179). Genetik geçişi destekleyecek bir diğer bulgu da OSB tanılı çocukların %10'unun Frajil X, Tuberoskleroz gibi genetik nörolojik ve metabolik hastalıklar ile birliktelik göstermesidir (180). Otizmin kalıtım modeli hakkında yapılan en son araştırmalarda, otizmin de çok sayıda genin olaya katılması ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu araştırmaların sonucunda hastalığın hem lokus hem de alelik heterojenite gösterdiği otizmin eşik değerli multifaktöriyel kompleks genetik bir hastalık olabileceği sonucuna varılmıştır., Aslında otizmin doğası, fenotipi oluşturan birçok risk faktörünün bir araya gelmesi nedeniyle multifaktöriyel kabul edilebilir. Otizmin kalıtılabilirliğinin %100 olmaması epigenetik değişimlerin ve/veya gen-çevre etkileşimlerinin otizm gelişimine katkısı olabileceği gerçeğini yansıtmaktadır. Epigenetik faktörler gelişme döneminde gen fonksiyonunun açılıp/ kapanması gibi veya gen ekspresyonunun düzenlenmesindeki değişiklikler şeklinde etki yapabilir. Bugüne kadar yapılan bağlantı veya ilişki çalışmalarında otizmden sorumlu tek bir major gen belirlenebilmiş değildir. Bu da otizmin kompleks bir genetik hastalık olduğunu ve heterojenite gösterdiğini işaret etmektedir (181).

Multifaktöriyel kalıtımın özellikleri (182)

- 1- Hastalık belirgin bir şekilde ailevi olmakla beraber Mendelian kalıtım tipine uymamaktadır.
- 2- 1. derece akrabalarındaki risk hastalığın toplumdaki sıklığının kare kökü kadardır, yani toplum riskinden %20-40 kat fazladır.
- 3- Risk 2.derece akrabalarda aniden düşer, fakat daha uzak akrabalarda riskteki azalma daha yavaştır.
- 4- Birden fazla aile bireyi hasta ise tekrarlama riski daha yüksektir.
- 5- Hastalığın ciddiyeti arttıkça tekrarlama riski artmaktadır.
- 6- Hastalık özellikle bir cinsiyette daha fazla görülüyorsa, daha az duyarlı cinsiyetteki hastaların akrabalarında risk daha fazladır.
- 7- Anne baba akraba olduklarında risk artmaktadır.

Günümüzde yapılan çalışmalarda YGB'li çocukların yaklaşık olarak %20-25'inde genetik neden belirlenmektedir. Yaklaşık %75-80'ininde genetik neden bilinmemektedir (183). Saptanabilen genetik nedenlerin oranı ise sitogenetik olarak gözlenebilen kromozom analiziyle yaklaşık olarak %5, FISH teknikleri kullanılarak tanımlanan kromozom anomalilerine yaklaşık %3-5, Kopya Sayısı Değişiklikleri (submikroskopik delesyonlar ve duplikasyonlar gibi) ortalama %10-20, Nörolojik bulguları YGB ile ilişkili olan tek gen hastalıkları yaklaşık olarak %5 oranında yer almaktadır.

KROMOZOM	BİLİNER GENLER
Kromozom 2	NRXN1, SCN7A
Kromozom 3	GAT1, OXTR, CNTN3, SLC9A9, DIA1
Kromozom 7	FOXP2, WNT2, RELN, HOXA1, HOXB1, MET, EN2
Kromozom 11	HRAS
Kromozom 15	GABRB3, GABRA5, GABRG3, UBE3A, ATP10C
Kromozom 17	5-HTT
Kromozom 22	SHANK3
Kromozom X	MeCP2, NLGN3, NLGN4, SLC9A6, FMR1
Tablo 6: Otizm ile ilişkili olduğu bilinen genlerin listesi	

1.2.2 Genetik çalışmalarda sık kullanılan yöntemler

Yakın zamana kadar genetik hastalıkların sadece Mendel kurallarına göre kalıtılan ve doğumlardaki anomalilerle seyreden küçük bir grup sendrom olarak bilinmekteydi. Genlerin

dizilimlerinin, yapılarının ve fonksiyonlarının son yıllarda daha çok anlaşılmasıyla genetiğin tıptaki yeri hızla değişmeye başladı. Genetik tanılamalarda temelde iki grup yöntem kullanılmaktadır. Kromozomal anomalilere yönelik değerlendirme sağlayan sitogenetik ve moleküler sitogenetik yöntemler ile DNA düzeyindeki anomalilerin değerlendirilmesini sağlayan moleküler genetik yöntemler (mutasyon ve polimorfizm). Moleküler yöntemler ile Restriksiyon enzimlerin kullanıma girmesi pek çok canlının genomunun araştırılabilmesini sağlayan teknolojik ve metodolojik uygulama araçlarını günlük uygulamaya sokmuştur.(184) Yine genlerin kopya sayılarındaki değişiklikleri (CNV) saptamaya teknikler de ise moleküler genetik yöntemlerdir.

Sitogenetik yöntemlerde kromozomların işlev ve morfolojileri mitotik/ mayotik metafaz sürecinde değerlendirilir. Burada kromozomlar halinde paketlenmiş DNA'da meydana gelen yapısal (translokasyon, delesyon, insersiyon, inversiyon, duplikasyon vb.), sayısal (anöploidi, poliploidi vb.) değişiklikleri ve köken farklılıklarını (kimerizm, mozaikizm, vb.) saptamak, elde edilen sonuçla fenotip ile genotip arasındaki ilişki değerlendirilir. Kromozomal anöploidiler ve büyük yeniden düzenlenmeler klasik sitogenetik yöntemlerin ortaya koyduğu anomalilerdir. Floresan in situ hibridizasyon (FISH) moleküler teknoloji ve sitogenetik tekniklerin birleştirilmesiyle klasik sitogenetik yöntemlerden daha detaylı bilgiye ulaşmamızı sağlar. FISH genomda istenilen hedef DNA bölgesinin floresan veren DNA problemleri ile boyanarak "in situ" olarak gözlenmesine imkan tanıyan moleküler sitogenetik bir yöntemdir (184). Ancak bu tür analizler büyük çapta kromozomal anomalilikleri test etmek için kullanılmaktadır. Gen düzeyindeki farklılıklar bu tür analizler ile görüntülenemeyebilir.

Kopya sayısı farklılıkları (Copy number variation, CNV) insan genomunda yer alan 1000 baz çiftinden daha büyük yapısal değişkenliklerdir. Bireyden bireye farklılık gösteren CNV'lerin, genlerin ifadenmesi üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Kopya Sayısı Farklılıkları (CNV), insan genomunda, tüm genoma dağılmış halde bulunan 1 kilobaz (kb)'dan onlarca megabazaya kadar uzayabilen DNA bölgeleridir. CNV'leri tanımlamak için kullanılan teknolojide yaşanan gelişmeler sonucunda 1 kb'dan daha kısa CNV'lerin de olduğu gösterilmiştir. DNA'nın bazı bölgelerinin dizisinde bazı farklılıklar olduğu anlaşılmıştır. CNV olarak tanımlanan bu farklılıklar nesilden nesile kalıtılabilir ya da de novo mutasyonlarla oluşabilir. Submikroskopik veya mikroskopik genomik DNA kaybı ya da kazancı içerirler. Bu diziler bireyden bireye farklılıklar göstermekle birlikte büyük kısmının fenotipe yansımalarının olmadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte bazı CNV'lerin genlerin ifadenmesine ve gen dozajına etki ettikleri gösterilmiştir. Bugüne kadar 500 bini aşkın CNV tanımlanmıştır (185).

Bağlantı analizleri; aynı kromozom üzerinde birbirine yakın fakat ayrı ayrı loküslere yerleşmiş iki gen bağlı konumdadır. Bu iki loküsteki genler bağlantı nedeniyle gametlere bağımsız olarak değil de birlikte gitme eğilimi gösterirler. Dolayısı ile bir genin ilgili kromozomdaki yeri biliniyor ise bağlantı gösteren diğer genin bu kromozom üzerindeki yeri de hesaplanabilir. Bu tür çalışmalarda bir aile de birden fazla etkilenmiş olguya ihtiyaç vardır. Eğer hasta iki kardeş şans ile olandan daha fazla oranda bir markerin bir alelini paylaşıyor ise bu loküs bu hastalıkla ilişkilidir denir (182). İlişki Çalışmalarında ise amaç spesifik DNA parçalarının izolasyonudur. Spesifik alellerin, hastalarda şans ile saptanandan daha sık olarak mevcut olup olmadığı belirlenir. Bağlantı analizlerinde krossing-over olayından yararlanarak, bağlı genlerin dizilişi ve aralarındaki uzaklıkların bulunması sonucu genetik bağlantı haritaları oluşturulmaktadır. Kromozomlar üzerinde bulunan genler bağımsız olarak gamet hücrelerine geçmektedir. Fakat aynı kromozom üzerinde ve fiziksel olarak bir birine yakın olan genler bazen Mendel kurallarına uymayarak birlikte yeni nesile aktarılacaktır. Aynı kromozom üzerinde bulunan bu genlere bağlı gen (linked gen); bu genlerin oluşturmuş olduğu gruba bağlantı grubu (linkage group) ve bu olaya da bağlantı (linkage) denilmektedir. Bir kromozom üzerinde bulunan genler birbirlerine ne kadar yakın ise aralarında krossing-over olma olasılığı o kadar azalmaktadır. İki gen arasındaki mesafe arttıkça iki gen arasında krossing-over olma olasılığı da artmaktadır. Yani iki gen arasındaki krossingover oranı kullanılarak bu iki genin arasındaki mesafe tahmin edilebilmektedir. Bağlantı analizinin en yaygın olarak kullanıldığı alan canlılarda gen haritalarının oluşturulmasıdır. Özellikle, ekonomik öneme sahip özelliklerin ve hastalıklara sebep olan gen bölgelerinin tespiti amacıyla genom tarama çalışmalarında kullanılmaktadır (186).

1.2.3 Genetik Polimorfizm ve RFLP

İnsan DNA yapısında zararsız kalıtsal varyasyonlar olabilmektedir. Bireyin genomunda polimorfizm olarak nitelendirilen her 100-200 nükleotid de 1-2 baz değişimi içermekte fakat bu durum kişilerde önemli bir hastalığa yol açmamaktadır. Aynı türün farklı bireyleri arasında iki veya daha fazla farklı baz dizisi olarak da tanımlanabilir. Genellikle genin protein koduna yansımayan intron bölgelerinde ya da gen dışında kalan ara DNA bölgeleri üzerinde bulunurlar. Nadiren genetik materyaldeki varyasyonlar gen içerisinde hatta proteini kodlayacak olan ekzon bölgesinde de yer alabilir ancak bunların çoğu amino asidi değiştirmeyen kodlardır ya da değiştirse bile protein yapısında fonksiyonu bozacak büyük bir tahribat yapmazlar. Polimorfizmler aynı zamanda bir bireye kalıtılan ve bir anne diğeri ise

babadan geçen iki kromozom üzerindeki eş alelleri birbirinden ayırt etmeye yarar. Mutasyonlar ise aksine protein yapısına girecek olan bölgelerde oluşan DNA dizi değişiklikleridir ve protein kaybı ya da non fonksiyonel bir protein oluşmasına sebep olarak hastalığa yol açarlar (187). En sık görülen polimorfizme bağlı değişiklikler tekrarlayan baz dizileridir. Polimorfizmler oluş mekanizmalarına ve bulundukları yerlere göre 4 ana grupta incelenebilir. Bunlar kısa ve uzun DNA baz tekrarları, DNA'nın tek bir bazındaki değişiklikler ve bizim çalışmamızda kullandığımız DNA'yı kesen enzimlerin oluşturduğu uzunluk polimorfizmleri (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism). RFLP Restriksiyon endonükleazları olarak bilinen enzimlerdir. DNA'yı 4-6 baz çiftinden oluşan tanıma bölgelerini kullanarak keserler. Enzim tanıma bölgesinde oluşan bir değişiklik, bölgenin enzimlerce tanınmamasına ve kesme işleminin gerçekleşmemesine sebep olur. Örneğin 200 baz çifti içeren bir DNA parçasının restriksiyon enzimi ile 120 ve 80 baz çiftinde oluşan 2 bölgeye ayrıldığını varsayalım. Normal bireyde enzimatik kesme gerçekleşecek ve 120 ve 80 baz çiftinden oluşan 2 adet genom parçası oluşacaktır. Etkilenmiş bireyde ise enzim tanıma bölgesinde oluşan değişiklik sebebi ile enzimatik kesme gerçekleşmeyecek, 200 baz çiftinden oluşan tek parçalı genom izlenecektir (187).

1.2.4 Bağlantı analizleri ve OSB

Yapılan bir çok bağlantı analizi çalışmasında OSB ile ilişki saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada 3 kardeşin, annelerinden kalıtılan 7q da parasentrik inversiyon taşıdıklarını bildirmiştir. Bu ailede iki erkek çocukta otizm, kız çocukta ise dil sorunu saptanmıştır. Birden fazla etkilenmiş bireyin olduğu bu aileler aile bağlantı analizi için oldukça yararlı bir gruba oluşturmaktadırlar (182). Otizm ve OSB ile ilgili genom taramaları yapılan dokuz çalışmanın verileri sentez edilmiş. OSB ele alındığında 17p11.2-q12 ve 10p12-q11.1 bölgeleri için dikkate değer önemde bağlantıya ulaşılmış. Sadece otizm ele alındığında Kromozom 7'nin uzun kolu ile arasında belirgin bağlantı olduğu gösterilmiş. Bağlantı analizlerinde özellikle 1q, 2q, 7q, 21q ile OSB arasında ilişki saptanmışlardır (188). Benzer bir çalışmada 2q, 5, 7q, 15q ve 16p yi içeren birçok kromozomal bölgede anlamlı replikasyonlar bulunmuştur (6). 5 kromozomu ile ilgili yapılan üç çalışmada Philippi ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada (189) otizmle ilgili güçlü ilişkiler saptanmış, geniş genom analizleri kullanılan diğer bir çalışmada 5p14.1 ve 5q15 bölgeleri anlamlı derecede otizmle ilişkili bulunmuştur. 2009 yılında, yarım milyon geniş genom kapsamlı tek nükleotid polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphisms: SNP) kullanarak, 1031 multiplik otizm aileleri grubunda

(1553 etkilenmiş birey) yapılan bağlantı ve ilişki eşleme çalışmasında 5p15 kromozomunda otizm ile ilişkisi anlamlı olan bir SNP (SEMA5A ile TAS2R1 arasında) bulunmuş ve otistik bireylerin beyinlerinde SEMA5A'nın ekspresyonu azalmış olduğu ve böylece otizm için duyarlı bir gen olduğu tespit edilmiştir. (177). Yapılan başka bir bağlantı analizi çalışmasında özellikle ciddi konuşma engeli olan bireylerde kromozom 22q11 ve 13q21 de anlamlı bağlantı skorlarına ulaşılmıştır. Özellikle 13q21 dil bozukluğu ile bağlantılı, 22q13 her iki durum ile de bağlantılı olmak ile birlikte otizm yada dil bozukluğu arasında dağılmış olarak saptanmıştır. Yine bu çalışma kromozom 5p15'de de dikkat çekici bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir (190).

1.2.5 Sitogenetik Olarak Gözlenebilen Kromozomal Anomaliler

OSB bozukluk tanısı alan hastalarda sitogenetik olarak gözlenebilen kromozom analiziyle yaklaşık olarak olguların %5'inde kromozom anomalileri tanımlanabilmektedir. İlave olarak Floresan İnSitu Hibridizasyon (FISH) teknikleri kullanıldığında yaklaşık %3-5'lik bir hasta grubunda da kromozom anomalilerine saptanmaktadır. Otizm ve eşlik eden dismorfolojisi olan çocuklarda çoğunlukla dengesiz kromozom anomalileri bulunmaktadır (191). Anne kaynaklı Prader Willi/Angelman Sendromu kritik bölgesinin (15q11- q13) duplikasyonu otizmde %1-3 oranı ile en sık rastlanan kromozom anomalisidir. Paternal orjinli delesyon Prader-Willi (PWS), maternal orjinli delesyon ise Angelman Sendromuna neden olmaktadır. PWS tanısı alan hastaların %25'e yakınının tekrarlayıcı davranışlar sergilediği ve OSB'ye benzer sosyal defektler gösterdiği saptanmıştır (192,193). Angelman sendromunun ise genellikle OSB'ye komorbid olduğu kabul edilir.

Down sendromlu çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada insidansın en az %7 olduğu görülmüştür (194). Down sendromlu çocuklarda OSB'nin sıklığı 1/100 ile 11/100 arasında olduğu farklı çalışmalarda bildirilmiştir. Otizm bu çocuklarda normal popülasyona oranla 10 kat daha fazla görülmektedir (195).

Tek X kromozomu veya bunun varyantları şeklinde ortaya çıkan Turner sendromu sayısal bir kromozom anomalisidir. Bu sendromda önemli ölçüde artmış bir OSB riskinden bahsedilmektedir (196). Turner sendromlu maternal X kromozomuna sahip (45,Xmat) bireylerin paternal X kromozomuna sahip (45,Xpat) olan bireylerden daha kötü sosyal bilişsel yeteneklere sahip olduğu bildirilmiştir (197).

Klinefelter Sendromu(KS) 1/575 ile 1000 canlı doğumda görülmektedir. OSB'lilerde yapılan genetik çalışmalar XXY paterninin OSB ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Algılama, sosyal mesajları anlama, sosyal mesajlar verebilme, dil ve dikkat gibi genel bilişsel becerilerdeki yetersizlik gibi artmış otistik özellikler gözlenebilmektedir (198).

Bir çok kromozomda OSB ile ilişkili anomali bildirilmiştir. Kromozom anormalliğine otizmin de eşlik ettiği durumları sıklıkla delesyonlar oluşturmaktadır. Kromozom 14 ve 20 dışında tüm kromozomlarda çeşitli anormallikler bulunmuştur. Değişiklikler en sık 15. ve X kromozomunda görülmüştür (199). Otistik bozukluklar için özellikle kromozom 2, 4, 7 (7q31–35), 10, 16, 1, 19 ve 22 olmak üzere 7 gen lokusunun öne çıktığı görülmektedir (200).

1.2.6 Kopya Sayısı Farklılıkları (Copy number variation, CNV) ve OSB

CNV platformları bilinen delesyon/duplikasyon sendromlarının bütün genomda ve ek olarak subtelomerik bölgelerin değerlendirilmesinde kullanılmak üzere tasarlanmıştır. YGB'li 859 birey ve 1,409 sağlıklı Avrupa kökenli çocukta yapılan bir çalışmada nöronal adezyon moleküllerini kodlayan (NRXN1, CNTN4, NLGN1 ve ASTN2) ve ubikutin yolağında yer alan (UBE3A, PARK2, RFWD2 ve FBXO40) genlerde çeşitli patolojik değişiklikler ortaya çıkardı (201). Yapılan başka bir çalışmada, ailede tek etkilenmiş bireylerin olduğu basit ailelerde çocuklarının %10'unda ve ailede birden fazla etkilenmiş bireyin olduğu multiplex ailelerin %2'sinde, kontrollerin ise %1'inde de novo şekilde CNV'ler bulunmuştur (202). YGB bulgusu gösteren 427 birbirinden ilişkisiz ailede kontrol ailelerinde bulunmayan %44 oranında dengesiz CNV'ler bulunmuş ve nedeni bilinmeyen YGB bulgusu gösteren hastalarda bulunan bu CNV'lerin çoğu genetik geçiş ile, sadece %7'sinin de novo olduğu tespit edilmiştir (203). 16p11.2 delesyon sendromu gelişme geriliği, entelektüel yetersizlik ve/veya YGB ile karakterizedir (203). 16p11.2 delesyon/duplikasyonlarının otizmli hastaların yaklaşık olarak %1'inde, gelişme geriliği veya konuşma gecikmesi olan hastaların ise %1.5'inde bildirmiştir (204). 16p11.2 delesyonu sıklıkla de novo olarak ortaya çıkmaktadır fakat ebeveynlerden çocuğa otozomal dominant olarak da geçebilir. Bununla birlikte 16p11.2 ile ilgili CNV'ler etkilenmemiş aile bireyleri de dahil şizofreni, bipolar hastalık, nöbetler, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) ve disleksi gibi diğer hastalıklarda da gözlenebilir; bu nedenle bu CNV'lerin önemini/anlamını değerlendirmek zor olabilir (205). 15q13.3 Delesyon Sendromu; entelektüel yetersizlik, epilepsi, OSB ile karakterize, klinik olarak değişken bir sendromdur (206,207).

1.2.7 Tek Gen Hastalıkları/Sendromik durumlar ve OSB

Bahsedeceğimiz tek gen hastalıklarının bir çoğunun otizm ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Otizm tanısı almakta olan vakaların %1-3'ü frajil X sendromuna sahip olduğu bilinmektedir. Bu sendrom Xq27.3 bölgesinde lokalize FMR1 geninin 5' ucundaki anormal CGG üçlü nükleotid tekrarlarının tam mutasyon boyutu olan 200 veya daha fazla sayıya genişlemesi nedeniyle oluşmaktadır. FMR1 premutasyonları (55- 200 CGG tekrarı) otizm tanısı alan çocuklarda gösterilmiştir(208). Fragil X sendromlu erkeklerin davranışsal fenotiplerindeki değişkenliğe otizm semptomlarının varlığı ve şiddetinin neden olduğu düşünülmektedir (209,210). Bu sendroma sahip hastalardaki belirgin otistik davranışlar arasında perseverasyonlar, motor stereotipiler, tekrarlayıcı konuşmalar ve zayıf göz teması bulunmaktadır (209,211).

PTEN makrosefali sendromu, PTEN (Fosfataz ve Tensin Homoloğu) geni birçok hastalığın oluşumuna neden olduğu bilinen bir tümör baskılayıcı gendir. PTEN geni mutasyonlarının otizm ve makrosefali ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (104,212). Bu genin geninin nöronal sağkalım ve sinaptik plastisite dahil beyin gelişiminde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. PTEN mutasyonlarının YGB nedeni olması sıklığı bilinmemekle birlikte; otizm ve makrosefali olarak değerlendirilen çocukların dahil edildiği çalışmalarda sıklık %1'den (213) %8.3'e, (214) %17'ye (215) kadar değişen sonuçlara ulaşılmıştır.

Sotos Sendromu kalıtmı otozomal dominant olan bir aşırı büyüme sendromudur, olguların %80-90'ında NSD1'in mutasyonu veya delesyonu saptanmaktadır (216). Sendroma sahip çocuklar sıklıkla akran grup ilişkilerinde zorluk ve sosyal ipuçlarını anlamada eksiklik gibi otizmde görülebilen davranışsal problemler nedeniyle otizm kliniklerine yönlendirilebilir. Simpson-Golabi-Behmel sendromu, Perlman sendromu ve Beckwith-Wiedemann sendromu (BWS) gibi bazı aşırı büyüme sendromlarında da OSB bulguları görülebilmektedir. BWS'da %6.8 oranında OSB bulguları bildirilmiştir (217).

Rett Sendromu DSM-IV'te tanımlanan yaygın gelişimsel bozukluklar başlığı altında bulunan ve DSM-V'te OSB tanısına dahil edilmeyen ve spesifik genetik etyolojisi tanımlanan bir hastalıktır. MECP2 (metil-CpG-bağlayıcı protein 2) geninde çeşitli mutasyonlar sporadik vakaların %75-90'ında, ailesel vakaların %50'sinde bildirilmektedir (2,37). Bozukluğa X kromozomunda bulunan metil-CpG bağlayan protein 2'yi kodlayan MECP2 geninde ortaya çıkan yeni mutasyonun neden olduğu düşünülmektedir (50).

Tübero Sklerozis Kompleksi (TSK) göz, deri, beyin, kalp ve böbrekler gibi çok sayı da organı tutabilen, anormal doku büyümeleri sonucu iyi huylu tümörler, hamartomlar ile seyreden, sıkça görülen, TSC1 veya TSC2 genindeki mutasyonlar sonucu oluşan otozomal dominant geçişli kalıtsal bir nörokutanöz hastalıktır. Tuberoskleroz kompleksi (TSK) otizm ile sıklıkla beraberlik gösterir (218). Entelektüel yetersizliği olan TSK'li bireylerin %25-50'si otizm tanı kriterini tam olarak karşılamasına rağmen, TSK'lilerin sadece %1.1-1.3'üne ilk tanı olarak YGB denmektedir. Gelişimsel veya davranışsal bozukluklar TSK' de sık karşılaşılabilen durumlardır. Genel populasyon ile karşılaştırıldığında TSK'li hastalarda OSB daha sıktır (%17-63 arasında) (219,220).

Nörofibromatozis tip 1 (NF1) Otizmlili çocuklarda tanımlanmakla beraber, bu durumun gerçek bir ilişki mi yoksa çocukluk çağının iki sık hastalığının aynı anda bir arada oluşundan mı kaynaklandığı bilinmemektedir (220,221).

Timothy Sendromu CACNA1C genindeki mutasyonlardan kaynaklanan kalsiyum kanalı bozukluğudur, sindaktili, kardiyak defektler, dismorfik yüz, ciddi QT uzaması, gelişme geriliği ve otistik belirtilerin eşlik ettiği bir hastalıktır (222).

Joubert Sendromu otozomal resesif olan bu hastalık görüntülemeye kısmi veya tam serebellar vermiş yokluğu, anormal solunum paterni, anormal göz hareketleri, bilişsel bozulma ve davranış problemleri ile karakterizedir (223). Sosyal davranış bozuklukları, dil problemleri, tekrarlayıcı davranışlar gibi OSB bulguları JS'lilerin %40 kadarında görülebilmektedir ve %25 kadarı da DSM-4'e göre otistik bozukluk kriterlerini karşılamaktadır. Yapılan bir çalışmada Joubert sendromlu 11 çocuktan üç tanesinin otizm ve bir tanesinin ise YGB-BTA tanı kriterini karşıladığı saptanmıştır (224).

Yazında değindiğimiz hastalıklar dışında daha bir çok hastalığın OSB ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bunların birçoğunda entellektüel problemler olduğu bilinmektedir. bazıları Williams sendromu, Cornelia de Lange sendromu, Hipomelanozis ito, Aarskog sendromu, Moebius sendromlarıdır (182).

1.2.8 Genetik kökenli metabolik durumlar ve OSB

Otizmlili hastalarda mitokondriyal solunum zincir bozuklukları sık görülmesine de bu hastaların kanlarında yükselmiş laktat konsantrasyonları sıklıkla bildirilmiştir. 69 otizmlili olgununun değerlendirildiği bir çalışmada bu olguların 14'ünde (%20) plazmada artmış laktat konsantrasyonları saptanmıştır (225).

Fenilketonüri tanılı hastalarda karaciğerde işlev gören Fenilalanin hidroksilaz enzimi aktif değildir. Enzimin genindeki mutasyon sonucu meydana gelen herediter bir hastalıktır.

Sıklıkla otistik belirtilerle ilişkili olmakla birlikte erken dönem tarama ve tedavi uygulamaları sonrasında bu ilişki azalmaktadır (226). Tedavi almamış FKÜ hastalığı ile OSB ilişkisi tanımlanmıştır, FKÜ de bulunan belirgin entelektüel yetersizlik nedeniyle otizm tanısı koymakta zorluk çekilmektedir (227).

Adenilosüksinat Liyaz Eksikliği vücut sıvılarında süksinilpürin birikimine neden olan Pürin sentezindeki defekt sonucu oluşan nadir bir durumdur (228). Adenilosüksinat Liyaz Eksikliği olan hastaların yaklaşık %50'sinde gelişim geriliği, nöbetler, göz teması kurmakta yetersizlik, tekrar eden basmakalıp davranışlar, öfke nöbetleri ve saldırganlık gibi otizm bulguları görülmektedir (229).

Kreatin Eksikliği Sendromları (KES) ikisi kreatin biyosentez bozukluğu olan, guanidinoasetatmetiltransferaz (GAMT) eksikliği ve L-arjinin:glisin amidinotransferaz (AGAT) eksikliği (veya GTAM eksikliği) ve biri de kreatin taşıma defekti olan, SLC6A8 eksikliği olan üç bozukluktur. Nöbetlerin bulunması ve entelektüel yetersizlik her üç durumda da ortakdır. Bu sendromlarda otistik davranış ve kendine zarar verme, hafiften ağıra değişen entelektüel yetersizlik ve konuşma gecikmesi, nöbetler ve davranış bozuklukları görülebilmektedir. Kreatin eksikliği sendromlarının otistik spektrumda prevalansının düşük olduğu bilinmektedir (230).

Smith-Lemli-Opitz Sendromu (SLOS) kolesterol biyosentezinde esansiyel bir enzim olan 7-dehidrokolesterol redüktaz eksikliği nedeniyle oluşmaktadır. Tekrarlayıcı ve kendine zarar verici davranışlar gibi otistik bulguların yanında, duyuşal hiperaktivite ve uyku bozukluğu gibi diğer davranışsal özellikler bulunabilmektedir. Bu bireylerdeki otistik davranışların sıklığı %50'den %80'e kadar değişen aralıklarda görülmektedir (231).

1.3 OTİZM VE KEMOKİNLER

1.3.1 Kemokinlere Genel Bakış

Kemokinler farklı hücre tiplerini aktive eden ve selektif olarak onlarla ilişki içerisinde olan bir polipeptid ailesidir. İnflamasyon, enfeksiyon, doku hasarı, allerji, kardiyovasküler hastalıklar, ayrıca malign tümör patofizyolojisinde rol alırlar. Kemokinler 8-10 kilodalton (kd) ağırlığında, %20-70 oranında aminoasit dizilimlerinde benzerlik gösteren proteinlerdir (232). Kemotaktik ve sitokin kelimelerinden kemokin kelimesi türetilmiştir. Sitokinler, immün sistemin daha genel fonksiyonlarını yaparken kemokinler, daha ince işlevleri gerçekleştirirler ve submoleküler düzeyde etkilidirler (7). Sistein kalıntılarının pozisyonlarına ve genetik

yapılarına göre 4 alt gruba (C,CC,CXC ve CX3C) ayrılırlar (232). CC ve CXC sınıfı insanlarda en fazla bulunan kemokinlerdir. Bugüne kadar CC grubundan 25, CXC grubundan ise 15 kemokin tanımlanmıştır. C sınıfında tek bir sistein rezidüsü bulunmaktadır. CX3C sınıfında iki sistein rezidüsü arasında 3 tane aminoasit bulunmaktadır (233). CXC kemokin ailesi olarak da bilinen alfa kemokin ailesinde N terminaline yakın 2 sistein aminoasidi farklı bir aminoasit tarafından ayrılmıştır. Bu kemokinin kromozomu 14q12-21 üzerindedir. Bu grupta sadece SDF-1 alfa 10. kromozomundadır. Alfa kemokinler nötrofillere etki ederken; lenfositlere karşı etki göstermezler. CC kemokinlerde (beta kemokin) alfa kemokinlerden farklı olarak N terminaline yakın 2 sisteini ayıran aminoasit yoktur. Beta kemokin geni 17q11.2-12 dedir. C kemokin olarak adlandırılan Lenfotaktin tek sistein içerir, kromozomu ise 1q23'dedir. CX3C kemokin, ise Fraktalkin veya Nörotaktin olarak adlandırılmaktadır ve geni 16. kromozomda bulunmaktadır (232).

Araştırmalarla yaklaşık 50 kadar üyesi normal biyolojik ve patolojik süreçte düzenleyici türde görev aldığı saptanmıştır. Kemokin ailesinin hücreler üzerinde bağlandıkları 20 kadar kemokin reseptörü tanımlanmıştır. Kemokin reseptörleri G-protein-bağımlı türde hücre-içi sinyal ileten türde yapılardır (234). Kemokinlerin lökositlerle etkileşimleri iyon akışı, transmembran potansiyeli, integrin aktivitesi ve hücrede şekil değişikliğinin yanı sıra lizozomal enzimlerin sekresyonu, süperoksit anyonlarının oluşumu gibi birçok hücrel ve biyokimyasal olayları başlatır (235). Kemokinler, inflamasyonda ve homeostazda lökositlere ve stem hücrelere kemotaksi yaptıran sitokinlerdir. Lökosit migrasyonunu düzenlemekte, bunun yanında anjiyogenez ve lökosit degranülasyonu gibi süreçlerin de gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır (232). Bazı kemokin reseptörleri nöronlar, astrositler, epitelial hücrelerde de bulunur. Bu da kemokin sisteminin lökosit göçü dışında diğer sistemlerde de birtakım fonksiyonları olduğunu düşündürmektedir (236). Yapılan pek çok çalışmada malign hücrelerin de kemokin reseptörleri taşıdıkları saptanmıştır. Bu çalışmalarda kanser hücrelerindeki reseptörlerin spesifik oldukları belirlenmiştir. Özellikle CXCR4'ün meme, prostat, pankreas, akciğer, over, nöroblastoma gibi 23 farklı kanser hücresinde eksprese edildiği yayınlarda belirtilmiştir (237).

Kemokinlerin aracılık ettikleri hücre göçü ve aktivasyonu için bu moleküllerin hücre üzerindeki özgül reseptörlerine bağlanmaları gerekir Bugüne kadar 4 tane CXC (CXCR1-CXCR4), 8 tane CC (CCR1- CCR8) ve 1 tane de CX3C (CX3CR) kemokin reseptörü tanımlanmıştır. Bazı reseptörler tek bir hücrede yoğunlaşırken (CXCR1 sıklıkla nötrofilde); diğer reseptörler farklı hücrelerde görülürler (CCR2 monosit, T lenfosit, NK hücre, dendritik hücre ve bazofilde). CCR1 ve CCR2 özellikle monositlerde bulunurken; sadece IL-2

uyarımından sonra lenfositlerde belirir. Birçok kemokin reseptörü birden fazla kemokinle bağlanmakta ise de; CC reseptörleri sadece CC kemokinleri, CXC reseptörleri de CXC kemokinlerini bağlamaktadırlar. Bu reseptör-ligand sınırlılığı muhtemelen primer, sekonder ve tersiyer yapıları benzer ancak kuaterner yapıları birbirinden farklı olan CC ve CXC kemokinlerin yapısal farklılığından kaynaklanmaktadır (232). Kemokinlerin G proteini aracılı reseptörleri ile 7 transmembran bölgenin uyarılması ile hücrede sinyal iletimi gerçekleşir. Bağlanma neticesinde; inozitoltrifosfat oluşumu, hücre içi kalsiyum artışı ve protein kinaz C aktivitesi ile hücrenin aktivasyonunu sağlar. Kemokin reseptör sinyali ayrıca Ras ve Rho ailelerinin küçük guanozintrifosfat bağlayan proteinlerini de aktive eder (238). Rho proteinler; hücre membranında katlanma, yalancı ayak oluşumu ve fokal adezyon komplekslerinin toplanması gibi aktin bağımlı olayların düzenlenmesiyle hücre motilitesini sağlarlar (239). Kemokinlerin uygun reseptöre bağlanması sonucunda sinyal iletimi ile uyarılan hücreler, doku zedelenmesi, enflamasyon veya gerek görülen bölgeye migrasyon yapmak üzere harekete geçerler. CXC sınıfı genellikle nötrofilleri aktive ederken, CC sınıfı monositler veya lenfositler için kemotaktik özellik gösterir (240). Bir lökosit subpopülasyonu üzerinde de değişik kemokinlere ait reseptörler bulunabildiğinden bir kemokinin birden fazla hedef hücresi bulunabilir. Böylece hücreler değişik reseptörler aracılığıyla farklı moleküllere yanıt verebilirler. Bir hücre hangi reseptörünün aktive edildiğine bağlı olarak değişik tepkiler verebilir (241).

Hematopoez, lökosit matürasyonunu ve göçü, lenfoid dokuların gelişimi, T ve B lenfositlerin hedeflerini bulmaları, anjiogenez, apoptoz, anti-tümör aktivite, hücre iskeletinin düzenlenmesi, hücreler arası sıkı bağlantılarda ve hematopoetik hücrelerin spesifik anatomik bölgelere yerleşmesinde kemokinlerin rolü vardır (8). İmmün sistemin fizyolojik koşullardaki hücre trafiğini sağlayan homeostatik kemokinler ile enflamasyon sırasında uyarılmış kemokinler arasında belirgin farklar vardır. Lenfositlerin, monosit ve granülositlerin, aktivasyonun farklı dönemlerindeki farklı migrasyon özellikleri, homeostatik ve uyarılmış kemokinlerin kompleks kombinasyonları aracılığıyla bir düzen kazanır (242).

1.3.2 Stromal Hücre Kaynaklı Faktör-1 (SDF-1) ve SDF1-3' A Polimorfizmi

İnflamasyonda potansiyel bir kemokin olan stromal hücre kaynaklı faktör-1 (SDF-1) trombositlerin göçünde önemli bir aracıdır (243). Stromal hücre kaynaklı faktör-1 (SDF-1), kemokin α alt grubunun bir üyesi olup, CXCR-4 adlı G-protein ilişkili kemokin reseptörünün

bilinen tek ligandıdır (244). SDF-1 ve CXCR-4 organ vaskularizasyonu, immün sistem ve hematopoetik sistem fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır (245). SDF-1, T lenfositler ve monositler için kemotaktik faktör, B hücre öncüleri için büyüme faktörü olarak etki eder ve B hücre ve kemik iliği gelişiminde rol oynar (246). SDF-1 kanser hücrelerinde lenfositler üzerindeki etkilerine benzer etkiler oluşturur (247). Yapılan bir çalışmada da SDF-1 /CXCR-4 ikilisinin önemli bir kemokin/kemokin reseptörü ikilisi olduğu belirtilmiş ve tümör gelişimi ve metastaz süreçlerinde rol oynadıkları gösterilmiştir (248). Embriyolojik olarak SDF-1 oluşumunun bozulması normal gelişimin bozulmasına yol açmaktadır (245). CXCL12 diğer adıyla SDF-1 ilk kez Tashiro ve arkadaşları tarafından kemik iliği stromal hücrelerinden klonlanmıştır (249). Daha sonra progenitör B hücreleri için büyüme faktörü, T hücreleri ve monositler için kemotaktik, B hücre lenfopoezi ile myelopoezde etkin olduğu ortaya çıkmıştır. SDF-1 8 kDa ağırlığında 68 aminoasitten oluşan bir CXC sınıfı sitokindir. Alfa ve beta olmak üzere iki majör formda bulunmaktadır. SDF-1 alfa en fazla bulunan formdur, beta ile arasındaki fark betada fazladan bulunan 4 aminoasittir. Alfa ve beta izoformları dışında başka izoformlar da tanımlanmıştır. CXC sınıfı kemokinlerin genlerinin tamamı 4. kromozomda bulunurken SDF-1'in geni 10. kromozomda yer almaktadır (250,251,252). Kök hücrelerin migrasyonu pek çok büyüme faktörü, sitokin ve kemokinin birbiriyle örtüşen fonksiyonları ile gerçekleşmektedir. Bu faktörlerden veya reseptörlerden herhangi birisinin eksikliği halinde diğerleri tarafından kompanse edilebilmektedir. Fakat SDF-1 veya reseptörü CXCR4'ün genlerinin olmadığı hayvanlar ile yapılan deneylerde hemopoietik kök hücrelerinin embriyonik kemik iliğine kolonize olamadığı ve kalp, beyin ve damar gelişimlerinin bozuk olduğu saptanmıştır. CXCR4 veya SDF-1'in olmaması hayatla bağdaşmamaktadır ve embriyolar uterusu ölmektedirler (245,253,254). SDF-1 motilitede, kemotaktik cevapta, adhezyonda, metalloproteinaz ve anjiyopoeitik faktörlerin (vasküler endotelial büyüme faktörü) salgılanmasında etkindirler (255). Hematopoietik kök hücrelerinin kemik iliğini kolonize etmesi 3. trimesterde olmaktadır ve SDF-1/CXCR4 aksının düzgün çalışmasıyla gerçekleşmektedir (246). 2. trimesterin bitiminden sonra kemik iliğindeki SDF-1 miktarı artmakta ve hematopoietik kök hücreler için kemoatraktan görevi üstlenmektedir. SDF-1 erişkin hayatta da kök hücrelerin kemik iliğinde kalmasını sağlayan ana faktörlerdendir (256). SDF-1, T lenfositler ve monositler için kemotaktik faktör, B hücre öncüleri için büyüme faktörü olarak etki eder ve B hücre ve kemik iliği gelişiminde rol oynar (246). SDF-1 geni 3' translasyona uğramayan bölgede (3'UTR) bir G→A tek gen polimorfizmine sahiptir (257). SDF-1 AA genotipi SDF-1 proteininin ekspresyonunu artırarak önemli bir düzenleyici fonksiyon görmektedir ve bu genotip değişik tipte birçok kanser ile ilişkili bulunmuştur (258).

Bununla birlikte, SDF1-3'A polimorfizmi ile kanser arasında yapılan birtakım çalışmalarda herhangi bir bağlantı bulunamamıştır (259).

1.3.3 CXC Kemokin Reseptör 4 (CXCR4) ve CXCR4 C138T Polimorfizmi

CXCR4 periferik kanda monositler, B hücreleri, T hücreleri ile hematopoietik progenitör hücreler üzerinde yoğun şekilde eksprese edilmektedir (260). CXCR-4 kemokin reseptörü, SDF-1 aracılı kemotaksi yanıtını oluşturmak üzere T lenfositlerde, monositlerde ve ayrıca nötrofillerde, nöronlarda, glial hücrelerde, mikrogial hücrelerde ve endotel hücrelerinde bulunur (261). Yapılan çalışmalar CXCR4 ün internöronal migrasyon ve laminar konumlanmanın düzenlenmesinde sinyal iletiminde rolü olduğu gösterilmiştir (262). CXCR-4 reseptörü SDF-1'in selektif olarak bu reseptöre bağlanması ile aktive olur. Göğüs kanseri hücrelerinde CXCR4 fazla ekspresyonunun tümör büyümesi, ilerlemesi ve metastaz ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (263). Hematopoietik kök hücreleri dışında pluripotent kök hücrelerinde, primordiyal germ kök hücrelerinde, sinir sistemi, iskelet kası, kalp, karaciğer, endotel, renal tübüler, retina pigment epitelyumundaki kök hücrelerde CXCR4 ekspresyonu gösterilmiştir. Bu kök hücreler sadece CXCR4 eksprese etmemekte, SDF-1 gradientine yönelik hareket de etmektedirler. Böylelikle hem CXCR4 kök hücre markırlarından birisi olmaktadır hem de SDF-1 CXCR4 eksprese eden kök hücreler için önemli bir kemotraktan olmaktadır (264). Kemik iliğinde bulunan CD34 + kök hücrelerinde periferde bulunanlara oranla daha yoğun CXCR4 ekspresyonu saptanmasının kök hücre mobilizasyonunda önemli rolü olduğu düşünülmektedir (265). CXCR4 yıllardır insan immün yetmezlik virüsü (HIV) nedeniyle bilinmektedir. HIV-1'in insan hücrelerine girebilmesi için kofaktör olarak görev almaktadır (266). CXCL12 ile CXCR4'ün aktive olamadığı hayvanların doğumdan hemen sonra öldüğü ya da beyin anomalisi olduğu görülmüştür (16). SDF-1 ve onun reseptörü olan CXCR4 ile meme kanseri arasındaki ilişki ilk kez Muller ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (267). Muller ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptığı pek çok deneyden oluşan çalışmada normal meme dokusu ve meme kanseri dokuları incelenmiş; kanserli meme dokularında anlamlı olarak CXCR4 ekspresyon artışı saptanmıştır. Lenf nodu ve uzak metastazlı hastalarda bu artışın çok daha yüksek olduğu bulunmuştur (267). SDF-1 ve CXCR-4 organ vaskularizasyonu, immün sistem ve hematopoetik sistem fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır (245). Kucia ve ark'na ait bir çalışmada da SDF-1 /CXCR-4 ikilisinin önemli bir kemokin/kemokin reseptörü ikilisi olduğu belirtilmiş ve tümör gelişimi ve metastaz süreçlerinde rol oynadıkları gösterilmiştir (248). SDF-1/CXCR-4 etkileşiminin bozulması

hematopoetik, kardiyovasküler ve nöral sistem gelişimini negatif yönde etkilemektedir ve embriyonel gelişim defektif olmaktadır. Bu fenotipik değişiklikler SDF-1/CXCR-4 etkileşiminin embriyonel progenitörlerin göçünde önemli rol oynadığını göstermektedir (16). CXCR-4'ün pek çok tümör tipinde metastaz süreçlerinde, organ spesifik tümöral yayılım aşamalarında, tümör hücrelerinin proliferasyonun uyarılmasında, invazyon süreçlerinde ve yeni damar oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir (268). CXCR4 138. kodonda C→T değişimine neden olan bir tek gen polimorfizmine sahiptir (269). Bu polimorfizmin CXCR4'ün ekspresyonunu arttırdığı düşünülmektedir. CXCR4'ün artmış ekspresyonu birtakım kanserlerle ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, CXCR4 artmış mRNA ve protein seviyeleri prostat kanseri ile ilişkili bulunmuştur (270).

1.3.4 Kemokinler ve OSB

Kemokin ve onların reseptörlerinin beyinde önemli bir kontrol edici sistemi oluşturdukları gösterilmiştir. Günümüzde Santral sinir sistemi (SSS)'nin endojen hücrelerini oluşturan astrositler, oligodendrositler, mikroglia ve nöronlar tarafından farklı kemokinlerin sentez edildiği bilinmektedir (9). Bu endojen hücrelerin tümü fonksiyonel kemokin reseptörü de eksprese etmektedirler (10). Yapılan çalışmalarda analiz edilen 29 sitokin seviyesinden 8'inde otizm tanısı olan çocuklarda tanı almayan çocuklara oranla belirgin düşüklük saptanmıştır (271). Amniotik sıvıda kemokin düzeylerini incelendiği bir çalışmada bir kemokin olan MCP 1 (monocyte chemoattractant protein) seviyeleri yüksekliği ile otizm arasında ilişki saptanmıştır (79). Otizm spektrum bozukluğunun inflamatuvar bileşenleri olduğu birçok çalışmada tanımlanmıştır. Bir kemokin olan IL-8 otizm spektrum bozukluğu tanılı ve sağlıklı bireylerin beyin korteksinde karşılaştırılmış ve IL-8 düzeyi kontroller ile karşılaştırıldığında dramatik oranda artış görülmüştür (272). OSB'nin iltihabi bir komponentinin olduğu kabul edilir (273). Otizm spektrum bozukluğu olan çocuklarda kemokin düzeyleri ile iletişim bozukluğu arasında da bağlantı olduğu gösterilmiştir (274). Anormal immün yanıtın otizm için biyolojik belirleyici olarak da kullanılabileceği gösterilmiştir (15). Kemokinlerin nörolojik migrasyon ve immün sistemdeki rolleri (nöroinflamasyon) düşünüldüğünde OSB etiyojisi açısından önemli oldukları görülmektedir. Sitokinlerin nöropsikiyatrik hastalıklardaki serum seviyeleri ve in vitro üretimleriyle ilgili çok sayıda yapılmış olan bildirimler, bu moleküllerin bu hastalıkların patogeneğinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (275). Sitokemokin sistemi ve onların reseptörlerinin merkezi sinir sistemi ile immün sistem arasındaki karşılıklı iletişimi sağlayan

önemli bir sistemi kontrol ettikleri belirlenmiştir (7). Birçok çalışmada, kemokin ve onların reseptörlerinin ekspresyonunun multiple skleroz, alzheimer ve parkinson gibi nöroinflamatuvar hastalıklarda artmış olduğu tesbit edilmiştir (235). Bu bulgular kemokinlerin, lökositlerin inflamasyon ve gelişim sırasında merkezi sinir sistemine geçişini kontrol etme yeteneğine sahip olduklarını göstermiştir. Glial kemokinlerin SSS enflamasyonunda önemli rol oynadıklarını gösteren çalışmalar vardır (11). Dolayısıyla glial kemokin ekspresyonunu inhibe etmeye yönelik tedaviler nörodejeneratif hastalıklarda kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalarda glial kemokinlerin, sitokinler, bakteriyel toksinler, β -amilod veya viral proteinler gibi çok sayıda pro-enflamatuar ve anti-enflamatuar faktörler tarafından tetiklendiği gösterilmiştir (276). SSS'ye hücre göçünün tipi ve oluşacak immün yanıt, patolojik sürecin tipine göre eksprese olan kemokinle direkt ilişki gösterir (12). SDF 1 ve CXCR4 embriyonik beyinde de yüksek oranda saptanmıştır ve bu kemokin ve ligandların bloke edilmesi ile nöronal kök hücre migrasyonunun (göçünün) inhibe edildiği görülmüştür (13). Genetik lezyonların internöronal gelişimin kurulu moleküler mekanizmalarını bozarak otizm ve şizofreni gibi hastalıklarda davranış bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmada azalmış 22q11.2 geni dozunun kortikal gelişim sirkülasyonunu CXCR4 aracılığı ile bozarak internöronal göç ve konumlamayı bozduğu tespit edilmiştir (14). Eldeki veriler immün sistem bozukluklarının OSB patofizyolojisinde yeri olduğunu düşündürmektedir. Sitokinlerin OSB için biyolojik yatkınlık belirleyicileri olarak kullanılabileceği düşünülmüştür(15). Yapılan MRI çalışmaları erken gelişim dönemi boyunca nöronlarda migrasyon probleminin şizofreni ve otizm etiyolojisinde önemli bir rol aldığını desteklemektedir (17).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Seçilen Örneklerin Tanımı

Çalışmamıza İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalına daha önce başvurmuş ve çalışmamızın devam ettiği süre içerisinde de kliniğimizde takip edilen hastalarımız arasından seçilen grup alınmıştır. 2-18 yaş arası OSB tanısı konulmuş çocuklar ve bu çocukların biyolojik anne ve babaları katılımın gönüllülük esasına dayalı olduğu şekilde çalışmaya alınmıştır. Toplamda 101 çocuk ve biyolojik anne ve babalarının çalışmamıza katılması planlanmıştır. Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin bilgisi dahilinde (Ek-3) alınan kan örnekleri steril EDTA'lı tüplere aktarılmıştır. Kan örnekleri kliniğimizde tarafından sınıflandırılarak İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı'na gönderilmiştir. DNA'lar en geç bir gün içerisinde çalışılmak suretiyle elde edilmiş ve oda ısısında saklanmıştır. Alınan kan örneklerinden izole edilen DNA'lardan CXCR4 C-138T ve SDF1 3'A polimorfizmlerinin RFLP yöntemi ile analizi çalışılmıştır.

2.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Agaroz (Promega MBG), Amonyum asetat (Sigma A-8920), Amonyum klorür (Sigma A-5666), Amonyum sülfat, Asetik asit (MERCK K-04134156), Borik asit (Sigma B6768), Bromfenol blue (Sigma B-6896), DNA marker (Fermentas), EDTA (Merck K90602121), Etanol (%99 Tekel), Etidyum Bromid (Sigma E-8751), Hidroklorik asit (%37 Merck K-13190114), İzopropanol, Potasyum bikarbonat (Merck K-126223552), Potasyum hidroksit (Sigma P 1767) Primerler (Fermentas), Proteinaz K (Stratagene 300-141) Sodyum dodesil (lauryl) sülfat (Sigma L-5750), Sodyum hidroksit (Merck C754962), Sodyum klorür (Carlo Erba 368257), Trizma baz (Sigma T-1503), dNTP'ler (100 µmol/ml) (Fermentas), Taq polimeraz (5U/µl) (Fermentas), Yükleme Tamponu (Loading Buffer : 6X), Xylene blue (Fermentas), FspBI-MaeI kesim enzimi (Fermentas), Fnu4HI kesim enzimi (Fermentas), PstI kesim enzimi (Fermentas), NlaIII kesim enzimi (Fermentas), PvuII kesim enzimi (Fermentas), Hsp92 kesim enzimi (Fermentas).

2.3 İncelenen Polimorfik Gen Bölgelerine Ait Primer Dizileri

Çalışmada incelenen genlerin polimorfik bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizileri tablo 1-1'de verildiği şekildedir.

Tablo 7: Çoğaltılacak polimorfik bölgelere ait primer dizileri

Gen Bölgeleri	Primerler
CXCR4 C-138T	5'- AACTTCCTATGCAAGGCAGT-3' 5'-TATCTGTCATCTGCCTCACT-3'
SDF1 3'A	5'- CAGTCAACCTGGGCAAAGCC -3' 5'- AGCTTTGGTCCTGAGAGTCC -3'

2.4 Kullanılan Gereçler

Elektroforez için güç kaynağı(Titan plus Helena Laboratories), Elektroforez sistemi(LKB 2013 miniphor electrophoresis, LKB 2012 maxiphor electrophoresis), Hassas terazi (Shimadzu AX200) , Isıtıcılı manyetik karıştırıcı(Elektromag) , Mikrodalga fırın(Philco), Mikrosantrifüj (TDX), PCR cihazı (Applied Biosystems), pHmetre (Hanna), Pipet takımı (Brand), Santrifüj (Hereaus), Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208), Su banyosu (Elektromag), Kodak Görüntüleme sistemi KODAK EDAS 290/UV Transilluminatör), Vorteks karıştırıcı (Nuve mix).

2.5. Kullanılan Çözeltiler

2.5.1. Agaroz Jel Elektroforezi'nde Kullanılan Çözeltiler

2.5.1.1 Etidyum Bromür (10 mg/ml)

10 gram etidyum bromür tartılarak steril ddH₂O ile 10 mililitreye tamamlandı.

2.5.1.2 Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5x)

20 gram Ficoll 400, 1 gram SDS, 0.2 mililitre 0.5 molarlık Etilen diamin tetra asetat, 1 mililitre 1 molarlık Tris (pH 8.0), 200 miligram Brom fenol blue, 200 miligram Xylen cyanol tartılarak steril ddH₂O ile 100 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

2.5.1.3 50x Tris - Asetik asit - Etilen Diamin Tetra Asetat (TAE) Tamponu

242 gram Tris baz tartılarak bir behere alındı. Üzerine 57,1 mililitre Glasiyal asetik asit ve 100 ml 0,5 molarlık Etilen diamin tetra asetat ve 800 mililitre ddH₂O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Balon jojeye aktararak 1 litreye tamamlandı. 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

2.5.1.4 5X Tris-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetat (TBE) Tamponu

54 gram Tris baz ve 27,5 gram Borik asit tartılarak beher içine aktarıldı. Üzerine 20 mililitre 0.5 molarlık EDTA (pH’sı 8.0) ve 800 ml ddH₂O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Çözelti balon jojeye aktararak 1 litreye tamamlandı ve 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Hazırlanan çözelti oda ısısında saklandı.

2.6. Kullanılan Yöntemler

2.6.1. Invitrogen Purelink Genomik DNA Kit ile Kandan DNA İzolasyonu

Invitrogen Purelink Genomic DNA Kit ile izolasyon yapıldı.

2.6.1.1 DNA İzolasyonunda Kullanılan Kit İçeriği ve Hazırlık Aşaması

Invitrogen Purelink Genomic DNA Kit içeriği; RNase, Proteinaz K, PureLink Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu , Elution Buffer, Yıkama Solüsyonu 1 ve Yıkama Solüsyonu 2, PureLink Koleksiyon tüpü .

Başlamadan önce, DNA izolasyon kiti içerisindeki yıkama solüsyonları, her etiketin üstündeki yönergelere uygun olarak PureLink Genomik Yıkama Solüsyonu 1 ve PureLink Genomik Yıkama Solüsyonu 2’ye %96-100 etanol eklenir. Diğer solüsyonlar kullanıma hazır haldedir.

2.6.1.2 Kan Örneklerinden Lizat Hazırlanması

İlk olarak su banyosu veya ısı bloğu 55°C’ye ayarlanır. 200 µl taze veya dondurulmuş kan örneği steril bir mikrosantrifüj tüpü içine alınır. Örnek içine kit ile sağlanan Proteinaz K’dan 20 µl eklenir. Daha sonra örnek içine yine kit ile sağlanan RNaz A’dan 20 µl eklenir, vorteksenerek iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 2 dk inkübe edilir. 200 µl PureLink

Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu eklenir,homojen bir solüsyon eklemek için vorteksleyerek iyice karıştırılır. Protein digesyonunu ilerletmek için 55°C’de 10 dk. inkübasyon yapılır. Lizata 200 µl %96-100 etanol eklenir. Homojen bir solüsyon elde etmek için vortekleyerek 5 saniye iyice karıştırılır. DNA’ya Bağlanma aşamasına geçilir.

2.6.1.3 DNA’ya Bağlanma

Koleksiyon tüpü içinde sağlanan spin kolonu paketten çıkarılır. Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu ve etanol ekli lizatu (~640 µl) PureLink spin kolona eklenir. Kolonu 1 dk. oda sıcaklığında 10.000xg’de santrifüj yapılır. Koleksiyon tüpüne atılır ve kit ile sağlanan yeni bir PureLink Koleksiyon tüpü içine yerleştirilir. DNA yıkama aşamasına geçilir.

2.6.1.4 DNA Yıkama Aşaması

Kolona Etanol ile hazırlanan Yıkama solüsyonu I’dan 500 µl eklenir. Kolonu 1 dk. oda sıcaklığında 10.000xg’de santrifüj yapılır. Koleksiyon tüpünü atınız ve kit ile sağlanan yeni bir PureLink Koleksiyon tüpü içine yerleştirilir. Kolona Etanol ile hazırlanan Yıkama solüsyonu II’dan 500 µl eklenir. Kolon oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dk. santrifüj yapılır. Toplama tüpüne atılır.

DNA Elüsyon aşamasına geçilir.

2.6.1.5 DNA Elüsyon Aşaması

Kolonu steril bir 1,5 ml mikrosantrifüj tüp içine konulur. Kolona 25-200 µl PureLink Genomik Elüsyon Çözeltisi eklenir. Oda sıcaklığında 1 dk. inkübasyon yapılır. Kolonu oda sıcaklığında 1 dk. maksimum hızda santrifüj yapılır. Tüp purifiye genomik DNA içermektedir. Daha fazla DNA kurtarmak için aynı miktarda elüsyon çözeltisi kullanarak yeni steril bir 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne ikinci bir elüsyon aşaması yapılır. Kolon oda sıcaklığında 1,5 dk. maksimum hızda santrifüj yapılır. Tüp purifiye genomik DNA içermektedir. Kolon atılır.

2.6.1.6 DNA Saklama

Purifiye DNA -20°C’de saklanmalıdır.

2.6.1.7 DNA Saflık Tayini

DNA örnekleri Tris-EDTA çözeltisi ile 1/100 oranında sulandırıldı. 260 nm’de DNA’nın ve 280 nm’de RNA ve proteinin vermiş olduğu absorbans Tris EDTA çözeltisi ile spektrofotometre sıfırlanarak ölçüldü.

260 nm’de okunan absorbans / 280 nm’de okunan absorbans oranından DNA saflığı saptandı. O.D.₂₆₀ / O.D.₂₈₀ oranı 1,7-1,8 olan DNA’lar temiz olarak kabul edildi. Bu oranın altında bir değere sahip olan DNA’lara temizleme işlemi uygulandı.

2.6.1.8 DNA Konsantrasyonlarının Hesaplanması

Çift iplikli DNA’nın 260 nm’de vermiş olduğu 1 absorbans 50 µg/ml (50ng/µl)’dir. Bu temel bilgidен faydalanarak DNA formülü aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

DNA Konsantrasyonu (ng/µl): Sulandırma katsayısı (100) x A₂₆₀ x 50

2.6.2. PZR’de Kullanılan Kimyasal Maddeler

Genomik DNA örneklerinde CXCR4 ve SDF1 lokuslarına ait aleller polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltıldı. DNA örneklerinin her birinin amplifikasyonu için toplam 25 µl’lik PZR karışımı hazırlandı. Bu PZR karışımı 100-200 ng DNA, herbir primerden 1µl, 1mM dNTP, 1.5mM MgCl₂ ve 1.0 U Taq DNA Polimeraz olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon reaksiyonları Thermal Cycler’da gerçekleştirildi.

2.6.2.1 DNA Taq polimeraz enzimi (5U/µl) (Fermentas EPO402)

PZR reaksiyonundaki konsantrasyonu 2,5 unite olacak şekilde 25 µl'lik PZR karışımına 0,25 µl eklendi.

2.6.2.2 10 X DNA Taq PZR Tamponu (NH₄)₂SO₄'lü (Fermentas EP0402)

Tris-HCl'den 100mM (pH 8,8, 25°C'de), 500mM KCl ve %0,8 Nonidet P40 içeren 10X Taq PZR tamponundan 25 µl'lik PZR karışımına 1,5 µl eklendi.

2.6.2.3 MgCl₂ (25mM/ml, Fermentas EP0402)

MgCl₂'den 25 µl'lik PZR karışımına 1,5 µl eklendi.

2.6.2.4 dNTP'ler (100 µmol/ml) (Fermentas R0171)

dNTP'lerden (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 10' ar µl alınıp (toplam 40 µl) 1 µl'lik tüpe kondu ve üzerine 960 µl distile su eklenerek (dH₂O) 1000 µl 1mM'lik dNTP karışımı hazırlandı ve -20 °C derin dondurucuda saklandı. 25 µl'lik PZR karışımına 5 µl eklendi.

2.6.3. İncelenen Gen Bölgelerinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması

PZR karışımı her bir örnek için hazırlanarak Tablo 1-2'deki CXCR4, Tablo 1-3'deki SDF-1 için amplifikasyon şartlarına göre PZR cihazında çalışılmıştır.

Tablo 8: CXCR4 polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları

95 °C	5 dakika	
95 °C	1 dakika	} 35 döngü
60 °C	1 dakika	
72°C	1 dakika	
72°C	7 dakika	

Tablo 9: SDF1 polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları

95°C	5 dakika	
95°C	30 saniye	} 35 döngü
61°C	35 saniye	
72°C	45 saniye	
72°C	10 dakika	

2.6.4. %3'lük Agaroz Jel Hazırlanması

Agarozdan 6 gr tartılarak ölçülü kap içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml olarak şekilde 1X TBE tamponu eklendi ve mikrodalga fırında ısıtılarak çözündürüldü. Ölçülü kabın sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde çözünmüş agaroz jel içine 4µl etidyum bromür ilave edildi. Hazırlanan jel, jel yatağına dökülerek, yükleme kuyucuklarının oluşması için önceden yüksekliği ayarlanmış tarak yerleştirilerek çeker ocak içinde donmaya bırakıldı. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

2.6.4.1. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel'e Yüklenmesi

Jel hazırlandıktan sonra 1X TBE tamponu içeren elektroforez tankı içine uygun şekilde konuldu. TBE tamponun jelin üzerini 2-3 ml geçecek miktarda olmasına dikkat edildi. 20µl PZR ürününe, 2µl yükleme tamponu eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. Örnek karışımından 20µl'lik alınarak kuyucuklara sırayla yükleme yapıldı. Yükleme işleminden sonra jel tankının kapağı dikkatlice kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 500 miliamper ve 100 volt elektrik gücüne ayarlanarak elektroforez jel yürütülmesi gerçekleştirildi. Örneklerin jel içinde istenilenden fazla yürümemesi için elektroforez işleminin süresine dikkat edilmelidir.

2.6.4.2. PZR Ürünlerinin Kontrolü

Yürütme işleminden sonra jel UV ışık altında PZR ürünleri incelendi ve fotoğrafı UV transillüminator düzeneğinde çekildi. PZR ürünleri 100 bp'lık DNA marker ile birlikte yürütüldü.

2.6.5. CXCR4 C-138T polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

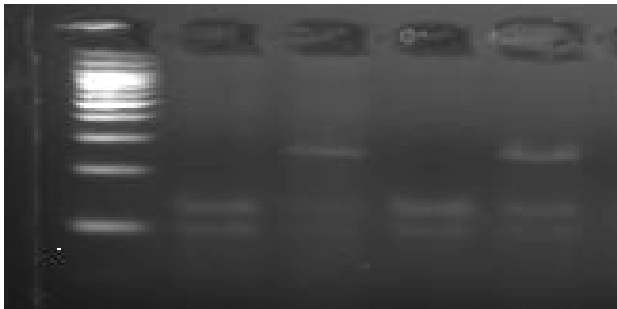
PZR ürünleri BclI enzimi ile kesilmiş ve % 3'lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur. PZR ürünü saptanmış örnekler için restriksiyon enzim kesimi Tablo 1-4'de belirtilen çözeltilerin ve BclI enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kesim işlemi BclI enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de 2 saat sürmüştür.

Tablo 10: BclI enzimi için kesim protokolü

Malzeme Adı	Miktarı
Distile Su	2,5 µl
Buffer Tango	2 µl
BclI	0,5 µl
PZR ürünü	15 µl

DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. T aleli 236 bp, C alleli 133 ve 103 bp da bant vermektedir.

0bp marker CC TT CC TC



Şekil 1: CXCR4 C-138T polimorfizmine ait jel görüntüsü

2.6.6. SDF1 3'A polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

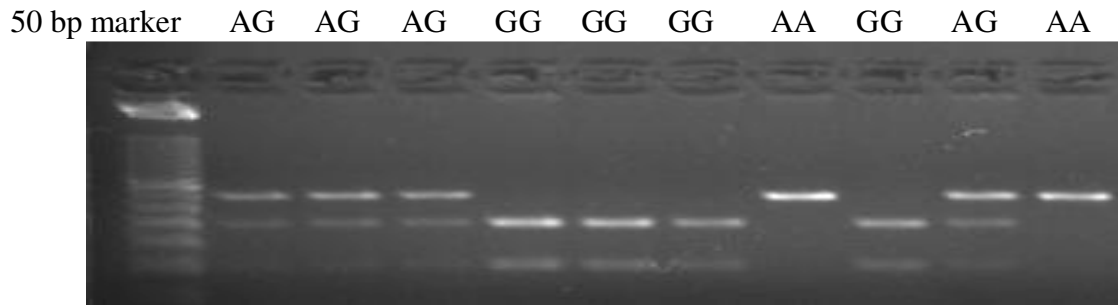
PZR ürünleri PvuII enzimi ile kesilmiş ve %3'lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

PZR ürünü saptanmış örnekler için restriksiyon enzim kesimi Tablo 1-9'da belirtilen çözeltilerin ve MSPI enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Kesim işlemi, PvuII enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de 12-16 saat sürmüştür.

Tablo 11: PvuII enzimi için kesim protokolü

Malzeme Adı	Miktarı
Distile Su	1,5 µl
Buffer G	1,4 µl
PvuII	0,3 µl
PZR ürünü	15 µl

PZR ile çoğaltılan SDF lokusuna ait fragman MSPI restriksiyon endonükleaz ile kesilmiş ve daha sonra % 3 lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur. DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. A alleli 302 bp, G alleli 201 ve 101 bp da bant vermektedir.



Şekil 2: SDF1 3'A polimorfizmine ait jel görüntüsü

2.7 Klinik Teşhisler ve Hasta Grupları

Çalışmaya İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na daha önce başvurmuş ve çalışmamız sürecinde de takip edilen, 2–18 yaş arasındaki OSB tanısı almış çocuk ve ergenler ve bu çocukların biyolojik anne ve babaları dahil edilmiştir.

Çalışmaya alınan olgular için işleme ölçütleri:

- 2 – 18 yaş arasında olmak
- DSM – IV tanı kriterlerine göre Otistik Bozukluk, Atipik Otizm (BTA-YGB) veya Asperger Bozukluk tanısına sahip olmak
- Araştırmaya katılmayı kabul etmiş olmak
- Biyolojik anne ve babalarının hayatta olmaları

Çalışmanın dışlama ölçütü: Kronik sistemik hastalığı olan, akut ve kronik inflamatuvar hastalığı olan, doğumsal metabolik hastalığı olan veya ciddi kafa travması olan hastalar olarak belirlendi.

İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda OSB ön tanısı ile takip edilen hastaların dosyaları incelenmiş, işleme ölçütlerini karşılayan olgular görüşmeye alınmıştır. Görüşme sırasında ebeveynlere araştırmanın içeriği ve amacı açıklanmış, çalışmaya katılmayı kabul eden aileler değerlendirilmiştir. Ön görüşmede ebeveynlerden alınan bilgi ve olguların gözlemi ile DSM IV Otistik Spektrum Bozukluklar Ölçütleri kullanılarak OSB tanısı doğrulanmış ve belirtilerin dağılımı saptanmıştır. Daha sonra derecelendirme için Çocukluk Otizmi Değerlendirme Ölçeği (ÇODÖ) uygulanmış ve yapılan değerlendirmeler sonucunda bütün aileler çalışmaya alınmıştır. (n:101)

2.7.1 Veri Formu

Veri formu ebeveynlerden ve tıbbi dosyadan alınan bilgilere göre araştırmacı tarafından hazırlanmış ve doldurulmuştur (Ek-2) . Veri formu üç bölümden oluşmaktadır:

- Sosyodemografik ve adres bilgileri (çocuğun adı, soyadı, doğum yeri, doğum tarihi, cinsiyeti, iletişim bilgileri, kardeş sayısı, eğitim durumu, özel eğitim süresi, anne ve babanın yaşları, mesleği ve eğitim durumu, akraba evliliği olup olmadığı)
- Çocuğun psikonöromotor gelişimi (hamilelik, doğum şekli, anne sütü alma süresi, motor gelişimi, dil gelişimi, ilk klinik başvurunun zamanı ve şikâyeti, aldığı diğer psikiyatrik tanılar, daha önceki ilaç kullanımları, başvuru sırasındaki ilaç kullanımı)
- Eşlik eden tıbbi durumlar, özgeçmiş, soy geçmiş bilgileri, tıbbi dosyalardan edinilen tetkik sonuçlarına dair bilgiler (epilepsi, EEG, MRG, ZG, işitme testi, metabolik inceleme)

2.7.2 Çocukluk Otizmi Değerlendirme Ölçeği (ÇODÖ)

Çocukluk Çağı Otizm Değerlendirme Ölçeği-ÇODÖ, 15 maddeden oluşan, otizmi olmayan çocukları, otizm sendromundan ayırmak amaçlı olarak geliştirilmiş bir davranışsal derecelendirme ölçeğidir. Özellikle otistik çocukları, eğitilebilir zeka geriliği olan çocuklardan ayırmada etkindir. Aynı zamanda, otizmin şiddetini hafif-orta ve orta-ağır olarak belirlemeye olanak sağlar. ÇODÖ derecelendirmesi; klinik görüşme sırasında, sınıf içi gözlemlerle, anababadan alınan bilgilerle ve dosya kayıtlarından yapılabilir. Gerekli olan tüm veriler toplanmadan derecelendirme yapılmamalıdır. Derecelendirmeyi yapan kişi, tüm maddeler ve derecelendirme kuralları ile ilgili bilgilendirilmiş olmalıdır. Gözlem sırasında çocuğun davranışları, aynı yaştaki normal bir çocuk ile karşılaştırılmalıdır. Davranıştaki gariplik, davranışın sıklığı, süresi ve yoğunluğu değerlendirilmelidir. Bu ölçeğin amacı, nedensel açıklamalar olmaksızın davranış derecelendirmektir. Gözlenen bazı davranışlar, otizm dışındaki bozukluklardan da kaynaklanıyor olabilir; bu nedenle, davranışın normalden ne kadar sapma gösterdiği, nedenine yönelik yargılamalar olmaksızın derecelendirilmelidir. Otistik çocuklar ile diğer gelişimsel bozuklukları olan çocukları toplam puan ve bozulmanın tipi ile ayırt edilir. Verilecek puana karar vermeden önce maddelerin davranışsal açıklamalarının okunması yardımcı olmaktadır. Maddelerin her biri 1'den 4'e kadar derecelendirilir, buçuklu puanlar verilebilir. "1" o yaş çocuğu için normal sınırlarda davranışı, "2" hafif, "3" orta, "4" ağır düzeyde anormalliği gösterir. ÇODÖ değerlendirmesi sırasında, her maddenin puanlama açıklamalarının bulunduğu ölçek ve puanların not edildiği değerlendirme formu (Ek-1) kullanılır. Değerlendirme formunda, olgunun adı, doğum tarihi, değerlendirmenin yapıldığı tarihi, ÇODÖ madde puanlarının ve toplam puanın kaydedildiği bölümler vardır. Değerlendirmenin ardından 15 maddeden alınan puanlar toplanır. Son sınıflandırma toplam puan üzerinden yapılır. Toplam puan en az 15, en fazla 60 olabilir. Tanı

sınıflandırması, uzman görüşmecilerin 1500'ün üzerinde çocukla yaptığı görüşmelerden alınan ÇODÖ puanlarının değerlendirilmesi ile oluşturulmuştur. Puanlamaya göre: 15-29,5 puan alan çocuklar otistik değildir, 30-36,5 puan alan çocuklar hafif-orta otistik, 37-60 puan alanlar ağır otistikdir. 30 ve üzeri puan alan, ancak DSM-IV-TR'ye göre OB tanısı almayan hastalar için, RB, ÇDB, AB, YGB-BTA tanıların değerlendirilmesi gereklidir. 30'un altında puan alan OB hastalarının hastalık şiddetinin hafif-orta olabileceği düşünülür. ÇODÖ'nün değerlendirmenin son noktası olmadığını vurgulamak gereklidir. Aksine, olguların özelliklerini anlamak, özgül sorunlarını saptamak ve bireysel tedavilerini yönlendirmede ilk basamak olarak kullanılabilir (277).

2.8 İstatistiksel Uygulamalar

2.8.1 P (Anlamlılık Değeri)

Değerlerin istatistiksel olarak kıyaslanmasında kullanılan anlamlılık değeri (P), bu tezde araştırılan farklılıklar aşağıda verilen derecelerde kabul edildi:

- Önceden bir hipotez varsa P'nin bir kuyruklu (iki kuyrukluğun yarısı) dağılımı
- Önceden bir hipotez yoksa P'nin iki kuyruklu dağılımı
- $P > 0.05$ anlamlı fark yok
- $P < 0.05$ anlamlı fark var
- $P < 0.01$ ileri düzeyde anlamlı fark
- $P < 0.001$ çok ileri düzeyde anlamlı fark

2.8.2 Ki Kare Testi (X^2)

Nitel sayısal verilerin karşılaştırılmasında kullanılan nonparametrik X^2 (Chi square) testi bu tezde, risk alellerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımlarının anlamlılığını, ikiye iki kontenjans tabloları ile 1 serbestlik derecesinde (sd) test etmek amacı ile kullanılmıştır. Bununla birlikte hasta çocukların CARS puanları, IQ skoru, cinsiyet, klinik özellikler (komorbite, gelişim süreçleri), aile özellikleri gerek genotiplerine bağlı olarak gerekse bağımsız olarak test etmek için uygulanmıştır. Testlerin bir kısmı SPSS yazılım programı içinde bir kısmı da GraphPad yazılım programını kullanılarak uygulanmıştır (278).

2.8.3 t Testi

İki aritmetik ortalama arasındaki farkın anlamlılığını test etmede kullanılır. İki ölçüm birbirinden farklı mıdır?

1) Bir grubun bir niteliğe ait ölçümlerinin ortalaması önceden bilinen bir değerden farklı mıdır? (One-Sample t test)

2) İki ayrı grubun aynı niteliğe ait ölçümlerinin ortalamaları farklı mıdır? (Independent-sample t test)

3) Bir grubun iki ayrı niteliğe ait ölçümlerinin ortalamaları farklı mıdır? (Paired-sample t test)

Bağımlı değişken eşit aralıklı veya eşit oranlı olmalıdır. Bu test SPSS yazılım programında kullanılmıştır (278).

2.8.4 ANOVA (varyans analizi)

Varyans analizi veya ANOVA, gözlenen varyansı çeşitli kısımlara ayırma yöntemiyle bazı değişkenlerin başka bir değişken üzerindeki etkisini incelemeye yarayan bir grup modelleme türü ve bu modellerle ilişkili işlemlere verilen genel isimdir. ANOVA bağımsız değişkenlerin kendi aralarında nasıl etkileşime girdiklerini ve bu etkileşimlerin bağımlı değişken üzerindeki etkilerini analiz etmek için kullanılır. Bağımsız değişkende çok sayıda grup varsa ANOVA kullanılır. ANOVA, anakütle ortalamaları arasında farkın olup olmamasını sınar. Anlamlı olarak fazla kalıtılmış aleller ile CARS skoru, IQ skoru, anne yaşı, konuşma zamanı gibi kantitatif analizlerin korelasyonu yani çoklu karşılaştırmalar ANOVA ile yapılmıştır.

2.8.5 Risk Hesapları

2.8.5.1 Relatif Risk

Relatif Risk hesapları, bir faktörün hasta grubunda kontrol grubuna oranla görülme sıklığını hesaplayıp test edilen faktör ile hastalık arasındaki ilişkinin gücünü açıklamaya yarar. Bu çalışmada aday genin otizmdeki relatif riski, Haplotip Relatif Risk tablolarından yararlanarak, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (279).

$$\text{Relatif Risk(RR)} = [a / (a+c)] / [b / (b+d)]$$

a= Risk aleli kalıtmış hastanın sayısı

b= Risk aleli kalıtmamış hastanın sayısı

c= Diğer aleli kalıtmış kontrollerin sayısı

d= Diğer aleli kalıtmamış kontrollerin sayısı

Relatif risk bir değeri, iki grupta, yani aleli taşıyan ve taşımayanlar gruplarında hastalığın görülme sıklığının eşit; birden fazla ise, hastalığın riskinin aleli taşıyanlarda arttığını; birden küçük ise; riskin azaldığını işaret eder. Relatif Risk için Güven Aralığı (G.A.), ki kare (karekökü) değeri üzerinden %95 doğruluk düzeyi kabul edilerek, aşağıdaki formülle hesaplanır (279).

$$\%95 \text{ G.A} = \text{RR}^{(1 \pm 1.96/x)}$$

RR= Relatif Risk X= Ki

2.8.5.2 İhtimal Oranı

Hasta grubundaki risk aleli taşıyanların taşımayanlara, kontrol grubuna oranla kontrol grubundaki risk aleli taşıyanların taşımayanlara ihtimalidir (279).

$$\text{İhtimal Oranı} = ad / bc$$

2.8.5.3 Yüklenen Kesit

Risk unsurunun araştırılan fenotipin, populasyon geneline oranındaki etkisi yüklenen kesit olarak tanımlanır. Bu kesit, artmış risk hakkında relatif riskten daha anlamlı bilgi verir. Çünkü risk unsurunun populasyon üzerindeki etkisi bu risk altında olan grubun frekansına

bağlıdır. Diğer bir deyişle, populasyon temelinde az relatif riskle ilişkilendirilmiş fazla sıklıkta görülen bir hastalık, yüksek relatif riskle ilişkilendirilmiş nadir görülen bir hastalıktan, neden olduğu ölümler açısından daha ciddi olabilir. Yükselen kesit aşağıda verilen formülden hesaplanmıştır (279).

$$\text{Yüklenen Kesit (Y.K)} = [f (R.R-1)] / [1+f (R.R-1)]$$

f = İlişkilendirilmiş alelin kontrol grubundaki frekansı

R.R = Relatif Risk

2.8.6 Aile temelli ilişki analizleri

Bir genin alleli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha sık bulunuyorsa bu gen hastalıkla ilişkilidir denir. Populasyon tabakalaşmasının analizleri etkilememesi , daha ziyade yalancı pozitif anlamlılıkların önüne geçmek için bu tezde aile temelli ilişki analizleri uygulandı. Bu tezde analizlerde dışarıdan seçilmiş bir kontrol grubu yerine akrabalarından oluşmuş bir kontrol grubu kullanıldı. Bu çalışmada aday genlerin OSB ile olan ilişkileri iki tip analizle irdelenmiştir.

a. Haplotip relatif risk (HRR)

b. Kalıtılabilme eşitsizliği testi (transmission disequilibrium test, TDT).

2.8.6.1 Haplotip temelli haplotip relatif risk analizi

Haplotip Relatif Risk (HRR) analizi en az bir etkilenmiş çocuğu olan çekirdek ailelerden veri elde ederek anne baba ve hasta çocuk üçlülerini irdeler. Her aile içinde hasta grubu etkilenmiş çocuğun genotipi, kontrol grubu ise de anne babadan çocuğa kalıtılmamış genotipten oluşan yapay bir gruptur. HRR'nin bu çalışmada kullanılan haplotip temelli olanıdır ki bu genotipler yerine allelleri karşılaştırılır. Böylece her anne baba çocuk üçlüsünde kalıtılmış iki allellerin ve kalıtılmamış iki allellerin frekansları karşılaştırılır. Sonuçta her üçlü iki ayrı hasta grubu gibi değerlendirilir. İstatistiksel olarak anlamı 2'ye 2 kontenjans tablosu oluşturularak ki kare testi ile 1 sd'de test edilir. Eğer test edilen polimorfizm iki allelli ise

birinin kalıtılabilirliği diğeriyle karşılaştırılır, ikiden fazla ise teki diğer tüm allellerden oluşan gruba karşı test edilir.

2.8.6.2 Kalıtılabilme eşitsizliği testi (KET) (TDT)

HRR analizi anne babadan kalıtılmış ve kalıtılmamış allellerin ikili gözlemler olduğunu varsaymaz. Kişisel geçişi göz önünde tutan McNemar testleri ile gerçek ilişkinin daha emin ortaya çıkartılabileceği öne sürülmektedir. Bu yöntemi uygulayan kalıtılabilirlik eşitsizliği testleri bu çalışmada kullanılmıştır. Burada test edilen ünite yine üçlülerdir. Sadece aday gen heterozigot olan anne veya babadan kalıtılmış ve kalıtılmamış genlerin sayısı karşılaştırılır. Ortaya çıkan KET istatistiği, HRR gibi, ki kare dağılımı gösterir ve p değeri 1 sd'de bulunur.

Kalıtılabilme Eşitsizliği Testi (KET) = $(b-c) / (b+c)$

b = Heterofizot anne-babadan kalıtılmış alellerin sayısı

c = Heterofizot anne-babadan kalıtılmamış alellerin sayısı

KET : ki kare, 1 sd

KET'in en önemli özelliği ilişkinin yanında bağlantıyı da test etmesidir. Çünkü aday allelin kalıtılabilirlik ihtimali göz önünde bulundurulur. Sıfır Hipotezi (H_0), Mendel ayırışım yasasına göre, heterozigot anne babadan hasta çocuğa her allelin aynı ihtimalle geçmesidir. Eğer gen ile hastalık arasında ilişki veya bağlantı varsa, risk allelinin kalıtılabilirliği %50'den fazla olur (280, 281).

2.8.6.3 Genişletilmiş Kalıtılabilme Eşitsizliği Testi (GKET)

Çok çeşitli allelleri olan polimorfizmlerin ilişkileri KET temelli Extended Transmission Disequilibrium Test (ETDT) analizlerinde yapılabilmektedir. Burada üç ana hipotez test edilir:

1) Her allel için KET heterozigot anne-babadan hasta çocuğa kalıtılabilirlik ihtimalini hesaplar. Böylece her allelin diğer allel gruplarına karşı kalıtılabilme farklılıkları görülür. Burada istatistiksel düzeltme önerilir.

2) Allellerin kalıtılma eşitsizliği her heterozigot anne-baba genotipi göz önünde bulundurularak hesaplanır. Bu da ki kare testi olup sd gözlenen genotip sayısına eşittir.

3) Allel temelli analiz ise lojistik regresyonla allellerin kalıtılmasında sapmayı hesaplar (281).

3. BULGULAR

Çalışmaya katılan populasyon 16 kız 85 erkek olmak üzere 101 çocuk ve onların biyolojik anne-babaları oluşmak üzere toplam 303 kişiden oluşmaktadır. Çocukların yaşları en küçüğü 3, en büyüğü 18, ortalaması ise 9.86 olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya alınan olguların 61'i (%60,4) sağ elini, 21'i (%20,8) sol elini ve 19'u (%18,8) de her iki elini kullanmaktaydı. Çalışmadaki 19(%18,8) çocuğun hiç kardeşi yokken 40 (%36,9) çocuğun bir kardeşi, 29 (%28,7) çocuğun iki kardeşi, 8 (%7,9) çocuğun üç kardeşi ve 5 (%5) çocuğun dört kardeşi mevcuttu. Çocukların anne ve babaları arasında akrabalık 82 (%80,2) olguda yokken 19(%18,8) olguda mevcuttu. Olguların 86'sı (%85,1) annede normal gebelik sürecinden geçmişken 15'inde (%14,9) annenin gebeliği sırasında problem saptanmıştı. Olguların 58'i (%57,4) normal doğumla dünyaya gelmişken 43'ünün (%42,6) sezeryanla doğduğu tespit edildi.

Çalışmaya alınan otistik çocukların gelişim basamakları değerlendirildiğinde 66'sı (%65,3) ilk sekiz ayda desteksiz oturmuşken 28'i (%27,7) sekiz on beş ay arasında desteksiz oturmuştur ve 7'si (%6,9) on beş aydan sonra desteksiz oturmuştur. Olguların 62'si (%61,4) ilk onbeş ayda, 28'i (%27,7) onbeş yirmidört ay arasında ve 10'u (%9,9) da yirmidört aydan sonra yürürken 1'i (%1) hiç yürüyememektedir. Olguların 12'sinin (%11,9) kelimelerinin ilk 15 ayda, 23'ü (%22,8) 2 yaşına kadar 45'i (%44,6) 2 yaştan sonra ortaya çıktığı ve 21'inin (%20,8) hiç kelimesi olmadığı tespit edilmiştir. Olguların 2'sinin (%2,0) ilk 2 yaşında cümle kurabildiği, 10'unun (%9,9) 2-3 yaş arası, 39'unun (%38,6) 3 yaştan sonra cümle kurduğu ve 50'sinin (%49,5) hala cümle kuramadığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızdaki otistik çocukların 67'sinde (%66,3) komorbid bir hastalık mevcutken 34'ünde (%33,7) komorbid duruma rastlanmamıştır. Olgular farmakoterapi açısından değerlendirildiğinde 20'si (%19,8) ilaç kullanmazken 81'i (% 80,2) ilaç kullanmaktaydı. Olguların 75'inin (%74,3) özgeçmişinde özellik yokken 26'sında (%25,7) özellik mevcuttur, bunun yanında olguların 69'unun (%68,3) soygeçmişinde özellik yokken 32'sinde (%31,7) özellik vardır.

IQ	Sayı	Yüzde %
normal	7	6,9
sınır	8	7,9
hafif	30	29,7
orta	34	33,7
ağır	20	19,8
çok ağır	2	2,0
Total	101	100,0

Tablo12: Zeka Düzeyleri

Zeka puanlarının değerlendirmesinde IQ skoruna göre normal (>90), sınırda mental retardasyon (MR) (70-90), hafif MR (50-69), orta MR (35-49), ağır MR (20-34) ve çok ağır MR (<20) olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmadaki çocuklar IQ skorları üzerinden değerlendirildiğinde ise 7'sinde (%6,9) normal IQ değeri, 8'inde (%7,9) sınır mental kapasite, 30'unda (%29,7) hafif derecede mental retardasyon, 34'ünde (%33,7) orta derecede mental retardasyon, 20'sinde (%19,8) ağır derecede mental retardasyon ve 2'sinde (%2,0) çok ağır derecede mental retardasyon tespit edilmiştir.

Yapılan CARS değerleri minimum 30 puan çıkmışken maksimum 54,5 puan hesaplanmıştır ve ortalama CARS puanı 38.995'tir. Yapılan CARS ölçeği skorları değerlendirmelerini içeren veriler Tablo14'te verilmiştir.

N=101 yaş		CARS	anne yaşı	baba yaşı
Ortalama	9,86	38,995	27,52	31,32
Minimum	3	30,0	17	21
Maximum	18	54,5	41	59

Tablo14: CARS skoru ve yaş dağılımı

Cinsiyet	Kadın	16	%15,8
	Erkek	85	%84,2
Dominant El	Sağ	61	%60,4
	Sol	21	%20,8
	Heriki El	19	%18,8
Kardeş sayısı	0	19	%18,8
	1	40	%39,6
	2	29	%28,7
	3	8	%7,9
	4	5	%5,0
Akrabalık	Yok	82	%81,2
	Var	19	%18,8
Gebelik	Normal	86	%85,1
	Anormal	15	%14,9
Doğum	Normal	58	%57,4
	Sezeryan	43	%42,6
Oturma	8ay	66	%65,3
	8-15ay	28	%27,7
	15 ay >	7	%6,9
Yürüme	15ay	62	%61,4
	15-24ay	28	%27,7
	24 ay >	10	%9,9
	yok	1	%1,0
Kelime başlaması	15ay	12	%11,9
	15-24ay	23	%22,8
	24 ay>	45	%44,6
	Yok	21	%20,8
Cümle Kurma	24ay	2	%2,0
	24-36ay	10	%9,9
	36 ay >	39	%38,6
	Yok	50	%49,5
Ek Tanılar	Yok	34	%33,7
	Var	67	%66,3
İlaç Kullanımı	Yok	20	%19,8
	1 adet 1'den fazla	34	%33,7
		47	%46,5
Özgeçmiş Özellik	Yok	75	%74,3
	Var	26	%25,7
Soygeçmiş Özellik	Yok	69	%68,3
	Var	32	%31,7

Tablo 15 Sosyodemografik veriler

Çocuk ve anne-babalarında CXCR4 C138T C→T değerlendirmesi amacıyla yapılan genotip ve alel dağılımı Tablo 16 da verilmiştir.

Burada görüldüğü gibi C aleli 87 (%98), T aleli 16 (%18) çocukta mevcuttur. Annelerde C aleli 86 (%97), T aleli 18 (%20), babalarda C aleli 84 (%95), T aleli 16 (%18) mevcuttur. Aynı değerlendirmede genotip olarak çocuklarda CC 72 (%81) bulunurken 15 TC (%17) ve TT 1 (%0.1) mevcutmuş. Annelerde CC 70 (%79), TC (%18), TT 2 (%0.2) genotipi varken, babalarda bu sayılar CC 72 (%81) , TC 12 (%13) ve TT 4 (%0.4) şeklindedir.

CXCR4 --88 HASTA	C ALELİ	T ALELİ	CC	TC	TT
ÇOCUK	87	16	72	15	1
ANNE	86	18	70	16	2
BABA	84	16	72	12	4

Tablo 16 : CXCR4 C138T C→T genotip ve alel dağılımı

Çocuk ve anne-babalarında SDF-1 G801A G→A değerlendirilmesi amacı ile yapılan genotip ve alel dağılımları Tablo 17 de gösterilmiştir.

Burada görüldüğü gibi A aleli 51 (%50), G aleli 94 (%93) çocukta mevcuttur. Annelerde A aleli 48 (%47), G aleli 93 (%92), babalarda A aleli 51 (%50), G aleli 92 (%91) mevcuttur. Aynı değerlendirmede genotip olarak çocuklarda AA 7 (%0.6) bulunurken AG 44 (%44) ve GG 50 (%49) mevcutmuş. Annelerde AA 8 (%0.7), AG 40 (%39), GG 53 (%52) genotipi varken, babalarda bu sayılar AA 9 (%0.8) , AG 42 (%51) ve GG 50 (%49) şeklindedir.

SDF 1 3'A- 101 HASTA	A ALELİ	G ALELİ	AA	AG	GG
ÇOCUK	51	94	7	44	50
ANNE	48	93	8	40	53
BABA	51	92	9	42	50

Tablo 17 : SDF-1 G801A G→A genotip ve alel dağılımı

SDF-1 G801A G→A TDT analizi verileri tablo 18 de verilmiştir. SDF1 3'A gen polimorfizmi açısından elde edilen genetik polimorfizm sonuçları üzerinden değerlendirme yapıldığında heterozigot anne babadan hasta çocuğa geçişi sağlayan ve bu bağlantıyı test eden TDT ile incelendiğinde hasta çocuklara kalıtımın anlamlılık derecesine ulaşamadığı (P: 0.500) saptanmıştır.

TDT SDF1 3'A	A	G	TOPLAM
KALITMIŞ	41	41	82
KALITMAMIŞ	41	41	82
TOPLAM	82	82	164

Tablo 18 : SDF-1 G801A G→A TDT analizi

SDF-1 G801A G→A HRR analizi tablo 19 da gösterilmiştir. SDF1 3'A gen polimorfizmi açısından elde edilen genetik polimorfizm sonuçları üzerinden değerlendirme yapıldığında, HRR ile incelendiğinde hasta çocuklara kalıtımın anlamlılık derecesine ulaşamadığı (P: 0.500) saptanmıştır.

HRR SDF1 3'A	HASTA	KONTROL
AA	7	10
AG	44	38
GG	50	53
TOPLAM	101	101

Tablo 19 : SDF-1 G801A G→A HRR analizi

CXCR4 C138T C→T TDT analizi tablo 20'de verilmiştir. CXCR4 C-138 T gen polimorfizmi açısından elde edilen genetik polimorfizm sonuçları üzerinden değerlendirme yapıldığında heterozigot anne babadan hasta çocuğa geçişi sağlayan ve bu bağlantıyı test eden TDT ile incelendiğinde hasta çocuklara kalıtımın anlamlılık derecesine ulaşamadığı (P:0.0544) saptanmıştır

TDT CXCR4 C-138 T	T	C	TOPLAM
KALITMIŞ	11	17	28
KALITMAMIŞ	17	11	28
TOPLAM	28	28	56

Tablo 20 : CXCR4 C138T C→T TDT Analizi

CXCR4 C138T C→T HRR Analizi tablo 21' verilmiştir. CXCR4 C-138 T gen polimorfizmi açısından elde edilen genetik polimorfizm sonuçları üzerinden değerlendirme yapıldığında HRR ile incelendiğinde hasta çocuklara kalıtımın anlamlılık derecesine ulaşamadığı (P: 0.1568) saptanmıştır

HRR CXCR4 C-138 T	HASTA	KONTROL
CC	72	70
TC	15	13
TT	1	5
TOPLAM	88	88

Tablo 21 : CXCR4 C138T C→T HRR Analizi

4.TARTIŞMA

SDF1/CXCR4 gibi kemokin ve kemokin reseptörleri üzerinden yapılan çalışmaları incelediğimizde nörolojik ve psikiyatrik hastalıklarda kemokinlerin rolleri üzerinde durulduğunu yazında görmekteyiz. Özellikle inflamtuar süreçlerdeki rolleri ve hücre migrasyonlarındaki rollerinin önemli olduğu incelemiş olduğumuz çalışmalarda görülmüştür. Yapmış olduğumuz bu çalışmada aile temelli ilişki analizleri kullanılarak klinik özellikleri ayrıntılı olarak bilinen OSB tanısı almış 101 çocukta SDF-1 genleri ve 88 çocukta CXCR4 geni ile OSB arasında da anlamı bir ilişki bulunamamıştır. Otizmin genetiğinin araştırıldığı bir çok çalışma olmasına rağmen, otizmle alakalı SDF-1/CXCR4 genleri polimorfizmini içeren çalışmalar dan daha fazla oranda kemokinlerin nörolojik ve psikiyatrik hastalıklardaki rollerini içeren çalışmalar mevcuttur. Öncelikle belirtmek gerekir ki, bu çalışma OSB’da SDF-1 G801→A (SDF-1 3'A olarakta adlandırılır) ve CXCR4 C 138-T C→T polimorfizmi açısından yapılmış bilinen ilk çalışmadır. Daha önce yapılmış SDF-1/CXCR4’ün OSB ve diğer nöropsikiyatrik hastalıklardaki rolünü inceleyen çalışmaları göz önüne alarak çalışmamızın değerlendirmesini yapmaya çalışacağız.

Kemokinler birçok fonksiyona sahip proteinlerdir, hematopoezin düzenlenmesi, lökosit matürasyonu ve göçü, lenfoid dokuların gelişimi, T ve B lenfositlerin hedeflerini bulmaları, angiogenez, apoptoz, anti-tümör aktivite, hücre iskeletinin düzenlenmesi, hücreler arası sıkı bağlantılar ve hematopoetik hücrelerin spesifik anatomik bölgelere yerleşmesi bunlardan bazılarıdır (8). Kemokin stimülasyonu kemotaksise neden olur (242). Kemokinlerin ve onların reseptörlerinin kontrol edici bir görevlerinin beyinde olduğu bilinmektedir. Santral sinir sistemi (SSS)’ nin endojen hücreleri olan astrositler, oligodendrositler, mikrogliya ve nöronlar tarafından farklı kemokinlerin sentez edildiği bilinmektedir (9). Yukarıda saydığımız endojen hücrelerin hemen tamamı kemokin reseptörü de eksprese etmektedirler (10). OSB’larında immün sistem bozuklukları ile ilgili hipotezler erken nörogelişimde immün sistemin bilinen rolüne ve bu bozulmaların hastanın davranışını etkilemesine dayanmaktadır (126). İmmün sistemin düzenlenmesi genetik mekanizmalarca etkilenir ve bu bağlamda, bazı çalışmalarda 6. kromozomun insan lökosit bölümündeki immünmodülatör genlerin otizmle bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür (127,128,129).

TGF-β1 ve IFN-γ gibi enflamatuar mediatörler SSS’de kemokin reseptör ekspresyonunu düzenlenmektedir. Enflamatuar mediatörler tarafından uyarılmamış SSS

hücrelerinde kemokin reseptörleri eksprese ettiği farklı çalışmalarda gösterilmiştir (282). Kemokinleri nörodejenerasyonda çok önemli fonksiyonlara sahiptir. Hasarlanmış beyin dokusunda saptanmış kemokinler; CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL8, CXCL8 ve CXCL10'dur (283). SSS enflamasyonunda glial kemokinlerin önemli rol oynadıklarını gösterilmiştir (11). Bu nedenden dolayı glial kemokin ekspresyonunu inhibe etmeye yönelik tedaviler nörodejeneratif hastalıklarda ön plana çıkmaya başlamıştır. Deneysel çalışmalarda sitokinler, bakteriyel toksinler, β -amilod veya viral proteinler gibi çok sayıda pro-enflamatuar ve anti-enflamatuar faktörün glial kemokinleri tetiklediği gösterilmiştir (276).

Beyin hasarı proinflamatuar birçok hücrel mediyatörün salınımını aktive eder. Bu süreç adezyon moleküllerini ve kemokinleri uyararak hasarlanmış dokuya doğru hücre migrasyonuna immün ve glial hücreler aracılığı ile neden olur. Beyin hasarı bulunan hastalarda plazmada immünokompetan hücrelerin sayısında artış saptanmıştır. Muhtemel nedenin olarak kan beyin bariyerinin bozulması olduğu düşünülmektedir. Bu şekilde İnflamatuar hücrelerin beyin dokusuna girişi uzun dönemde nörotoksik etkiyi oluşturur (284). Nörodejeneratif hastalıkların tamamında kemokin ekspresyonu, lokal glial hücre aktivasyonu ve lökosit göçü mevcuttur. Patolojik sürecin tipine göre eksprese olan kemokin SSS'ye hücre göçünün tipi ve oluşacak immün yanıt ilişkilidir (12). SSS hastalıklarının en iyi bilinenlerinde olan multipl sklerozis lökosit infiltrasyonu ile karakterizedir (285).

Kemokinlerin embriyolojik gelişim sırasında hücre migrasyonunda da rol aldıkları bilinmektedir. CXCL12 ile CXCR4'ün aktive olamadığı hayvanların doğumdan hemen sonra öldüğü ya da beyin anomalisi olduğu görülmüştür (16). Kemokinler ve reseptörleri birçok malignitenin oluşum ve prognozunda da etkili bulunmuştur. 139 sağlıklı birey ve 113 endometrium kanseri tanısı alan hastada SDF-1 3'A G→A ve CXCR4 C138-T C→T gen polimorfizminin değerlendirildiği bir çalışmada gruplarda SDF-1 3'A AA genotipi olan bireylerde endometrium kanseri için 2.6 kat artmış risk olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde CXCR4 T allel taşıyıcılığı karşılaştırıldığında yine hastalarda kontrollerden daha yüksek bulundu ve bu bireyler endometrial karsinomu için 2.5 kat yüksek risk saptandı. Bu bulgular SDF-1 ve CXCR4 polimorfizmleri ve endometrium kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir (286). 142 mesane kanseri tanılı ve 197 kontrol hastasının alındığı bir çalışmada SDF-1 3'AA genotipini mesane kanserinde anlamlı derecede artmış bulunmuştur. SDF1 ve CXCR4 polimorfizmlerinin mesane kanseri riskini değiştirebilecekleri ve mesane kanserinde kas invazyonuna katkıda bulunabilecekleri saptanmıştır (287).

SDF1/CXCR4 genotip frekanslarının akciğer kanseri hastaları ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. CXCL12/SDF1 ve CXCR4 polimorfizmleri ile akciğer kanseri prognozu arasında önemli bir ilişki gösterilmiştir (288). Maligniteler ve tümör metastazlarında da kemokinlerin rolü olduğu ve hücrelerin yerleşimlerinde ve prognozunda etkili oldukları görülmüştür.

Astroitik CXCR4 ün ligandı olan SDF1 ile aktivasyonunun birçok hücre içi ve hücre dışı olaylara ve (proinflamatuvar TNF sitokin ve prostanglandin sunumu da dahil) glutamat salınımına yol açtığı gözlemlenmiştir (289). Yapılan bir çalışmada CXCR4 pozitif makrofajların spinal kord hasarına programlanmış bir tepkinin parçası olduğu ve SDF1 sinyalizasyon sisteminin modülasyonu ile omurilik hasarı sonrası inflamatuvar yanıt düzenlenmesinde önemli olabileceği saptandı (290) Yakın zamanda yapılan araştırmalar kemokinlerin sinir hücre greftlerinin olgunlaşması ve migrasyonun düzenlenmesinde katıldığını açıkladı. Beyin hasarı sonrası hasarlanan bölgelerde astrositlerin bazı sinyaller ile yanıt oluşturduğu görüldü. Bunlar kemokinleri de içeren birçok inflamatuvar markerin üretimi idi. Nöronal kök hücrelerin kemokin reseptörlerine sahip olduğu bilinmektedir. SDF 1 ve CXCR4 embriyonik beyinde yüksek oranda saptanmıştır. Beyinde saptanan bu kemokin ve ligandların bloke edilmesi ile nöronal kök hücre migrasyonunun (göçünün) inhibe edildiği görülmüştür (13). Yüksek MCP-1 düzeyi ile kontroller ile kıyaslandığı ICD-10 tanı kriterleri kullanılarak OSB teşhisi alan bireyler üzerinde yapılan lojistik regresyon analizi OSB için artmış riski saptamıştır. Yüksek MCP-1 düzeyleri ile infantil otizm için artmış risk olduğu görülmüştür. Amniyotik sıvıdaki MCP-1, MIP-1 α ve RANTES düzeylerini araştırdıkları çalışmada amniyotik sıvıda MCP-1 düzeyinin yüksekliğinin OSB açısından yüksek risk teşkil ettiği ve MCP-1'in OSB patofizyolojisinde rol alabileceği öne sürülmüştür (79). Bu bağlamda Ashwood ve arkadaşlarının 80 OSB tanılı çocukta yaptıkları bir çalışmada MPC-1, RANTES ve Eotaksin düzeyleri yüksek bulunmuştur. OSB tanılı çocukların plazma kemokin düzeylerinin incelendiği bir çalışmada OSB de MCP-1, RANTES ve eotaksin gibi bazı kemokinlerin yüksek düzeyde saptandığı ve aynı zamanda bu yüksekliğin yüksek anormal davranış puanları ve daha da olumsuz gelişimsel ve adaptif fonksiyon ile ilişkili olduğu saptanmıştır (274).

OSB patofizyolojisinde kemokinlerin rolünün araştırıldığı, yenidoğan döneminde alınan kan örnekleri üzerinden yapılan bir çalışmada OSB de erken yenidoğan döneminde değişmiş hücre aracılı bağışıklığın rolü olabileceği öngörülmektedir (291). Genetik lezyonların internöronal gelişimin kurulu moleküler mekanizmalarını bozarak otizm ve

şizofreni gibi hastalıklarda davranış bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada azalmış 22q11.2 geni dozunun kortikal gelişim sirkülasyonunu CXCR4 aracılığı ile bozarak internöronal göç ve konumlamayı bozduğu tespit edilmiştir (14).

Eldeki veriler immün sistem bozukluklarının OSB patofizyolojisinde yeri olduğunu düşündürmektedir. Yüksek fonksiyonlu otistiklerde periferik kan da immünolojik belirleyicilerin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmalar sonrasında OSB de IL-1b, IL-1RA, IL-5, IL-8, IL-12(p70), IL-13, IL-17 nin plazma konsantrasyonlarının belirgin şekilde yüksek olduğu saptanmıştır. Sitokinlerin OSB için biyolojik yatkınlık belirleyicileri olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (15).

Otizimde kopya sayısı varyasyonları ve bağlantı analizlerinin araştırıldığı bir çalışmada yapılan iki farklı genom ölçekli ölçümlerin ikisinden de benzer iki moleküler tema olarak, immün/kemokin yolları ve gelişimsel yollar saptanmıştır (292). Bazı kemokin reseptörleri nöronlar, astrositler, epitelial hücrelerde de bulunur. Bu da kemokin sisteminin lökosit göçü dışında diğer sistemlerde de birtakım fonksiyonları olduğunu düşündürmektedir (236). CXCR-4 reseptörü SDF-1'in selektif olarak bu reseptöre bağlanması ile aktive olur. SDF-1 ve CXCR-4 organ vaskularizasyonu, immün sistem ve hematopoetik sistem fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Embriyolojik olarak SDF-1 oluşumunun bozulması normal gelişimin bozulmasına yol açmaktadır (245). SDF-1/CXCR-4 etkileşiminin bozulması hematopoetik, kardiyovasküler ve nöral sistem gelişimini negatif yönde etkilemektedir ve embriyonel gelişim defektif olmaktadır. Bu fenotipik değişiklikler SDF-1/CXCR-4 etkileşiminin embriyonel progenitörlerin göçünde önemli rol oynadığını göstermektedir (16).

SDF-1, T lenfositler, monositler ve nötrofiller için kemotaktik ajan olup ayrıca pankreas, dalak, over ve ince bağırsak dokularında yüksek seviyelerde, beyin, kolon ve plasenta dokularında düşük seviyelerde eksprese edilmektedir (268). CXCR-4 kemokin reseptörü, SDF-1 aracılı kemotaksi yanıtını oluşturmak üzere T lenfositlerde, monositlerde ve ayrıca nötrofillerde, nöronlarda, glial hücrelerde, mikrogial hücrelerde ve endotel hücrelerinde bulunur (261). Yapılan MRI çalışmaları erken gelişim dönemi boyunca nöronlarda migrasyon probleminin şizofreni ve otizm etiyojisinde önemli bir rol aldığını desteklemektedir. Düşük SOD düzeyi superoksida bağlı DNA hasarına ve etkilenen nöronal göç de büyümeye atfedilebilir. (17).

Psikiyatrik hastalıkların genetiğinin araştırılmasında farmakolojik ve nörolojik bulgulardan yola çıkarak aday genlerin belirlenmesi ve bu genlerin farklı topluluklarda ilişki veya bağlantı analizleri ile irdelenmesi önemli yer tutmaktadır. Diğer karmaşık kalıtım gösteren hastalıklar gibi psikiyatrik hastalıkların da özelliği olan çok unsurlu kalıtım, genetik ve klinik heterojenite, düşük penetrans, epistatik etkileşimler bu analizlerin açıklanmasında karışıklığa yol açmaktadır. Kalıtımı tanımlanmış ve aday genleri çok daha fazla araştırılan şizofreni ve depresyon gibi hastalıklarda bile hala hangi genlerin yatkınlığa neden olduğu ve bu genler arasında etkileşimler tam olarak bilinmemektedir. Bu tezdeki bulguların değerlendirilmesinde öne sürülen genetik ve klinik heterojenitenin varlığının göz önünde bulundurulmasının yanısıra, kullanılan analitik yöntemlerin varsayımlarının da tartışılması gerekmektedir. Bir çalışmada gösterilen pozitif ilişki, eğer gerçek ilişki ise, başka çalışmalarla da doğrulanmalıdır (293). İlişki analizlerinde bulguların doğrulanması, hastalık alelinin genelde kabul edilen %80 doğruluk aralığı içinde, relatif riskine ve görülme sıklığına bağlıdır. Bu bağlamda, ilişki analizlerinde anlamı yakalayabilmek için gereken örnek sayısı önemli yer tutmaktadır. Risch ve Merikangas hastalık geninin tanımlanmasında bağlantı ve ilişki analizlerinde gereken örnek sayılarını hesaplamışlardır (293). İlişki analizlerinde orta sıklıkta görünen (0.5 sıklıkta) ve relatif riski 1.5 olan bir alel için yaklaşık 950, relatif riski 2 olan için 340, relatif riski 4 olan için 103 hasta ve kontrol çiftinin taranması gerektiğini önermiştir. Bu bulgular çerçevesinde genelde gereken sayıdan daha az sayıda örnek alındığından negatif bulguların tip 2 hatalarından (ilişki varken reddetmek) ortaya çıkabileceği öne sürülmüştür (294). Bunun yanısıra farklı alel frekansları ve epistatik ilişkiler, değişik etnik topluluklarda yapılan ilişki analizlerinde ortaya çıkan uyumsuz sonuçların nedeni olabilmektedir. Ayrıca öne sürülen ilişki bir başka alel ile olan bağlantı dengesizliğinden dolayı ortaya çıkabileceğinde, farklı topluluklarda aday aleller farklı alttipleri belirleyebilir. Bu sebeple aday gen ile yapılan çalışmaların tamamen aynı olmasını beklemek yanlış bir varsayımdır.

Ayrıca çalışmamızdaki kontrol grubu anne-babalardan kalıtılmamış alel ve genotiplerden oluşmaktadır. Bu kontrol grubu gerçek bir kontrol grubu olmamakla beraber sağlam ebeveynlerin çocuklarına kalıtmadıkları alel ve genotipleri içerdiğinden dolayı yapay bir kontrol grubu sayılmaktadır. Sağlıklı çocukların bulunduğu kontrol gruplarıyla yapılan çalışmaların bulunması ve daha objektif verilerin elde edilme ihtimali açısından çalışmamızda sağlıklı çocukların bulunduğu kontrol grubunun olmaması bir eksiklik olarak değerlendirilebilir. Yukarıda da bahsedildiği gibi çalışmaya katılan hasta sayısı da önemli bir kriter sayılmaktadır. Bu açıdan çalışmamızdaki hasta sayısı (N=101) ve kontrol grubundaki

sayı (N=202) yeterli sayılmamaktadır. Destekleyici veya benzeri diğer çalışmalarda daha fazla hasta ve kontrol popülasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır.

Yaptığımız çalışmada SDF-1 3'A geni için tüm örnekler içerisinde seçilen sadece heterozigot anne ve babadan hasta çocuğa geçişi sayan ve bu bağlantıyı da test eden TDT ile incelendiğinde hasta çocuklara kalıtımının anlamlılık derecesine ulaşmadığı görülmüştür (p:0,5). Aynı örneklem HHRR ile incelendiğinde SDF-1 3'A geni için anlamlı bir geçiş bulunamamıştır (p:0,5).

Yine benzer şekilde CXCR4 C138-T geni için tüm örnekler içerisinde seçilen sadece heterozigot anne ve babadan hasta çocuğa geçişi sayan ve bu bağlantıyı da test eden TDT ile incelendiğinde hasta çocuklara kalıtımının anlamlılık derecesine ulaşmadığı görülmüştür (P:0.0544). Örneklem HHRR ile incelendiğinde CXCR4 C138-T geni için anlamlı bir geçiş bulunamamıştır (p: P: 0.1568).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmamızda elde edilen sonuçlar, incelenmiş olan iki polimorfizmin OSB ile ilişkisini anlamlı bulmamıştır. Bununla birlikte bu çalışmanın daha geniş popülasyonlarda tekrarlanması gerekir ve daha fazla genetik belirteçler kullanılmalıdır. OSB ile SDF-1 ve CXCR4 geni arasındaki ilişkiyi test edecek daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1- American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Text Revision, 4th ed. Washington D.C., APA, 2000.
- 2- Lord, C and A Bailey, Autism spectrum disorders, in Child and Adolescent Psychiatry, 4th edn, M Rutter and E Taylor, Editors. 2002, Blackwell Publishing: Oxford. p. 636-663.
- 3- Nahit Motavallı Mukaddes: Otistik Bozukluk, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Temel Kitabı HYB 2008: 242-255
- 4-Abraham B S, Geschwind D H (2008) Advances in autism genetics: on the treshold of a new neurobiology. Nature review genetics 341-355
- 5- Freitag, CM, The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. Mol Psychiatry, 2007. 12(1): p. 2-22.
- 6-Xiaohong Li, Hua Zou, W. Ted Brown (2012) Genes associated with autism spectrum disorder. Brain research bulletin.
- 7-Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. Annu Rev Immunol. 1997;15: 675–705.
- 8-Mackay CR. Chemokines: immunology’s high impact factors. Nature Immunol 2001;2:95-101.
- 9-Bacon KB, Harrison JK. Chemokines and their receptors in neurobiology: perspectives in physiology and homeostasis. J Neuroimmunol. 2000; 104:92–97.
- 10-Dorf ME, Berman MA, Tanabe S, Heesen M, Luo Y. Astrocytes Express functional chemokine receptors. J Neuroimmunol. 2000; 111: 109–121.
- 11-Siebert H, Sachse A, Kuziel WA, Maeda N, Brueck W. The chemokine receptor CCR2 is involved in macrophage recruitment to the injured peripheral nervous system. J Neuroimmunol. 2000; 110: 177–185
- 12-Gerard C, Rollins BJ. Chemokines and disease. Nat Immunol. 2001; 2: 108–115.
- 13-Nagisa Arimitsu , Jun Shimizu, Naruyoshi Fujiwara, Kenji Takai, Erika Takada, Takao Kono, Yuji Ueda, Tomoko Suzuki and Noboru Suzuki, Role of SDF1/CXCR4 Interaction in Experimental Hemiplegic Models with Neural Cell Transplantation, *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 13, 2636-2649
- 14-Daniel W. Meechan, Eric S. Tucker, Thomas M. Maynard, and Anthony-Samuel LaMantia, Cxcr4 regulation of interneuron migration is isrupted in 22q11.2 deletion syndrome, PNAS | November 6, 2012 | vol. 109 | no. 45 | 18601–18606

- 15-Katsuaki Suzuki, Hideo Matsuzaki, Keiko Iwata, Yosuke Kamen, Chie Shimmura, Satomi Kawai, et al. Plasma Cytokine Profiles in Subjects with High- Functioning Autism Spectrum Disorders, PLOS ONE, May 2011 | Volume 6 | Issue 5 | e20470
- 16-Ma Q, Jones D, Borghesani PR, Segal RA, Nagasawa T, Kishimoto T, Bronson RT, Springer TA. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95: 9448–9453.
- 17-Kemper T. L., Bauman M. L. (1993) The contribution of neuropathologic studies to the understanding of autism. Neurol Clin; 11(1): 175–187.
- 18-Gillberg C, Coleman M. (2000): The Biology of the Autistic Syndromes. 3rd edition. London, UK: Mac Keith Press, dağıtım Cambridge University Press. p.136-1857
- 19-Rutter M: Diagnosis and definition of childhood autism. J Autism Child Shizpohr 8(2); 139-61 1978
- 20-Fred R. ve ark. Autism and Pervasive Developmental Disorders. Lewis's Child and Adolescent Psychiatry 2007; 384-399
- 21-Willemsen-Swinkels SH, Buitelaar JK. The autistic spectrum: subgroups, boundaries, and treatment. Psychiatr Clin North Am. 2002 Dec;25(4):811-36.
- 22-Melda Akçakın: Başka Türli Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk. Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Temel Kitabı HYB 2008: 256-263
- 23-Mukaddes, NM, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi, in Yaygın gelişimsel bozukluklar, Ö Polvan, Editor 2000, Nobel Tıp Kitabevi: İstanbul. p. 52-64.
- 24-Bleuler, E. Dementia praecox oder gruppe der schizophrenien. In: G. Aschaffenburg (Ed.), Handbuch der Psychiatrie. Spezieller Teil. 4. Abteilung. 1. Hälfte. Leipzig und Wien: Franz Deuticke; 1911.
- 25- LEEANNE GREEN: Autism and Pervasive Developmental Disorders, Neuropsychiatry 2. edition 2003:503-536
- 26-American Psychiatric Association. Committee on nomenclature and statistics. In: Diagnostic and statistical manual of mental disorders (2nd ed.). Washington, DC: American Psychiatric Press. 1968.
- 27-Kanner L, Eisenberg L. (1956): Early infantile autism 1943–1955. Am J Orthopsychiatry 26: 55– 65.
- 28-Wing, L., & Gould, J. Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: Epidemiology and classification. Journal of Autism and Developmental Disorders. 1979;9(1):11–29.

- 29-American Psychiatric Association. (1980): Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 3rd edition. Washington, DC: APA Press.
- 30-Volkmar, F, C Lord, A Klin, and J Cook, Autism and Pervasive Developmental Disorders,in Lewis Child and Adolescent Psychiatry, M Lewis, Editor 2002, Lippincott & Williams Wilkins: Philadelphia. p. 587-597
- 31-American Psychiatric Association. (1994): Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th edition. Washington, DC: APA Press
- 32-Asperger, H. Die autistischen psychopathen im kindersalter. Archive furpsychiatrie und Nervenkrankheiten.1944;117:76–136.
- 33-Wing, L.Asperger’s syndrome:A clinical account.PsychologicalBulletin.1981;11:115–129
- 34-Klin A, Volkmar FR. Asperger Syndrome: diagnosis and external validity. Child Adolesc Psycatr Clin N Am.2003;12.1-13.
- 35-Miller, JN and S Ozonoff, Did Asperger's cases have Asperger disorder? A research note. J Child Psychol Psychiatry, 1997. 38(2): p. 247-51.
- 36-Volkmar FR, Lord C, Bailey A, Schultz RT, Klin A. (2004): Autism and pervasive developmental disorders. J Child Psychol Psychiatry 45:135–170
- 37-Volkmar FR, Lord C, Klin A, Schultz R, Cook EH. (2007) Autism and the Pervasive Developmental Disorders. In: A. Martin and F. Volkmar (eds): Lewis’s child and adolescent psychiatry: A comprehensive textbook. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, pp. 384–400.
- 38-Wing, L, J Gould, and C Gillberg, Autism spectrum disorders in the DSM-V: better or worse than the DSM-IV? Res Dev Disabil, 2011. 32(2): p. 768-73.
- 39-Kurita, H, How to deal with the transition from Pervasive Developmental Disorders in DSM-IV to Autism Spectrum Disorder in DSM-V. Psychiatry Clin Neurosci, 2011. 65(7): p.609-610.
- 40-Siff Exkorn K. The Autism Sourcebook. New York, Regan Books, 2005.
- 41-O'Brien M, Daggett JA. Beyond the Autism Diagnosis. Baltimore, Paul H. Brookes Publishing, 2006.
- 42-Turkington C, Anan R. The Encyclopedia of Autism Spectrum Disorders. New York, Facts on File, 2007.
- 43-Mahoney WJ, Szatmari P, MacLean JE, Bryson SE, Bartolucci G; Walter SD, et al. Reliability and accuracy of differentiating pervasive developmental disorder subtypes. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1998; 37:278-285.

- 44-Huerta, M, SL Bishop, A Duncan, V Hus, and C Lord, Application of DSM-5 criteria for autism spectrum disorder to three samples of children with DSM-IV diagnoses of pervasive developmental disorders. *Am J Psychiatry*, 2012. 169(10): p. 1056-64.
- 45-Chakrabarti S, Fombonne E. Pervasive developmental disorders in preschool children: confirmation of high prevalence. *Am J Psychiatry* 2005; 162: 1133–1141.
- 46-Fombonne E. Epidemiology of pervasive developmental disorders. *Pediatr Res* 2009; 65:591–598.
- 47-De Bruin EI, Ferdinand RF, Meester S, de Nijs PFA, Verheij F. (2007): High rates of psychiatric comorbidity in PDD-NOS. *J Autism Dev Disord* 37: 877 886.
- 48-Leonard H ve Bower C. The prevalence and incidence of Rett syndrome in Australia. *European Child and Adolescent Psychiatry* 1997 (6): 8-10
- 49-Haliloğlu G ve Topçu M. Rett sendromu. *Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Temel Kitabı* 2008: 264-273
- 50-Dorothy Stubbe: *Child and Adolescent Psychiatry, A Practical Guide* 2007: 48-56
- 51-Fombone E. Prevalance of childhood disintegrative disorder. *Autism* 2002 (6): 149-1574
- 52-Özgür Yorbik: *Dezentegratif Psikoz, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Temel Kitabı* HYB 2008: 274-280
- 53-Gillberg C (2005): The Epidemiology of Autism. In: Mary Colman (ed): *The Neurology of Autism*. Oxford University Press, pp. 119-136.
- 54-Wing L, Potter D. (2002): The epidemiology of autistic spectrum disorders: Is the prevalence rising? *Men Retard Develop Dis Res Rev* 8: 151–161.
- 55-Croen LA, Grether JK, Selvin S. (2002): Descriptive epidemiology of autism in a California population: Who is at risk? *J Autism Dev Disord* 32: 217–224.
- 56-Fuentes, J, M Bakare, K Munir, P Aguayo, N Gaddour, O Oner, and M Mercandante, Autism Spectrum Disorders, in *IACAPAP Textbook of Child and Adolescent Mental Health*, J Rey, Editor 2012, International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions: Geneva.
- 57- Hedges, DJ, KL Hamilton-Nelson, SJ Sacharow, L Nations, GW Beecham, ZM Kozhekbaeva, et all, Evidence of novel fine-scale structural variation at autism spectrum disorder candidate loci. *Mol Autism*, 2012. 3: p. 2.
- 58-American Psychiatric Association: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (1st ed). Washington DC: APB Press.1953
- 59-Bryson SE: Brief report: epidemiology of autism. *J Autism Dev Disord*. 26: 165-167, 1996

- 60-M esibov G,Adams L,Klinger L: Autism: Understanding the Disorder. New York: Pleneum Pres.1985
- 61-Bertrand J,Mars A,Boyle C: Prevalence of autism in a United States population: the Brick Township, New Jersey, investigation. *Pediatrics*. 108: 1155-1161, 2001
- 62--Volkmar FR, Klin A, Siegel B, Szatmari P, Lord C, Campbell M. (1994): Field trial for autistic disorder in DSM-IV. *Am J Psychiatr* 151:1361–1367
- 63-Fombonne E. (2005): Epidemiology of autistic disorder and other pervasive developmental disorders. *J Clin Psychiatry* 66 (suppl 10): 3-8.
- 64- Kim, YS, BL Leventhal, YJ Koh, E Fombonne, E Laska, EC Lim, KA Cheon, SJ Kim, YK Kim, H Lee, DH Song, and RR Grinker, Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry*, 2011. 168(9): p. 904-12
- 65-Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network; Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2006 Principal Investigators; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of autism spectrum disorders - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, United States, 2006. *MMWR Surveill Summ*. 2009;58:1–20.
- 66-Fombonne E, The epidemiology of autism: a review. *Psychol Med*, 1999. 29(4): p. 769-86.
- 67-Chakrabarti S, Fombonne E.Pervasive developmental disorders in preschool children. *JAMA*.2001;285:3093–9.
- 68-Kogan MD, Blumberg SJ, Schieve LA, Boyle CA, Perrin JM, Ghandour RM, Singh GK, Strickland BB, Trevathan E, van Dyck PC.Prevalence of parentreported diagnosis of autism spectrum disorder among children in the US, 2007.*Pediatrics*.2009;124:1395–403.
- 69-Fombonne E. Epidemiological surveys of autism and other pervasive developmental disorders: an update. *J Autism Dev Disord*. 2003 Aug;33(4):365-82.
- 70-Deykin EY, MacMahon B. Pregnancy, delivery, and neonatal complications among autistic children. *Am J Dis Child* 1980; 134: 860–4.
- 71-Burd L, Severud R, Kerbeshian J, et al. Prenatal and perinatal risk factors for autism. *J Perinat Med* 1999; 27: 441–50.
- 72- Deykin EY, MacMahon B. Viral exposure and autism.*AmJEpidemiol* 1979; 109: 628– 38.
- 73- Bernard S, Enayati A, Redwood L, et al. Autism: A novel form of mercury poisoning. *Med Hypotheses* 2001; 56: 462-71.
- 74-Malhotra S, Gupta N. (2002): Childhood disintegrative disorder: Re-examination of the current concept. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 11: 108–114.

- 75-Juul-Dam M, Townsend J, Courchesne E. (2001): Prenatal, perinatal, and neonatal factors in autism, pervasive developmental disorder-not otherwise specified, and the general population. *Pediatrics* 107: 1-6.
- 76-Bolton PF, Murphy M, Macdonald H, Whitlock B, Pickles A, Rutter M. (1997): Obstetric complications of autism: Consequences or causes of the condition? *J Am Acad Child Adolesc Psychiatr* 36: 272-281.
- 77- Zimmerman AW. The immune system in autism. *J Dev Learn Disord* 1999; 3:3-15.
- 78- Nelson KB, Grether JK, Croen LA, et al. Neuropeptides and neurotrophins in neonatal blood of children with autism or mental retardation. *Ann Neurol* 2001; 49: 597-606
- 79- Morsi W. Abdallah, Nanna Larsen , Jakob Grove, Bent Nørgaard-Pedersen , Poul Thorsen , Erik L. Mortensen , David M. Hougaard , Amniotic fluid chemokines and autism spectrum disorders: An exploratory study utilizing a Danish Historic Birth Cohort, *Brain, Behavior, and Immunity* 26 (2012) 170–176
- 80-Maestrini E, Lai C, Marlow A, et al. Serotonin transporter (5-HTT) and gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta3 (GABRB3) gene polymorphisms are not associated with autism in the IMGSA families. The International Molecular Genetic Study of Autism Consortium. *Am J Med Genet* 1999; 88: 492–6.
- 81- Persico AM, Militerni R, Bravaccio C, et al. Lack of association between serotonin transporter gene promoter variants and autistic disorder in two ethnically distinct samples. *Am J Med Genet* 2000; 96: 123–7.
- 82- Behiye A ve ark (2002). Otistik bozuklukta doku uyumu antijenleri (HLA) dağılımı ile klinik bulguların ilişkisinin araştırılması. *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası* 65(1): 18-23.
- 83- Behiye A ve ark (2002). Otizm ile ilişkili HLA allellerinin PCR-SSP yöntem ile araştırılması. *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası* 65(2): 110-114.
- 84- Cortesi M, Alfei E, Barale F, Fusar-Poli P. Linking autism, regression and Landau-Kleffner syndrome: integrative role of nerve growth factor. *Med Hypotheses*. 2007; 68: 1178–9.
- 85-Johansson, M, E Wentz, E Fernell, K Stromland, MT Miller, and C Gillberg, Autistic spectrum disorders in Mobius sequence: a comprehensive study of 25 individuals. *Dev Med Child Neurol*, 2001. 43(5): p. 338-45.
- 86-Institute of Medicine. Immunization Safety Review: Vaccines and Autism. Washington, DC: The National Academies Press. books.nap.edu. [01/04/2012].
- 87- Gardener, H, D Spiegelman, and SL Buka, Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis. *Pediatrics*, 2011. 128(2): p. 344-55.

- 88-Pinto-Martin, JA, SE Levy, JF Feldman, JM Lorenz, N Paneth, and AH Whitaker, Prevalence of autism spectrum disorder in adolescents born weighing <2000 grams. *Pediatrics*, 2011. 128(5): p. 883-91.
- 89-Christensen, J, TK Gronborg, MJ Sorensen, D Schendel, ET Parner, LH Pedersen, and M Vestergaard, Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA*, 2013. 309(16): p. 1696-703.
- 90-Croen, LA, JK Grether, CK Yoshida, R Odouli, and V Hendrick, Antidepressant use during pregnancy and childhood autism spectrum disorders. *Arch Gen Psychiatry*, 2011. 68(11): p. 1104-12.
- 91-Kinney, DK, DH Barch, B Chayka, S Napoleon, and KM Munir, Environmental risk factors for autism: do they help cause de novo genetic mutations that contribute to the disorder? *Med Hypotheses*, 2010. 74(1): p. 102-6.
- 92-Grant, WB and CM Soles, Epidemiologic evidence supporting the role of maternal vitamin D deficiency as a risk factor for the development of infantile autism. *Dermatoendocrinol*, 2009. 1(4): p. 223-8.
- 93-Reichenberg, A, R Gross, M Weiser, M Bresnahan, J Silverman, S Harlap, J Rabinowitz, C Shulman, D Malaspina, G Lubin, HY Knobler, M Davidson, and E Susser, Advancing paternal age and autism. *Arch Gen Psychiatry*, 2006. 63(9): p. 1026-32.
- 94-Durkin, MS, MJ Maenner, CJ Newschaffer, LC Lee, CM Cunniff, JL Daniels, RS Kirby, L Leavitt, L Miller, W Zahorodny, and LA Schieve, Advanced parental age and the risk of autism spectrum disorder. *Am J Epidemiol*, 2008. 168(11): p. 1268-76.
- 95-Kong, A, ML Frigge, G Masson, S Besenbacher, P Sulem, G Magnusson, SA Gudjonsson, A Sigurdsson, A Jonasdottir, WS Wong, G Sigurdsson, GB Walters, S Steinberg, H Helgason, G Thorleifsson, DF Gudbjartsson, A Helgason, OT Magnusson, U Thorsteinsdottir, and K Stefansson, Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature*, 2012. 488(7412): p. 471-5.
- 96- Fagala G.E, Wigg, C.L: Psychiatric manifestations of mercury poisoning. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 31:306-311, 1992
- 97- Hu H, Abedi-Valugerdi M, Moller G: Pretreatment of lymphocytes with mercury in vitro induces a response in T cells from genetically determined low-responders and a shift of the interleukin profile. *Immunology* 90:198-204, 1997
- 98- Nielsen JB, Hultman P: Experimental studies on genetically determined susceptibility to mercury-induced autoimmune response. *Ren Fail* 21:343-348, 1999

- 99- Gilmore JH, Jarskoog LF, Vadlamudi S: Maternal infection regulates BDNF and NGF expression in fetal and neonatal brain and maternal-fetal unit of the rat. *J Neuroimmunol* 138:123-127, 2003
- 100- Croonenberghs J, Bosmans E: Activation of the inflammatory response system in autism. *Neuropsychobiology* 45:1-6, 2002
- 101- Safieh-Garabedian B, Haddad JJ, Sade NE: Cytokines in the central nervous system: Target for therapeutic intervention. *Neurol Disord* 3:271-280, 2004
- 102- Ghaziuddin M (2005) Mental Health Aspects of Autism and Asperger Syndrome *Brain Dev* 3:249-260
- 103- Muhle R, Trentacoste SV, Rapin I. (2004): The genetics of autism. *Pediatrics* 113:472–486.
- 104- Jacob, S, CW Brune, JA Badner, K Ernst, E Courchesne, C Lord, BL Leventhal, EH Cook, and SJ Kim, Family-based association testing of glutamate transporter genes in autism. *Psychiatr Genet*, 2011. 21(4): p. 212-3.
- 105- Minshew NJ, Sweeney JA, Bauman ML, Webb SJ (2005): Neurologic Aspects of Autism. In: *Handbook of autism and pervasive developmental disorders*, Vol. 1. Volkmar FR, Klin A, Paul R, Cohen DJ. (eds): Hoboken, Wiley, pp. 453–72.
- 106- Belmonte, MK, G Allen, A Beckel-Mitchener, LM Boulanger, RA Carper, and SJ Webb, Autism and abnormal development of brain connectivity. *J Neurosci*, 2004. 24(42): p. 9228-31.
- 107- Sadock, B and V Sadock, Autism Spectrum Disorders, in Kaplan & Sadock's Concise Textbook of Child and Adolescent Psychiatry 2008, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA. p. 65-74.
- 108- Courchesne E, Redcay E, Kennedy DP (2004): The autistic brain: Birth through adulthood. *Current Opinion in Neurology* 17: 489–496
- 109- Schultz, RT, Developmental deficits in social perception in autism: the role of the amygdala and fusiform face area. *Int J Dev Neurosci*, 2005. 23(2-3): p. 125-41.
- 110- Steffenburg S, Steffenburg U, Gillberg C. (2003): Autism spectrum disorders in children with active epilepsy and learning disability: comorbidity, pre- and perinatal background, and seizure characteristics. *Develop Med Child Neurol* 45: 724-730
- 111- Volkmar FR, Nelson DS. (1990): Seizure disorders in autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 29:127–129
- 112- Kanner L. (1943): Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child* 2: 217–250
- 113- Korvatska E, van de Water J, Anders TF, Gershwin ME (2002), Genetic and immunologic considerations in autism. *Neurobiol Dis* 9:107-125

- 114- Gousse V, Plumet MH, Chabane N (2002), Fringe phenotypes in autism:a review of clinical, biochemical and cognitive studies. *Eur Psychiatry* 17:120-128.
- 115-O'Hearn K., Asato M, Ordaz S, Luna B, Neurodevelopment and executive function in autism, *Development and Psychopathology* 2008; 20:1103-1132.
- 116- Baron-Cohen S, Leslie, A.M, and Frith U, Does the autistic child have a 'theory of mind'? *Cognition* 1985; 21:37-46.
- 117-Ozonoff S, Pennington BF, Rogers SJ, Executive function deficits in high functioning autistic individuals: Relationship to theory of mind. *J Child Psychol Psychiatry* 99;32:1081-1105.
- 118- Gousse V, Plumet MH, Chabane N (2002), Fringe phenotypes in autism:a review of clinical, biochemical and cognitive studies. *Eur Psychiatry* 17:120-128.
- 119- Belmonte M, Carper R: Neuroanatomical and neurophysiological clues to the nature of autism: *Neuroimaging in Child Neuropsychiatric Disorders*: Bernard Garreau (ed). 1988.S.157-171
- 120- Fleischer L : Yağmur Adam. (S. Gürtunca, Çev.). İstanbul: Real Yayınları 1993
- 121-Zoroglu, SS, F Armutcu, S Ozen, A Gurel, E Sivasli, O Yetkin, and I Meram, Increased oxidative stress and altered activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes in autism. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2004. 254(3): p. 143-7.
- 122-Sogut, S, SS Zoroglu, H Ozyurt, HR Yilmaz, F Ozugurlu, E Sivasli, O Yetkin, M Yanik, H Tutkun, HA Savas, M Tarakcioglu, and O Akyol, Changes in nitric oxide levels and antioxidant enzyme activities may have a role in the pathophysiological mechanisms involved in autism. *Clin Chim Acta*, 2003. 331(1-2): p. 111-7.
- 123-Zoroglu, SS, M Yurekli, I Meram, S Sogut, H Tutkun, O Yetkin, E Sivasli, HA Savas, M Yanik, H Herken, and O Akyol, Pathophysiological role of nitric oxide and adrenomedullin in autism. *Cell Biochem Funct*, 2003. 21(1): p. 55-60.
- 124-Sudhir Gupta: Immunological Treatments for Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 30(5):475-479,2000
- 125-Warren RP, Margaretten NC, Pace NC: Immune abnormalities in patients with autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 16, 189-197,1986
- 126-Ashwood P, Van de Water J: Is autism an autoimmune disease? *Autoimmunity Reviews* 3:557-562,2004
- 127- Sweeten TL, Posey DJ, McDougle CJ: High blood monocyte counts and neopterin in children with autistic disorder. *Am J Psychiatry* 160:1691-3,2003

- 128- Warren RP, Singh VK, Averett RE: Immunogenetic studies in autism and related disorders. *Mol Chem Neuropathol* 28:77-81, 1996
- 129- Torres AR, Maciulis A, Stubbs EG: The transmission disequilibrium test suggest that HLA-DR4 and DR13 are linked to autism spectrum disorder. *Hum Immunol* 63:311- 6, 2002
- 130- Sperner-Unterwieser B: Immunological Aetiology of Major Psychiatric Disorders Evidence and Therapeutic Implications. *Drugs* 2005; 65(11):1493-1520, 2005
- 131- Singh VK, Warren RP, Odell JD: Antibodies to myelin basic protein in children with autistic behaviour. *Brain Behav Immunol* 7:97-103, 1993
- 132- Van Gent T, Heijnen CJ, Treffers PD: Autism and the immune system. *J Child Psychol Psychiatry Allied Discip* 38(3):337-49, 1997
- 133- Vojdani A, O'Bryan T, Gren JA: Immune response to dietary proteins, gliadin and cerebellar peptides in children with autism. *Nutr Neurosci* 7:151-161, 2004
- 134- Westall FC, Root-Bernstein RS: Suggested connection between autism, serotonin, and myelin basic protein. *American Journal of Psychiatry* 140, 1260-1261, 1983
- 135- Warren RP, Foster A, Margaretten NC: Reduced natural killer cell activity in autism. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 26: 333- 335, 1987
- 136- Malek-Ahmadi P: Cytokines and etiopathogenesis of pervasive developmental disorders. *Medical Hypotheses* 56(3):321-324, 2001
- 137- Stubbs G: Interferonemia and autism. *J Autism Dev Disord* 25:71-73, 1995
- 138- Lord C, Cook EH, Leventhal BL, Amaral DG: Autism spectrum disorders: Review *Neuron*. 28: 355-363, 2000
- 139- Stefanatos GA. Regression in autistic spectrum disorders. *Neuropsychol Rev*. 2008;18(4):305-19.
- 140- Lord C, Risi S, Lambrecht L: The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum autism. *J Autism Dev Disord*. 30: 205-23, 2000
- 141- Charman T, Baird G: Practitioner review: Diagnosis of autism spectrum disorder in 2- and 3-year-old children. *J Child Psychol Psychiatry*. 43(3):289-305, 2002
- 142- Volkmar FR, Pauls D. Autism. *Lancet* 2003; 362: 1133–1141
- 143- Lord C, Rutter M, Storochuck S, Pickles A: Using the ADI-R to diagnose autism in preschool children. *Infant Mental Health* . 14: 234-252, 1993
- 144- Rutter M, Schopler E: Classification of pervasive developmental disorders: some concepts and practical considerations. *J Autism Dev Disord*. 22: 459-482, 1987

- 145- Baird, G, Charman T, Baron-Cohen S, Cox A, Swettenham J, Wheelwright S, Drew A: A screening instrument for autism at 18 month of age: A six-year follow-up study. *J Am Acad Child and Adolesc Psychiatry*, 39, 694–702, 2000
- 146- Schreibman L, Charlop MH: Teaching autistic children to use extra-stimulus prompts. *J Exp. Child Psychol*.33(3): 475-91, 1982
- 147- Lainhart JE. (1999): Psychiatric problems in individuals with autism, their parents and siblings. *Int Rev Psychiatry* 11: 278–298.
- 148- Özusta Ş: Otizm: Tanı ve ayırıcı tanı: Ben Hasta Değilim: Çocuk Sağlığı ve Hastalıklarının Psikososyal Yönü: Ayşe Ekşi (ed) Nobel Tıp, İstanbul. 1999.S.259-270
- 149- Sheinkoph SJ, Seigel B: Home-based behavioral treatment of young children with autism. *J Autism Dev Disord*. 28 (1): 15-23, 1988
- 150- Klin A, Jones W, Schultz R, Volkmar F, Cohen D: (2002) Defining and quantifying the social phenotype in autism. *Am J Psychiatr* 159: 895-908
- 151- Korkmaz B : Otistik Bozukluk. *Pediatric Davranış Nörolojisi*. Emek: İstanbul. 2000.S.129-164
- 152- Yavaş İ: Otistik bozukluk: Temel Psikiyatri, Güleç C, Köroğlu E (eds) Cilt II, Hekimler Yayın Birliği: Ankara.1998.S. S:1079-1098
- 153- Tidmarsh L, Volkmar FR : Diagnosis and epidemiology of autism spectrum disorders. *Can J Psychiatry* 48:517-524, 2003
- 154- Cohen S: An assesment of violence in a young man with Asperger's syndrome. *J Child Psychol Psychiat* 29:351-360, 1988
- 155- Akçakın M: Otizmi olan çocukların izleme çalışmalarını gözden geçirme. *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi* 7:189-197, 2000
- 156- Billstedt E, Gillberg C, Gillberg C. Autism after adolescence: Population –based 13 to 22 year follow up study of 120 individuals with Autism Diagnosed in childhood. *J Autism Dev Disord* 2005 ;35:351-360
- 157- Werner EB, Dawson G. (2005): Validation of the phenomenon of autistic regression using home videotapes. *Arch Gen Psychiatry* 62: 889–895
- 158- Paula J ve ark. Autism. *Biological Child Psychiatry*. Recent trend and development 2008 (24): 21-32
- 159- Rapin, I, Autistic children: diagnosis and clinical features. *Pediatrics*, 1991. 87(5 Pt 2): p. 751-60.
- 160- McPartland J, Klin A (2006): Asperger's syndrome. *Adolesc Med Clin*. (3):771-788.

- 161-Blumberg, S, M Bramlett, and M Kogan, Changes in prevalence of parent-reported autism spectrum disorder in school-aged U.S. children: 2007 to 2011-2012, 2013
- 162- Fombonne E, Tidmarsh L (2003): Epidemiologic data on Asperger disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 12: 15–21.
- 163-Gillberg C:A guide to Asperger Syndrome: Cambridge Universty Press, Cambridge,United Kingdom ,2002,p.23-48.
- 164- Özdemir DS, Asperger Bozuklugu, Bölüm 29, Çuhadaroglu Çetin F (yayın yönetmeni), Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Temel Kitabı, Hekimler Yayın Birliği ,Ankara, 2008, 281-292
- 165-Roy M, Dillo W, Emrich HM, Ohlmeier MD, Asperger's syndrome in adulthood, *DTSCH Arztebl Int* 2009;106:59-64.
- 166- Baykara B ve Miral S. Diğer yaygın gelişimsel bozukluklar. *Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları* 2007: 291-304
- 167- Walker DR, Thompson A, Zwaigenbaum L. Specifying PDD-NOS.A comparison of PDD-NOS, Asperger syndrome and autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2004;43:181-182.
- 168- Towbin KE (1997) Autism and Asperger's Syndrome. *Current Opinion in Pediatrics* 9:361-366
- 169- Rondeau E ve ark. Is pervasive developmental disorder not otherwise specified less stable than autistic disorder? A meta-analysis. *J Autism Dev Disord.* 2011 Sep;41(9):1267-76
- 170- Bayou, N., M'rad,R., Ahlem,B., Bechir Helayem,M., Chaabouni,H.(2008) Autism: an overview of genetic aetiology. *Tunis Med.*, 86(6):573-8.
- 171- Santangelo,S.L.(2005) What is known about autism: genes,brain, and behavior. *Am J Pharmacogenomics*, 5(2):71-92.
- 172- Abrahams BS, Geschwind DH (2008). "Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology". *Nat Rev Genet* 9 (5): 341–55.
- 173- Veenstra-VanderWeele J, Cook EH, Jr. (2004): Molecular genetics of autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry* 9:819–832
- 174- Gillberg C. (1998): Chromosomal disorders and autism. *J Autism Dev Disord* 28: 415-425.
- 175-Freitag, CM, W Staal, SM Klauck, E Duketis, and R Waltes, Genetics of autistic disorders: review and clinical implications. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 2010. 19(3): p. 169-78.
- 176-Ma, D, D Salyakina, JM Jaworski, I Konidari, PL Whitehead, AN Andersen, JD Hoffman, SH Slifer, DJ Hedges, HN Cukier, AJ Griswold, JL McCauley, GW Beecham, HH

- Wright, RK Abramson, ER Martin, JP Hussman, JR Gilbert, ML Cuccaro, JL Haines, and MA Pericak-Vance, A genome-wide association study of autism reveals a common novel risk locus at 5p14.1. *Ann Hum Genet*, 2009. 73(Pt 3): p. 263-73.
- 177-Weiss, LA, DE Arking, MJ Daly, and A Chakravarti, A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature*, 2009. 461(7265): p. 802-8.
- 178- Morrow EM, Yoo SY, Flavell SW, Kim TK, Lin Y, Hill RS, Mukaddes NM, Balkhy S, Gascon G, Hashmi A, Al-Saad S, Ware J, Joseph RM, Greenblatt R, Gleason D, Ertelt JA, Apse KA, Bodell A, Partlow JN, Barry B, Yao H, Markianos K, Ferland RJ, Greenberg ME, Walsh CA. (2008): Identifying autism loci and genes by tracing recent shared ancestry. *Science*. 11;321(5886):218-223
- 179-Grafodatskaya, D, B Chung, P Szatmari, and R Weksberg, Autism spectrum disorders and epigenetics. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2010. 49(8): p. 794-809.
- 180- Caglayan A.O, (2010) Genetic cause of syndromic and non-syndromic autism. *Developmental Medicine and Child Neurology* 52(2), 130-138
- 181- Elif Funda ŞENER, Yusuf ÖZKUL, The Genetic Basis of Autism, *Journal of Health Sciences*, 22(1) 86-92, 2013
- 182- Yüksel A. Genetics of autism. *Cerrahpaşa J Med* 2005; 36: 35-41.
- 183- Jacquemont ML, Sanlaville D, Redon R, Raoul O, Cormier-Daire V, Lyonnet S, Amiel J, Le Merrer M, Heron D, de Blois MC, Prieur M, Vekemans M, Carter NP, Munnich A, Colleaux L, Philippe A. Array-based comparative genomic hybridisation identifies high frequency of cryptic chromosomal rearrangements in patients with syndromic autism spectrum disorders. *J Med Genet*. 2006;43:843–9.
- 184- Ayşe Gül Zamani, A Genetic Approach to Pulmonary Disease Research: Genetic Techniques *Türk Toraks Derg* 2013; 14(Supplement 2): 15-9
- 185- Lee C, ve Scherer S W, The Clinical Context of Copy Number Variation in The Human Genome. *Expert Rev Mol Med*. 2010;9;12:e8
- 186- Yusuf ÖZŞENSOY, Ercan KURAR Genetik Bağlantı Analizi ve Uygulama Alanları, (2013) *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 10(1) 53-62
- 187-Üstünel S, İzole konkomitan şaşılıkta genetik analiz (Uzmanlık Tezi), Hacettepe Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilimdalı, Ankara 2009
- 188- TA Trikalinos, A Karvouni1, E Zintzaras, T Ylisaukko-oja, L Peltonen, I Jarvela and JPA Ioannidis, A heterogeneity-based genome search meta-analysis for autism-spectrum disorders, *Molecular Psychiatry* (2006) 11, 29–36

- 189- Philippi A. , et al (2007) Association of autism with polymorphisms in the paired-like homeodomain transcription factor 1 (PITX1) on chromosome 5q31: a candidate gene analysis. BMC Medical Genetics 8,74
- 190- Zohreh Talebizadeh, Dan E. Arking, Valerie W. Hu, A Novel Stratification Method in Linkage Studies to Address Inter- and Intra-Family Heterogeneity in Autism, PLOS ONE/ www.plosone.org June 2013 /Volume 8/Issue 6/e67569
- 191- Miles JH, Takahashi TN, Bagby S, Sahota PK, Vaslow DF, Wang CH, Hillman RE, Farmer JE. Essential versus complex autism: definition of fundamental prognostic subtypes. Am J Med Genet A. 2005;135:171–80.
- 192- Dimitropoulos A, Schultz RT. Autistic like symptomatology in Prader–Willi syndrome: a review of recent findings. Curr Psychiatry Rep 2007 Apr;9(2):159– 64.
- 193- Veltman MW, Craig EE, Bolton PF. Autism spectrum disorders in Prader–Willi and Angelman syndromes: a systematic review. Psychiatr Genet 2005 Dec;15(4):243–54.
- 194- Kent L, Evans J, Paul M, Sharp M. Comorbidity of autistic spectrum disorders in children with Down syndrome. Dev Med Child Neurol. 1999;41:153–8.
- 195- Prasher VP, Clarke DJ. Case report: challenging behaviour in a young adult with Down’s syndrome and autism. Br J Learn Disabil 1996;24:167–9.
- 196- Gillberg C, Cederlund M, Lamberg K, et al. Brief report: ‘the autism epidemic’. The registered prevalence of autism in a Swedish urban area. J Autism Dev Disord 2006 Apr;36(3): 429–35.
- 197- Skuse DH. Imprinting, the X-chromosome, and the male brain: explaining sex differences in the liability to autism. Pediatr Res. 2000;47:9–16.
- 198- M. Ayhan CÖNGÖLOĞLU, Tümer TÜRKBAY Klinefelter sendromu ve yaygın gelişimsel bozukluk olgu sunumu Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi : 14 (2) 2007
- 199- Coleman M, Catalania B, Introduction. The neurology of autism. In M Coleman (eds) 2005 Oxford, London pp. 3–40.
- 200- Taneli Y. Yaygın Gelişimsel Bozuklukta Apolipoprotein E Gen Polimorfizminin Moleküler Genetik Yöntemle Araştırılması. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, 2006.
- 201- Glessner JT et al. Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes. Nature. 2009;459:569–73.
- 202- Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, Troge J, Lese-Martin C, Walsh T, et al. Strong association of de novo copy number mutations with autism. Science. 2007;316:445–9.

- 203- Marshall CR, Noor A, Vincent JB, Lionel AC, Feuk L, Skaug J, et al. Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet.* 2008;82:477–88.
- 204- Weiss LA, Shen Y, Korn JM, Arking DE, Miller DT, Fossdal R, Saemundsen E, Stefansson H, Ferreira MA, Green T, Platt OS, Ruderfer DM, Walsh CA, Altshuler D, Chakravarti A, Tanzi RE, Stefansson K, Santangelo SL, Gusella JF, Sklar P, Wu BL, Daly MJ. Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism. *N Engl J Med.* 2008;358:667–75.
- 205- Shinawi M, et al. Recurrent reciprocal 16p11.2 rearrangements associated with global developmental delay, behavioral problems, dysmorphism, epilepsy, and abnormal head size. *J Med Genet.* 2010;47:332–41.
- 206- Sharp AJ, et al. recurrent 15q13.3 microdeletion syndrome associated with mental retardation and seizures. *Nat Genet.* 2008;40:322–8.
- 207- Ben Shachar S, Lanpher B, German JR, et al. Microdeletion 15q13.3: a locus with incomplete penetrance for autism, mental retardation, and psychiatric disorders. *J Med Genet.* 2009 Jun;46(6):382–8.
- 208- Loesch DZ, et al. Molecular and cognitive predictors of the continuum of autistic behaviours in fragile X. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007;31:315–26. 96.
- 209- Hagerman, R. Clinical and molecular aspects of fragile X syndrome. In: Tager Flusberg (eds). *Neurodevelopmental disorders.* MIT Press, Cambridge 1999, pp. 27-42.
- 210- Feinstein C, Reiss A. Autism: The point of view from fragile X studies. *J Autism and Dev Disord.* 1998 Oct;28(5):393–405.
- 211- Merenstein S, Sobesky W, Taylor A, et al. Molecular clinical correlations in males with an expanded FMR1 mutation. *Am J Med Genet* 1996 Aug 9; 64(2):388–94.
- 212- Kemper TI, Bauman M (1998) Neuropathology of infantile autism. *J Neuropathol Exper Neurol* 57:645-652
- 213- Buxbaum JD, et al. Mutation screening of the PTEN gene in patients with autism spectrum disorders and macrocephaly. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2007a;144B:484–91.
- 214- Varga EA, Pastore M, Prior T, Herman GE, McBride KL. The prevalence of PTEN mutations in a clinical pediatric cohort with autism spectrum disorders, developmental delay, and macrocephaly. *Genet Med.* 2009;11:111–7.
- 215- Butler MG, et al. Subset of individuals with autism spectrum disorders and extreme macrocephaly associated with germline PTEN tumour suppressor gene mutations. *J Med Genet.* 2005;42:318–21.

- 216- Buxbaum JD, et al. Mutation analysis of the NSD1 gene in patients with autism spectrum disorders and macrocephaly. *BMC Med Genet*.2007b;8:68.
- 217- Kent L, Bowdin S, Kirby GA, et al. Beckwith Weidemann syndrome: a behavioral phenotype/genotype study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008 Oct 5;147B(7):1295–7.
- 218- İrem Fatma AŞAN, Sabiha TÜRE, Ahmet GÖKÇAY, Hatice KARASOY Tuberoskleroz Kompleksi ve Otizm *J.Neurol.Sci.Journal of Neurological Sciences [Turkish]* 2006 23:(4)#9;312-317,
- 219- de Vries PJ, Hunt A, Bolton PF. The psychopathologies of children and adolescents with tuberous sclerosis complex (TSC): a postal survey of UK families. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2007 Feb;16(1):16–24.
- 220- Fombonne E, Du M, Cans C, et al. Autism and associated medical disorders in a French epidemiological survey. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1997 Nov;36(11):1561-9.
- 221- Battaglia A, Carey JC. Etiologic yield of autistic spectrum disorders: a prospective study. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*.2006;142C:3–7.
- 222- Splawski I. et al calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell*.2004;119:19–31.
- 223- Alvarez Retuerto AI, et al. Association of common variants in the Joubert syndrome gene (AHI1) with autism. *Hum Mol Genet*.2008;17:3887– 96.
- 224- Ozonoff S, Williams BJ, Gale S, Miller JN. Autism and autistic behavior in Joubert syndrome. *J Child Neurol*.1999;14:636–41.
- 225- Weissman JR, Kelley RI, Bauman ML, Cohen BH, Murray KF, Mitchell RL, Kern RL, Natowicz MR. Mitochondrial disease in autism spectrum disorder patients: a cohort analysis. *PLoS ONE*.2008;3:e3815
- 226- Gillberg C, Coleman M. *The biology of the autistic syndromes* (2nd ed). Mc Keith Press, London 1992.
- 227- Baieli S, Pavone L, Meli C, Fiumara A, Coleman M. Autism and phenylketonuria. *J Autism Dev Disord*.2003;33:201–4.
- 228- Van den Berghe G, Vincent MF, Jaeken J. Inborn errors of the purine nucleotide cycle: adenylosuccinase deficiency. *J Inher Metab Dis*.1997;20:193–202.
- 229- Stathis SL, Cowley DM, Broe D. Autism and adenylosuccinase deficiency. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*.2000;39:274–5
- 230- Newmeyer A, deGrauw T, Clark J, Chuck G, Salomons G. Screening of male patients with autism spectrum disorder for creatine transporter efficiency. *Neuropediatrics*.2007;38:310–2.

- 231- Manzi B, Loizzo AL, Giana G, Curatolo P. Autism and metabolic diseases. *J Child Neurol*. 2008;23:307–14
- 232- Çıtak FE, Çıtak EÇ, Karadeniz C. Kemokinler ve Hastalıklardaki Yeri. *T Klin Tıp Bilimleri*. 2002; 22: 210-16.
- 233- Mantovani, A., Savino, B., Locati, M., Zammataro, L., Allavena, P., Bonecchi, R. (2009) The chemokine system in cancer biology and therapy. *Cytokine Growth Factor Rev*.
- 234- Mine ÇAĞLAR, Emin KANSU, Kemokinler, Kemokin reseptörleri ve inflamasyon, *ANKEM Derg*. 2004; 18 (Ek 2):164-168.
- 235- Ono SJ, Nakamura T, Miyazaki D, Ohbayashi M, Dawson M, Toda M. Chemokines. Roles in leukocyte development, trafficking and effector function. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1185-99.
- 236- Baggiolini M, Loetscher P. Chemokines in inflammation and immunity. *Immunol Today* 2000;21:418-20.
- 237- Balkwill, F. (2004) The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4. *Semin Cancer Biol*, 14 (3), 171-179.
- 238- Lodi PJ, Garrett DS, Kuszewski J, Tsang ML, Weatherbee JA, Leonard WJ. High-resolution solution structure of the beta chemokine hMIP-1 α by multidimensional NMR. *Science* 1994;263:1762-1767
- 239- Luster AD. Chemokines-chemotactic cytokines that mediated inflammation. *N Engl J Med* 1998; 338: 436-445.
- 240- Kabashima H, Yoneda M, Nagata K, Hirofuji T, Maeda K. The presence of chemokine (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , IP-10, RANTES)-positive cells and chemokine receptor (CCR5, CXCR3)-positive cells in inflamed human gingival tissues. *Cytokine* 2002; 20: 70-77.
- 241- Mantovani A. The chemokine system: redundancy for robust outputs. *Immunology Today*. 1999; 20: 254–257.
- 242- Moser B, Loetscher P. Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nat Immunol*. 2001; 2: 123–128.
- 243- Oppenheim JJ, Zachariae COC, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene intercrine. cytokine family. *Annu Rev Immunol*. 1991; 9:617-48
- 244- Hamada T, Tashiro K, Tada H, et al. Isolation and characterization of a novel secretory protein, stromal cell-derived factor-2 (SDF-2) using the signal sequence trap method. *Gene*. 1996;176:211-4

- 245- Tachibana, K., Hirota, S., Iizasa, H., Yoshida, H., Kawabata, K., Kataoka, Y. ve diğerleri. (1998) The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature*, 393 (6685), 591-594
- 246- Nagasawa, T., Hirota, S., Tachibana, K., Takakura, N., Nishikawa, S., Kitamura, Y. ve diğerleri. (1996) Defects of B-cell lymphopoiesis and bonemarrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature*, 382 (6592), 635-638
- 247- Murphy PM. Chemokines and the molecular basis of cancer metastasis. *N Engl J Med* 2001;345:833-5
- 248- Kucia M, Jankowski K, Reza R. CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion. *J Mol Histol.* 2004;35:233-45.
- 249- Tashiro, K., Tada, H., Heilker, R., Shirozu, M., Nakano, T., Honjo, T. (1993) Signal sequence trap: a cloning strategy for secreted proteins and type I membrane proteins. *Science*, 261 (5121), 600-603.
- 250- Kryczek, I., Wei, S., Keller, E., Liu, R., Zou, W. (2007) Stroma-derived factor (SDF-1/CXCL12) and human tumor pathogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 292 (3), C987-995.
- 251- Shirozu, M., Nakano, T., Inazawa, J., Tashiro, K., Tada, H., Shinohara, T. ve diğerleri. (1995) Structure and chromosomal localization of the human stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) gene. *Genomics*, 28 (3), 495-500.
- 252- Wang, J., Loberg, R., Taichman, R.S. (2006) The pivotal role of CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 axis in bone metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 25 (4), 573- 587.
- 253- Lazarini, F., Tham, T.N., Casanova, P., Arenzana-Seisdedos, F., Dubois-Dalcq, M. (2003) Role of the alpha-chemokine stromal cell-derived factor (SDF-1) in the developing and mature central nervous system. *Glia*, 42 (2), 139-148.
- 254- Zou, Y.R., Kottmann, A.H., Kuroda, M., Taniuchi, I., Littman, D.R. (1998) Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature*, 393 (6685), 595-599.
- 255- Kucia, M., Reza, R., Miekus, K., Wanzeck, J., Wojakowski, W., Janowska-Wieczorek, A. (2005) Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis. *Stem Cells*, 23 (7), 879-894.
- 256- Petit, I., Szyper-Kravitz, M., Nagler, A., Lahav, M., Peled, A., Habler, L. ve diğerleri. (2002) G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol*, 3 (7), 687-694.
- 257- Winkler C. Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. *Science*. 1998; 279 : 389-93.

- 258-Soriano A. Plasma stromal cell-derived factor (SDF)-1 levels, SDF1-3'A genotype, and expression of CXCR4 on T lymphocytes: their impact on resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection and its progression. *J Infect Dis.* 2002; 186: 922-31.
- 259-Zafiropoulos A, Crikas N, Passam AM, Spandido DA. Significant involvement of CCR2-64I and CXCL12-3a in the development of sporadic breast cancer. *J Med Genet.* 2004; 41: 59.
- 260- Aiuti, A., Taviani, M., Cipponi, A., Ficara, F., Zappone, E., Hoxie, J. ve diğerleri. (1999) Expression of CXCR4, the receptor for stromal cell-derived factor-1 on fetal and adult human lympho-hematopoietic progenitors. *Eur J Immunol*, 29 (6), 1823-1831.
- 261- Hesselgesser J, Halks-Miller M, DelVecchio V, et al. CD4-independent association between HIV-1 gp120 and CXCR4: functional chemokine receptors are expressed in human neurons. *Curr Biol.* 1997; 7:112-21.
- 262- Yanling Wang, et al. CXCR4 and CXCR7 Have Distinct Functions in Regulating Interneuron Migration, *Neuron* 69, 61–76, January 13, 2011
- 263-Luker KE, Luker GD. Functions of CXCL12 and CXCR4 in breast cancer. *Cancer Lett.* 2006; 238: 30-41.
- 264- Ratajczak, M.Z., Zuba-Surma, E., Kucia, M., Reka, R., Wojakowski, W., Ratajczak, J. (2006) The pleiotropic effects of the SDF-1-CXCR4 axis in organogenesis, regeneration and tumorigenesis. *Leukemia*, 20 (11), 1915-1924.
- 265- Aiuti, A., Webb, I.J., Bleul, C., Springer, T., Gutierrez-Ramos, J.C. (1997) The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood. *J Exp Med*, 185 (1), 111-120.
- 266- Bleul, C.C., Farzan, M., Choe, H., Parolin, C., Clark-Lewis, I., Sodroski, J. ve diğerleri. (1996) The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. *Nature*, 382 (6594), 829-833.
- 267- Muller, A., Homey, B., Soto, H., Ge, N., Catron, D., Buchanan, M.E. ve diğerleri. (2001) Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature*, 410 (6824), 50-56.
- 268- Chinni SR, Sivalogan S, Dong Z, et al. CXCL12/CXCR4 signaling activates Akt-1 and MMP-9 expression in prostate cancer cells: the role of bone microenvironment-associated CXCL12. *Prostate.* 2006; 66:32-48.
- 269-Petersen DC, et al. Risk for HIV-1 infection associated with a common CXCL12 (SDF1) polymorphism and CXCR4 variation in an African population. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005; 40: 521-6.

- 270- Taichman RS, et al. Use of the stromal cell-derived factor -1/CXCR4 pathway in prostate cancer metastasis to bone, *Cancer Res.* 2002; 62 :1832-7.
- 271- A.M. Manzardo, R. Henkhaus, S. Dhillon, M.G. Butler Plasma cytokine levels in children with autistic disorder and unrelated siblings, *Int. J. Devl Neuroscience* 30 (2012) 121–127
- 272- Xiaohong Lia, Abha Chauhna, Ashfaq M. Shiekha, Sangita Patilb, Ved Chauhna, Xiu-Min Lib, Lina Ji, Ted Browna, and Mazhar Malika Elevated Immune Response in the Brain of Autistic Patients *J Neuroimmunol.* 2009 February 15; 207(1-2): 111–116. doi:10.1016/j.jneuroim.2008.12.002
- 273- Adam M. H. Young, Elaine Campbell, Sarah Lynch, John Suckling and SimonJ. Powis Aberrant NF-kappaB expression in autism spectrum condition: a mechanism for neuroinflammation, *Frontiers in Psychiatry, Molecular Psychiatry*, May 2011, Volume 2, Article 27,8
- 274- Paul Ashwood, Paula Krakowiak, Irva Hertz-Picciotto, Robin Hansen, Isaac N. Pessah, and Judy Van de Water, Associations of impaired behaviors with elevated plasma chemokines in autism spectrum disorders *Journal of Neuroimmunology* 232 (2011) 196–199
- 275- Wang F, Xiu MH, Zhou DF, Cao LY, Wu GY, Kosten TA, Kosten TR. The CCR5 32-bp deletion allele is rare in a Chinese population. *Schizophr Res.* 2008 Apr;101(1-3):341-3.
- 276- McManus CM, Weidenheim K, Woodman SE, Nunez J, Hesselgesser J, Nath A, Berman JW. Chemokine and chemokine receptor expression in human glial elements: induction by the HIV protein Tat, and chemokine autoregulation. *Am J Pathol.* 2000; 156: 1441–1453.
- 277- İncekaş S Çocukluk Otizmini Derecelendirme Ölçeği geçerlik ve güvenilirlik Çalışması (Uzmanlık Tezi). Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Anabilim Dalı, İzmir 2009
- 278- Şenocak M. (2009). *Klinik Biyoistatistik*. İstanbul Nobel Tıp Kitapevi.
- 279- Kirkwood BR (1988). *Essentials of Medical Genetics*. Oxford: Blackwell Science Ltd.
- 280- Sham P (1998). *Statistics in Human Genetics*. Londra: Arnold.
- 281- Sham PC ve Curtis D (1995). An extended transmission/disequilibrium test (TDT) for multiallele marker loci. *Annals of Human Genetics* 59: 323-336.
- 282- Jiang Y, Salafranca MN, Adhikari S, Xia Y, Feng L, Sonntag MK, deFiebre CM, Pennet NA, Streit WJ, Harrison JK. Chemokine receptor expression in cultured glia and rat experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuroimmunol.* 1998; 86: 1–12.
- 283- Mennicken F, Maki R, de Souza EB. Chemokines and chemokine receptors in the CNS: possible role in neuroinflammation and patterning. *Trends Pharmacol Sci.* 1999; 2: 73–78.

- 284- Werner CK. Engelhard. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Br J Anaesth*. 2007; 99:4-9.
- 285- Izikson L, Klein RS, Charo IF, Weiner HL, Luster AD. Resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking the CC chemokine receptor (CCR)2. *J Exp Med*. 2000; 192: 1075–1080
- 286- Canan Cacina ,Sibel Bulgurcuoglu-Kuran,Ahmet Cem Iyibozkurt,Ilhan Yaylim-Eraltan,Bedia Cakmakoglu. Genetic variants of SDF-1 and CXCR4 genes in endometrial carcinoma. *Mol Biol Rep* (2012) 39:1225–1229
- 287-Canan Kucukgergin , Ferruh K. Isman, Selcuk Dasdemir, Bedia Cakmakoglu , Oner Sanli,Cahide Gokkusu , Sule Seckin, The role of chemokine and chemokine receptor gene variants on the susceptibility and clinicopathological characteristics of bladder cancer. Article in press, *GENE*-37838; No. of pages: 5; 4C
- 288- Yao-Ling Lee, Wu-Hsien Kuo, Chiao-Wen Lin, Wei Chen, Wei-Erh Cheng, Shuo-Chueh Chen, Chuen-Ming Shih Association of genetic polymorphisms of CXCL12/SDF1 gene and its receptor, CXCR4, to the susceptibility and prognosis of non-small cell lung cancer, *Lung Cancer* 73 (2011) 147– 152
- 289- Corrado Calì, Paola Bezzi, CXCR4-mediated glutamate exocytosis from astrocytes, *Journal of Neuroimmunology* 224 (2010) 13–21
- 290- Vicki M Tysseling, Divakar Mithal, Vibhu Sahni, Derin Birch, Hosung Jung, Richard J Miller, John A Kessler, SDF1 in the dorsal corticospinal tract promotes CXCR4+ cell migration after spinal cord injury, *Journal of Neuroinflammation* 2011, 8:16
- 291- Morsi W. Abdallah , Nanna Larsen , Jakob Grove , Eva C. Bonefeld-Jørgensen, Bent Nørgaard-Pedersen , David M. Hougaard, Erik L. Mortensen, Neonatal chemokine levels and risk of autism spectrum disorders: Findings from a Danish historic birth cohort follow-up study, *Cytokine* 61 (2013) 370–376
- 292- Vishal Saxena, Shweta Ramdas, Courtney Rothrock Ochoa, David Wallace, Pradeep Bhide, Isaac Kohane, Structural, Genetic, and Functional Signatures of Disordered Neuro-Immunological Development in Autism Spectrum Disorder, *PLOS ONE*, December 2012 | Volume 7 | Issue 12 | e48835
- 293- Risch N, Merikangas K (1996). The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 273: 1516-1517.
- 294- O'Donovan MC, Owen MJ (1999). Candidate-Gene Association Studies of Schizophrenia. *American Journal of Human Genetics* 65: 587-592.

EKLER**EK-1****İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK RUH SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**
OTİZM BİRİMİ**ÇOCUKLUK OTİZMİ PUANLAMA ÖLÇEĞİ**

Yönergeler: ölçeğin her bir maddesi ile ilişkili davranışları puanlayın. 15 puan ekleyin ve sondaki ölçeği kullanın.

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

15-29 Otizm yok

30-36 Hafif-Orta Derecede Otistik

37-60 Aşırı Derecede Otistik

EK 2 -VERİ FORMU**1.Sosyodemografik Özellikler****Hastanın Adı ve Soyadı:****Doğum Yeri:****Doğum Tarihi:****Dosya Numarası:****Cinsiyet:** ☐ Kadın ☐ Erkek**El Dominansı:** ☐ Sağ ☐ Sol ☐ Her İki El**Okul:****Özel eğitim:****Kardeş Sayısı:****Akraba Evliliği** ☐ Var ☐ Yok**Adres:****Annenin Yaşı:****Annenin Eğitim Durumu:****Annenin Mesleği:****Telefon:****Babanın Yaşı:****Babanın Eğitim Durumu:****Babanın Mesleği:****Telefon:****2.Gelişimsel Özellikler:****Hamilelik Süreci:****Doğum Şekli:****Anne Sütü Süresi:**

Motor Gelişim: Oturma:
Yürüme:
Dil Gelişimi: Kelime:
Cümle:

İlk Klinik Başvuru Yaşı:

Başvuru Şikayeti:

Psikiyatrik Ek Tanılar:

Şuan Kullandığı ilaçlar:

Özgeçmiş:

Soygeçmiş:

Zeka Puanı:

EK-3

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

Araştırmanın Adı / Protokol Numarası: Otizm spektrum bozukluğunda SDF-1 (stromal cell derived factor-1)/CXCR4 (chemokine receptor type 4) genlerinin incelenmesi

Araştırmanın Konusu: Otizm spektrum bozukluğunda SDF-1 (stromal cell derived factor-1)/CXCR4 (chemokine receptor type 4) genlerinin incelenmesi

Araştırmanın Amacı: Bu araştırmada kliniğimize başvuran Otizm spektrum bozukluğu tanılı çocuklar ve bu çocukların biyolojik anne ve babalarının kan örneklerinde SDF-1 (stromal cell derived factor-1)/CXCR4 (chemokine receptor type 4) genlerinin incelenmesi planlanmıştır.

Araştırmanın Süresi: 1 yıl

Araştırmada İzlenecek Yöntem:

Çalışma grubu:

İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalına daha önce başvurmuş ve halen kliniğimizde takip edilen 2-18 yaş arası Otizm spektrum Bozukluğu tanısı konulmuş çocuklar ve bu çocukların biyolojik anne ve babaları çalışma grubu olarak alınacaktır. Katılım gönüllülük esasına dayalı olacaktır. Toplam 150 çocuğun araştırmaya katılması planlanmıştır.

Kan örnekleme; çalışmada, İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalına daha önce başvurmuş ve halen kliniğimizde takip edilen 2-18 yaş arası Otizm spektrum Bozukluğu tanısı konulmuş çocuklar ve bu çocukların biyolojik anne ve babalarından alınan kan örnekleme kullanılacaktır.

- Gönüllüden 10cc EDTA'lı kan örneği alınacaktır.
- Alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılacaktır.
- Polimorfizm çalışmaları direkt hastalık sonucunu belirtmemekte olup, kişiye söz konusu hastalığa yatkınlıkla ilişkili genetik yapıya sahip olup olmadığını göstermektedir.
- Çalışmada gönüllünün sadece kan örneği alınacaktır ve gönüllü üzerinde başka herhangi bir çalışma yapılmayacaktır.
- Alınan kan örneklerinden DNA elde edilecek ve bu DNA örnekleri bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır.
- Diğer bir çalışmada gönüllü DNA'sının kullanılması gerektiğinde kendisinden izin alınacak gönüllünün uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlık ve riskle karşılaşması söz konusu değildir.
- Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir.
- Gönüllü arzusu üzerine mali ve hukuki yükümlülük olmaksızın çalışmadan ayrılabilir.

- Bu işlemler için gönüllüden hiçbir ücret talep edilmeyecektir.
- Bu çalışma için gönüllüye herhangi bir ücret ödenmeyecektir.
- Çalışmaya katılmak zorunluluğunuz bulunmamaktadır, gönüllü istediği takdirde çalışmadan ayrılabilir.
- Gönüllünün çalışmaya katılmayı reddetmesi onun gelecekteki takip ve tedavisi üzerine olumsuz etkide bulunmayacaktır.
- Gönüllünün çalışmaya katılım süreci sadece gönüllüden kan örneğinin alınması ile sınırlıdır.
- Çalışma kabul kriterlerine ve özelliklerine uyum sağlamadığınız takdirde çalışmadan çıkarılabileceğiniz durumlar oluşabilir. Bu nedenle çalışmadan araştırmacının isteği ile çıkarılabilirsiniz.

Alternatif Tedavi veya Girişimler: Yok.

Araştırma Sırasında Karşılaşılabilecek Riskler: Uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlık ve risk söz konusu değildir.

Araştırma İlacının Olası Yan Etkileri: Gönüllüye herhangi bir ilaç verilmeyecektir.

Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabilecek Kişi Adı / Soyadı / Telefonu:

Dr. Tayfun Kara 0505 925 55 36

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilirim ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih