

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK ve ERGEN RUH SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI HASTALARDA
PERİFERİK KANDA TLR mRNA DÜZEYLERİNİN SAĞLIKLI
KONTROLLERLE KIYASLANMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ÇAĞLAR ŞİMŞEK**

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. BÜRGE KABUKÇU BAŞAY**

DENİZLİ - 2025

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK ve ERGEN RUH SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI HASTALARDA
PERİFERİK KANDA TLR mRNA DÜZEYLERİNİN SAĞLIKLI
KONTROLLERLE KIYASLANMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ÇAĞLAR ŞİMŞEK**

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. BÜRGE KABUKÇU BAŞAY**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 2023TIPF024 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ - 2025

..... danışmanlığında tarafından yapılan
'.....' başlıklı tez çalışması tarihinde yapılan tez
savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından
..... Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak
kabul edilmiştir.

BAŞKAN:

ÜYE:

ÜYE:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../2025

Prof. Dr.
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Asistanlığım boyunca ilgi, bilgi ve birikimlerini paylaşmaktan, desteklerini sunmaktan çekinmeyen, içinde bulunmaktan mutluluk ve onur duyduğum çalışma ortamı ile mesleki hayatıma büyük katkıları bulunan saygı değer hocalarım Doç. Dr. Bürge KABUKÇU BAŞAY'a, Doç. Dr. Ömer BAŞAY'a, Doç. Dr. Ahmet BÜBER'e, Doç. Dr. Merve AKTAŞ TERZİOĞLU'na ve Doç. Dr. Gülşen ÜNLÜ'ye;

Tez sürecinde her zaman yanımda olan, değerli fikirleri ile desteğini ve katkılarını esirgemeyen, öğrencisi olma şansına sahip olduğum, tez danışmanım Doç. Dr. Bürge KABUKÇU BAŞAY'a;

Tez sürecinde gösterdiği sabır ve ilgisi ile desteğini her zaman yanımda hissettiğim ve yardımları için Prof. Dr. Yavuz DODURGA'ya

Rotasyon süresince ve daha sonrasında birlikte çalıştığım, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Psikiyatri Anabilim Dalı'nın değerli hocaları, asistanları ve Psikiyatri Anabilim Dalı'nın tüm değerli çalışanlarına;

Rotasyon süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Olcay GÜNGÖR'e;

Hem tez süresince hem de asistanlığımda desteklerini esirgemeyen, birlikte keyifle çalıştığım başta eş kıdemlerim Dr. Sena PALAMUTCU KILIÇ'a, Dr. Belkız SAVLET ÖTKEN'e, Dr. Gözde KORUYAN TOSUN'a, Dr. Feriştah GÜNEŞ'e ve tüm Çocuk ve Ergen Psikiyatri asistanı arkadaşlarıma ve bölümümüzün tüm değerli çalışanlarına;

Destek ve sevgileri ile bugüne gelmemde büyük emekleri olan annem Ayşe ŞİMŞEK'e, babam Turgut ŞİMŞEK'e ve ablam Hürriyet Pınar ŞİMŞEK'e;

Hayatta desteğini her daim hissettiğim, sevgisi ve anlayışıyla hep yanımda olan yol arkadaşım, biricik eşim Merve SAĞDUR ŞİMŞEK'e;

Bu tezin ortaya çıkmasını mümkün kılan, çalışmaya gönüllü olarak katılan değerli çocuklar ve ailelerine;

Sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| ONAY SAYFASI..... | III |
| TEŞEKKÜR | IV |
| İÇİNDEKİLER | V |
| SİMGELER ve KISALTMALAR | VIII |
| TABLolar DİZİNİ | X |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | XI |
| ÖZET..... | XII |
| ABSTRACT | XIV |
| GİRİŞ | 1 |
| GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU..... | 3 |
| Tanım ve Tarihçe..... | 3 |
| DSM-V-TR Tanı Kriterleri..... | 4 |
| Epidemiyoloji | 5 |
| Klinik Görünüm | 5 |
| Ayırıcı Tanı..... | 7 |
| Kororbidite | 9 |
| Prognoz | 9 |
| Etiyoloji..... | 10 |
| TOLL LİKE RESEPTÖRLER | 15 |
| TLR'lerin Yapısı ve Sınıflandırması..... | 16 |
| TLR Sinyal Yolakları | 17 |
| TLR Üzerine Psikiyatrik Çalışmalar | 19 |
| GEREÇ YÖNTEM | 23 |
| AMAÇLAR | 23 |
| VARSAYIMLAR..... | 23 |
| ARAŞTIRMA TİPİ ve BÜTÇESİ..... | 24 |
| ARAŞTIRMANIN YAPILDIĞI YER | 24 |
| ARAŞTIRMANIN ÖRNEKLEMİ..... | 24 |
| ARAŞTIRMAYA DÂHİL OLMA VE DIŞLAMA KRİTERLERİ | 25 |
| OSB Grubunun Dâhil Olma Kriterleri: | 25 |

| | |
|---|----|
| OSB Grubunun Dışlama Kriterleri: | 25 |
| Kontrol Grubunun Dâhil Olma Kriterleri:..... | 26 |
| Kontrol Grubunun Dışlama Kriterleri: | 26 |
| ARAŞTIRMANIN YÜRÜTÜLMESİ | 26 |
| ARAŞTIRMADA KULLANILAN VERİ TOPLAMA ARAÇLARI | 27 |
| Sosyodemografik Veri Formu: | 27 |
| Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ/CARS): | 27 |
| Sorun Davranış Kontrol Listesi (SDKL/ABC): | 27 |
| BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER | 28 |
| Kan Örneklerinden Total RNA İzolasyonu | 28 |
| cDNA Sentezi..... | 29 |
| RT qPCR | 29 |
| Rölatif Kantitasyonun Hesaplanması | 31 |
| ELISA Yöntemiyle Serum TLR Protein Seviyelerinin Belirlenmesi | 32 |
| İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME | 33 |
| BULGULAR | 34 |
| KATILIMCILARIN SOSYODEMOGRAFİK VERİLERİ | 34 |
| Yaş..... | 34 |
| Cinsiyet | 34 |
| Aile Yapısı | 34 |
| Çocuk Sayısı | 35 |
| Ebeveyn Yaşı..... | 35 |
| Ebeveyn Öğrenim Durumu..... | 36 |
| Aylık Gelir | 36 |
| Doğum Bilgileri | 37 |
| Gebelik Sırasında Hastalık, Enfeksiyon Geçirme ve Sigara Maruziyeti... 38 | |
| KATILIMCILARIN ÖLÇEK VERİLERİ | 39 |
| Sorun Davranış Kontrol Listesi Ölçek Puanları..... | 39 |
| Çocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği Puanları | 40 |
| KATILIMCILARIN LABORATUVAR VERİLERİ | 41 |
| TLR mRNA Ekspresyon Kat Değişimleri | 41 |
| TLR Protein Düzeyleri | 42 |
| TLR Protein Düzeylerinin Yaş ile İlişkisi..... | 44 |
| TLR Protein Düzeylerinin Cinsiyet ile İlişkisi | 44 |

| | |
|---|----|
| TLR Protein Düzeylerinin SDKL ve ÇODÖ İlişkisi | 44 |
| TARTIŞMA | 47 |
| KATILIMCILARIN SOSYODEMOGRAFİK VERİLERİ..... | 47 |
| KATILIMCILARIN ÖLÇEK VERİLERİ | 49 |
| KATILIMCILARIN TLR mRNA ve TLR PROTEİN VERİLERİ | 50 |
| SONUÇLAR | 57 |
| KAYNAKÇA | 60 |
| EKLER..... | 80 |



SİMGELER ve KISALTMALAR

| | |
|---------------|---|
| ASD | Otizm Spektrum Bozukluğu |
| APC | Antijen sunan hücre |
| ÇERSAH | Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları |
| CDC | Hastalık Kontrol Merkezi |
| cDNA | Tamamlayıcı DNA |
| CNV | Kopya sayısı varyantları |
| Ct | Cycle treshold |
| ÇODÖ | Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği |
| DAMP | Hasarla ilgili moleküler paternler |
| DEHB | Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu |
| DNA | Deoksiribo Nükleik Asit |
| DSM | 'The Diagnostic and Statistical Manuel of Mental Disorders' Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı |
| EEG | Elektroensefalografi |
| ELISA | Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay |
| EYY | Entelektüel Yeti Yitimi |
| g | Yer çekimi kuvveti |
| GABA | Gama amino bütirik asit |
| HSP | Isı şok proteinleri |
| IL | İnterlökin |
| IRF | İnterferon düzenleyici faktör |
| IQ | Zeka Katsayısı |
| LPS | Lipopolisakkarit |
| MAPK | Mitojenle ilişkili protein kinazı |
| max | Maksimum |
| min | Minimum |
| mRNA | Mesajcı RNA |
| Med | Medyan değer |
| ml | Mililitre |
| MyD88 | Miyeloid farklılaşma primer yanıt proteini |

| | |
|----------------------|--|
| n | Örnekleme sayısı |
| NF-κB | Nükleer faktör kappa B |
| OKB | Obsesif Kompulsif Bozukluk |
| ort | Aritmetik ortalama |
| OSB | Otizm Spektrum Bozukluğu |
| PAMP | Patojenle ilişkili moleküler patern |
| PRP | Patern tanıyan reseptör |
| RNA | Ribo Nükleik Asit |
| rpm | Dakikada devir sayısı |
| RT-qPCR | Real-Time Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| SARM | Steril α ve armadillo motifi içeren protein |
| SDKL | Sorun Davranış Kontrol Listesi |
| ss | Standart sapma |
| TIR | Toll like/interlökin-1 reseptör |
| TIRAP/MAL | TIR ilişkili protein |
| TLR | Toll Like Reseptör |
| TRAM | TRIF ile ilişkili adaptör molekül |
| TRIF | TIR bölgesi IFN-beta indükleyen adaptör proteini |
| X² | Ki-kare |
| μl | Mikrolitre |
| °C | Santigrat derece |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo 1. TLR lokalizasyon, ligand ve adaptör proteinleri..... | 18 |
| Tablo 2. cDNA sentez karışımı. | 29 |
| Tablo 3. Çalışmada kullanılan genlerin ileri (forward) ve ters (reverse) dizileri | 30 |
| Tablo 4. qPCR için kullanılan karışım bilgileri | 30 |
| Tablo 5. RT-qPCR için reaksiyon koşulları | 31 |
| Tablo 6. OSB ve kontrol grubun yaşları..... | 34 |
| Tablo 7. OSB ve kontrol grubun cinsiyetleri | 34 |
| Tablo 8. OSB ve kontrol grubun aile yapısı | 35 |
| Tablo 9. OSB ve kontrol grubundaki ailelerin toplam çocuk sayısı | 35 |
| Tablo 10. OSB ve kontrol grubundaki ebeveyn yaşları | 36 |
| Tablo 11. OSB ve kontrol grubundaki ebeveynleri öğrenim düzeyi..... | 36 |
| Tablo 12. OSB ve kontrol grubundaki ailelerin aylık geliri..... | 37 |
| Tablo 13. OSB ve kontrol grubunun doğum bilgileri..... | 37 |
| Tablo 14. OSB ve kontrol grubundaki annelerin gebelik sırasında hastalık, enfeksiyon geçirme ve sigara maruziyeti | 38 |
| Tablo 15. SDKL ölçek puanları | 40 |
| Tablo 16. ÇODÖ puanları | 40 |
| Tablo 17. ÇODÖ grup | 41 |
| Tablo 18. TLR mRNA ekspresyon kat değişimleri..... | 42 |
| Tablo 19. TLR protein düzeyleri | 43 |
| Tablo 20. TLR protein düzeylerinin yaş ile ilişkisi..... | 44 |
| Tablo 21. TLR protein düzeylerinin cinsiyet ile ilişkisi..... | 44 |
| Tablo 22. TLR protein düzeylerinin SDKL ve ÇODÖ ilişkisi..... | 46 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1. DSM-V-TR OSB Tanı Kriterleri | 4 |
| Şekil 2. TLR Sinyalizasyonu | 19 |
| Şekil 3. TLR mRNA Ekspresyon Kat Değişimleri | 42 |



ÖZET

Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Hastalarda Periferik Kanda TLR mRNA Düzeylerinin Sağlıklı Kontrollerle Kıyaslanması

Dr. Çağlar ŞİMŞEK

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB), etiolojisinde birden çok faktörün rol oynadığı tek bir etkenin neden olarak gösterilemediği nörogelişimsel bozukluktur. Etiyolojide genetik, çevresel, nörobiyolojik faktörler etkili olmakla beraber nöroinflamasyonun ve immün sistem elemanlarının da rol oynadığı yazında gösterilmiştir. İmmün sistemde patern tanıma reseptörü olan Toll Like Reseptör (TLR)'lerin reseptör olarak işlev görmeleri yanı sıra, TLR sinyallerinin nörogenez, aksonal büyüme ve plastisite dâhil olmak üzere santral sinir sisteminde dinamik süreçleri etkilediği bilinmektedir. TLR'ler son yıllarda nöropsikiyatrik hastalıkların da araştırma konusu olmuştur fakat OSB'de TLR çalışmaları kısıtlı olduğu görülmektedir.

TLR'lerin OSB etyopatogenezindeki rollerini araştırmak amacıyla 31 OSB tanılı hasta ve 31 sağlıklı kontrolden oluşan çocuk ve ergenin periferik kanda TLR mRNA ekspresyonlarını ve serum protein düzeylerini incelenmiştir. DSM-V tanı kriterlerine göre OSB tanısı alan, bilinen kronik sistemik hastalığı olmayan, medikal tedavi kullanmayan 4-18 yaş aralığında çocuk ve ergenler olgu grubunu, psikiyatrik rahatsızlığı ve bilinen sistemik kronik rahatsızlığı olmayan, medikal tedavi kullanmayan, yaş ve cinsiyet dağılımı olgu grubuna benzer çocuk ve ergenler de sağlıklı kontrol grubunu oluşturmuştur. Katılımcılar ve ebeveynleriyle DSM-V temelli klinik görüşme yapılmış, Çocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği ve Sorun Davranış Kontrol Listesi uygulanmıştır. Katılımcıların periferik kanda TLR mRNA ekspresyon düzeyleri RT-qPCR işlemiyle kıyaslanmış, TLR mRNA ekspresyonları farklılaşan TLR çeşitlerinin serumda TLR protein düzeyleri ELİSA yöntemiyle ölçülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda OSB grubunun TLR1, TLR4, TLR5, TLR8 mRNA ekspresyon ve protein düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek, TLR6 mRNA ekspresyon ve protein düzeylerinin daha düşük, TLR2, TLR3, TLR7, TLR9, TLR10

mRNA ekspresyonlarında farklılık olmadığı saptanmıştır. TLR4 mRNA ekspresyon ve protein düzeylerinin OSB grubunda daha yüksek olması yazınla uyumlu olmakla beraber bizim bildiğimiz kadarıyla yazında OSB’de TLR1, TLR5, TLR6, TLR8 ekspresyon ve protein düzeylerini analiz eden çalışma bulunmamaktadır ve bulgularımız yazında ilk defa bildirilmiştir. OSB’de TLR sinyallerinin daha iyi anlaşılması OSB etiyojisine ışık tutabilir ve gelecekte terapötik stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabilir; dahası TLR’ler OSB tanısında aday biyobelirteç olabilirler. Sonuçlarımız TLR’lerin OSB etyopatogenezinde olası rolünü göstermesi amacıyla gelecek çalışmalara ışık tutan bir çalışma olarak değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Otizm Spektrum Bozukluğu, Toll Like Reseptörler, Çocuk ve Ergen

ABSTRACT

Comparison of Peripheral Blood TLR mRNA Levels in Patients Diagnosed with Autism Spectrum Disorder and Healthy Controls

Dr. Çağlar ŞİMŞEK

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder in which multiple factors play a role in its etiology, and no single factor can be identified as the cause. In the etiology, genetic, environmental, and neurobiological factors are effective, and it has also been demonstrated in the literature that neuroinflammation and components of the immune system play a role. Toll-Like Receptors (TLRs), which are pattern recognition receptors in the immune system, not only function as receptors but also to influence dynamic processes in the central nervous system, including neurogenesis, axonal growth, and plasticity through TLR signaling. In recent years, TLRs have become a subject of research in neuropsychiatric disorders; however, studies on TLRs in ASD appear to be limited.

In order to investigate the role of TLRs in the etiopathogenesis of ASD, TLR mRNA expression and serum protein levels were analyzed in the peripheral blood of 31 ASD patients and 31 healthy control children and adolescents. The case group consisted of children and adolescents aged 4-18 years who were diagnosed with ASD according to the DSM-V criteria, had no known chronic systemic diseases, and not receiving any medical treatment. The control group consisted of healthy children and adolescents without psychiatric disorders or known chronic systemic diseases, also not receiving any medical treatment, and had a similar age and gender distribution to the case group. A clinical interview based on DSM-V was conducted with the participants and their parents, and the Childhood Autism Rating Scale and Aberrant Behavior Checklist were applied. The TLR mRNA expression levels in the peripheral blood of the participants were compared using RT-qPCR, and the serum TLR protein levels of the differentially expressed TLR types were measured by the ELISA method.

As a result, our study revealed that the TLR1, TLR4, TLR5, and TLR8 mRNA expression and protein levels were higher in the ASD group compared to the control group, while the TLR6 mRNA expression and protein levels were lower. No

significant differences were observed in the mRNA expression levels of TLR2, TLR3, TLR7, TLR9, and TLR10. The higher mRNA expression and protein levels of TLR4 in the ASD group are consistent with the literature; however, to the best of our knowledge, no previous studies have analyzed the expression and protein levels of TLR1, TLR5, TLR6, and TLR8 in ASD, our findings represent the first report of these results in the literature. A better understanding of TLR signaling in ASD may shed light on the etiology of ASD and contribute to the development of future therapeutic strategies. Furthermore, TLRs could serve as potential biomarkers for the diagnosis of ASD. Our findings may be considered as a preliminary study for future research aimed at exploring the potential role of TLRs in the etiopathogenesis of ASD.

Keywords: Autism Spectrum Disorder, Toll-Like Receptors, Child and Adolescents

GİRİŞ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB); erken çocukluk döneminde başlayan sosyal iletişim ve etkileşimde yetersizlikle karakterize, tekrarlayıcı davranış ve kısıtlı ilgi alanlarının eşlik ettiği nörogelişimsel bir bozukluktur (1). İlk defa 1943 yılında Leo Kanner tarafından tanımlanmış olan bu bozukluk, tanılama ve sınıflama sistemine 1980 yılında girmiştir (2,3). 2013'te sınıflama değişikliği ile Nörogelişimsel Bozukluklar başlığı altında yer almış ve şemsiye tanı haline gelmiştir. Tanı kriterleri iki alt başlıkta toplanmıştır, bunlar; toplumsal iletişim ve etkileşimde yetersizlikler, tekrarlayıcı davranış, ilgi ve etkinliklerdir (4,5).

Epidemiyolojik olarak nadir hastalık olarak değerlendirilen OSB'nin, 2000'li yıllarda yapılan çalışmalarla beraber sıklığının arttığı belirtilmiştir. 2023'te yayınlanan son CDC raporuna göre ise 8 yaş grubunda OSB sıklığı 2020 yılı için 1/36 saptanmıştır (6). Klinik görünüm her olguda farklı olmakla beraber yaş, dil gelişimi ve zekâ düzeyi klinik görünümü belirleyen etmenlerdir (7). Erişkin çağda bazı OSB'li bireyler bağımsız olarak hayatlarını sürdürebilirken, bazıları çekirdek semptomların devam etmesi nedeniyle bağımsız yaşamakta güçlük çekmektedirler. Belirtilerin yaşla birlikte azalabileceği bildirilmekle birlikte, dil becerileri ve sosyal iletişim becerilerinde olumlu gelişmeler gözlenirse dahi bu alanlardaki zorlukların tamamen ortadan kalkmadığı da bilinmektedir (8,9).

Günümüzde OSB'ye tek bir etkenin neden olarak gösterilemediği ve çevresel, genetik, nörobiyolojik birden çok faktörün rol aldığı belirtilmiştir (10). Bağışıklık sistemi elemanlarının nicel ve nitel değişiklikleri, immünooglobulin değişiklikleri, proinflamatuvar sitokinlerin artışı, otoantikörlerin varlığı otizmle ilişkili bulunmuştur (11,12). Merkezi sinir sisteminde, astrosit ve mikroglia aktivasyonunun hatalı sinaptik budanma ve sitokin üretimiyle ilişkili olduğu ve bu durumun OSB ve diğer nörogelişimsel bozukluklara yol açtığı düşünülmektedir (13–15).

Doğal immün sistemde, patern tanıma reseptörü olan Toll Like Reseptörler (TLR) patojenlere ait yapıları ve hasarla ilişkili yapıları tanıyan reseptörlerdir. TLR'ler ligandlarına bağlandığında proinlamasyonun elemanları olan sitokin ve kemokin salgılanması gerçekleştirir, böylece immün yolakların aktivasyonu sağlanır (16–20).

Okun ve arkadaşları TLR'lerin sadece bağışıklık sisteminde reseptör görevi üstlenmediği ayrıca TLR sinyallerinin nörogenез, aksonal büyüme ve plastisite dâhil olmak üzere santral sinir sisteminde dinamik süreçleri etkilediğini bu yolla öğrenme, hafıza, anksiyete süreçlerinde de etkisinin olduğunu belirtmişlerdir (21). TLR'ler son yıllarda nöropsikiyatrik hastalıklarında araştırma konusu olmuştur fakat OSB tanı grubunda TLR çalışmaları kısıtlıdır (22). Yazında OSB'nda çalışmalar hayvan deneylerinde yoğunlaşmakta ve klinik örneklerde ise seçili kan hücrelerinde ve seçili TLR'ler ile sınırlıdır.

Çalışmamızda TLR'lerin OSB'deki etiyopatogenezindeki rollerini araştırmayı amaçladık. Periferik kanda TLR profilini incelemek için ilk aşamada OSB ve sağlıklı kontrol grupları arasında TLR mRNA ekspresyonlarının kıyaslanması ve ikinci aşamada ise TLR mRNA ekspresyonları farklılaşan TLR'lerin serum protein düzeylerinin kıyaslanması planlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU

Tanım ve Tarihçe

OSB; erken çocukluk döneminde başlayan sosyal iletişim ve etkileşimde yetersizlikle karakterize, tekrarlayıcı davranış ve kısıtlı ilgi alanlarının eşlik ettiği nörogelişimsel bir bozukluktur (1).

Otizm kelimesinin anlamı, Yunancada kendi anlamında kullanılan ‘Autos’ kelimesinden gelmektedir. Otizm terimi ilk defa 1911 yılında Bleuler tarafından şizofreni hastalarında içe dönüklük, kendine dönüklük belirtilerini tanımlamak için kullanılmıştır (23). 1943 yılında Leo Kanner sosyal iletişimde güçlük, ekolali, tekrarlayıcı hareketler sergileyen 11 çocuğu inceleyen ‘Autistic Disturbances of Affective Contact’ olgu serisinde otizm terimini şizofreniden farklı bir durum olan ‘İnfantil Otizm’ adıyla bahsetmiştir (2). Kanner’ın makalesinden bir yıl sonra Hans Asperger, benzer belirtileri sergileyen yaşlılarından farklı ilgi alanları olan, normal zekâya sahip 4 olguyu ‘Otistik Psikopati’ adıyla tanımlamıştır (24).

Otizm tanılama sisteminde ilk defa 1980 yılında Amerikan Psikiyatri Birliği’nin yayınladığı ‘The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders’ (DSM)-III’te ‘İnfantil Otizm’ adıyla ‘Yaygın Gelişimsel Bozukluklar’ grubunda yer almıştır (3). 1987 yılında yayınlanan DSM-III-R’de ‘İnfantil Otizm’ tanımı ‘Otistik Bozukluk’ olarak değiştirilmiştir (4). 1994 yılında DSM-IV yayınlanması ile Yaygın Gelişimsel Bozukluklar 5 alt gruba ayrılmıştır. Bunlar; Otistik Bozukluk, Asperger Sendromu, Rett Sendromu, Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu ve Başka Türlü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluktur (25). 2013 yılında yayınlanan DSM-V’te genetik etiyolojisi keşfedilen Rett Sendromu kaldırılmış ve geri kalan 4 tanı ‘Nörogelişimsel Bozukluklar’ başlığında OSB şemsiye tanısı altında birleştirilmiştir. Yapılan bu değişiklikle tanılamada kullanılan 3 ölçüt 2 ölçüt olacak şekilde birleştirilmiştir. Bunlar; toplumsal iletişim ve etkileşimde yetersizlik ve tekrarlayıcı davranışlar, ilgi alanları ya da etkinliklerdir (4,5).

DSM-V-TR Tanı Kriterleri

Şekil 1. DSM-V-TR OSB Tanı Kriterleri(26)

| |
|---|
| <p>A. Aşağıda sıralanan bütün maddelerde ifade edildiği gibi, şimdi veya geçmişte farklı şekillerde görülen toplumsal iletişim ve toplumsal etkileşimde sürekli yetersizliğin olması</p> <ol style="list-style-type: none">1) Toplumsal-duygusal karşılık vermedeki yetersizlik (örn. olağandışı toplumsal yaklaşımda karşılıklı diyalog yürütmekte çekilen güçlüğü; ilgilerini, duygularını veya duygulanımını paylaşmadaki yetersizlikten, sosyal etkileşime cevap vermemeye kadar olan yetersizlikler)2) Toplumsal etkileşim için kullanılan sözel olmayan iletişimsel davranışlarda yetersizlik (örn.zayıf entegre olmuş sözel ve sözel olmayan iletişim, anormal göz kontaktı ve beden dili veya jestleri anlamakta ve kullanmakta yetersizlik ve yüz ifadesi ve beden diline kadar bariz eksiklerin varlığı)3) İlişkileri, geliştirmekte, devam ettirmekte ve anlamakta güçlük (örn. farklı toplumsal ortamlara uygun davranmamaktan, hayali oyun paylaşamamaya ve arkadaş edinememeye, arkadaşla ilgi duymamaya kadar görülen davranışlar) |
| <p>B. Aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı ile kendini gösteren, şu an veya geçmişte sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar, ilgiler ya da etkinlikler</p> <ol style="list-style-type: none">1) Basmakalıp veya tekrarlayıcı motor hareketler, obje kullanımı veya konuşma (örn. basit motor stereotipler, oyuncakları dizme veya çevirme, ekolali, idiyosentrik cümleler)2) Aynı olmakta ısrar, rutine sıkı sıkıya bağlı olma veya ritüelleşmiş sözel ve sözel olmayan davranışlar (örn. ufak değişimlerde aşırı stres, geçişlerde zorluk, sert düşünce tarzı, selamlaşma ritüelleri, her gün aynı yolu veya aynı yemeği tercih)3) Konu veya yoğunluk açısından anormal olan sınırlı, sabitlenmiş ilgiler (örn. Yaygın olmayan nesnelere anormal aşırı bağlılık, aşırı tekrarlayıcı veya sınırlı)4) Duyusal olarak aşırı ya da az duyarlılık veya çevrenin duysal boyutuna aşırı ilgi (örn. acıya/sıcağa aşırı duyarsızlık, belirli ses veya dokunuşlara karşı beklenmeyen tepki, nesnelere aşırı koklama veya onlara aşırı dokunma, ışık veya hareketle görsel olarak çok meşgul) |
| <p>C. Belirtiler gelişimin erken evrelerinde mevcut olmalı (toplumsal beklentiler sınırları aşınca dek fark edilmemiş veya daha sonra hayatta öğrendiği stratejilerle maskelenmiş olabilir.)</p> |
| <p>D. Belirtiler sosyal, mesleki ve başka önemli alanlarda klinik olarak anlamlı düzeyde bozukluğa yol açmalıdır.</p> |
| <p>E. Bu bozukluk zihinsel yetersizlik veya genel gelişimsel gerilik sebebi ile olmamalıdır. Gerçi zihinsel yetersizlik ve OSM sıklıkla bir arada görülür, ancak OSB ve zihinsel engellilik tanısı konması için sosyal iletişimsel düzeyin genel gelişimin altında olması gerekir</p> |
| <p>Not: DSM-IV'e göre Otistik Bozukluk, Asperger Bozukluğu ve YGB-BTA tanısı almış olanlara OSB tanısı verilmelidir. Sosyal iletişimsel alanda problem olan ancak OSB tanısı almayanlar sosyal (pragmatik) iletişimsel bozukluk açısından değerlendirilmelidirler.</p> |
| <p>Mevcut durumun şiddetini sosyal iletişimsel yetersizlikler ve kısıtlı tekrarlayıcı davranış paternine göre belirtin:</p> <ul style="list-style-type: none">-Çok ciddi düzeyde desteğe ihtiyacı var-Ciddi desteğe ihtiyacı var-Destek ihtiyacı var |
| <p>Ayrıca:</p> <ul style="list-style-type: none">- Zihinsel yetersizliğin eşlik edip etmediğini- Dil yetersizliğinin eşlik edip etmediğini,- Bilinen bir tıbbi, genetik veya çevresel faktörün eşlik edip etmediğini- Başka nörogelişimsel, ruhsal veya davranışsal durumların olup olmadığını,- Katatoninin eşlik edip etmediğini belirtiniz |

Epidemiyoloji

1980’li yıllara kadar yapılan ilk prevalans çalışmalarında OSB yaklaşık 4/10000 çocukta görülen, sık olmayan bir hastalık olarak açıklanmıştır (27). 1966-1998 yılları arasında yapılmış olan 23 prevalans çalışmasını dâhil eden meta-analiz ise OSB sıklığını 14,3/10.000 olarak bulmuştur (28). Nadir hastalık olarak değerlendirilen OSB’nin, 2000’li yıllarda yapılan çalışmalarla beraber sıklığının arttığı bulunmuştur. Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol Merkezi’nin (CDC) yayınladıkları raporlara göre 8 yaş grubunda OSB sıklığı 2006’da 1/150, 2012’de 1/69 ve 2018’de 1/44 olarak saptanmıştır (29). 2023’te yayınlanan son rapora göre ise 8 yaş grubunda OSB sıklığı 2020 yılı için 1/36 saptanmıştır (6). 1994-2019 yılları arasında yapılan prevalans çalışmalarının dâhil edildiği üç aşamalı meta-analizde, OSB prevalansı %0,72 olarak raporlanmıştır (30). Ülkemizde 2019 yapılan prevalans çalışmasında ise OSB sıklığı 16-36 ay arası 1/117 olarak tespit edilmiştir (31).

Yıllar içerisinde otizmin sıklığında görülen bu artış; DSM-IV’ten DSM-V’e geçişte oluşan tanı kriterlerindeki değişiklikler, toplum tarafından otizmin bilinirliğinin artması, ilgili uzmana erişimin kolaylığı, tanısız değerlendirme araçlarındaki gelişmeler gibi pek çok nedene dayandırılmıştır (9). Sıklık artışında çevresel risk faktörlerinin de etkili olduğu bilinmekle beraber, ileri ebeveyn yaşı en önemli çevresel risk faktörü olarak değerlendirilmiştir (32).

OSB diğer nörogelişimsel bozukluklar gibi erkek cinsiyette daha sık görülmektedir. 2023’de yayınlanan CDC’in prevalans çalışmasında erkeklerde 3.8 kat daha sık olduğu belirtilmiştir (6). Entelektüel yeti yitimi (EYY) olmayan OSB tanılı grupta erkeklerin kızlara oranı 6 ile 16 kat arasında değişmekte iken, EYY’nin eşlik etmesiyle erkeklerin kızlara oranı eşit veya 2 kat arasında değişmektedir (33).

Klinik Görünüm

OSB ana belirtileri sosyal iletişim ve etkileşimde yetersizlik ve tekrarlayıcı davranışlar, ilgiler ve etkinliklerdir. Klinik görünüm her olguda farklı olmakla beraber yaş, dil gelişimi ve zekâ düzeyi klinik görünümü belirleyen etmenlerdir (7).

0-1 yaş: OSB belirtilerini ilk bir yaşta gözlemlemek oldukça güç olabilir. 6-12 aylık çocuklarda; hipoaktivite, hipotoni, atipik el, kol hareketleri, anormal postural duruş gibi motor belirtiler eşlik edebilir. Sosyal gülümsemenin olmaması, göz teması kurmaması ya da yetersiz olması, seslere tepki göstermemesi, babıldama gecikmesi gibi sosyal etkileşimde yetersizlikler yaşamın birinci yılında ipucu olabilir (34,35).

1-2 yaş: El çırpma, sıralama, kendi etrafında dönme gibi tekrarlayıcı motor faaliyetler, rutinlere sıkı sıkı bağlılık ve rutinlerin dışına çıkıldığında aşırı tepki gösterme davranışları bu dönemde gözlenebilir. Alıcı ve ifade edici dil gelişiminde gecikme, kelime sayısının yaşlılarından eksik olması, göz temasında kısıtlılık, ismine seslenildiğinde kayıtsızlık, isteklerini parmakla ile işaret edememe, ortak dikkat geliştirememesi, çevredeki uyaranlara ilgi duymama ile karakterize sosyal iletişim ve etkileşimde yetersizlikler gözlenebilir. Yine bu dönemde çevresel uyaranlara ilgisizlik gözlenebilirken ses, ışık, dokunmaya karşı da aşırı duyarlı olabilirler (34,36). OSB tanılı çocukların %60-70'inde beceri eksiklikleri doğumdan itibaren görülse de %30-40'ında normal gelişim gösterirken 2 yaş döneminde beceri kayıpları gerçekleşebilir (37).

2-3 yaş: Hastaneye başvurunun en sık olduğu yaş aralığı olup ebeveynler gecikmiş dil gelişimi ya da kazanılan becerilerin kaybıyla başvurabilirler (37). Klinik görünüm ilk 2 yaşa göre daha tipik olabilir. Dil sorunları; konuşma gecikmesi, anormal prozodi, ekolali olarak karşımıza çıkabilir. Sosyal ipuçlarını yakalayamama, taklit becerilerinde gerilik, komutlara uymama, ismine bakmama, akranlarına ilgisiz olma, paralel oyun oynayamama görülebilir. Stereotipik davranışlar, dönen cisimlere ilgi, canlılardan çok cansız nesnelere ilgili olmayla alakalı tekrarlayıcı davranışlar, ilgiler gözlenebilir (38,39).

Okul Öncesi Dönem: İlk 3 yaşta bulunan belirtiler bu dönemde devam etmekle beraber, akranlarıyla iletişim ve etkileşime girmeye ilgisizlik, hayali oyun kuramama görülebilir. Dil becerileri gelişen çocuklarda ekolali, monoton konuşma, kelime sayısının yetersiz olması, neolojizm, zamir karıştırma eşlik edebilir. Motor stereotipler, rutinin değişimine direnç, aynılıkta ısrar, kısıtlı ilgi alanları bu dönemde sıkça karşılaşılan durumlardır (38-40).

Okul Çağı Dönemi: Bu dönemde otizmin çekirdek belirtileri sürmekte olup, eğitsel destek almış olması ve çocuğun gelişiminin de etkisiyle bazı belirtilerde iyileşmeler gözlenebilmektedir. Dil gelişimi olgudan olguya farklılık gösterse de diğer dönemlerde olduğu gibi prognozu etkilemektedir. Okul döneminde yeni durumlara ve ortamlara dâhil olan çocuklar sosyal becerilerinin yetersiz kalmasıyla uyumda zorluklar yaşayabilmektedir. Akranlarına uyum sağlayamama, kurallara uymakta güçlük, yönergeleri takip edememe, stereotipi kaynaklı uygunsuz davranışlar bu dönemin güçlükleri arasındadır (38–40).

Ergenlik Dönemi: Devam eden çekirdek belirtilerin şiddetli olması, komorbid tanıların varlığı, hormonal değişimlerin etkisiyle ergenlik döneminde çeşitli zorluklar gözlenebilir. Öfke problemleri, dürtü kontrol sorunları, yıkıcı davranışlar, öz bakımda yetersizlik, mastürbasyon sıklığında artış, uygunsuz cinsel davranışlar bu dönemde karşılaşılabilen güçlüklerdir. Sosyal becerilerdeki yetersizlikler akranlarıyla iletişim kurmakta güçlüğü, akran zorbalığına maruz kalmaya, sosyal izolasyona sebep olabilir. Yüksek işlevli otizimli ergenler bu güçlüklerin farkında olup, ergenlerin depresyon ve intihar riski artmaktadır. Bu sebeplerle ergenlik döneminde psikiyatrik destek arayışı artabilir (41–44).

Ayırıcı Tanı

Erken çocukluk döneminde diğer gelişimsel bozuklukların görülebilmesi ve OSB'ye eşlik etmesi küçük yaş grubunda ayırıcı tanıyı güçleştirmektedir. Ayırıcı tanının ve eşlik eden tanıların doğru yapılması, etkili takip ve tedavi sürecinin temelini oluşturur.

Dil Bozuklukları: Dil bozukluğu görülen çocuklar sözel olmayan iletişim kurabilmeleri, sosyal becerilerin varlığı ile OSB tanılı çocuklardan ayrılırlar. Ortak dikkat, işaret etme, jest mimik kullanımı, çevreye karşı ilgili olmaları, stereotipik davranışların olmaması ile ayırt edilebilirler (45).

Sosyal İletişim Bozukluğu: DSM-V tanı kriterleri sözel ve sözel olmayan iletişimde toplumsal süregiden güçlükler olarak ifade edilmiştir. “İletişimi sosyal içeriğe uygun biçimde değiştirmede ya da dinleyicinin ihtiyacını anlamada zorluk, diyalogda

kuralları takip etmede ve hikâye anlatmada güçlük, açık ifade edilemeyen şeyi kavramakta güçlük’’ tanı kriterleri mevcuttur. Tekrarlayıcı davranışların eşlik etmemesi, sınırlı ilgi ve etkinliklerin olmaması ile OSB’den ayrılır (1,46).

Görme ve İşitme Engelliler: Görme ve işitme kaybı olan bireylerde sosyal ve iletişim becerilerinde yetersizlikler gözlenebilir. Sosyal becerilerin yetersizliği OSB belirtileri ile karışmakla beraber ayırıcı tanı yapılırken işitme testi istenmeli, işitme kusuru giderilen çocukların belirtilerinde iyileşme sağlanmaktadır. Ayrıca dikkat edilmesi gereken bir diğer konu bu bireylerin normal gelişimdeki çocuklara kıyasla OSB prevalansı daha yüksek olduğudur (47,48).

Entelektüel Yeti Yitimi(EYY): EYY klinik gidişatı etkileyen, OSB’ ye sık eşlik eden komorbidite olmakla beraber farklı oranlar gözlenirse de 2023 yılında yayınlanan CDC verilerine göre %37.9 oranında OSB’ye eşlik ettiği saptanmıştır (6). OSB’nin eşlik etmediği pür EYY tanısı olan çocuklarda sosyal iletişim becerileri bilişsel düzeyle uyumlu olup, dış dünyaya ve insanlara ilgili olması, sosyalleşme çabaları, eşlik eden fiziksel gelişimde gecikme olabilmesi ayırıcı tanıda önemlidir (49,50).

Tepkisel Bağlanma Bozukluğu: Ruhsal ve fiziksel gelişimi için gerekli bakımı alamayan, güvenli bağlanma oluşmayan, ihmal edilen, istismar edilen çocukların OSB’ye benzer sosyal alanda yetersizlikler görülebilir. Çevresel koşulların düzenlenmesiyle belirtilerde düzelme olması Tepkisel Bağlanma Bozukluğunu OSB’den ayırır (45,51,52).

Çok Erken Başlangıçlı Şizofreni: Küçük yaş grubunda çok erken başlangıçlı şizofreni sıklığı az olmakla beraber negatif belirtilerin olması, dezorganize konuşma ve davranışlar otizmle karışabilmektedir. Ayırıcı tanıda detaylı alınan gelişimsel öykü, belirtilerin başlama yaşı, sanrı, varsanı gibi pozitif belirtilerin olması yardımcı olabilir (45,53).

Landau-Kleffner Sendromu: 3-4 yaşlarına kadar dil becerilerinin normal gelişim gösterdiği çocuklarda, epileptik nöbetlerle karakterize afazinin eşlik ettiği sözel iletişim gerilemesiyle giden sendromdur. Gelişimsel öykü, elektroensefalografi (EEG) bulguları, nörolojik değerlendirme ayırıcı tanıda bulunabilir (45,54).

Komorbidite

OSB ile birlikte görülen bozuklukların tanınması ve tedavi edilmesi OSB'li bireylerin hayat kalitesinin, tedavi uyumunun, işlevselliğinin artmasında önemlidir. Yapılan çalışmalarda OSB'ye %70 oranında komorbid en az bir, %40 oranında ise en az iki psikiyatrik komorbidite olduğu saptanmıştır (55).

2019 yılında yayınlanan 96 çalışmanın dahil edildiği meta-analizde; dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu (DEHB) sıklığının %28, anksiyete bozukluklarının %20, uyku bozukluklarının %13, dürtü kontrol ve davranım bozukluğunun %12, depresif bozukluğun %11, obsesif kompulsif bozukluğun (OKB) %9, bipolar bozukluğun %5 ve şizofreninin %4 oranında OSB'ye eşlik ettiği gösterilmiştir (56).

2022 yılında yayınlanan 39 komorbidite çalışmasının dâhil edildiği meta-analizde; DEHB sıklığının %26,2, EYY'nin %22,9, uyku bozukluklarının %19,7, anksiyete bozukluklarının %11, yıkıcı davranış bozukluklarının %7, depresif bozukluğun %2,7, bipolar bozukluğun %2, OKB'nin %1,8 ve psikozun %0,6 oranında OSB'ye komorbid olduğu yayınlanmıştır (57).

Prognoz

Erişkin çağda bazı OSB'li bireyler bağımsız olarak hayatlarını sürdürebilirken, bazıları çekirdek semptomların devam etmesi nedeniyle bağımsız yaşamakta güçlük çekmektedirler. Belirtilerin yaşla birlikte azalabileceği bildirilmekle birlikte, dil becerileri ve sosyal iletişim becerilerinde olumlu gelişmeler gözlense dahi bu alanlardaki zorlukların tamamen ortadan kalkmadığı da bilinmektedir (8,9).

Literatürde olumsuz prognostik faktörler, zekâ düzeyin düşük olması (IQ<70), eşlik eden hastalıklar ve bunların şiddeti, klinik belirtilerin şiddetli olması; olumlu prognostik faktörler; erken tanı, zekâ düzeyinin yüksek olması (IQ>70), dil becerilerinin erken yaşta kazanılması, eğitsel tedaviye olumlu yanıt olarak belirtilmiştir (45,54,58).

OSB tanılı bireylerin prognozunu değerlendiren 15 çalışmanın dâhil edildiği meta-analizde; bireylerin %19.7'si iyi prognoz, %31,1'i orta, %47.7'sinin kötü prognoz gösterdiği bulunmuştur (59).

Etiyoloji

Tarihsel süreçte OSB'nin etiyojisinde birçok farklı çevresel faktör ileri sürülmüştür. Buzdolabı anneler, aşular, televizyon maruziyeti araştırılan çevresel faktörlerden olup bunların etiyojide yeri olmadığı gösterilmiştir. Günümüzde OSB'ye tek bir etkenin neden olarak gösterilemediği ve çevresel, genetik, nörobiyolojik birden çok faktörün rol aldığı belirtilmiştir (10).

Genetik Faktörler:

OSB'nin genetik etiyojisi hakkında bilgilerimiz aile çalışmaları, kromozom analizleri, moleküler genetik çalışmalarından toplanmaktadır.

Aile ve ikiz çalışmalarından toplanan verilerde kalıtsallık oranının %90 olduğu, monozigot ikizlerde %36-96, dizigot ikizlerde %0-27 oranları arasında konkordans olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (60,61). İkiz olmayan OSB tanılı bireylerin kardeşlerinde OSB görülme riski 20-25 kat artmaktadır (62). Oranlar OSB'nin yüksek düzeyde kalıtılabilir olduğunu göstermektedir. OSB tanılı bireylerin aile üyelerinde %10-20 oranında tanı düzeyinde olmayan otizm belirtilerinin olduğu gözlenmiş, bu durum literatürde geniş otizm fenotipi olarak isimlendirilmiştir (63).

OSB'li bireylerin %25-35'inde genetik faktörlerin saptanabildiği belirtilmekle bunlar; tek gen mutasyonları %5, kromozom anomalileri %5, kopya sayısı varyantlarının (CNV) %10-20 oranında etkili olduğu gösterilmiştir (64). Etiyojisinde tek gen mutasyonları olan Frajil X, Tuberoskleroz, Nörofibromatozis tip 1, Rett Sendromu, PTEN, Timothy sendromunun klinik belirtileri arasında otizm gözlenebilir (65). DNA dizisinde bulunan genlerin kopya sayılarındaki değişiklikler CNV olarak adlandırılan genomdaki yapısal değişikliklerdir. OSB ilişkili 1q21, 2p16.3, 3p25-26, 7q36.2, 15q11-13, 16p11.2 ve 22q11.2 bölgelerinde sık görülen CNV bulunmuştur (66).

Çevresel Faktörler:

OSB etiolojisinde en sık araştırılan konulardan biri çevresel faktörlerdir. Çevresel faktörlerin; gen-çevre etkileşimi, sperm-yumurta hücrelerinde genetik hasara neden olması, epigenetik olarak kalıtsal geçiş sağlaması, genetik eğilimlerin çevresel maruziyete sebebiyet vermesi nedenleriyle genomik değişikliklerle etiolojide yer aldığı düşünülmektedir (67). Gen-çevre etkileşimi epigenetik mekanizmalarla(DNA metilasyonu, histon asetilasyonu) DNA dizilimi değişmeden gen ifadesinde değişime neden olmaktadır (68).

İleri ebeveyn yaşı çevresel faktörlerden içinde en anlamlı sonuçlara sahiptir. 2019 yılında yayınlanan 46 çalışmanın tarandığı meta-analizde, anne yaşının 35'ten yüksek olmasının OSB riskinde artışa neden olduğu belirtilmiştir (32). Özellikle ileri baba yaşının de-nova mutasyon artışlarıyla OSB riskini arttırdığı düşünülmektedir (69). Ayrıca mekanizması bilinemese de iki doğum arasının 24 aydan kısa olması, OSB riskinde artışla ilişkilendirilmiştir (70).

Prenatal dönemde geçirilen maternal enfeksiyonlar, annenin immün sistemini aktive ederek IL-6 artışıyla fetal beyin gelişimini etkilediği belirtilmektedir (71). Prenatal dönemde annenin valproik asit, antidepresan kullanımı, alkol, sigara kullanımı, nörotoksik etkileri bilinen insektisit ve pestisid maruziyeti, ağır metallerden civa ve kurşun maruziyetinin OSB riskini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (72,73). Annenin hipertansiyon, diabetes mellitus tanılarının olması, D vitamini düşüklüğü, çocuğun prematüre ve düşük doğum ağırlığının olması OSB riskini artırmaktadır (74,75).

Nöroanatomik Değişimler:

OSB'de nöroanatomik değişiklikler hem makroanatomik hem mikroanatomik değişiklikler olarak iki boyutta değerlendirilebilir.

Makroanatomik değişiklikler; OSB'li çocukların doğumda normal veya normalden küçük beyin hacmine sahip oldukları, 6-14 aylık süreçte beyinlerinde normalden fazla büyüme gerçekleştiği, büyümenin 3 yaşına kadar sürdüğü ve baş çevresinin genişlediği, 4 yaşından sonra büyümenin duraksadığı çalışmalarda gösterilmiştir (76). 2022 yılında yayınlanan 19 görüntüleme çalışmasının dâhil edildiği

meta-analizde, amigdala, sağ parahipokampal girus, entorhinal korteks ve putamen hacminde küçülme olduğu, bu değişimlerin özellikle sağ hemisferde olduğu ve OSB'deki sosyal bilişsel işlevlerde rol oynadığı düşünülmektedir (77).

Makroanatomik değişikliklerin yanında mikroanatomik değişikliklerde postmortem çalışmalarda gösterilmiştir. Prefrontal ve temporal kortekste dağınık yoğunlaşmış nöronlar gözlenmiştir. Purkinje hücre sayısında azalma, serebellar vermiste hacimce küçülme, glial hücrelerde hiperplazi serebellumdaki değişikliklerdir (76,78). Neokorteksteki minikolumnar yapılar, nöronların daha fazla bağlantı kurmasını sağlayan yapılar olmakla beraber, OSB'li bireylerde bu yapılarda daralma ve sayıca artma gözlenmiştir (79). OSB'li bireylerde occipital ve frontal korteksler arasındaki iletişimsel bandın genişliğinin azaldığı gözlenmiş bu durum kortikal az bağlantı teorisi olarak tanımlanmıştır. Kortikal az bağlantı teorisi, klinik belirtilerden zihin teorisi, bilişsel esneklik ve bilgi işleme gibi becerilere açıklamalar getirmektedir (80,81).

Nörofizyolojik Değişimler:

Epilepsi insidansı nörotipik gelişen çocuklarda %0.5, OSB tanılı bireylerde %5-46 oranlarında değişmektedir. Epilepsi tanısı eşlik etmese bile EEG anomalileri OSB tanılı bireylerde %60 oranında görülmektedir (82). OSB tanılı okul öncesi çocuklarda %42 oranında EEG anomalilerinin eşlik ettiği bulgulanmış ve EEG anomalilerinin eşlik ettiği olgularda OSB kliniğinin daha şiddetli olduğu ve yürütücü işlev performansının daha kötü olduğu bildirilmiştir (83). Epilepsi ve OSB birlikteliğinin olması gama aminobütirik asit (GABA) aracılı nöronlarda anomaliler veya GABA reseptör işlev bozukluğuyla ilişkilendirilmiştir (82).

OSB ve epilepsi, farklı genetik ve nörobiyolojik nedenlere sahip olsalar da, bazı ortak mekanizmalar üzerinden beyin işlevlerini etkileyebilirler. Özellikle, her iki durumda da beyinin uyarılma ve inhibitör devrelerinde dengesizliklerin olduğu gösterilmiştir (84). EEG'de OSB'ye spesifik belirtiler bulunmamakla birlikte hemisferik asimetri, azalmış alfa, beta, gamma bantları OSB'nin beyin bağlantı bozukluğu olduğunu desteklemektedir (85).

Nörokimyasal Değişimler:

Nöronal gelişimin erken dönemlerinde serotoninin nörogenez, apoptoz, akson dallanması, yeni dendrit oluşumunda rolü olduğu bilinmektedir (86). Serotonin düzeylerinin nörotipik gelişim gösteren çocuklarda 2-5 yaş arasındaki artışın ardından ergenlik döneminde azaldığı fakat OSB tanılı çocuklarda ergenlik döneminde azalmadığı ve nörotipik gelişen ergenlere kıyasla 1.5 kat daha yüksek olduğu belirtilmiştir (87). Fetal gelişim sırasında hiperserotoneminin, hipotalamo-hipofizer aksında işlev bozukluğu yaparak amigdalayı ve oksitosin düzenlenmesini etkilediği bildirilmiştir. Bu durumdan yola çıkarak gebelik esnasında seçici serotonin geri alım inhibitörü kullanımının otizm riskinde artış olabileceğini öne süren görüşler bulunmaktadır (88).

Nöronların uyarılma ve inhibisyon dengesi glutamat ve glutamin nörotransmitterleri aracılığıyla sağlanmakta ve OSB'de bu dengede bozulmanın inhibisyon eksikliğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (84,89). OSB tanılı çocuklarda sol parietal lobda GABA seviyesinin nörotipik gelişen çocuklara göre daha düşük olduğu, yaşla beraber artış gösterdiği bildirilmiştir (90).

Nöroendokrinolojik Değişimler:

OSB tanısı alan çocuklarda amniyon sıvısından ölçülen fetal androjen seviyeleri nörotipik gelişim gösterenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Fetal androjenlerin aşırı uyarılmış amigdala ve aşırı uyarılmış amigdalanın sosyal çekilme belirtilerine sebep olduğu ileri sürülmekle androjenik beyin kuramıyla açıklanmaktadır (91).

Oksitosinin bağlanmada ve sosyal beyin gelişiminde rolü olduğu bildirilmektedir. Otizmlili çocuklarda plazma oksitosin düzeylerinin düşük olduğu, oksitosin prekürsörlerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (92). 2023 yılında yayınlanan meta-analizde, intranazal uygulanan oksitosin replasman tedavilerin tekrarlayıcı davranışlar ve anksiyete üzerine etkili olmadığı bildirilmiştir (93).

Uyku bozuklukları OSB tanılı bireylerde daha sık görülmekle beraber yapılan çalışmalarda plazma melatonin düzeyleri ve idrarda bakılan melatonin metabolitleri daha düşük oranlarda bildirilmiştir (94,95). Melatonin replasman tedavilerinin OSB

tanılı bireylerin uyku bozukluklarında faydalı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (96).

Nöroimmünolojik Değişimler:

Bağışıklık sistemi elamanlarının (lenfosit, makrofaj vb.) nicel ve nitel değişiklikleri, immünoglobulin değişiklikleri, proinflamatuvar sitokinlerin artışı, otoantikorların varlığı otizmle ilişkili bulunmuştur (11,12). Merkezi sinir sisteminde, astrosit ve mikroglia aktivasyonunun hatalı sinaptik budanma ve sitokin üretimiyle ilişkili olduğu ve bu durumun OSB ve diğer nörolojik bozukluklara yol açtığı düşünülmektedir (13–15).

Sitokinler immün sistemde iletişim görevi yaparken, nörogenesis ve nöron işlevlerinde görevleri olduğu bilinmektedir. 2021 yılında yayınlanan 61 çalışmanın dâhil edildiği meta-analizde; IL-6, IL-1 β , IL-12p70, MIF, eotaksin-1, MCP-1, IL-8, IL-7, IL-2, IL-12, TNF- α , IL-17 ve IL-4 düzeylerinin OSB tanılı grupta nörotipik gelişim gösterenlere göre değişim gösterdiği bulgulanmıştır. Proinflamatuvar sitokinlerin mikroglia aktivasyonu yaptığı, işlevsiz mikrogliaların sinaptik budanma üzerine olumsuz etkileri olabileceği, nöronal sinyal iletimini etkilediği ve OSB gelişimine etki edebileceği bildirilmiştir (97).

Maternal immün aktivasyon hipotezi; fetal dönemde annenin immün durumunun fetüste nöronal gelişimi etkilemesi olarak belirtilmiştir (98). Anne kanında yüksek saptanan IFN-gama, IL-5, IL-6 ve antikorların fetal nöral sistemi etkileyerek otizm etiolojisinde etkili olabileceği düşünülmektedir (99). Lupus tanılı annelerin çocuklarında OSB riski arttığı gösterilmiş olup, maternal otoantikorların da OSB etiolojisinde rol oynayabileceği düşünülmüştür (100).

OSB'li bireylerde gastrointestinal sistemden geçen antijenik yükte artış olduğu gösterilmiş, bu durumun mikrobiyaya disbiyozisi, bağırsak bariyerinde geçirgenlik artışı, bağırsaktan salınan toksin miktarı artışından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (101,102). Bağırsak bariyerini aşan sitokinlerin kan beyin bariyerini geçerek endotel hücrelerinde nöroinflamasyona neden olduğu ve OSB etyopatogenizinde etkili olabileceği çalışmalarda bildirilmiştir (103).

İmmünoloji ve nöroinflamasyon çalışmaları OSB etyopatogenezin anlaşılmasında, tanılamada biyobelirteçlerin eklenmesinde ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde etkili olabilir (104).

TOLL LİKE RESEPTÖRLER

Bağışıklık sistemi doğal (doğuştan-spesifik olmayan) ve edinsel (kazanılmış-spesifik) bağışıklık olarak ikiye ayrılarak organizmayı yabancı etkenlere karşı korur. Doğal bağışıklık sistemi ilk savunma sisteminde görevli olup patojenlere hızlı ve spesifik olmayan yanıt verirler. Edinsel bağışıklık sistemi ise antijene özgü, spesifik ve uzun süreli bağışıklık sağlar (105).

Doğal immün sistem, patojenlerin hücre membranı, hücre duvarı bileşenleri, bakteriyel toksinleri, DNA, RNA parçaları gibi molekülleri tanıyarak ilk korumayı sağlar. Patojene ait lipid, lipoprotein, lipolisakkarit (LPS), protein, nükleik asit yapılarına ‘patojenle ilişkili moleküler desen’ (PAMP) adı verilir. Bağışıklık sisteminde PAMP’ları tanıyan reseptörler patern tanıyan reseptör (PRP) olarak adlandırılır ve TLR’de PRP grubunun bir parçasıdır (16–18). TLR’ler PAMP’ların yanı sıra hipoksi, iskemi, stres, travma ve ya doku hasarın sonrası meydana çıkan endojen yapıları da tanırlar. Bu moleküllere ‘hasarla ilişkili moleküler paternler’ (DAMP) denir. Doku hasarı sonrası hücrelerden salınan DAMP’lar, hücrenin mitokondri, sitoplazma, çekirdek, endoplazmik retikulum ve membran gibi farklı bölümlerinden kaynaklanabilir. Mitokondriyal DNA, ATP ve kardiyolipin gibi mitokondri kaynaklı moleküller, ısı şok proteinleri (HSP) ve S100 proteinleri gibi sitoplazmik bileşenler, nükleus kaynaklı HMGB1 proteini, endoplazmik retikulumdan salınan kalretikülin ve hücre membranından türeyen lipitler veya proteinler DAMP’ları oluşturur. DAMP’ların TLR’leri uyarımı sonrası proinflamatuvar süreçler tetiklenir (19,20).

TLR’lerin keşfi çok da eski değildir. 1991 yılında *Drosophila melanogaster* adlı sineklerin embriyogenezinde dorsal-ventral polaritesinin gelişiminde rolü olan ‘Toll’ genleri tanımlanmıştır. Sonraki yıllarda toll genlerinin doğal bağışıklıkta görevli protein yapıda reseptörleri kodladığı ve bu reseptörlerin memelilerde de bulunduğu keşfedilmiş ‘Toll Like Reseptör’ olarak isimlendirilmiştir (106–108).

TLR patojenleri tanıyarak doğal bağışıklık sistemini aktifler ve edinsel bağışıklığı da güçlendirmektedir. TLR'ler bağışıklık sisteminde antijen sunan hücrelerde (APC[dendritik hücreler, B lenfositler, makrofaj]), T lenfositlerde ve epitel hücreleri, fibroblast gibi bağışıklık sisteminin elamanı olmayan hücrelerde de eksprese edilir. APC'ler antijen yakaladığında TLR'ler aracılığıyla sitokin ve kemokin salgılanması gerçekleştirir, böylece immün yolların aktivasyonu sağlanır (16–18).

TLR'lerin Yapısı ve Sınıflandırması

TLR'ler glikoprotein yapıda transmembran yerleşimli reseptörlerdir. TLR'lerin yapısı 2 domainden oluşur. Bunlar; PAMP ve DAMP'ları tanıyan tekrarlayan lösin motifleri içeren halkasal yapıda ligand görevi olan ekstrasellüler domain ve hücre içinde sinyal iletimini sağlayan ve IL-1 reseptörlerine benzer yapısıyla toll-like/interlökin-1 reseptör (TIR) adlandırılan intrasellüler domaindir. TLR'ler dimer şeklinde bulunurlar ve TLR1 ve TLR6, TLR2 ile heterodimer yapıyı oluştururlar diğer TLR'ler kovalent bağlarla homodimer şeklindedir (109,110).

Memelilerde şu ana kadar 13 tane TLR tanımlanmakla beraber 10 tanesi (TLR1-10) insanlarda tanımlanmıştır (111). TLR'ler lokalizasyonlarına göre ikiye ayrılırlar. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 hücre membranında, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 hücre içinde endozom, lizozom, endolizozomlarda bulunan TLR'lerdir. Hücre membranındaki TLR'ler lipid, lipoprotein, protein gibi patojenin membran bileşenlerini, hücre içinde olanlar ise patojenin nükleik asitlerini tanırlar. TLR'ler ligandlarına spesifite gösterir. TLR1 ve TLR6 ile heterodimer oluşturan TLR2; diaçil lipoproteinler, zimosan, lipoteikoik asiti, peptidoglikanı, TLR4; bakteriyel LPS'i, TLR5; flagella proteini olan flajellini gibi PAMP'ları tanırlar. Hücre içinde bulunan TLR3; viral çift sarmallı RNA'yı, TLR7 ve TLR8; tek sarmallı viral RNA'yı, TLR9; DNA'daki metillenmemiş CpG nükleotidleri tanımaktadırlar (18,112). TLR'in lokalizasyonları, ligandları ve sinyal adaptörleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

TLR Sinyal Yolakları

Hücre membranında ya da hücre içindeki TLR'lere ligandların bağlanmasıyla sinyalizasyon başlar. TLR'ler, adaptör proteinler aracılığıyla nükleer faktör kapp B (NF- κ B), mitojenle ilişkili protein kinazı (MAPK), interferon düzenleyici faktör (IRF) gibi faktörleri aktive eder (113). TLR'ler ve NF- κ B, MAPK, IRF arasında çeşitli adaptör proteinler bulunmaktadır. Bunlar;

- ✓ miyeloid farklılaşma primer yanıt proteini (MyD88),
- ✓ TIR ilişkili protein (TIRAP/MAL),
- ✓ TIR bölgesi IFN-beta indükleyen adaptör proteini (TRIF),
- ✓ TRIF ile ilişkili adaptör molekül (TRAM),
- ✓ steril α ve armadillo motifi içeren proteindir (SARM).

TLR'lerin sinyal iletiminde adaptör protein kullanımına göre iki ayrı yolak gösterilmiştir. Bunlar; MyD88 bağımlı yolak ve MyD88 bağımsız (TRIF bağımlı) yolaktır (114–116). Aktifleşen NF- κ B, MAPK, IRF doğal bağışıklıkta görevli olan inflamatuvar sitokinlerin üretilmesini sağlar (113).

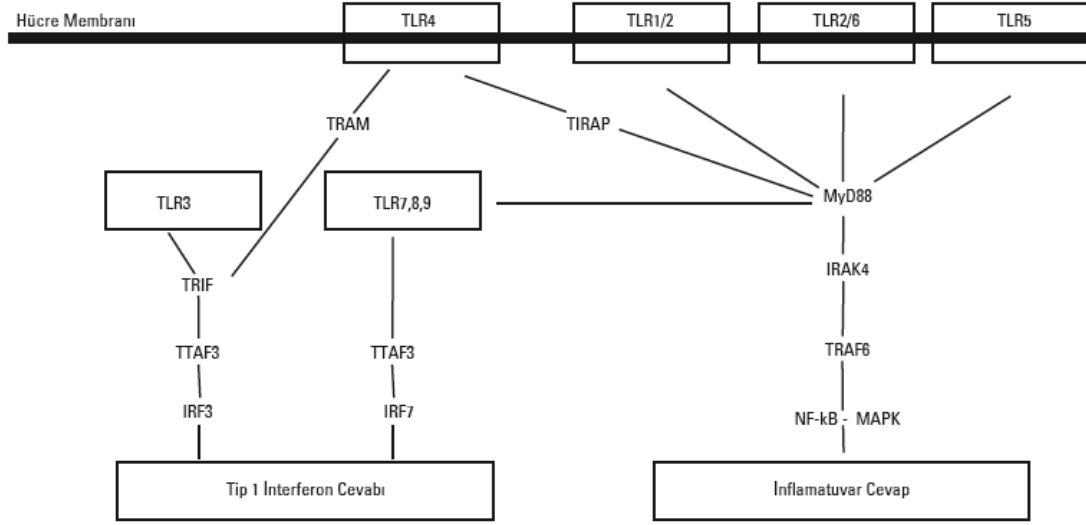
MyD88 Bağımlı Yolak: TLR3 dışındaki diğer TLR'ler MyD88 bağımlı yoldan sinyal iletimi gerçekleşir. TLR4 hem MyD88 bağımlı yolağı hem de MyD88 bağımsız yolağı kullanabilir. Ligandın TLR'lere bağlanmasıyla hücre içi domaini olan TIR bölgesi MyD88 adaptörü ile birleşir. TIR ve MyD88 birleşmesiyle uyarılan IL-1R ilişkili kinaz 4 ve TNF reseptör ilişkili faktör 6 aracılığıyla NF- κ B ve MAPK aktive edilir (115,116).

TRIF Bağımlı Yolak: TRIF bağımlı yol TLR3 ve TLR4 tarafından kullanılır. TRIF bağımlı yolda TLR3, TRIF aracılığıyla TRAF, IRF3 ve IRF7'yi uyararak tip 1 interferon inflamatuvar sitokin yanıtını başlatır. Ancak TLR4, TRAM aracılığıyla TRIF'i uyararak tip 1 interferon inflamatuvar sitokin yanıtını başlatır. TLR4 ayrıca IRAK4 ve TRAF'ın aktivasyonu yoluyla NF- κ B transkripsiyon faktörünü aktive ederek proinflamatuvar bir sitokin yanıtını tetikleyebilir (114,115). (Bkz. Tablo 1, Şekil 2)

Tablo 1. TLR lokalizasyon, ligand ve adaptör proteinleri (117,118)

| TLR | Lokalizasyon | Ekzojen Ligandlar PAMP | Endojen Ligandlar DAMP | Sinyal Adaptörü |
|------------|--------------------------|---|--|-----------------------------------|
| TLR 1/2 | Hücre Membranı | Triaçil-lipoprotein, peptidoglikan, lipopolisakkaritler | HSP 60, HSP70, HSP 90, HSP 96 HMGB1 Proteoglikanlar | MyD88 |
| TLR 2/6 | Hücre Membranı | Diaçil-lipoprotein, Zimosan, lipoteikoik asit | Hyalüronik asit, Serum amiloid A, Endoplazmin, HMGB-1 | MyD88 |
| TLR 3 | Endolizozamal Membran | dsRNA | mRNA | TRIF |
| TLR 4 | Hücre Membranı | Lipopolisakkaritler | Hyalüronik asit, Heparan sülfat, Proteoglikanlar, Fibronektin, Fibrinojen, Tenascin, HSP 20, HSP 60, HSP 70, HSP 96, HMGB-1, S100 proteinleri | MyD88/ TIRAP/ TRAM/ TRIF |
| TLR 5 | Hücre Membranı | Flagellin | Bilinmiyor | MyD88 |
| TLR 6 | Hücre Membranı | Peptidoglikan | HSP 60, HSP 70, HSP 96, çözünür tüberküloz faktörü (STF) | MyD88 |
| TLR 7 | Endolizozamal Membran | ssRNA | İmmun kompleksler, Self RNA, Kromatin | MyD88 |
| TLR 8 | Endolizozamal Membran | ssRNA | İmmun kompleksler, Self RNA, Kromatin | MyD88 |
| TLR 9 | Endolizozamal Membran | CpG DNA | Kromatin IgG Kompleks | MyD88 |
| TLR 10 | Hücre Membranı | Bilinmiyor | Bilinmiyor | Bilinmiyor |

Şekil 2. TLR Sinyalizasyonu Güven B, Can M. 2012'den alınmıştır. (119)



TLR Üzerine Psikiyatrik Çalışmalar

Doğal immün sistemde bir reseptör ailesi olan TLR'ler, sistemik hastalıklarda sıkça çalışılmıştır. Çalışmalarda genellikle TLR2 ve TLR4 üzerine yoğunlaşmıştır. TLR4 sinyal aktivasyonunun, astım (120), kardiyovasküler bozukluk (121), diyabet (122), obezite (123), metabolik sendrom (124), otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir (125,126).

Okun ve arkadaşları, TLR'lerin sadece bağışıklık sisteminde reseptör görevi üstlenmediği ayrıca TLR sinyallerinin nörojeniz, aksonal büyüme ve plastisite dâhil olmak üzere santral sinir sisteminde dinamik süreçleri etkilediğini bu yolla öğrenme, hafıza, anksiyete süreçlerinde de etkisinin olduğunu belirtmişlerdir (21).

TLR'lerin sistemik hastalıkların yanı sıra nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik hastalıkların da etiyolojisinde rol oynayabileceği gösterilmiştir (127). Alzheimer, vasküler demans, parkinson, multiple skleroz gibi nörodejenaratif hastalıkların patofizyolojisinde TLR2 ve TLR4'ün nöroinflamasyonu başlatıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (128).

Yazında nöropsikiyatrik hastalıklardan; majör depresyon, şizofreni, bipolar bozukluk, madde kullanım bozukluklarında özellikle TLR4 üzerine çalışmalar mevcuttur (22,127).

Etki mekanizması bilinmemekle beraber stresin TLR4 üzerinden inflamatuvar yanıtı başlattığı ve majör depresif bozuklukta etiyolojide rol aldığı düşünülmektedir (129). Postmortem beyin dokusunda yapılan bir çalışmada, depresyonu olan intihar eden 22 olgunun dorsolateral prefrontal korteksinde TLR3 ve TLR4 mRNA ekspresyonunun ve TLR protein düzeylerinin depresyonu olmayan olgulara göre arttığı bulgulanmıştır (130). Hung ve arkadaşları, majör depresif bozuklukta yaptıkları vaka-kontrol çalışmasında, TLR1-9 mRNA ekspresyonlarını kıyaslamış; olgu grubunda TLR3, TLR4, TLR5, TLR7 mRNA ekspresyonlarının daha yüksek, TLR1 ve TLR6 mRNA ekspresyonlarının daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Özellikle TLR4 mRNA ekspresyonlarının depresyon şiddetiyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (131). Aynı yazarların bir diğer çalışmasında, depresif bozukluk tanılı hastalarda kullanılan 4 haftalık antidepressan tedavi sonrası başlangıçta yüksek olan TLR3, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9 mRNA ekspresyonlarının normalleştiğini bulgulanmışlardır (132). Kéri ve arkadaşları, depresif hastalara bilişsel davranışçı terapi uygulamış, terapi önce ve sonrasında TLR4 RNA ekspresyon düzeylerini kıyaslamış, depresif hastalarda bilişsel davranışçı terapi sonrası TLR4 RNA ekspresyon düzeylerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin azaldığını belirtmişlerdir (133). Bu çalışmalar ışığında major depresif bozukluğun nöroinflamasyonla giden bir alt grubunun olabileceği ve TLR'lerin nöroinflamasyonu başlatma etkisinin psikopatolojide etkili olduğu belirtilmektedir (134).

Şizofreni hastalarında da TLR ekspresyon ve düzeyleri çalışılmış olmakla yazında farklı bulguların olduğu görülmektedir. Şizofreni hastalarında yapılan çalışmada, şizofreni grubunun kontrol grubuna kıyasla monositlerde TLR3 ve TLR4'ün ekspresyonlarının daha yüksek olduğu bulgulanmıştır (135). Kéri ve arkadaşları şizofreni hastalarında monositlerde TLR4, TLR5 düzeyinin, T hücrelerde TLR5 düzeyinin daha yüksek olduğunu, antipsikotik tedavisi sonrası TLR4 düzeyinin normalleştiğini ve TLR2 düzeyinin arttığını bulgulanmışlardır (136). Hindistan'da yapılan çalışmada, şizofreni hastalarında TLR4 ekspresyon düzeyinin arttığı fakat TLR3 ekspresyonunun farklılaşmadığı tespit edilmiş ve antipsikotik tedavisiyle sonuçların değişmediği gösterilmiştir (137). Polonya'da yapılan çalışmada ise şizofreni hastalarında TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, TLR8 ekspresyonlarının azaldığı, TLR3 ve TLR7 ekspresyonlarının arttığı bulgulanmıştır (138). Şizofreni, bipolar

bozukluk ve sağlıklı kontrollerin ayrı gruplarda bulunduğu başka bir çalışmada, katılımcılar TLR agonistleri ile uyarılmış, olgu gruplarında TLR2, TLR4, TLR8, TLR9 uyarımı sonrası proinflamatuvar sitokinlerin kontrol grubuna göre arttığı gözlenmiştir (139). Bipolar bozuklukta TLR4 polimorfizmleri araştırmasında rs1927914 AA ve rs11536891 TT genotipleri bipolar bozuklukla ilişkili bulunmuştur (140).

Ayrıca yazında TLR4'ün madde kullanımı bozukluklarından olan alkol, opioid ve kokain kullanımıyla merkezi sinir sistemi işlevleri üzerinde zararlı etkilerde rol oynadığını gösteren çalışmalar yazında birikmektedir (127).

Yazında OSB ve TLR çalışmaları incelendiğinde çalışmalar hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar olarak ikiye ayrılmaktadır.

Hayvanlarda yapılan laboratuvar çalışmaları fareler üzerinde gerçekleştirilmiş ve 'maternal immün aktivasyon', 'sızdıran bağırsak' hipotezleri üzerine çalışmalar yürütülmüştür. Maternal LPS maruziyetinin, yavru farelerde TLR4 sinyalizasyonunu artırarak mikrogliaları aktive ettiği ve aktive olan mikrogliaların sinaptik budanmada artışa neden olduğu gösterilmiştir. Artmış sinaptik budanmanın, OSB benzeri belirtilere neden olduğu düşünülmektedir (141). Başka bir hayvan deneyi çalışmasında, gebelik esnasında geçirilen maternal CMV enfeksiyonun plasentada TLR2 ve TLR4'ü artırdığı, artan TLR2 ve TLR4'ün IL-6'yı artırdığı gösterilmiş, artan IL-6'nın nörogelişimsel bozukluklarda rol oynayabileceği ifade edilmiştir (142). Otistik fare modelinde intestinal sistemden alınan dokuların immünohistokimyasal boyanma sonuçlarına göre TLR4 artışının olduğu, TLR4 artışının inflamatuvar sitokin artışını uyardığı gözlenmiş ve OSB'li bireylerin bağırsak disfonksiyonunda TLR4'ün etkisi olabileceği düşünülmüştür (143). Bağırsak geçirgenliği ve OSB ilişkisini araştıran başka bir çalışmada, otistik farelerin bağırsaklarından beyin dokusuna LPS geçişinin olduğu ve LPS'lerin TLR4/Myd88/NF-κB uyararak proinflamatuvar sitokinlerde artış olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmacılar bu durumun, OSB'nin nöroinflamatuvar etiyojisine yönelik kanıtları artırdığını belirtmişlerdir (144). Otistik fare modelleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada adenozin 2a reseptör agonist ajanlarının TLR4 üzerinden proinflamatuvar sitokinleri azalttığı gösterilmiştir (145). Yine otistik fare modelleri üzerinde yapılan prelinik çalışmada resveratrol ajanının

beyin dokusunda TLR2, TLR3, TLR4, NF-κB, iNOS ve COX-2 mRNA ekspresyon ve protein düzeylerini azalttığı bulunmuştur. Resveratrol tedavisinin proinflamatuvar mediatörlerin ve TLR'ler/NF-κB transkripsiyon faktörü sinyallemesinin inhibisyonu yoluyla nöroinflamasyonu azalttığı düşünülmektedir (146). Farelerde yapılan başka bir çalışmada valproik asitle indüklenen otizm modelinde atorvastatin tedavisi uygulanan farelerde TLR4/NF-κB/NOX-2 yolağı üzerinden inflamatuvar parametrelerin azaldığı gözlemlenmiştir (147).

OSB ve TLR ilişkisini araştıran klinik çalışmalar TLR2 ve TLR4 üzerine yapılmıştır. Farklı çalışmalarda monositler, T lenfositler ve B lenfositler uyarılmış, uyarım sonrası inflamatuvar yanıtlar ve sitokin düzeylerine odaklanılmıştır.

Enstrom ve arkadaşları monositlerdeki TLR'leri uyarılmış, TLR2 ve TLR4 uyarımı sonrası OSB grubunda kontrol grubuna kıyasla proinflamatuvar sitokinlerin üretiminde artış, TLR9'un uyarılmasıyla proinflamatuvar sitokinlerde azalma gözlemişlerdir (148). Monositler üzerine yapılan diğer bir çalışmada, OSB grubunda monositlerde bulunan TLR4'ün LPS uyarımı sonrası artmış IL-6 sitokin düzeylerinin olduğu ve artan IL-6 sitokininin kısıtlayıcı ve tekrarlayıcı davranışlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (149). OSB ve sağlıklı kontrol gruplarının kıyaslandığı başka bir çalışmada OSB grubunda periferik T lenfositlerde TLR4 mRNA ekspresyonun arttığını ve artan ekspresyonun NADPH oksidaz ve reaktif oksijen türevlerini artırdığını böylece inflamasyonu tetiklediği gözlenmiştir (150). Periferik B lenfositlerde yapılan çalışmada ise OSB grubunda TLR4'ün LPS ile aktivasyonu sonrası IL-6 sitokin düzeyinde artış tespit edilmiştir (151). B lenfositler üzerine yapılan bir diğer çalışmada OSB grubunda periferik B lenfositlerde TLR4 ekspresyonun arttığını ve artan ekspresyonun NADPH oksidaz, nitrotirozin artışıyla oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir (152). Kıyat ve arkadaşlarının 2024 yayınladığı güncel çalışmada 40 OSB tanılı çocuk ve 40 sağlıklı çocuk arasında serum TLR4 protein düzeylerini kıyaslamış, OSB grubunda TLR4 serum protein düzeyinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (153).

GEREÇ YÖNTEM

AMAÇLAR

OSB, etiyojisinde birden çok faktörün rol oynadığı tek bir etkenin neden olarak gösterilemediği nörogelişimsel bozukluktur. Etiyolojide genetik, çevresel, nörobiyolojik faktörler etkili olmakla beraber nöroinflamasyonun ve immün sistem elemanlarının da etiyojide rol oynadığı yazında gösterilmiştir. İmmün sistemde PRP ailesindeki TLR'lerin sadece reseptör olarak işlev görmediği aynı zamanda TLR sinyallerinin nörogenez, aksonal büyüme ve plastisite dâhil olmak üzere santral sinir sisteminde dinamik süreçleri etkilediği bilinmektedir. TLR'ler son yıllarda nöropsikiyatrik hastalıklarında araştırma konusu olmuştur fakat OSB tanı grubunda TLR çalışmaları kısıtlıdır. Yazında OSB'de çalışmalar hayvan deneylerinde yoğunlaşmaktadır ve klinik örneklerde ise seçili kan hücrelerinde ve seçili TLR'ler ile sınırlıdır. Yine yazında psikotrop ilaçların TLR düzeylerini etkilediğini belirtmekle yazındaki çalışmalarda kısıtlılık oluşturmaktadır.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızla;

1. OSB ve kontrol grupları arasında periferik kanda TLR 1-10 mRNA ekspresyonlarını karşılaştırmayı,
2. OSB ve kontrol grupları arasında periferik kanda TLR 1-10 mRNA ekspresyonlarında farklılaşan TLR'lerin, serum protein düzeylerini karşılaştırmayı,
3. OSB ve kontrol grupları arasında serum protein düzeyleri farklılaşan TLR'lerin, sorunlu davranışlar ve otizm şiddetiyle ilişkisini incelemeyi amaçladık.

Amaçlarımıza ek olarak bildiğimiz kadarıyla OSB'de TLR profilini araştıran çalışma bulunmamakla beraber çalışmamızla yazına değer katmayı istedik.

VARSAYIMLAR

1. OSB ve kontrol grupları arasında periferik kanda TLR 1-10 mRNA ekspresyonları açısından farklılık vardır.

2. TLR 1-10 mRNA ekspresyonlarında anlamlı farklılık tespit edilen TLR'lerin, OSB ve kontrol grupları arasında serum TLR protein düzeyleri açısından farklılaşacaktır.
3. OSB ve kontrol grupları arasında serum protein düzeyleri farklılaşan TLR'lerin, sorunlu davranışlar ve otizm şiddetiyle ilişkisi vardır.

ARAŞTIRMA TİPİ ve BÜTÇESİ

Çalışmamız, OSB tanılı olguların ve kontrol grubunun TLR mRNA ve serum TLR protein düzeylerinin karşılaştırıldığı tek merkezli, kesitsel, olgu-kontrol çalışmasıdır. Araştırmamız Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 19.09.2023 tarih 15 sayılı kurul toplantısında görüşülerek çalışmanın yapılmasında etik açıdan sakınca olmadığına karar verilmiştir.

Çalışmamızın bütçesi, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 30.11.2023 tarihinde ve 2023TIPF024 proje numarası ile desteklenmeye uygun görülmüştür.

ARAŞTIRMANIN YAPILDIĞI YER

Çalışmamıza Pamukkale Üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları (ÇERSAH) Polikliniklerine başvuran hastalar dâhil edildi. Biyokimyasal analizler, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda tamamlandı.

ARAŞTIRMANIN ÖRNEKLEMİ

Pamukkale Üniversitesi ÇERSAH Poliklinikleri'ne Ekim 2023 ile Ağustos 2024 tarihleri arasında herhangi bir nedenle başvuran çocuk ve ergenlerin arasından olgu grubu dâhil olma kriterlerini karşılayan 31 çocuk ve ergen OSB grubunu oluşturmuştur. Kontrol grubunu ise; döneme özgü sorunlar ile başvuran ve herhangi bir psikiyatrik hastalık tanısı olmayan, olgu grubuyla benzer cinsiyet ve yaş özellikleri

gösteren çocuk ve ergenlerin arasından kontrol grubu dâhil olma kriterlerini karşılayan 31 çocuk ve ergen oluşturmuştur.

Örneklem büyüklüğü hesaplanırken referans çalışmada (131) elde edilen etki büyüklüğünün kuvvetli düzeyde olduğu ($d=0.662$) görülmüştür. Bu düzeyde bir etki büyüklüğü elde edilebileceği düşünülerek yapılan güç analizi sonucunda; çalışmamıza olgu grubu için 29, kontrol grubu için 29 katılımcı dahil edildiğinde %95 güven düzeyinde %80 güç elde edilebileceği hesaplanmıştır.

ARAŞTIRMAYA DÂHİL OLMA VE DIŞLAMA KRİTERLERİ

OSB Grubunun Dâhil Olma Kriterleri:

1. DSM-V kriterlerine göre OSB tanısı almış olmak
2. 4-18 yaş arasında olmak
3. Tanı almış nörolojik, genetik, inflamatuvar vb. kronik sistemik hastalığının olmaması
4. Son 2 hafta içinde enfektif hastalık geçirmemiş olması
5. Son 1 aydır farmakolojik tedavi almaması
6. Ebeveynin okuryazar olması
7. Ebeveynlerin araştırmanın amacı ve uygulanacak testler açıklandıktan sonra araştırmaya katılmayı kabul etmeleri ve bilgilendirilmiş onamı imzalamış olmaları

OSB Grubunun Dışlama Kriterleri:

1. OSB tanısı konan hastaların 4 yaş altında veya 18 yaş üstünde olması
2. Tanı almış nörolojik, genetik, inflamatuvar vb. kronik sistemik hastalığının olması
3. Son 2 hafta içinde enfektif hastalık geçirmiş olması
4. Son 1 aydır farmakolojik tedavi alması
5. Ebeveyninin okuryazar olmaması
6. Herhangi bir nedenle çalışmaya gönüllü olunmaması

Kontrol Grubunun Dâhil Olma Kriterleri:

1. DSM-V kriterlerine göre psikiyatrik rahatsızlığın olmaması
2. 4-18 yaş aralığında olmak
3. Tanı almış nörolojik, genetik, inflamatuvar vb. kronik sistemik hastalığının olmaması
4. Son 2 hafta içinde enfektif hastalık geçirmemiş olması
5. Son 1 aydır farmakolojik tedavi almaması
6. Ebeveynin okuryazar olması
7. Ebeveynlerin araştırmanın amacı ve uygulanacak testler açıklandıktan sonra araştırmaya katılmayı kabul etmeleri ve bilgilendirilmiş onamı imzalamış olmaları

Kontrol Grubunun Dışlama Kriterleri:

1. DSM-V kriterlerine göre psikiyatrik rahatsızlığın olması
2. 4 yaş altında veya 18 yaş üstünde olmak
3. Tanı almış nörolojik, genetik, inflamatuvar vb. kronik sistemik hastalığının olması
4. Son 2 hafta içinde enfektif hastalık geçirmiş olması
5. Son 1 aydır farmakolojik tedavi alması
6. Ebeveyninin okuryazar olmaması
7. Herhangi bir nedenle çalışmaya gönüllü olunmaması

ARAŞTIRMANIN YÜRÜTÜLMESİ

Çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllü ebeveynlerinden bilgilendirilmiş gönüllü olur belgesi ile yazılı onamları alındı. (Bkz. Ek-1)

Çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllü ebeveynleri tarafından ‘Sosyodemografik Veri Formu’ ve ‘Sorun Davranış Kontrol Listesi (SDKL)’ formu dolduruldu. ‘Çocukluk Otizm Derecelendirme Ölçeği’ çalışmacı tarafından uygulandı. Ebeveynlerinin de katılımıyla çocuk ve ergenler ile DSM-V’e dayalı klinik görüşme

yapıldı. Kronik sistemik hastalık ve psikiyatrik tanı varlığı ayrıntılı görüşme sırasında değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilen çocuk ve ergenlerin görevli hemşirelerce periferik kan örneği alındı ve kan örnekleri +4°C’de 2500 rpm 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Santrifüj sonrası eppendorf tüplere aktararak ölçüm gününe kadar -20°C’de korundu.

ARAŞTIRMADA KULLANILAN VERİ TOPLAMA ARAÇLARI

Sosyodemografik Veri Formu:

Bu form, katılımcıların sosyodemografik bilgilerini toplamak için araştırmacılar tarafından oluşturulmuştur. Form çalışmaya dâhil edilen katılımcıların ebeveynleri tarafından doldurulmuştur. Sosyodemografik veri formu ile çocukların yaş, cinsiyet, kardeş sayısı, psikiyatrik ve tıbbi tanılar, kullanılan ilaçları, ebeveynlerin ise yaşları, eğitim düzeyleri, gelir durumu, aile yapısı, çocukların doğum öyküleri, annelerin gebelik esnasında geçirdiği rahatsızlıklar ve sigara maruziyetini değerlendirmek amaçlanmıştır. (Bkz. Ek-2)

Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ/CARS):

Schopler ve arkadaşları tarafından 1971 yılında OSB’yi diğer gelişimsel bozukluklardan ayırt edebilmek için geliştirilmiştir (154). 15 sorudan oluşan ölçek çocuğun klinik gözlemi ve aileden elde edilen verilerle klinisyen tarafından uygulanmaktadır. Her soru 1-4 puan aralığında yarımsar puanlama ile yapılabilmekte, toplam puan aralığı 15-60 puan arasındadır. 29,5 puan OSB için kesme değer olmakla beraber 30-36,5 puan aralığı hafif/orta düzey, 37 puan ve üstü ağır şiddetli belirtileri göstermektedir. Ölçeğin ülkemize kazandırılması ve çevirisi 1996 yılında Sucuoğlu ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (155). Gassaloğlu ve arkadaşları tarafından geçerlik ve güvenilirliği 4-18 yaş aralığında genişletilmiştir (156).

Sorun Davranış Kontrol Listesi (SDKL/ABC):

SDKL Aman ve arkadaşları tarafından 1985 yılında EYY’li bireylerde sorunlu davranışları değerlendirmek ve ölçmek için geliştirilmiştir (157). 58 sorudan ölçek 0-3 puanlı 4’lü likert tipinde ve beş alt ölçekten oluşmaktadır. Bunlar irritabilite, letarji-

sosyal geri çekilme, stereotipi, hiperaktivite, konuşma sorunları alt ölçekleridir. Ölçeğin ülkemize kazandırılması ve çevirisi Sucuoğlu tarafından 2003 yılında 10-25 yaş grubunda yapılmıştır (158). 14-43 aylık çocuklarda 58 soruluk geçerlilik ve güvenilirlik çalışmasını Karabekiroğlu ve Aman tarafından 2009 yılında yapılmıştır (159).

BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER

Kan Örneklerinden Total RNA İzolasyonu

Kan örneklerinde bulunan çekirdekli kan hücrelerinden RNA izolasyonu gerçekleştirilmiş, mRNA için tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi yapıldıktan sonra Real-Time Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR) ile TLR 1-10 genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri olgu ve kontrol grubu arasında karşılaştırılmıştır. RNA izolasyonu için GeneAid marka GENEzol™ TriRNAPure Kit (Katalog No: GZXD050) kit kullanılmıştır. RNA izolasyon protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Kan örneği, 25000 rpm'de RBC Lizis Buffer (89,9g NH₄Cl; 10g KHCO₃, 2ml 0,5M EDTA) yardımıyla 3 kez santrifüjle çekirdeksiz kan elemanları patlatılmış, beyaz kan hücreleri izole edilmiş ve 500 µl trizol ile çözülüp homojenat hazırlanmıştır.

2. Homojenat 1 ml'lik eppendorf tüplere alınıp ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiş ardından her bir eppendorf tüpe 100 µl kloroform eklenmiş, iyice pipetlenmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmiştir.

3. 20 dakika +4°C' de 15.000 g'de santrifüj edilmiş ve süpernatant toplandıktan sonra ayrı eppendorf tüplere alınmıştır. Üst fazın üzerine 500 µl izopropanol eklendikten sonra pipetlenip 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.

4. 30 dakika +4°C'de 15.000 g'de santrifüj sonrası süpernatant atılmış, pelletin üzerine %70'lik etanol konulup ve süpernatant atılma işlemi 10 dakika +4°C'de 12.000 g'de santrifüj sonrası tekrarlanmış, pellet hava ile kurutulmuştur.

5. Kurutulan pellet 40 µl RNase-DNase içermeyen su ile çözülmüştür.

6. İzole edilen RNA'ların kalite ve miktarı nanodrop cihazı ile çalışılmıştır. Nanodrop ile RNA örneklerinin ölçülmesi işleminde öncelikle RNA örnekleri uygun konsantrasyonlarda sulandırılmış, 1 µl RNase içermeyen su ile nanodrop cihaz kaidesi üzerine bir damla halinde pipetlenmiş, bilgisayar program analizi ile kör alındımış, 1 µl olacak şekilde pipetlenip 230, 260, 280 nanometrede okunmuştur.

Örnekler RT-qPCR analizi için mRNA cDNA sentezine hazır hale getirilmiştir.

cDNA Sentezi

mRNA ekspresyonu analizi için izole edilen RNA'lardan, cDNA sentezi Thermo marka, cDNA Synthesis Kit with Rnase Inh. (High Capacity) (Katalog no: 4368814) kiti kullanılmıştır. cDNA sentez karışımı 50°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra enzimi inhibe etmek için 5 dakika 85°C'de bekletilmiştir. cDNA'lar, RT-qPCR işlemine kadar -20°C'de korunmuştur. cDNA sentez karışım bilgileri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. cDNA sentez karışımı.

| Bileşen | Hacim | Konsantrasyon |
|---------------------------------|--------------|----------------------|
| Total RNA | Değişken | 2 µg |
| Oligo(dT) Primer | 1 µl | 2,5 µM |
| dNTP Karışımı (mM) | 1 µl | 500 µM |
| 5X RT Tamponu | 4 µl | 1X |
| DTT | 1 µl | 5mM |
| Protector RNase Inhibitor | 0,5 µl | 20 U |
| Easyscript plus RTase (200U/µL) | 1 µl | 200 U |
| RNase İçermeyen Su | Değişken | - |
| Son Hacim | 20 µl | - |

RT qPCR

Elde edilen cDNA'lar spesifik primerler ile reaksiyona girerek mRNA ekspresyon düzeyi belirlemede kullanılmıştır. RT qPCR için Wizbio marka 2X SYBR Mastermix (Katalog No: W1711) kiti kullanılmıştır. Kontrol grubu ve hasta grubu arasındaki mRNA düzeyinde ekspresyon değişimi araştırılan genler TLR 1-10'dur. Beta-aktin referans gen(house-keeping gen) olarak kullanılmıştır. Spesifik primerler Tablo 3'te gösterilmiştir. RT-qPCR için kullanılan karışım bilgileri Tablo 4'te belirtilmiştir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan genlerin ileri (forward) ve ters (reverse) dizileri

| Gen Adı | Sekansı |
|-----------|---------------------------|
| TLR1-F | CAGCGATGTGTTTCGGTTTTCCG |
| TLR1-R | GATGGGCAAAGCATGTGGACCA |
| TLR2-F | TTATCCAGCACACGAATACACAG |
| TLR2-R | AGGCATCTGGTAGAGTCATCAA |
| TLR3-F | GGCTAGCAGTCATCCAACAGAA |
| TLR3-R | GCAGTCAGCAACTTCATGGC |
| TLR4-F | CCCTGAGGCATTTAGGCAGCTA |
| TLR4-R | AGGTAGAGAGGTGGCTTAGGCT |
| TLR5-F | CCTTACAGCGAACCTCATCCAC |
| TLR5-R | TCCACTACAGGAGGAGAAGCGA |
| TLR6-F | TTCTCCGACGGAAATGAATTTGC |
| TLR6-R | CAGCGGTAGGTCTTTTGGAAC |
| TLR7-F | CTTTGGACCTCAGCCACAACCA |
| TLR7-R | CGCAACTGGAAGGCATCTTGTAG |
| TLR8-F | ACTCCAGCAGTTTCCTCGTCTC |
| TLR8-R | AAAGCCAGAGGGTAGGTGGGAA |
| TLR9-F | TGAGCCACAACCTGCATCTCGCA |
| TLR9-R | CAGTCGTGGTAGCTCCGTGAAT |
| TLR10-F | GGTTAAAAGACGTTTCATCTCCACG |
| TLR10-R | CCTAGCATCCTGAGATAACCAGG |
| B-AKTIN-F | TCCTCCTGAGCGCAAGTACTC |
| B-AKTIN-R | CTGCTTGCTGATCCACATCTG |

Tablo 4. qPCR için kullanılan karışım bilgileri

| Bileşen | Hacim |
|--------------------------------|-------|
| 2X MasterMix (with SYBR-Green) | 10 µl |
| ROX Dye | 1 µl |
| Forward Primer (10 µM) | 1 µl |
| Reverse Primer (10 µM) | 1 µl |
| cDNA Template | 4 µl |
| RNase İçermeyen Su | 3 µl |
| Son Hacim | 20 µl |

Karışım hazırlandıktan sonra RT-qPCR reaksiyonuna geçilmiştir. RT-qPCR reaksiyonu Applied Biosystems™ STEPONEPLUS RT-qPCR cihazında gerçekleştirilmiştir. RT-qPCR için reaksiyon koşulları Tablo 5’de belirtilmiştir.

Tablo 5. RT-qPCR için reaksiyon koşulları

| PCR Adımları | Sıcaklık(°C) | Süre(saniye) | Döngü |
|----------------------|--------------|--------------|-------|
| Initial Denaturation | 90 | 300 | 1 |
| Denature | 95 | 20 | 40 |
| Anneal | 60 | 60 | 40 |

Rölatif Kantitasyonun Hesaplanması

Gen ekspresyonları kontrol grubuna göre normalize edilmiştir. Rölatif kantitasyon hesaplamasında “ $\Delta\Delta Ct$ Yöntemi” kullanılmıştır. Web tabanlı “RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis“ (<https://www.qiagen.com/tr/shop/genes-and-pathways/data-analysis-center-overview-page/>) programında bulunan, Volcano Plot analizleri kullanılmıştır. Volcano Plot testi ile OSB grubu ve kontrol grubu ile ilgili gen ekspresyonları rölatif olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu test ile iki veya çoklu gruplara ait ekspresyonlar $\pm 3SD$ karşılaştırılması temeline bağlı olarak analiz edilmiş ve gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırma “Student t-testi” ile yapılmıştır. $\Delta\Delta Ct$ hesaplaması aşağıda verilmiştir.

1. Hem OSB grubunda hem de kontrol grubunda her bir örneğin RT-qPCR ile hedef gen ve referans gen (house-keeping geni: beta-aktin) için Ct değerleri elde edilmiştir. Teknik tekrarlı çalışmalarda Ct değerlerinin ortalaması alınıp hesaplamaya devam edilmiştir.
2. OSB grubunda hedef gen Ct değerinden referans gen Ct değeri çıkarılarak OSB grubu ΔCt değerleri elde edilmiştir.
3. Kontrol grubunda hedef gen Ct değerinden referans gen Ct değeri çıkarılarak referans grup ΔCt değerleri elde edilmiştir.
4. OSB grubu ΔCt değerlerinden kontrol grubu ΔCt değerleri çıkarılarak $\Delta\Delta Ct$ değerleri elde edilmiştir.
5. $\Delta\Delta Ct$ değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ şeklinde işleme alınarak kat değişimi(fold change) hesaplanması yapılmıştır.

6. Kat değişikliği değerinin 1'den büyük olması, OSB grubu TLR mRNA ekspresyonunun kontrol grubu TLR mRNA ekspresyonuna kıyasla rölatif olarak artış gösterdiği şeklinde değerlendirilmiştir. Kat değişikliği değerinin 1'den küçük olması ise OSB grubu TLR mRNA ekspresyonunun kontrol grubu TLR mRNA gen ekspresyonuna kıyasla rölatif olarak azalış gösterdiği şeklinde değerlendirilmiştir.

ELISA Yöntemiyle Serum TLR Protein Seviyelerinin Belirlenmesi

OSB ve kontrol gruplarının biyokimya tüpündeki kan örnekleri 10 dakika 2500 rpm'de santrifüj edilmiş ve serum eldesi yapılmıştır. Elde edilen serumlar ölçüm gününe kadar -20 °C'de korunmuştur. Serum örneklerinden TLR protein seviyeleri, ELISA kit protokolleri uygulanarak ölçülmüştür. Kimyasalların hazırlanması, standartların ayarlanması ve ELISA prosedürleri aşağıda verilmiştir.

Kimyasalların hazırlanması:

Yıkama Tamponu: 30 ml'lik konsantre yıkama tamponuna 750 ml deiyonize su veya distile su eklenerek 750 ml'ye tamamlanmıştır.

Standart Solüsyonları: Standart 10.000 g'de 1 dakika santrifüj edilip ve 1 ml referans standart diluent koyulup 10 dakika beklenmiştir. Seri dilüsyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Sample dilüentten 7 ayrı tüpe 500 µl ekleyip, 500 pg/mL referanstan 250 ml'lik ilk tüpe koyulmuş ve sonra her bir tüpe bir öncekinden 500 µl aktararak seri dilüsyon yapılmıştır.

Biotinylated detection Ab working solution: Stok şişeyi 1x'e dilüe ederek kullanılmıştır.

Concentrated HRP Conjugate working solution: Stok şişeyi 1x'e dilüe edilerek kullanılmıştır.

- ✓ Çalışma öncesi kit, malzemeler ve örnekler oda sıcaklığına getirilmiştir.
- ✓ 25x yıkama tamponu 1x çalışma solüsyonuna dilüe edilmiştir.
- ✓ Referans standartlar hazırlanmıştır.
- ✓ Çalışmaya başlamadan 15 dakika önce, 100x biotinlated detection Ab 1x'e dilüe edilmiştir.

- ✓ Çalışmaya başlamadan 15 dakika önce, 100x consantarted HRP Conjugate 1x'e dilüe edilmiştir.

ELISA Prosedürü:

- ✓ 50 µl standart veya örnekler kuyucuklara koyulmuştur.
- ✓ 40 µl örnekler kuyucuklara koyulmuş. 10 µl anti-TLR antibody eklenmiştir.
- ✓ Standart ve örneklere 50 µl streptavidin-HRP eklenip(blank hariç), plate kapatılıp 60 dakika 37°C'de inkübe edilmiştir.
- ✓ İnkübasyondan sonra sıvılar uzaklaştırılmıştır. İnkübasyon sonrasında aspirasyon ve 5 defa yıkama tamponu ile yıkama işlemi yapılmıştır.
- ✓ 50 µl Substrate solution A ve B eklenip 10 dakika 37°C'de inkübe edilmiştir.
- ✓ 50 µl Stop solüsyonu eklenip 450 nm'de ELISA ile okuma işlemi yapılmıştır.
- ✓ Sonuçlar hesaplanıp analiz edilmiştir.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel analizler için SPSS 26.0 programı kullanılmıştır ve %95 güven düzeyinde çalışılmıştır. Çarpıklık basıklık değeri +2 ile -2 arasında olan değişkenler için normallik sağlanmış ve parametrik testler kullanılmışken, bu aralık dışında olan değişkenler için normallik sağlanmamış olup non-parametrik testler kullanılmıştır. Analizlerimizde Studen T testi, Mann Whitney U testi, Pearson korelasyon, Spearman korelasyon testi ve Ki-kare testi uygulanmıştır. Buna göre normalliği sağlayan ölçümlerin grup açısından incelenmesi Student T testi ile analiz edilmişken normalliği sağlamayan ölçümlerin grup açısından incelenmesi Mann Whitney U testi ile analiz edilmiştir. Normalliği sağlayan ölçümler arasındaki korelasyon Pearson korelasyon testi ile analiz edilmişken normalliği sağlamayan ölçümler arasındaki korelasyon Spearman korelasyon testi ile yapılmıştır. Grup ile kategorik değişkenler arasındaki ilişki ise Ki-kare testi ile analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

BULGULAR

KATILIMCILARIN SOSYODEMOGRAFİK VERİLERİ

OSB grubu bilinen kronik sistemik hastalığı olmayan, son bir aydır farmakolojik tedavi almayan 31 çocuk ve ergenden, kontrol grubu ise psikiyatrik rahatsızlığı olmayan, bilinen kronik sistemik hastalığı olmayan, son bir aydır farmakolojik tedavi almayan 31 sağlıklı çocuk ve ergenden oluşmaktadır.

Yaş

Gruplar arasında yaş dağılımı ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,885$). OSB grubunun yaş ortalaması $5,87\pm 2,2$ (4-14), kontrol grubunun ise $5,81\pm 2,2$ (4-14) olarak belirlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. OSB ve kontrol grubun yaşları

| | | Grup | | | z | p |
|-----|---------------|----------------|----------------|-----------------|---------|-------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| Yaş | ort \pm ss | 5,87 \pm 2,2 | 5,81 \pm 2,2 | 5,84 \pm 2,18 | 470,500 | 0,885 |
| | Med (min-max) | 5 (4-14) | 5 (4-14) | 5 (4-14) | | |

Mann Whitney U testi, $p<0.05$ anlamlıdır.

Cinsiyet

Gruplar arasında cinsiyet ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=1,000$). Hem OSB hem de kontrol grubunda kız oranı %25,8 (n=8), erkek oranı %74,2'dir (n=23) (Tablo 7).

Tablo 7. OSB ve kontrol grubun cinsiyetleri

| | | Grup | | | X^2 | p |
|----------|-------|------------|------------|------------|-------|-------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| | | n (%) | n (%) | n (%) | | |
| Cinsiyet | Kız | 8 (%25,8) | 8 (%25,8) | 16 (%25,8) | 0,000 | 1,000 |
| | Erkek | 23 (%74,2) | 23 (%74,2) | 46 (%74,2) | | |

X^2 testi, $p<0.05$ anlamlıdır.

Aile Yapısı

Gruplar arasında aile yapısı ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,180$). OSB grubunda çekirdek aile oranı %83,9 (n=26), kontrol grubunda da aynı

oran %83,9'dur (n=26). Eşler ayrı olma durumu yalnızca OSB grubunda görülmüştür (%9,7) (n=3). Her iki grupta da ebeveyni vefat eden çocuk ve ergen bulunmamaktadır (Tablo 8).

Tablo 8. OSB ve kontrol grubun aile yapısı

| | | Grup | | | X ² | p |
|-------------|---------------|------------|------------|------------|----------------|-------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| | | n (%) | n (%) | n (%) | | |
| Aile yapısı | Çekirdek aile | 26 (%83,9) | 26 (%83,9) | 52 (%83,9) | 3,828 | 0,180 |
| | Geniş aile | 2 (%6,5) | 5 (%16,1) | 7 (%11,3) | | |
| | Eşler ayrı | 3 (%9,7) | 0 (%0) | 3 (%4,8) | | |

X² testi, p<0.05 anlamlıdır.

Çocuk Sayısı

Gruplar arasında çocuk sayısı ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p=0,956). Her iki grupta da 2 çocuğa sahip olan aileler çoğunluktadır. OSB grubunda %45,2'si (n=14), kontrol grubunda %48,4'ü (n=15) 2 çocuğa sahiptir. (Tablo 9).

Tablo 9. OSB ve kontrol grubundaki ailelerin toplam çocuk sayısı

| | | Grup | | | X ² | p |
|--------------|------|------------|------------|------------|----------------|-------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| | | n (%) | n (%) | n (%) | | |
| Çocuk sayısı | 1,00 | 8 (%25,8) | 6 (%19,4) | 14 (%22,6) | 0,565 | 0,956 |
| | 2,00 | 14 (%45,2) | 15 (%48,4) | 29 (%46,8) | | |
| | 3,00 | 7 (%22,6) | 8 (%25,8) | 15 (%24,2) | | |
| | 4,00 | 2 (%6,5) | 2 (%6,5) | 4 (%6,5) | | |

X² testi, p<0.05 anlamlıdır.

Ebeveyn Yaşı

Gruplar arasında anne yaşı ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p=0,458). OSB grubunda anne yaşı 34,06±6,73 (24-50), kontrol grubunda ise 35,19±5,04 (26-45) olarak hesaplanmıştır.

Gruplar arasında baba yaşı ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p=1,000). Her iki grubun baba yaşı ortalaması 38,29±6,35'tir (Tablo 10).

Tablo 10. OSB ve kontrol grubundaki ebeveyn yaşları

| | | Grup | | | t | p |
|-----------|---------------|------------|------------|------------|--------|-------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| Anne yaşı | (ort±ss) | 34,06±6,73 | 35,19±5,04 | 34,63±5,92 | -0,748 | 0,458 |
| | Med (min-max) | 32 (24-50) | 35 (26-45) | 34 (24-50) | | |
| Baba yaşı | (ort±ss) | 38,29±6,65 | 38,29±6,14 | 38,29±6,35 | 0,000 | 1,000 |
| | Med (min-max) | 38 (27-58) | 38 (28-56) | 38 (27-58) | | |

T testi, $p < 0.05$ anlamlıdır.

Ebeveyn Öğrenim Durumu

Gruplar arasında anne öğrenim durumu ile ilgili anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0,042$). OSB grubunda ilköğretim mezunu anne oranı %38,7 (n=12), kontrol grubunun ise %9,7'tir (n=3). Kontrol grubunda lisans mezunu anne oranı %48,4 (n=15) ve OSB grubunun lisans mezunu anne oranı ise %25,8'tir (n=8).

Gruplar arasında baba öğrenim durumu ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,067$). Ancak OSB grubunda ilköğretim mezunu babaların oranı %41,9 (n=13), kontrol grubunda ise lisans mezunu babaların oranı %45,2 (n=14) ile öne çıkmıştır (Tablo 11).

Tablo 11. OSB ve kontrol grubundaki ebeveynleri öğrenim düzeyi

| | | Grup | | | X^2 | p |
|--------------|------------------------|------------|------------|------------|-------|--------------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| | | n (%) | n (%) | n (%) | | |
| Anne öğrenim | Eğitim almamış | 1 (%3,2) | 0 (%0) | 1 (%1,6) | 9,017 | 0,042 |
| | İlköğretim mezunu | 12 (%38,7) | 3 (%9,7) | 15 (%24,2) | | |
| | Lise mezunu | 7 (%22,6) | 8 (%25,8) | 15 (%24,2) | | |
| | Lisans mezunu | 8 (%25,8) | 15 (%48,4) | 23 (%37,1) | | |
| | Yüksek lisans ve üzeri | 3(%9,7) | 5 (%16,1) | 8 (%12,9) | | |
| Baba öğrenim | Eğitim almamış | 1 (%3,2) | 0 (%0) | 1 (%1,6) | 7,182 | 0,067 |
| | İlköğretim mezunu | 13 (%41,9) | 5 (%16,1) | 18 (%29) | | |
| | Lise mezunu | 9 (%29) | 11 (%35,5) | 20 (%32,3) | | |
| | Lisans mezunu | 8 (%25,8) | 14 (%45,2) | 22 (%35,5) | | |
| | Yüksek lisans ve üzeri | 0 (%0) | 1 %3,2) | 1 (%1,6) | | |

X^2 testi, $p < 0.05$ anlamlıdır.

Aylık Gelir

Gruplar arasında aylık gelir düzeyi ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,608$). OSB grubunda gelir düzeyi 2 asgari ücret ve altı olan aile oranı %61,3

(n=19) iken kontrol grubunda bu oran %51,6'dır (n=16). Kontrol grubunda 2 asgari ücret üzeri gelire sahip aile oranı %48,4 (n=15) iken OSB grubundaki bu oran ise %38,7'dir (n=12) (Tablo 12).

Tablo 12. OSB ve kontrol grubundaki ailelerin aylık geliri

| | | Grup | | | X ² | p |
|-------------|------------------------|------------|------------|------------|----------------|-------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| | | n (%) | n (%) | n (%) | | |
| Aylık Gelir | 2 asgari ücret ve altı | 19 (%61,3) | 16 (%51,6) | 35 (%56,5) | 0,262 | 0,608 |
| | 2 asgari ücret üstü | 12 (%38,7) | 15 (%48,4) | 27 (%43,5) | | |

X² testi, p<0.05 anlamlıdır.

Doğum Bilgileri

Gruplar arasında doğum zamanı ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p=1,000). Term doğum oranı OSB grubunda %71 (n=22), kontrol grubunda %74,2'dir (n=23). Her 2 grupta da postterm doğan çocuk ve ergen bulunmamaktadır.

Gruplar arasında doğum şekli ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p=0,786). OSB grubunda sezaryen oranı %64,5 (n=20), kontrol grubunda %71'dir (22).

Gruplar arasında doğum kilosu ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p=0,607). OSB grubunun doğum kilosu ortalaması 3086,13±753,86 (700-4250) gram, kontrol grubunun ise 3190,65±521,68 (1600-3800) gramdır (Tablo 13).

Tablo 13. OSB ve kontrol grubunun doğum bilgileri

| | | Grup | | | X ² /z | p |
|---------------------------|---------------|-----------------|------------------|-----------------|-------------------|-------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| | | n (%) | n (%) | n (%) | | |
| Doğum zamanı ¹ | Term | 22 (%71) | 23 (%74,2) | 45 (%72,6) | 0,000 | 1,000 |
| | Preterm | 9 (%29) | 8 (%25,8) | 17 (%27,4) | | |
| Doğum şekli ¹ | Normal | 11 (%35,5) | 9 (%29) | 20 (%32,3) | 0,074 | 0,786 |
| | Sezaryen | 20 (%64,5) | 22 (%71) | 42 (%67,7) | | |
| Doğum kilosu ² | (ort±ss) | 3086,13±753,86 | 3190,65±521,68 | 3138,39±645,07 | 444,000 | 0,607 |
| | Med (min-max) | 3200 (700-4250) | 3290 (1600-3800) | 3235 (700-4250) | | |

¹X² testi, ²Mann Whitney U testi, p<0.05 anlamlıdır.

Gebelik Sırasında Hastalık, Enfeksiyon Geçirme ve Sigara Maruziyeti

Gruplar arasında gebelik sırasında hastalık geçirme ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,707$). OSB grubunda hastalık geçirenlerin oranı %16,1 ($n=5$), kontrol grubunda ise %9,7'dir ($n=3$). Gruplar arasında gebelik sırasında enfeksiyon geçirme ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,238$). OSB grubunda enfeksiyon oranı %9,7 ($n=3$) iken kontrol grubunda gebelik sırasında enfeksiyon geçiren anne bulunmamaktadır. Gruplar arasında gebelik esnasında annelerin sigara maruziyeti ile ilgili anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,418$). OSB grubunda sigara içmeyen oranı %71($n=22$), kontrol grubunda %83,9'dur ($n=26$) (Tablo 14).

Tablo 14. OSB ve kontrol grubundaki annelerin gebelik sırasında hastalık, enfeksiyon geçirme ve sigara maruziyeti

| | | Grup | | | X^2 | p |
|------------------------------|---|------------|------------|------------|-------|-------|
| | | OSB | Kontrol | Toplam | | |
| | | n (%) | n (%) | n (%) | | |
| Gebelik sırasında hastalık | Hayır | 26 (%83,9) | 28 (%90,3) | 54 (%87,1) | 0,565 | 0,707 |
| | Evet | 5 (%16,1) | 3 (%9,7) | 8 (%12,9) | | |
| Gebelik sırasında enfeksiyon | Hayır | 28 (%90,3) | 31 (%100) | 59 (%95,2) | 3,102 | 0,238 |
| | Evet | 3 (%9,7) | 0 (%0) | 3 (%4,8) | | |
| Sigara kullanımı | Yok | 22 (%71) | 26 (%83,9) | 48 (%77,4) | 3,209 | 0,418 |
| | Yok, ancak sıklıkla sigara dumanına maruz kaldı | 7 (%22,6) | 3 (%9,7) | 10 (%16,1) | | |
| | Günde 1-5 | 1 (%3,2) | 2 (%6,5) | 3 (%4,8) | | |
| | Günde 5'ten fazla | 1 (%3,2) | 0 (%0) | 1 (%1,6) | | |

X^2 testi, $p<0.05$ anlamlıdır.

KATILIMCILARIN ÖLÇEK VERİLERİ

Sorun Davranış Kontrol Listesi Ölçek Puanları

OSB grubunun SDKL toplam puanı $46,32 \pm 29,91$, kontrol grubunun toplam puanı $6,06 \pm 6,71$ 'dir. OSB grubunun SDKL toplam puanı, kontrol grubunun SDKL toplam puanına kıyasla anlamlı daha yüksektir ($p=0,000$).

OSB grubunun SDKL irritabilite alt ölçeği puanı $11 \pm 9,06$, kontrol grubunun ise puanı $2,19 \pm 3,11$ 'dir. OSB grubunun SDKL irritabilite alt ölçeği puanı, kontrol grubunun SDKL irritabilite alt ölçeği puanına kıyasla anlamlı daha yüksektir ($p=0,000$).

OSB grubunun SDKL letarji alt ölçeği puanı $10,84 \pm 7,89$, kontrol grubunun ise puanı $0,52 \pm 0,81$ 'dir. OSB grubunun SDKL letarji alt ölçeği puanı, kontrol grubunun SDKL letarji alt ölçeği puanına kıyasla anlamlı daha yüksektir ($p=0,000$).

OSB grubunun SDKL stereotipi alt ölçeği puanı $5 \pm 4,58$, kontrol grubunun ise puanı $0,23 \pm 0,76$ 'dir. OSB grubunun SDKL stereotipi alt ölçeği puanı, kontrol grubunun SDKL stereotipi alt ölçeği puanına kıyasla anlamlı daha yüksektir ($p=0,000$).

OSB grubunun SDKL hiperaktivite alt ölçeği puanı $16,1 \pm 10,95$, kontrol grubunun ise puanı $2,42 \pm 2,81$ 'dir. OSB grubunun SDKL hiperaktivite alt ölçeği puanı, kontrol grubunun SDKL hiperaktivite alt ölçeği puanına kıyasla anlamlı daha yüksektir ($p=0,000$).

OSB grubunun SDKL konuşma sorunu alt ölçeği puanı $3,39 \pm 2,92$, kontrol grubunun ise puanı $0,71 \pm 0,86$ 'dir. OSB grubunun SDKL konuşma alt ölçeği puanı, kontrol grubunun SDKL konuşma alt ölçeği puanına kıyasla anlamlı daha yüksektir ($p=0,000$). (Tablo 15).

Tablo 15. SDKL ölçek puanları

| SDKL | | Grup | | t/z | p |
|--|---------------|-------------|-----------|---------|--------------|
| | | OSB | Kontrol | | |
| İrritabilite Alt Ölçeği ¹ | (ort±ss) | 11±9,06 | 2,19±3,11 | 5,117 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 11 (0-32) | 1 (0-11) | | |
| Letarji Alt Ölçeği ² | (ort±ss) | 10,84±7,89 | 0,52±0,81 | 31,500 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 10 (0-36) | 0 (0-3) | | |
| Stereotipi Alt Ölçeği ² | (ort±ss) | 5±4,58 | 0,23±0,76 | 102,000 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 4 (0-18) | 0 (0-4) | | |
| Hiperaktivite Alt Ölçeği ¹ | (ort±ss) | 16,1±10,95 | 2,42±2,81 | 6,738 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 13 (2-42) | 2 (0-13) | | |
| Konuşma Alt Ölçeği ² | (ort±ss) | 3,39±2,92 | 0,71±0,86 | 172,500 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 3 (0-10) | 1 (0-3) | | |
| Toplam Skor ¹ | (ort±ss) | 46,32±29,91 | 6,06±6,71 | 7,312 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 41 (5-108) | 4 (0-31) | | |

¹T testi, ²Mann Whitney U testi, p<0.05 anlamlıdır.

Çocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği Puanları

OSB grubunun ÇODÖ toplam puanı 37,81±7,02 (24-54), kontrol grubunun 15,74±1,37(15-20)'dir. OSB grubunun ÇODÖ toplam puanı, kontrol grubundan anlamlı şekilde daha yüksektir (**p=0,000**). OSB grubunda otizm spektrumuna ilişkin belirtilerin daha yüksek olduğu bulgulanmıştır (Tablo 16).

Tablo 16. ÇODÖ puanları

| | | Grup | | t | p |
|------------------------|---------------|------------|------------|--------|--------------|
| | | OSB | Kontrol | | |
| ÇODÖ Toplam Puan | ort±ss | 37,81±7,02 | 15,74±1,37 | 17,176 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 36 (24-54) | 15 (15-20) | | |

T testi, p<0.05 anlamlıdır.

Katılımcıların ÇODÖ puanlarına göre gruplandırıldığında, OSB ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır. (**p=0,000**). OSB grubunda otizm belirtisi olmayanların oranı %3,2 (n=1), hafif-orta otizm şiddeti olanların oranı %48,4 (n=15), ağır düzeyde otizm şiddeti olanların oranı %48,4 (n=15) iken, kontrol grubunda tüm katılımcılar otizm belirtisi göstermemiştir (Tablo 17).

Tablo 17. ÇODÖ grup

| | | OSB | X ² | p |
|-----------|---------------------|------------|----------------|--------------|
| | | n (%) | | |
| ÇODÖ grup | Otizm belirtisi yok | 1 (%3,2) | 58,125 | 0,000 |
| | Hafif-orta | 15 (%48,4) | | |
| | Ağır | 15 (%48,4) | | |

X² testi, p<0.05 anlamlıdır.

KATILIMCILARIN LABORATUVAR VERİLERİ

TLR mRNA Ekspresyon Kat Değişimleri

OSB ve kontrol grubunun TLR mRNA Ct değerleri ve house-keeping (beta aktin) Ct değeriyle Δ Ct değerleri hesaplanmış, OSB ve kontrol grubu Δ Ct kullanarak $2^{-\Delta\Delta Ct} \times 2$ formülüyle kat değişimi hesaplanması yapılmıştır. Kat değişikliği değerinin 1'den büyük olması, OSB grubu TLR mRNA ekspresyonunun kontrol grubu TLR mRNA ekspresyonuna kıyasla rölatif olarak artış gösterdiği şeklinde değerlendirilmiştir. Kat değişikliği değerinin 1'den küçük olması ise OSB grubu TLR mRNA ekspresyonunun kontrol grubu TLR mRNA gen ekspresyonuna kıyasla rölatif olarak azalış gösterdiği şeklinde değerlendirilmiştir.

TLR1: OSB grubunun TLR1 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre 2.61 kat artış göstermiştir ve istatistiki olarak anlamlıdır (**p<0,000001**).

TLR4: OSB grubunun TLR4 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre 3.69 kat artış göstermiştir ve istatistiki olarak anlamlıdır (**p<0,001184**).

TLR5: OSB grubunun TLR5 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre 1.68 kat artış göstermiştir ve istatistiki olarak anlamlıdır (**p<0,003781**).

TLR6: OSB grubunun TLR6 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre 1.89 kat azalış göstermiştir ve istatistiki olarak anlamlıdır (**p<0,007023**).

TLR8: OSB grubunun TLR8 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre 1.88 kat artış göstermiştir ve istatistiki olarak anlamlıdır (**p<0,000486**).

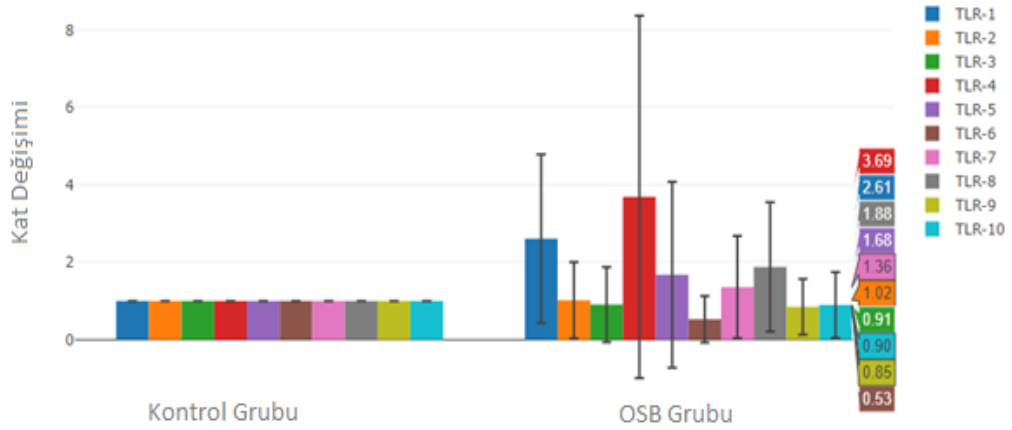
Ancak TLR2, TLR3, TLR7, TLR9, TLR10 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 19, Şekil 2).

Tablo 18. TLR mRNA ekspresyon kat değişimleri

| | Kat Değişimi | p |
|------------|--------------|-----------------|
| TLR1 mRNA | 2.61 | 0,000001 |
| TLR2 mRNA | 1.02 | 0,501158 |
| TLR3 mRNA | -1.10 | 0,475721 |
| TLR4 mRNA | 3.69 | 0,001184 |
| TLR5 mRNA | 1.68 | 0,003781 |
| TLR6 mRNA | -1.89 | 0,007023 |
| TLR7 mRNA | 1.36 | 0,053691 |
| TLR8 mRNA | 1.88 | 0,000486 |
| TLR9 mRNA | -1.17 | 0,179660 |
| TLR10 mRNA | -1.12 | 0,142763 |

$2^{-\Delta\Delta Ct} \times 2$ formülasyonu kullanılmıştır.

Şekil 3. TLR mRNA ekspresyon kat değişimleri



TLR Protein Düzeyleri

OSB ve kontrol gruplarının TLR 1-10 mRNA Ct değerlerinden kat değişimleri hesaplanmış ve istatistiki farklılık olan TLR1, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR8'in serum protein düzeyleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

TLR1: OSB grubunun TLR1 protein düzeyi ortalaması $14,9 \pm 7,06$ iken, kontrol grubunun ortalaması $6,07 \pm 4,12$ 'dir. OSB grubunun TLR1 protein düzeyi, kontrol grubunun TLR1 protein düzeyinden anlamlı yüksektir ($t=6,014$, $p=0,000$).

TLR4: OSB grubunun TLR4 protein düzeyi ortalaması $9,83 \pm 3,66$ iken, kontrol grubunun ortalaması $4,25 \pm 2,09$ 'dur. OSB grubunun TLR4 protein düzeyi, kontrol grubunun TLR4 protein düzeyinden anlamlı yüksektir ($t=7,378$, $p=0,000$).

TLR5: OSB grubunun TLR5 protein düzeyi ortalaması $48,39 \pm 27,78$ iken, kontrol grubunun ortalaması $20 \pm 14,53$ 'tür. OSB grubunun TLR5 protein düzeyi, kontrol grubunun TLR5 protein düzeyinden anlamlı yüksektir ($t=5,043$, $p=0,000$).

TLR6: OSB grubunun TLR6 protein düzeyi ortalaması $3,97 \pm 2,93$ iken, kontrol grubunun ortalaması $10,72 \pm 6,37$ 'dir. OSB grubunun TLR6 protein düzeyi, kontrol grubunun TLR6 protein düzeyinden anlamlı düşüktür ($t=-5,363$, $p=0,000$).

TLR8: OSB grubunun TLR8 protein düzeyi ortalaması $76,77 \pm 27,3$ iken, kontrol grubunun ortalaması $40,35 \pm 19,68$ 'dir. OSB grubunun TLR8 protein düzeyi, kontrol grubunun TLR8 protein düzeyinden anlamlı yüksektir ($t=6,026$, $p=0,000$) (Tablo 20).

Tablo 19. TLR protein düzeyleri

| | | Grup | | t | P |
|------|---------------|----------------------|----------------------|--------|--------------|
| | | OSB | Kontrol | | |
| TLR1 | ort \pm ss | $14,9 \pm 7,06$ | $6,07 \pm 4,12$ | 6,014 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 13,47 (4,69-30,29) | 3,92 (1,71-15,93) | | |
| TLR4 | ort \pm ss | $9,83 \pm 3,66$ | $4,25 \pm 2,09$ | 7,378 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 9,85 (4,53-17,57) | 4,37 (0-9,31) | | |
| TLR5 | ort \pm ss | $48,39 \pm 27,78$ | $20 \pm 14,53$ | 5,043 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 47,97 (11,52-89,27) | 11,96 (6,67-66,17) | | |
| TLR6 | ort \pm ss | $3,97 \pm 2,93$ | $10,72 \pm 6,37$ | -5,363 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 2,55 (1,54-12,32) | 10,16 (1,48-23,59) | | |
| TLR8 | ort \pm ss | $76,77 \pm 27,3$ | $40,35 \pm 19,68$ | 6,026 | 0,000 |
| | Med (min-max) | 85,11 (28,01-139,48) | 52,68 (10,54-139,48) | | |

T testi, $p < 0.05$ anlamlıdır.

TLR Protein Düzeylerinin Yaş ile İlişkisi

Katılımcıların TLR1, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR8 serum protein düzeyleri ile yaşları arasındaki ilişkide korelasyon saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 21).

Tablo 20. TLR protein düzeylerinin yaş ile ilişkisi

| | | TLR1 | TLR4 | TLR5 | TLR6 | TLR8 |
|-----|---|--------|-------|--------|-------|-------|
| Yaş | r | -0,123 | 0,046 | -0,032 | 0,009 | 0,005 |
| | p | 0,342 | 0,720 | 0,806 | 0,942 | 0,968 |

Spearman korelasyon testi, $p<0,05$ anlamlıdır.

TLR Protein Düzeylerinin Cinsiyet ile İlişkisi

Katılımcıların TLR1, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR8 serum protein düzeyleri ile cinsiyet grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 22).

Tablo 21. TLR protein düzeylerinin cinsiyet ile ilişkisi

| | Grup | | t | p |
|------|-------------|-------------|--------|-------|
| | Kız | Erkek | | |
| | ort±ss | ort±ss | | |
| TLR1 | 10,18±4,80 | 10,59±7,98 | -0,240 | 0,811 |
| TLR4 | 7,86±4,72 | 6,75±3,85 | 0,939 | 0,352 |
| TLR5 | 32,46±27,24 | 34,80±26,15 | -0,305 | 0,762 |
| TLR6 | 6,51±4,37 | 7,63±6,46 | -0,645 | 0,522 |
| TLR8 | 66,62±36,70 | 55,74±27,04 | 1,088 | 0,289 |

T testi, $p<0,05$ anlamlıdır.

TLR Protein Düzeylerinin SDKL ve ÇODÖ İlişkisi

Katılımcıların TLR1, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR8 serum protein düzeyleri ve SDKL alt ölçekleri, SDKL toplam puanı ve ÇODÖ puanları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

TLR1 protein değeri ile; SDKL letarji alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta düzey korelasyon ($r=0,495$, $p=0,000$), SDKL stereotipi alt ölçeği arasında pozitif yönlü hafif-orta düzey korelasyon ($r=0,315$, $p=0,013$), SDKL hiperaktivite alt ölçeği arasında pozitif yönlü hafif-orta düzey korelasyon ($r=0,348$, $p=0,006$), SDKL konuşma alt ölçeği arasında pozitif yönlü hafif-orta düzey korelasyon ($r=0,340$,

p=0,007), SDKL toplam puanı arasında pozitif yönlü hafif-orta düzey korelasyon (**r=0,309, p=0,015**), ÇODÖ toplam puanı arasında pozitif yönlü orta düzey korelasyon (**r=0,450, p=0,000**) saptanmıştır.

TLR4 protein değeri ile; SDKL irritabilite alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta düzey korelasyon (**r=0,460, p=0,000**), SDKL letarji alt ölçeği arasında pozitif yönlü yüksek düzey korelasyon (**r=0,731, p=0,000**), SDKL stereotipi alt ölçeği arasında pozitif yönlü yüksek düzey korelasyon (**r=0,643, p=0,000**), SDKL hiperaktivite alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta-yüksek düzey korelasyon (**r=0,543, p=0,000**), SDKL konuşma alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta düzey korelasyon (**r=0,465, p=0,000**), SDKL toplam puanı arasında pozitif yönlü orta-yüksek düzey korelasyon (**r=0,579, p=0,000**), ÇODÖ toplam puanı arasında pozitif yönlü yüksek düzey korelasyon (**r=0,610, p=0,000**) saptanmıştır.

TLR5 protein değeri ile; SDKL letarji alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta düzey korelasyon (**r=0,463, p=0,000**), SDKL toplam puanı arasında pozitif yönlü hafif düzey korelasyon (**r=0,270, p=0,034**), ÇODÖ toplam puanı arasında pozitif yönlü orta-yüksek düzey korelasyon (**r=0,538, p=0,000**) saptanmıştır.

TLR6 protein değeri ile; SDKL letarji alt ölçeği arasında negatif yönlü orta düzey korelasyon (**r=-0,454, p=0,000**), SDKL stereotipi alt ölçeği arasında negatif yönlü hafif-orta düzey korelasyon (**r=-0,381, p=0,002**), SDKL hiperaktivite alt ölçeği arasında negatif yönlü hafif-orta düzey korelasyon (**r=-0,312, p=0,013**), SDKL konuşma alt ölçeği arasında negatif yönlü hafif düzey korelasyon (**r=-0,261, p=0,041**), SDKL toplam puanı arasında negatif yönlü hafif-orta düzey korelasyon (**r=-0,298, p=0,019**), ÇODÖ toplam puanı arasında negatif yönlü orta düzey korelasyon (**r=-0,489, p=0,000**) saptanmıştır.

TLR8 protein değeri ile; SDKL irritabilite alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta-yüksek düzey korelasyon (**r=0,507, p=0,000**), SDKL letarji alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta düzey korelasyon (**r=0,457, p=0,000**), SDKL stereotipi alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta-yüksek düzey korelasyon (**r=0,555, p=0,000**), SDKL hiperaktivite alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta düzey korelasyon (**r=0,475, p=0,000**), SDKL konuşma alt ölçeği arasında pozitif yönlü orta düzey korelasyon (**r=0,485, p=0,000**), SDKL toplam puanı arasında pozitif yönlü orta-yüksek düzey korelasyon (**r=0,530,**

$p=0,000$), ÇODÖ toplam puanı arasında pozitif yönlü yüksek düzey korelasyon ($r=0,606$, $p=0,000$) saptanmıştır (Tablo 23).

Tablo 22. TLR protein düzeylerinin SDKL ve ÇODÖ ilişkisi

| | | SDKL İritabilite ¹ | SDKL Letarji ² | SDKL Stereotipi ² | SDKL HA ¹ | SDKL Konuşma ² | SDKL ¹ | ÇODÖ ¹ |
|------|---|-------------------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------|---------------------------|-------------------|-------------------|
| TLR1 | r | 0,219 | 0,495* | 0,315* | 0,348* | 0,340* | 0,309* | 0,450* |
| | p | 0,087 | 0,000 | 0,013 | 0,006 | 0,007 | 0,015 | 0,000 |
| TLR4 | r | 0,460* | 0,731* | 0,643* | 0,543* | 0,465* | 0,579* | 0,610* |
| | p | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| TLR5 | r | 0,178 | 0,463* | 0,235 | 0,241 | 0,183 | 0,270* | 0,538* |
| | p | 0,167 | 0,000 | 0,066 | 0,059 | 0,154 | 0,034 | 0,000 |
| TLR6 | r | -0,201 | -0,454* | -0,381* | -0,312* | -0,261* | -0,298* | -0,489* |
| | p | 0,118 | 0,000 | 0,002 | 0,013 | 0,041 | 0,019 | 0,000 |
| TLR8 | r | 0,507* | 0,457* | 0,555* | 0,475* | 0,485* | 0,530* | 0,606* |
| | p | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

¹=Pearson korelasyon testi; ²=Spearman korelasyon testi

TARTIŞMA

KATILIMCILARIN SOSYODEMOGRAFİK VERİLERİ

Çalışmamızda yaş ve cinsiyetin karıştırıcı etkisini ortadan kaldırmak için OSB ve kontrol grubuna katılımcıları dâhil ederken katılımcıların yaş ve cinsiyet açısından benzer olmasına dikkat edilmiştir. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet ile ilgili anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,885$, $p=1,000$).

Çalışmamızda OSB grubunun yaş ortalaması $5,87\pm 2,2$ (4-14), kontrol grubunun yaş ortalaması $5,81\pm 2,2$ (4-14) olarak bulgulanmıştır. Cinsiyet dağılımına baktığımızda hem OSB grubunun hem de kontrol grubunun %74,2'si erkekten, %25,8'i kızıdan oluşmakta ve OSB olguların erkek/kız oranı 2,87 olarak bulgulanmıştır. 2023'de yayınlanan CDC'nin prevalans çalışmasında erkeklerde 3.8 kat daha sık olduğu belirtilmiştir (6). EYY olmayan OSB tanılı grupta erkeklerin kızlara oranı 6 ile 16 kat arasında değişmekte iken, EYY'nin eşlik etmesiyle erkeklerin kızlara oranı eşit veya 2 kat arasında değişmektedir (33). Ülkemizde 2023 yılında yapılan bir çalışmada, üniversite hastanesi ÇERSAH polikliniklerine başvuran 1523 OSB tanılı hastanın erkek/kız oranı 3,05 olarak belirtilmiştir (160). Bulgularımızın yazındaki verilerle tutarlı olduğu görülmüştür.

Gruplar arasında ebeveyn yaşları kıyaslanmış, anne ve baba yaşı açısından istatistiksel fark saptanmamıştır ($p=0,458$, $p=1,000$). OSB grubunda anne yaş ortalaması $34,06\pm 6,73$, baba yaş ortalaması $38,29\pm 6,65$ olarak bulgulanmıştır. Yazında 42.569 OSB tanılı çocuğun dâhil edildiği bir çalışmada, doğum anında ortalama anne yaşı 29,5 iken doğum anında ortalama baba yaşı 31,8 olarak bulgulanmıştır (161). Bizim çalışmamızda OSB grubundaki çocukların yaş ortalaması dikkate alındığında (5,87) doğum anındaki ortalama ebeveyn yaşlarıyla uyumlu gözükmektedir. Ancak yazında OSB ve risk faktörlerini inceleyen çalışmalarda ileri ebeveyn yaşı çevresel faktörler içinde en anlamlı sonuçlara sahiptir. 2019 yılında yayınlanan 46 çalışmanın dâhil edildiği meta analizde anne yaşının 35'ten büyük olması OSB riskini artırdığını belirtmiştir (32). Özellikle ileri baba yaşının de-nova mutasyon artışlarıyla OSB riskini artırdığı düşünülmektedir (69). Çalışmamızda ebeveyn yaş ortalamalarının OSB ve

kontrol grubu arasında farklılık göstermemesi, örneklem büyüklüğünün azlığı ve toplum temelli olmamasıyla açıklanabileceği düşünülmüştür.

Ebeveynlerin öğrenim düzeylerini kıyasladığımızda OSB ve kontrol grupları arasında babaların öğrenim düzeyleri açısından farklılık olmadığı ($p=0,067$) fakat annelerin öğrenim düzeyleri açısından farklılık olduğu ($p=0,042$) saptanmıştır. Kontrol grubundaki çocukların annelerinin yarısından fazlasını (%64,5) lisans ve üzeri öğrenim düzeyindeki anneler oluşturmaktadır. Yazında annelerin öğrenim düzeyi arttıkça, çocuklarının gelişimsel düzeyleri hakkında farkındalıklarının ve tıbbi yardım aramalarının arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (162). Bu doğrultuda kliniğe başvuran sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubunun annelerinin öğrenim düzeyinin yüksek olmasını açıklayabilir.

OSB ve kontrol grubunda aile yapıları ve toplam çocuk sayıları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur ($p=0,180$, $p=0,956$). Her iki grupta da çekirdek aileler, ailelerin %83,9'nu oluşturmaktadır. OSB tanısı almış çocukların ebeveynlerin daha yüksek stres yaşadığı, bu stresin aile işleyişini ve evlilik ilişkisini etkilediğini, boşanma oranını arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (163–165). OSB tanısı olan çocukların ebeveynlerinde boşanma oranlarının değişmediğini gösteren çalışmalar da yazında mevcuttur (166,167). Çalışmamız boşanma oranlarıyla OSB arasında ilişki olmadığını gösteren çalışmalarla uyumludur fakat daha geniş örneklemle yapılan çalışmalarla kanıt düzeyi artabilir.

OSB ve kontrol grubunda ailelerin aylık gelirleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur ($p=0,608$). Literatürde bu konuda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar olduğu görülmektedir. Yazında OSB'nin düşük sosyoekonomik düzeyle ilişkili olduğu bildirilmekle beraber (168,169), OSB ile yüksek sosyoekonomik düzeyin ilişkisini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır, bu durumun tespit yanlılığından kaynaklandığını belirten görüşler bulunmaktadır (170). Ayrıca yüksek gelirli ülkelerde OSB sıklığının daha yüksek olduğu belirtilmiş bu durumun sağlık hizmetine erişilebilirliğiyle ilişkili olduğu düşünülmüştür (30). Çalışmamızda ise OSB ve kontrol grubun arasında ekonomik düzey açısından farklılık saptanmamıştır.

Çalışmamızda doğum öncesi ve doğumdaki risk faktörleri sorgulanmış, gebelik esnasında hastalık geçirmek, enfeksiyon geçirmek ve sigara maruziyeti sorgulanmış gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir ($p=0,707$, $p=0,238$, $p=0,418$). Yine doğum bilgilerinden; doğum zamanı, doğum şekli ve doğum kilosu açısından gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir ($p=1,000$, $p=0,786$, $p=0,607$). Gebelikte sigara maruziyetinin OSB riskini artırdığına yönelik çalışmalar sonuçlar açısından çeşitlilik göstermektedir. Günde 20'den fazla sigara içmenin OSB riskini artırdığını bulgulayan çalışmalar (171) bulunmakla beraber, annenin sigara kullanımının OSB riskini artırmadığını gösteren çalışmalar da yazında mevcuttur (172). Gebelik esnasında maternal enfeksiyon öyküsünün OSB riskini artırdığı yazında belirtilmiştir (173,174). Prenatal dönemde geçirilen maternal enfeksiyonlar, annenin immün sistemini aktive ederek IL-6 artışıyla fetal beyin gelişimini etkilediği belirtilmektedir (71,99). OSB ve doğum ile ilişkili risk faktörlerini inceleyen çalışmalar bebeğin 36 haftadan önce doğması, sezaryen doğumun, düşük doğum ağırlığının, makat gelişin, indüklenen doğumun, fetal stresin OSB riskini artırdığını bildirmiştir (175,176). Çalışmamızda doğum öncesi ve doğumdaki risk faktörlerinin gruplar arasında farklılık göstermemesi, örneklem büyüklüğünün azlığı ve toplum temelli olmamasıyla açıklanabileceği düşünülmüştür.

KATILIMCILARIN ÖLÇEK VERİLERİ

Çalışmamızda ÇODÖ ve SDKL ölçekleri kullanılmıştır. OSB tanısı DSM-5 temelli klinik görüşmeyle konulmuştur. Klinisyen tarafından uygulanan ÇODÖ ile tanı desteklenmiş ve otizm şiddeti derecelendirilmiştir.

OSB ve kontrol grubu arasında ÇODÖ toplam puanı açısından anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,000$). Kontrol grubunun tamamı ÇODÖ kesme değerinin (29,5) altındadır ve OSB belirtilerini göstermemektedir. OSB grubunda ÇODÖ ortalaması $37,81 \pm 7,02$ ve OSB grubunun %48,4'ü hafif-orta otizm, %48,4'ü ağır otizm şiddetinde bulgulanmıştır. OSB grubunda 1 olgu ÇODÖ kesme değerinin altında kalmış olup, OSB belirtileri hafiftir. Yazında ÇODÖ puanının yaş ve IQ puanının artmasıyla ÇODÖ puanında azalabileceğini hatta hafif belirti gösteren olgulardan kesme değerini 25,5 olarak önermiştir (177). OSB ve kontrol grubunun ÇODÖ puanları arasında anlamlı fark olması yazınla uyumlu olup, çalışmanın dizaynı için istenen bir durumdur.

Çalışmamızda SDKL toplam puanı ve 5 alt ölçeği puanları OSB ve kontrol grubu arasında kıyaslanmış toplam ve alt ölçeklerin hepsinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır (**p=0,000**). Çalışmamız olgu-kontrol çalışması olduğu için, bu durum beklenen ve istenen bir durumdur.

KATILIMCILARIN TLR mRNA ve TLR PROTEİN VERİLERİ

Çalışmamızın temel araştırma konusu periferal kanda TLR profilini OSB ve sağlıklı kontrol grupları arasında karşılaştırmaktır. İlk aşamada OSB ve kontrol grupları arasında TLR mRNA ekspresyonlarının kat değişimleri kıyaslanmıştır. İkinci aşamada TLR mRNA ekspresyonları farklılaşan TLR çeşitlerinin ELISA yöntemiyle serum TLR protein düzeylerine bakılmıştır.

OSB grubunun TLR1 mRNA ekspresyonu kontrol grubunun ekspresyonuna göre 2.61 kat artış göstermiştir (**p=0,000001**). Serum TLR1 protein düzeyini kıyasladığımızda ise OSB grubunun TLR1 protein düzeyi, kontrol grubu TLR1 protein düzeyinden anlamlı yüksektir (**p=0,000**). TLR1 mRNA ekspresyonuyla serum TLR1 protein düzeyi uyumlu bulgulanmıştır.

OSB grubunun TLR4 mRNA ekspresyonu kontrol grubunun ekspresyonuna göre 3.69 kat artış göstermiştir (**p=0,001184**). Serum TLR4 protein düzeyini kıyasladığımızda ise OSB grubunun TLR4 protein düzeyi, kontrol grubu TLR4 protein düzeyinden anlamlı yüksektir (**p=0,000**). TLR4 mRNA ekspresyonuyla serum TLR4 protein düzeyi uyumlu bulgulanmıştır.

OSB grubunun TLR5 mRNA ekspresyonu kontrol grubunun ekspresyonuna göre 1.68 kat artış göstermiştir (**p=0,003781**). Serum TLR5 protein düzeyini kıyasladığımızda ise OSB grubunun TLR5 protein düzeyi, kontrol grubu TLR5 protein düzeyinden anlamlı yüksektir (**p=0,000**). TLR5 mRNA ekspresyonuyla serum TLR5 protein düzeyi uyumlu bulgulanmıştır.

OSB grubunun TLR6 mRNA ekspresyonu kontrol grubunun ekspresyonuna göre 1.89 kat azalış göstermiştir (**p=0,007023**). Serum TLR6 protein düzeyini kıyasladığımızda ise OSB grubunun TLR6 protein düzeyi, kontrol grubunun TLR6 protein düzeyinden anlamlı düşüktür (**p=0,000**). TLR6 mRNA ekspresyonuyla serum TLR6 protein düzeyi uyumlu bulgulanmıştır.

OSB grubunun TLR8 mRNA ekspresyonu kontrol grubunun ekspresyonuna göre 1.88 kat artış göstermiştir (**p=0,000486**). Serum TLR8 protein düzeyini kıyasladığımızda ise OSB grubunun TLR8 protein düzeyi, kontrol grubunun TLR8 protein düzeyinden anlamlı yüksektir (**p=0,000**). TLR8 mRNA ekspresyonuyla serum TLR8 protein düzeyi uyumlu bulgulanmıştır.

Çalışmamızda TLR2, TLR3, TLR7, TLR9, TLR10 mRNA ekspresyonları OSB ve kontrol grubunda farklılaşmamıştır (sırasıyla p=0,501158, p=0,475721, p=0,053691, p=0,179660, p=0,142763).

Yazını incelediğimizde TLR sinyallerinin nörogenez, aksonal büyüme ve plastisite dâhil olmak üzere santral sinir sisteminde dinamik süreçleri etkilediği gösterilmektedir (21). Nörodejenaratif ve nöropsikiyatrik hastalıklarda TLR sinyalizasyonun inflamasyonu başlatıcı etkisinin etiolojide yer oynayabileceği düşünülmektedir (127,128). Yazında OSB ve TLR çalışmaları incelendiğinde çalışmalar hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar olarak ikiye ayrılmaktadır. Klinik örneklemelerde yapılan çalışmalar seçili kan hücrelerinde ve seçili TLR'ler ile sınırlıdır.

Hayvan deneyleri çalışmalarında OSB ve TLR arasında bağlantı kuran dolaylı kanıtlar bildirilmiştir. Çalışmalar özellikle 'maternal immün aktivasyon ve 'sızdıran bağırsak' hipotezlerine yoğunlaşmıştır. Maternal LPS maruziyetinin, yavru farelerde TLR4 sinyalizasyonunu artırarak mikrogliaları aktive ettiği ve aktive olan mikrogliaların sinaptik budanmada artışa neden olduğu gösterilmiştir. Artmış sinaptik budanmanın, OSB benzeri belirtilere neden olduğu düşünülmektedir (141). Maternal immün aktivasyonu araştıran başka bir hayvan deneyi çalışmasında, gebelik esnasında geçirilen maternal CMV enfeksiyonun TLR2 ve TLR4'ü artırdığı, artan TLR2 ve TLR4'ün IL-6'yı artırdığı gösterilmiş, artan IL-6'nın nörogelişimsel bozukluklarda rol oynayabileceği ifade edilmiştir (142). Otistik fare modelinde intestinal sistemden alınan dokuların immünohistokimyasal boyanma sonuçlarına göre TLR4 artışının olduğu, TLR4 artışının inflamatuvar sitokin artışını uyardığı gözlenmiş ve OSB'li bireylerin bağırsak disfonksiyonunda TLR4'ün etkisi olabileceği düşünülmüştür (143). Bağırsak geçirgenliği ve OSB belirtilerinin ilişkisini araştıran çalışmada, otistik farelerin bağırsaklarından beyin dokusuna LPS geçişinin olduğu ve LPS'lerin

TLR4/Myd88/NF- κ B uyararak proinflamatuvar sitokinlerde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmacılar bu durumun, OSB etiyojisinde nöroinflamasyonun rolüne yönelik kanıtları artırdığını belirtmektedirler (144). Preklinik hayvan deneylerinde yapılan çalışmalar ‘maternal immün aktivasyon’ ve ‘sızdıran bağırsak’ hipotezleri OSB ile ilişkilendirilmiştir fakat bu ilişkilerin ardındaki mekanizma hala tam olarak bilinmemektedir.

Klinik örneklemedeki yürütülen çalışmalar az sayıda olmakla beraber farklı hücre tiplerinde seçili TLR uyarımı sonrası inflamatuvar sitokinlerin değişimine odaklanmışlardır. Enstrom ve arkadaşları monositlerdeki TLR’leri uyararak, TLR2 ve TLR4 uyarımı sonrası OSB grubunda kontrol grubuna kıyasla proinflamatuvar sitokinlerin üretiminde artış ve TLR9’un uyarılmasıyla proinflamatuvar sitokinlerde azalma gözlemişlerdir (148). Monositler üzerine yapılan diğer bir çalışmada, OSB grubunda monositlerde bulunan TLR4’ün LPS uyarımı sonrası artmış IL-6 sitokin düzeylerinin olduğu ve artan IL-6 sitokin kısıtlayıcı ve tekrarlayıcı davranışlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (149). Periferik B lenfositlerde yapılan çalışmada ise TLR4’ün LPS aktivasyonu ile B lenfositlerde IL-6 sitokin düzeyinde artış tespit edilmiştir (151). B lenfositler üzerine yapılan bir diğer çalışmada OSB grubunun periferik B lenfositlerinde TLR4 ekspresyonunun arttığını ve artan ekspresyonun NADPH oksidaz, nitrotirozin artışıyla oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir (152). OSB ve sağlıklı kontrol grubunun kıyaslandığı başka bir çalışmada OSB grubunda periferik T lenfositlerde TLR4 ekspresyonunun arttığını ve artan ekspresyonun NADPH oksidaz ve reaktif oksijen türevlerini artırdığını böylece inflamasyonu tetiklediği gözlenmiştir (150). Kıyat ve arkadaşlarının 2024 yayınladığı güncel çalışmada 40 OSB tanılı çocuk ve 40 sağlıklı çocuk arasında serum TLR4 protein düzeylerini kıyaslamış, OSB grubunda TLR4 serum protein düzeyinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (153). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda bulguların TLR4 mRNA ekspresyon ve protein düzeylerinin OSB grubunda daha yüksek olması yazınla uyumlu gözlenmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda OSB grubunda TLR1, TLR4, TLR5, TLR8 mRNA ekspresyon ve protein düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek, TLR6 mRNA ekspresyon ve protein düzeylerinin daha düşük, TLR2, TLR3, TLR7, TLR9, TLR10 mRNA ekspresyonlarında farklılık olmadığı saptanmıştır. TLR4 mRNA ekspresyon

ve protein düzeylerinin OSB grubunda daha yüksek olması yazınla uyumlu olmakla beraber bizim bildiğimiz kadarıyla yazında OSB’de TLR1, TLR5, TLR6, TLR8 ekspresyon ve protein düzeylerini analiz eden çalışma bulunmamaktadır ve bulgularımız yazında ilk defa bildirilmiştir. Bulgularımız OSB’de TLR mRNA ekspresyon ve protein düzeyi farklılaşması OSB’de nöroinflamatuvar süreçlerin göstergesi olabilir fakat bu konuda gelecekte yapılacak nedensellik gösteren çalışmalarla bulgularımızın desteklenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda katılımcıların serum TLR1, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR8 protein düzeylerinin yaş ve cinsiyet ile ilişkisi incelenmiştir. TLR protein düzeyleri ile yaş ve cinsiyet arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Yazına baktığımızda TLR protein düzeyi ile ilgili yapılmış klinik çalışmalarının az sayıda olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalarda TLR protein düzeyiyle yaşa ve cinsiyete göre değişimi açısından bulgu olmadığı görülmektedir (148–153). Klinik çalışmalarda TLR protein düzeyleriyle ilgili daha fazla çalışmaya gereksinim olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda TLR protein düzeylerinin yaş ve cinsiyet ile farklılaşmaması, yaş ve cinsiyetin karıştırıcı etkisini dışlamamızı sağlamıştır.

Çalışmamızda katılımcıların TLR1, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR8 protein düzeylerinin ÇODÖ ile ilişkisi incelenmiştir.

ÇODÖ toplam puanıyla TLR1, TLR4, TLR5, TLR8 protein düzeylerinin, pozitif yönlü orta-yüksek düzey korele olduğu, TLR6 protein düzeyiyle negatif yönlü orta düzey korele olduğu bulgulanmıştır. Özellikle TLR4 ($r=0,610$, $p=0,000$) ve TLR8 ($r=0,606$, $p=0,000$) serum protein düzeyi ile ÇODÖ toplam puanı arasında yüksek düzeyde korelasyon bulgulanmıştır. Yazın gözden geçirildiğinde TLR protein düzeyinin ve ÇODÖ ilişkisini inceleyen tek çalışma olduğu görülmüş, bu çalışmada OSB grubunda TLR4 protein düzeyi ve ÇODÖ puanları arasında anlamlı ilişkili saptanmamıştır (153). Çalışmamızda OSB grubunun TLR1, TLR4, TLR5 ve TLR8’in protein düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek, TLR6’in protein düzeyinin daha düşük olduğu bulgulanmış olup bu bulgulara istinaden TLR protein düzeyleriyle otizm şiddetini belirleyen ÇODÖ toplam puanıyla korelasyonlarının tutarlı olduğu düşünülmektedir. Bulgularımız TLR protein düzeyi farklılığının OSB şiddetini etkilediği olarak yorumlanabilir fakat bu konuda gelecekte yapılacak nedensellik gösteren çalışmalarla bulgularımızın desteklenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda katılımcıların TLR1, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR 8 protein düzeylerinin SDKL toplam puanı ve SDKL alt ölçekleri ile ilişkisi incelenmiştir.

TLR1 protein düzeyi ve SDKL letarji, SDKL stereotipi, SDKL hiperaktivite, SDKL konuşma alt ölçekleri ve SDKL toplam puanıyla pozitif yönde korelasyon bulgulanmıştır.

TLR4 protein düzeyi ve SDKL iritabilite, SDKL letarji, SDKL stereotipi, SDKL hiperaktivite, SDKL konuşma alt ölçekleri ve SDKL toplam puanıyla pozitif yönde korelasyon bulgulanmıştır. Özellikle SDKL hiperaktivite ($r=0,543$, $p=0,000$), SDKL toplam puanı ($r=0,579$, $p=0,000$) ile orta-yüksek düzey, SDKL letarji ($r=0,731$, $p=0,000$), SDKL stereotipi ($r=0,643$, $p=0,000$) ile yüksek düzey korelasyon saptanmıştır.

TLR5 protein düzeyi ve SDKL letarji alt ölçeği ve SDKL toplam puanıyla pozitif yönde korelasyon bulgulanmıştır.

TLR8 protein düzeyi ve SDKL iritabilite, SDKL letarji, SDKL stereotipi, SDKL hiperaktivite, SDKL konuşma alt ölçekleri ve SDKL toplam puanıyla pozitif yönde korelasyon bulgulanmıştır. Özellikle SDKL iritabilite ($r=0,507$, $p=0,000$), SDKL stereotipi ($r=0,555$, $p=0,000$) ve SDKL toplam puanı ($r=0,530$, $p=0,000$) ile orta-yüksek düzey korelasyon saptanmıştır.

TLR6 protein düzeyi ve SDKL letarji, SDKL stereotipi, SDKL hiperaktivite, SDKL konuşma alt ölçekleri ve SDKL toplam puanıyla negatif yönde korelasyon bulgulanmıştır.

Yazında OSB'de sorunlu davranışları ve TLR ilişkisini inceleyen çalışmalar TLR4 üzerinedir. Hughes ve arkadaşları, monositlerde bulunan TLR4 uyarımı sonrası artan IL-6 yanıtının OSB grubunda tekrarlayıcı ve sınırlayıcı davranışlarla ilişkili olduğunu göstermiştir (149). Kıyat ve arkadaşlarının çalışmasında, OSB grubunda TLR4 protein düzeyiyle SDKL hiperaktivite alt ölçeğiyle pozitif korelasyon bulgulanmış fakat diğer alt ölçekler ve SDKL toplam puanıyla ilişki saptanmamıştır (153). Bu veriler, bizim çalışmamızdaki TLR4 protein düzeyinin sorunlu davranış ilişkileriyle uyumlu gözükmemektedir. Mevcut yazında TLR ve sorunlu davranışları inceleyen başka çalışma görülmemektedir. TLR1, TLR5, TLR6, TLR8 protein düzeyi

ve sorunlu davranışların ilişkisini gösteren bulgularımız yazında ilk defa bildirilmiştir. Bulgularımız TLR serum protein düzeyini değişikliğinin OSB’de sorunlu davranışları etkilediği olarak yorumlanabilir fakat gelecek çalışmalarda bulgularımızın tekrarlanması ve nedenselliğinin araştırılması gereklidir.

OSB etiolojisinde genetik, çevresel, nörobiyolojik faktörler etkili olmakla beraber nöroinflamasyonun ve immün sistem elemanlarının da etiolojide rol oynayabildiği yazında gösterilmiştir (178). OSB’de mikrogliya aktivasyonu ve inflamatuvar sitokin artışları nöroinflamasyonun temelini oluşturduğu bilinmektedir (12). OSB’de proinflamatuvar sitokin artışları birçok çalışmada gösterilmiş ve artan sitokinler OSB grubuna davranış problemleri ile ilişkilendirilmiştir (97,179,180). Ayrıca doğal bağışıklık sisteminde patern tanıma reseptörü olarak çalışan TLR’lerin uyarılmasıyla OSB grubunda sitokin yanıtları nörotipik gelişim gösterenlerden farklılaşmaktadır (148–152). Fakat OSB grubunda proinflamatuvar sitokinlerin sinyalizasyonu sağlayan TLR’lerin profili kapsamlı olarak kontrol edilmemiştir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda OSB grubunda TLR profilini kontrol etmeyi amaçladık. Çünkü OSB’de TLR değişiklikleri, inflamatuvar sitokinlerin artışını tetikliyor olabilir ve nöroinflamatuvar süreçleri başlatmada etkisi olabilir.

Sonuç olarak yazında OSB ve TLR ilişkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmakla beraber çalışmamız OSB’de TLR profilini kapsamlı olarak kontrol eden ilk çalışmadır. Çalışmamızda TLR mRNA ekspresyonları serum TLR protein düzeyleriyle kontrol edilmiş ve serum TLR protein düzeyleri TLR mRNA ekspresyonlarıyla uyumlu bulgulanmıştır. Elde edilen bulgular Otizm Spektrum Bozukluğu’nda Toll Like Reseptörler’in düzeylerinin farklılaştığına dair kanıt sunmaktadır ayrıca TLR protein düzeyleri OSB şiddeti ve sorunlu davranışlarla güçlü ilişkileri çalışmamızın öne çıkan diğer sonuçlarıdır. Farklılaşan TLR’ler OSB’de sitokin yanıtlarını etkiliyor olabilirler ve nöroinflamatuvar süreçleri başlatma da etkisi olabilir. OSB’de TLR sinyallerinin daha iyi anlaşılması OSB etiolojisine ışık tutabilir ve gelecekte terapötik stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabilir dahası TLR’ler OSB tanısında aday biyobelirteç olabilirler. Sonuçlarımız TLR’lerin OSB etyopatogenezinde olası rolünü göstermesi amacıyla gelecek çalışmalar için ön çalışma olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızın bazı güçlü ve kısıtlı yanları vardır. Çalışmamızın kısıtlılıklarından bazıları; çalışmanın kesitsel bir çalışma olması, örneklem büyüklüğünün kısıtlı olması, tek merkezli bir çalışma olması, hastaneye başvuran olgu ve kontrollerden seçilmiş olmasıdır. Ayrıca periferik kandan aldığımız örneklerin beyin dokusunu ne kadar yansıttığını bilinememesi çalışmamızın kısıtlılıklarındadır.

Çalışmamızın güçlü yanlarından bazıları; olgu kontrol çalışması olması, katılımcıların seçiminde yaş ve cinsiyetin karıştırıcı etkisini ortadan kaldırmak için yaş ve cinsiyete dikkat edilmesidir. Yazında antidepresan, antipsikotik, antioksidan kullanımının ve TLR düzeylerini etkilediği gösterilmiş ve bu durum çalışmanın dizayn aşamasında dikkat edilmiş katılımcıların seçiminde farmakolojik tedavi kullanmayan olgu ve kontrol grubu seçilmiştir. Ayrıca bulguların etkilenmemesi adına katılımcıları seçerken bilinen sistemik hastalığa sahip olması dışlama kriteri olarak dikkate alınmıştır. İnsanlarda tanımlanan 10 TLR'nin hepsinin mRNA ekspresyonlarının incelenmesi ve mRNA ekspresyonları farklılaşan TLR'lerin serum protein düzeyiyle kontrol edilmesi çalışmamızın güçlü yanlarından.

SONUÇLAR

Bu çalışmada OSB tanılı çocuk ve ergenler ile sağlıklı kontrol grubu arasında periferik kanda TLR profillerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- ✓ Çalışmaya 4-14 yaş arası medikal tedavi kullanamayan, bilinen kronik, sistemik, inflamatuvar hastalığı bulunmayan DSM-V tanı ölçütlerine göre OSB tanısı alan 31 çocuk ve ergen ve OSB grubunu oluşturmuştur. Kontrol grubunu ise OSB grubuyla yaş ve cinsiyet açısından benzer medikal tedavi kullanmayan, bilinen psikiyatrik ve kronik, sistemik, inflamatuvar hastalığı bulunmayan 31 sağlıklı kontrol çocuk ve ergen oluşturmuştur.
- ✓ Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiki farklılık yoktur.
- ✓ Gruplar arasında aile yapısı, kardeş sayıları ve aylık gelirleri açısından istatistiki farklılık yoktur.
- ✓ Gruplar arasında ebeveyn yaşları açısından istatistiki farklılık yoktur.
- ✓ Gruplar arasında baba öğrenim durumları arasında istatistiki farklılık yoktur. Kontrol grubunda annelerin %64,5'i lisans ve üzeri mezundur.
- ✓ Gruplar arasında doğum zamanı, doğum şekli ve doğum kilosu açısından istatistiki farklılık yoktur.
- ✓ Gruplar arasında gebelik esnasında sigara maruziyeti, gebelik esnasında hastalık ve enfeksiyon geçirme öyküsü açısından istatistiki farklılık yoktur.
- ✓ OSB grubunda SDKL alt ölçeklerinin ve toplam puanları daha yüksektir.
- ✓ OSB grubunun ÇODÖ skorları daha yüksektir ve OSB grubunun %48,4'ü hafif/orta otizm, %48,4'ü ağır otizm olarak ayrılmıştır.
- ✓ OSB grubunun TLR1 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla 2,61 kat fazla saptanmış ve istatistiki olarak anlamlıdır.
- ✓ OSB grubunun TLR4 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla 3,69 kat fazla saptanmış ve istatistiki olarak anlamlıdır.

- ✓ OSB grubunun TLR5 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla 1,68 kat fazla saptanmış ve istatistiki olarak anlamlıdır.
- ✓ OSB grubunun TLR8 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla 1,88 kat fazla saptanmış ve istatistiki olarak anlamlıdır.
- ✓ OSB grubunun TLR6 mRNA ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla 1,89 kat az saptanmış ve istatistiki olarak anlamlıdır.
- ✓ OSB ve kontrol grubu arasında TLR2, TLR3, TLR7, TLR9, TLR10 mRNA ekspresyonları açısından istatistiki farklılık yoktur.
- ✓ OSB grubunun serum TLR1 protein düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı daha yüksektir.
- ✓ OSB grubunun serum TLR4 protein düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı daha yüksektir.
- ✓ OSB grubunun serum TLR5 protein düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı daha yüksektir.
- ✓ OSB grubunun serum TLR8 protein düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı daha yüksektir.
- ✓ OSB grubunun serum TLR6 protein düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı daha düşüktür.
- ✓ Katılımcıların TLR1, TLR4, TLR5, TLR6, TLR8 protein düzeyleri ile yaş ve cinsiyet grupları arasında istatistiki farklılık yoktur.
- ✓ Katılımcıların TLR1, TLR4, TLR5 ve TLR8 protein düzeyleri ile ÇODÖ toplam puanı pozitif yönde koreledir.
- ✓ Katılımcıların TLR1 protein düzeyleri ile SDKL letarji, SDKL stereotipi, SDKL hiperaktivite, SDKL konuşma alt ölçekleri ve SDKL toplam puanıyla pozitif yönde koreledir.
- ✓ Katılımcıların TLR4 protein düzeyi ve SDKL 5 alt ölçeği ve SDKL toplam puanıyla pozitif yönde koreledir.
- ✓ Katılımcıların TLR5 protein düzeyi ve SDKL letarji alt ölçeği ve SDKL toplam puanıyla pozitif yönde koreledir.
- ✓ Katılımcıların TLR8 protein düzeyi ve SDKL 5 alt ölçeği ve SDKL toplam puanıyla pozitif yönde koreledir.

- ✓ Katılımcıların TLR6 protein düzeyi ve SDKL letarji, SDKL stereotipi, SDKL hiperaktivite, SDKL konuşma alt ölçekleri ve SDKL toplam puanıyla negatif yönde koreledir.



KAYNAKÇA

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition: DSM-5.
2. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child*. 1943;2:217-50.
3. American Psychiatric Association. DSM-III: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 3rd Edition. 3rd edition. Washington, D.C: The American Psychiatric Association; 1985. 494 s.
4. Rosen NE, Lord C, Volkmar FR. The Diagnosis of Autism: From Kanner to DSM-III to DSM-5 and Beyond. *J Autism Dev Disord*. Aralık 2021;51(12):4253-70.
5. Swedo SE, Baird G, Cook EH, Happé FG, Harris JC, Kaufmann WE, vd. Commentary from the DSM-5 Workgroup on Neurodevelopmental Disorders. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 01 Nisan 2012;51(4):347-9.
6. Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, Amoakohene E, Bakian AV, Bilder DA, vd. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2020. *MMWR Surveill Summ*. 24 Mart 2023;72(2):1-14.
7. Hyman SL, Levy SE, Myers SM, Kuo DZ, Apkon S, vd. Identification, Evaluation, and Management of Children With Autism Spectrum Disorder. *Pediatrics*. 01 Ocak 2020;145(1):e20193447.
8. Seltzer MM, Shattuck P, Abbeduto L, Greenberg JS. Trajectory of development in adolescents and adults with autism. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. Kasım 2004;10(4):234-47.
9. Howlin P, Goode S, Hutton J, Rutter M. Adult outcome for children with autism. *J Child Psychol Psychiatry*. Şubat 2004;45(2):212-29.

10. Motavalli M, Ercan ES, editörler. Otizm Spektrum Bozuklukları. İçinde: Yaşam Boyu Nörogelişimsel Bozukluklar. 2. İstanbul: Simurg Art; 2023.
11. Masi A, Glozier N, Dale R, Guastella AJ. The Immune System, Cytokines, and Biomarkers in Autism Spectrum Disorder. *Neurosci Bull.* 01 Nisan 2017;33(2):194-204.
12. Hughes HK, R.J.Moreno, Ashwood P. Innate immune dysfunction and neuroinflammation in autism spectrum disorder (ASD). *Brain, Behavior, and Immunity.* 01 Şubat 2023;108:245-54.
13. Gottfried C, Bambini-Junior V, Francis F, Riesgo R, Savino W. The Impact of Neuroimmune Alterations in Autism Spectrum Disorder. *Front Psychiatry.* 2015;6:121.
14. Morgan JT, Chana G, Pardo CA, Achim C, Semendeferi K, Buckwalter J, vd. Microglial Activation and Increased Microglial Density Observed in the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Autism. *Biological Psychiatry.* 15 Ağustos 2010;68(4):368-76.
15. Petrelli F, Pucci L, Bezzi P. Astrocytes and Microglia and Their Potential Link with Autism Spectrum Disorders. *Front Cell Neurosci.* 12 Şubat 2016;10.
16. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol.* Ağustos 2001;2(8):675-80.
17. Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunology Letters.* 22 Ocak 2003;85(2):85-95.
18. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* Mayıs 2010;11(5):373-84.
19. Ma M, Jiang W, Zhou R. DAMPs and DAMP-sensing receptors in inflammation and diseases. *Immunity.* 09 Nisan 2024;57(4):752-71.
20. Huang Y, Jiang W, Zhou R. DAMP sensing and sterile inflammation: intracellular, intercellular and inter-organ pathways. *Nat Rev Immunol.* Ekim 2024;24(10):703-19.

21. Okun E, Griffioen KJ, Mattson MP. Toll-like receptor signaling in neural plasticity and disease. *Trends in Neurosciences*. 01 Mayıs 2011;34(5):269-81.
22. Saleki K, Alijanizadeh P, Javanmehr N, Rezaei N. The role of Toll-like receptors in neuropsychiatric disorders: Immunopathology, treatment, and management. *Medicinal Research Reviews*. 2024;44(3):1267-325.
23. Bleuler E. The theory of schizophrenic negativism: *Journal of nervous and mental disease*. 1912.
24. Asperger H. Die „Autistischen Psychopathen“ im Kindesalter. *Archiv f Psychiatrie*. 01 Haziran 1944;117(1):76-136.
25. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed. (DSM-IV). *AJP*. Ağustos 1995;152(8):1228-1228.
26. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V-TR| Psychiatry Online [Internet]. Erişim adresi: <https://psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425787>
27. Ritvo ER, Freeman BJ, Pingree C, Mason-Brothers A, Jorde L, Jenson WR, vd. The UCLA-University of Utah epidemiologic survey of autism: prevalence. *Am J Psychiatry*. Şubat 1989;146(2):194-9.
28. Fombonne E. The epidemiology of autism: a review. *Psychol Med*. Temmuz 1999;29(4):769-86.
29. Maenner MJ, Shaw KA, Bakian AV, Bilder DA, Durkin MS, Esler A, vd. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2018. *MMWR Surveill Summ*. 03 Aralık 2021;70(11):1-16.
30. Talantseva OI, Romanova RS, Shurdova EM, Dolgorukova TA, Sologub PS, Titova OS, vd. The global prevalence of autism spectrum disorder: A three-level meta-analysis. *Front Psychiatry* [Internet]. 09 Şubat 2023;14. Erişim adresi: <https://www.frontiersin.org/journals/psychiatry/articles/10.3389/fpsy.2023.1071181/full>

31. Oner O, Munir KM. Modified Checklist for Autism in Toddlers Revised (MCHAT-R/F) in an Urban Metropolitan Sample of Young Children in Turkey. *J Autism Dev Disord*. Eylül 2020;50(9):3312-9.
32. Kim JY, Son MJ, Son CY, Radua J, Eisenhut M, Gressier F, vd. Environmental risk factors and biomarkers for autism spectrum disorder: an umbrella review of the evidence. *Lancet Psychiatry*. Temmuz 2019;6(7):590-600.
33. Werling DM, Geschwind DH. Sex differences in autism spectrum disorders. *Curr Opin Neurol*. Nisan 2013;26(2):146-53.
34. Landa RJ. Diagnosis of autism spectrum disorders in the first 3 years of life. *Nat Rev Neurol*. Mart 2008;4(3):138-47.
35. Development in infants with autism spectrum disorders: a prospective study - Landa - 2006 - *Journal of Child Psychology and Psychiatry* - Wiley Online Library [İnternet]. Erişim adresi: <https://acamh.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-7610.2006.01531.x>
36. Stone WL, McMahon CR, Yoder PJ, Walden TA. Early Social-Communicative and Cognitive Development of Younger Siblings of Children With Autism Spectrum Disorders. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. 01 Nisan 2007;161(4):384-90.
37. Barger BD, Campbell JM, McDonough JD. Prevalence and Onset of Regression within Autism Spectrum Disorders: A Meta-analytic Review. *J Autism Dev Disord*. 01 Nisan 2013;43(4):817-28.
38. Mukaddes NM, Dursun OB. Otizm Spektrum Bozuklukları. İçinde: Mukaddes NM, Ercan ES, editörler. *Nörogelişimsel bozukluklar*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2018. s. 259-367.
39. Charman T, Taylor E, Drew A, Cockerill H, Brown JA, Baird G. Outcome at 7 years of children diagnosed with autism at age 2: predictive validity of assessments conducted at 2 and 3 years of age and pattern of symptom change over time. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2005;46(5):500-13.

40. Uran P, Soykan AA. Yaşam Boyu Otizm Spektrum Bozukluğu: Klinik Gidiş. *Türkiye Klinikleri J Child Psychiatry-Special Topics*. 2015;1(2):67-74.
41. Karakoç Demirkaya S, Tutkunkardaş MD, Mukaddes NM. Assessment of suicidality in children and adolescents with diagnosis of high functioning autism spectrum disorder in a Turkish clinical sample. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 11 Kasım 2016;12:2921-6.
42. De-la-Iglesia M, Olivar JS. Risk Factors for Depression in Children and Adolescents with High Functioning Autism Spectrum Disorders. *ScientificWorldJournal*. 2015;2015:127853.
43. Dewinter J, Vermeiren R, Vanwesenbeeck I, Van Nieuwenhuizen Ch. Adolescent boys with autism spectrum disorder growing up: follow-up of self-reported sexual experience. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 01 Eylül 2016;25(9):969-78.
44. Duncan AW, Bishop SL. Understanding the gap between cognitive abilities and daily living skills in adolescents with autism spectrum disorders with average intelligence. *Autism*. Ocak 2015;19(1):64-72.
45. Volkmar F, Siegel M, Woodbury-Smith M, King B, McCracken J, State M. Practice Parameter for the Assessment and Treatment of Children and Adolescents With Autism Spectrum Disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 01 Şubat 2014;53(2):237-57.
46. Baird G, Norbury CF. Social (pragmatic) communication disorders and autism spectrum disorder. *Arch Dis Child*. Ağustos 2016;101(8):745-51.
47. Ludwig NN, Jashar DT, Sheperd K, Pineda JL, Previ D, Reesman J, vd. Considerations for the identification of autism spectrum disorder in children with vision or hearing impairment: A critical review of the literature and recommendations for practice. *Clin Neuropsychol*. Temmuz 2022;36(5):1049-68.
48. Do B, Lynch P, Macris EM, Smyth B, Stavrinakis S, Quinn S, vd. Systematic review and meta-analysis of the association of Autism Spectrum Disorder in

- visually or hearing impaired children. *Ophthalmic Physiol Opt.* Mart 2017;37(2):212-24.
49. de Lima TA, Zuanetti PA, Nunes MEN, Hamad APA. Differential diagnosis between autism spectrum disorder and other developmental disorders with emphasis on the preschool period. *World J Pediatr.* Ağustos 2023;19(8):715-26.
 50. Ventola P, Kleinman J, Pandey J, Wilson L, Esser E, Boorstein H, vd. Differentiating between Autism Spectrum Disorders and Other Developmental Disabilities in Children Who Failed a Screening Instrument for ASD. *J Autism Dev Disord.* 01 Mart 2007;37(3):425-36.
 51. McKenzie R, Dallos R. Autism and attachment difficulties: Overlap of symptoms, implications and innovative solutions. *Clin Child Psychol Psychiatry.* 01 Ekim 2017;22(4):632-48.
 52. Gleason MM, Fox NA, Drury S, Smyke A, Egger HL, Nelson CA, vd. Validity of Evidence-Derived Criteria for Reactive Attachment Disorder: Indiscriminately Social/Disinhibited and Emotionally Withdrawn/Inhibited Types. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry.* 01 Mart 2011;50(3):216-231.e3.
 53. Jutla A, Foss-Feig J, Veenstra-VanderWeele J. Autism spectrum disorder and schizophrenia: an updated conceptual review. *Autism Res.* Mart 2022;15(3):384-412.
 54. Mukaddes N. *Otizm Spektrum Bozuklukları Tanı ve Takip.* 3. bs. 2023.
 55. Simonoff E, Pickles A, Charman T, Chandler S, Loucas T, Baird G. Psychiatric disorders in children with autism spectrum disorders: prevalence, comorbidity, and associated factors in a population-derived sample. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* Ağustos 2008;47(8):921-9.
 56. Lai MC, Kasseh C, Besney R, Bonato S, Hull L, Mandy W, vd. Prevalence of co-occurring mental health diagnoses in the autism population: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Psychiatry.* Ekim 2019;6(10):819-29.

57. Mutluer T, Aslan Genç H, Özcan Morey A, Yapici Eser H, Ertinmaz B, Can M, vd. Population-Based Psychiatric Comorbidity in Children and Adolescents With Autism Spectrum Disorder: A Meta-Analysis. *Front Psychiatry*. 2022;13:856208.
58. Magiati I, Tay XW, Howlin P. Cognitive, language, social and behavioural outcomes in adults with autism spectrum disorders: A systematic review of longitudinal follow-up studies in adulthood. *Clinical Psychology Review*. 01 Şubat 2014;34(1):73-86.
59. Steinhausen HC, Mohr Jensen C, Lauritsen MB. A systematic review and meta-analysis of the long-term overall outcome of autism spectrum disorders in adolescence and adulthood. *Acta Psychiatr Scand*. Haziran 2016;133(6):445-52.
60. Hebebrand J, Scherag A, Schimmelmann BG, Hinney A. Child and adolescent psychiatric genetics. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 01 Mart 2010;19(3):259-79.
61. Bohm HV, Stewart MG, Healy AM. On the Autistic Spectrum Disorder concordance rates of twins and non-twin siblings. *Medical Hypotheses*. 01 Kasım 2013;81(5):789-91.
62. Rogers SJ. What are infant siblings teaching us about autism in infancy? *Autism Research*. 2009;2(3):125-37.
63. De Groot K, Van Strien JW. Evidence for a Broad Autism Phenotype. *Adv Neurodev Disord*. 01 Eylül 2017;1(3):129-40.
64. Wiśniowiecka-Kowalnik B, Nowakowska BA. Genetics and epigenetics of autism spectrum disorder-current evidence in the field. *J Appl Genet*. Şubat 2019;60(1):37-47.
65. Ornoy A, Weinstein-Fudim L, Ergaz Z. Genetic Syndromes, Maternal Diseases and Antenatal Factors Associated with Autism Spectrum Disorders (ASD). *Front Neurosci*. 2016;10:316.
66. Freitag CM, Staal W, Klauck SM, Duketis E, Waltes R. Genetics of autistic disorders: review and clinical implications. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2010;19(3):169-78.

67. Corrales M, Herbert M. Autism and Environmental Genomics: Synergistic Systems Approaches to Autism Complexity. İçinde 2011. s. 875-92.
68. Grafodatskaya D, Chung B, Szatmari P, Weksberg R. Autism spectrum disorders and epigenetics. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. Ağustos 2010;49(8):794-809.
69. Kong A, Frigge ML, Masson G, Besenbacher S, Sulem P, Magnusson G, vd. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature*. 23 Ağustos 2012;488(7412):471-5.
70. Zerbo O, Yoshida C, Gunderson EP, Dorward K, Croen LA. Interpregnancy Interval and Risk of Autism Spectrum Disorders. *Pediatrics*. Ekim 2015;136(4):651-7.
71. Smith SEP, Li J, Garbett K, Mirnics K, Patterson PH. Maternal Immune Activation Alters Fetal Brain Development through Interleukin-6. *J Neurosci*. 03 Ekim 2007;27(40):10695-702.
72. Grandjean P, Landrigan PJ. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *The Lancet Neurology*. 01 Mart 2014;13(3):330-8.
73. Styles M, Alsharshani D, Samara M, Alsharshani M, Khattab A, Qoronfle MW, vd. Risk factors, diagnosis, prognosis and treatment of autism. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 01 Haziran 2020;25(9):1682-717.
74. Mandy W, Lai MC. Annual Research Review: The role of the environment in the developmental psychopathology of autism spectrum condition. *J Child Psychol Psychiatry*. Mart 2016;57(3):271-92.
75. Kittana M, Ahmadani A, Stojanovska L, Attlee A. The Role of Vitamin D Supplementation in Children with Autism Spectrum Disorder: A Narrative Review. *Nutrients*. 22 Aralık 2021;14(1):26.
76. Courchesne E, Campbell K, Solso S. Brain Growth Across the Life Span in Autism: Age-Specific Changes in Anatomical Pathology. *Brain Res*. 22 Mart 2011;1380:138-45.

77. Del Casale A, Ferracuti S, Alcibiade A, Simone S, Modesti MN, Pompili M. Neuroanatomical correlates of autism spectrum disorders: A meta-analysis of structural magnetic resonance imaging (MRI) studies. *Psychiatry Res Neuroimaging*. Eylül 2022;325:111516.
78. Bauman ML, Kemper TL. Neuroanatomic observations of the brain in autism: a review and future directions. *Int J Dev Neurosci*. 2005;23(2-3):183-7.
79. Casanova MF, van Kooten IAJ, Switala AE, van Engeland H, Heinsen H, Steinbusch HWM, vd. Minicolumnar abnormalities in autism. *Acta Neuropathol*. Eylül 2006;112(3):287-303.
80. Geschwind DH, Levitt P. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Curr Opin Neurobiol*. Şubat 2007;17(1):103-11.
81. Kana RK, Libero LE, Moore MS. Disrupted cortical connectivity theory as an explanatory model for autism spectrum disorders. *Phys Life Rev*. Aralık 2011;8(4):410-37.
82. Milovanovic M, Grujicic R. Electroencephalography in Assessment of Autism Spectrum Disorders: A Review. *Front Psychiatry* [Internet]. 29 Eylül 2021;12. Erişim adresi: <https://www.frontiersin.org/journals/psychiatry/articles/10.3389/fpsy.2021.686021/full>
83. Romero-González M, Navas-Sánchez P, Marín-Gámez E, Barbancho-Fernández MA, Fernández-Sánchez VE, Lara-Muñoz JP, vd. EEG abnormalities and clinical phenotypes in pre-school children with autism spectrum disorder. *Epilepsy Behav*. Nisan 2022;129:108619.
84. Bozzi Y, Provenzano G, Casarosa S. Neurobiological bases of autism-epilepsy comorbidity: a focus on excitation/inhibition imbalance. *Eur J Neurosci*. Mart 2018;47(6):534-48.
85. Spence SJ, Schneider MT. The Role of Epilepsy and Epileptiform EEGs in Autism Spectrum Disorders. *Pediatr Res*. Haziran 2009;65(6):599-606.

86. Gaspar P, Cases O, Maroteaux L. The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nat Rev Neurosci*. Aralık 2003;4(12):1002-12.
87. Chugani DC, Muzik O, Behen M, Rothermel R, Janisse JJ, Lee J, vd. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Ann Neurol*. Mart 1999;45(3):287-95.
88. Hadjikhani N. Serotonin, pregnancy and increased autism prevalence: is there a link? *Med Hypotheses*. Mayıs 2010;74(5):880-3.
89. Rubenstein JLR, Merzenich MM. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. *Genes Brain Behav*. Ekim 2003;2(5):255-67.
90. DeMayo MM, Harris AD, Song YJC, Pokorski I, Thapa R, Patel S, vd. Age-related parietal GABA alterations in children with autism spectrum disorder. *Autism Res*. Mayıs 2021;14(5):859-72.
91. Knickmeyer RC, Baron-Cohen S. Fetal testosterone and sex differences in typical social development and in autism. *J Child Neurol*. Ekim 2006;21(10):825-45.
92. Modahl C, Green L, Fein D, Morris M, Waterhouse L, Feinstein C, vd. Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biol Psychiatry*. 15 Şubat 1998;43(4):270-7.
93. Kiani Z, Farkhondeh T, Aramjoo H, Aschner M, Beydokhti H, Esmaili A, vd. Oxytocin Effect in Adult Patients with Autism: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2023;22(6):906-15.
94. Souders MC, Zavodny S, Eriksen W, Sinko R, Connell J, Kerns C, vd. Sleep in Children with Autism Spectrum Disorder. *Curr Psychiatry Rep*. Haziran 2017;19(6):34.
95. Tordjman S, Najjar I, Bellissant E, Anderson GM, Barburoth M, Cohen D, vd. Advances in the research of melatonin in autism spectrum disorders: literature review and new perspectives. *Int J Mol Sci*. 14 Ekim 2013;14(10):20508-42.

96. Cuomo BM, Vaz S, Lee EAL, Thompson C, Rogerson JM, Falkmer T. Effectiveness of Sleep-Based Interventions for Children with Autism Spectrum Disorder: A Meta-Synthesis. *Pharmacotherapy*. Mayıs 2017;37(5):555-78.
97. Zhao H, Zhang H, Liu S, Luo W, Jiang Y, Gao J. Association of Peripheral Blood Levels of Cytokines With Autism Spectrum Disorder: A Meta-Analysis. *Front Psychiatry*. 2021;12:670200.
98. Majerczyk D, Ayad EG, Brewton KL, Saing P, Hart PC. Systemic maternal inflammation promotes ASD via IL-6 and IFN- γ . *Biosci Rep*. 30 Kasım 2022;42(11):BSR20220713.
99. Estes ML, McAllister AK. Maternal immune activation: Implications for neuropsychiatric disorders. *Science*. 19 Ağustos 2016;353(6301):772-7.
100. Vinet É, Pineau CA, Clarke AE, Scott S, Fombonne É, Joseph L, vd. Increased Risk of Autism Spectrum Disorders in Children Born to Women With Systemic Lupus Erythematosus: Results From a Large Population-Based Cohort. *Arthritis Rheumatol*. Aralık 2015;67(12):3201-8.
101. Kim S, Kim H, Yim YS, Ha S, Atarashi K, Tan TG, vd. Maternal gut bacteria promote neurodevelopmental abnormalities in mouse offspring. *Nature*. Eylül 2017;549(7673):528-32.
102. Socała K, Doboszevska U, Szopa A, Serefko A, Włodarczyk M, Zielińska A, vd. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacological Research*. 01 Ekim 2021;172:105840.
103. Fiorentino M, Sapone A, Senger S, Camhi SS, Kadzielski SM, Buie TM, vd. Blood-brain barrier and intestinal epithelial barrier alterations in autism spectrum disorders. *Molecular Autism*. 29 Kasım 2016;7(1):49.
104. Turbé H, Waeckel L, Dechelotte B. Overview of prospects for inflammation pathways in autism spectrum disorders. *Encephale*. Ekim 2020;46(5):404-7.
105. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *The Lancet*. 02 Haziran 2001;357(9270):1777-89.

106. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. Temmuz 1997;388(6640):394-7.
107. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle*/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 20 Eylül 1996;86(6):973-83.
108. Gay NJ FK. *Drosophila* Toll and IL-1 receptor | *Nature* [İnternet]. [a.yer 04 Ekim 2024]. Erişim adresi: <https://www.nature.com/articles/351355b0>
109. Fl R, G H, Jc T, Ra K, Jf B. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [İnternet]. 20 Ocak 1998;95(2). Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9435236/>
110. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell*. 24 Şubat 2006;124(4):783-801.
111. Sameer AS, Nissar S. Toll-Like Receptors (TLRs): Structure, Functions, Signaling, and Role of Their Polymorphisms in Colorectal Cancer Susceptibility. *Biomed Res Int*. 2021;2021:1157023.
112. Blasius AL, Beutler B. Intracellular toll-like receptors. *Immunity*. 26 Mart 2010;32(3):305-15.
113. Moresco EMY, LaVine D, Beutler B. Toll-like receptors. *Current Biology*. 12 Temmuz 2011;21(13):R488-93.
114. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol*. 2014;5:461.
115. O'Neill LAJ, Bowie AG. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. Mayıs 2007;7(5):353-64.
116. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. Temmuz 2004;4(7):499-511.

117. De Nardo D. Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation. *Cytokine*. 01 Ağustos 2015;74(2):181-9.
118. Demir K, Usanmaz, editörler. TLR signaling pathways. İçinde: *Signaling Pathways of the Immune System* [Internet]. [a.yer 05 Ekim 2024]. Erişim adresi: <https://novapublishers.com/shop/signaling-pathways-of-the-immune-system/>
119. Güven B, Can M. Çeşitli Hastalıklarda Toll Benzeri Reseptörlerin Rolü. *Sakarya Tıp Dergisi*. 2012;2(1):1-10.
120. Tesse R, Pandey RC, Kabesch M. Genetic variations in toll-like receptor pathway genes influence asthma and atopy. *Allergy*. 2011;66(3):307-16.
121. Kashiwagi M, Imanishi T, Ozaki Y, Satogami K, Masuno T, Wada T, vd. Differential expression of Toll-like receptor 4 and human monocyte subsets in acute myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 01 Mart 2012;221(1):249-53.
122. Amyot J, Semache M, Ferdaoussi M, Fontés G, Poitout V. Lipopolysaccharides Impair Insulin Gene Expression in Isolated Islets of Langerhans via Toll-Like Receptor-4 and NF- κ B Signalling. *PLOS ONE*. 27 Nisan 2012;7(4):e36200.
123. Rogero MM, Calder PC. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. *Nutrients*. Nisan 2018;10(4):432.
124. Jialal I, Huet BA, Kaur H, Chien A, Devaraj S. Increased Toll-Like Receptor Activity in Patients With Metabolic Syndrome. *Diabetes Care*. 13 Mart 2012;35(4):900-4.
125. Lucas K, Maes M. Role of the Toll Like Receptor (TLR) Radical Cycle in Chronic Inflammation: Possible Treatments Targeting the TLR4 Pathway. *Mol Neurobiol*. 01 Ağustos 2013;48(1):190-204.
126. Han VX, Jones HF, Patel S, Mohammad SS, Hofer MJ, Alshammery S, vd. Emerging evidence of Toll-like receptors as a putative pathway linking maternal inflammation and neurodevelopmental disorders in human offspring: A systematic review. *Brain, Behavior, and Immunity*. 01 Ocak 2022;99:91-105.

127. García Bueno B, Caso JR, Madrigal JLM, Leza JC. Innate immune receptor Toll-like receptor 4 signalling in neuropsychiatric diseases. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 01 Mayıs 2016;64:134-47.
128. Squillace S, Salvemini D. Toll-like receptor-mediated neuroinflammation: relevance for cognitive dysfunctions. *Trends in Pharmacological Sciences*. 01 Eylül 2022;43(9):726-39.
129. Liu J, Buisman-Pijlman F, Hutchinson MR. Toll-like receptor 4: innate immune regulator of neuroimmune and neuroendocrine interactions in stress and major depressive disorder. *Front Neurosci* [Internet]. 30 Eylül 2014 [a.yer 05 Aralık 2024];8. Erişim adresi: <https://www.frontiersin.org/journals/neuroscience/articles/10.3389/fnins.2014.00309/full>
130. Pandey GN, Rizavi HS, Ren X, Bhaumik R, Dwivedi Y. Toll-like receptors in the depressed and suicide brain. *Journal of Psychiatric Research*. 01 Haziran 2014;53:62-8.
131. Hung YY, Kang HY, Huang KW, Huang TL. Association between toll-like receptors expression and major depressive disorder. *Psychiatry Research*. 15 Aralık 2014;220(1):283-6.
132. Hung YY, Huang KW, Kang HY, Huang GYL, Huang TL. Antidepressants normalize elevated Toll-like receptor profile in major depressive disorder. *Psychopharmacology*. 01 Mayıs 2016;233(9):1707-14.
133. Kéri S, Szabó C, Kelemen O. Expression of Toll-Like Receptors in peripheral blood mononuclear cells and response to cognitive-behavioral therapy in major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*. 01 Ağustos 2014;40:235-43.
134. Figueroa-Hall LK, Paulus MP, Savitz J. Toll-Like Receptor Signaling in Depression. *Psychoneuroendocrinology*. 01 Kasım 2020;121:104843.

135. Müller N, Wagner JK, Krause D, Weidinger E, Wildenauer A, Obermeier M, vd. Impaired monocyte activation in schizophrenia. *Psychiatry Research*. 15 Ağustos 2012;198(3):341-6.
136. Kéri S, Szabó C, Kelemen O. Antipsychotics influence Toll-like receptor (TLR) expression and its relationship with cognitive functions in schizophrenia. *Brain, Behavior, and Immunity*. 01 Mayıs 2017;62:256-64.
137. Balaji R, Subbanna M, Shivakumar V, Abdul F, Venkatasubramanian G, Debnath M. Pattern of expression of Toll like receptor (TLR)-3 and -4 genes in drug-naïve and antipsychotic treated patients diagnosed with schizophrenia. *Psychiatry Research*. 01 Mart 2020;285:112727.
138. Kozłowska E, Agier J, Wysokiński A, Łucka A, Sobierajska K, Brzezińska-Błaszczyk E. The expression of toll-like receptors in peripheral blood mononuclear cells is altered in schizophrenia. *Psychiatry Research*. 01 Şubat 2019;272:540-50.
139. McKernan DP, Dennison U, Gaszner G, Cryan JF, Dinan TG. Enhanced peripheral toll-like receptor responses in psychosis: further evidence of a pro-inflammatory phenotype. *Transl Psychiatry*. Ağustos 2011;1(8):e36-e36.
140. Oliveira J, Busson M, Etain B, Jamain S, Hamdani N, Boukouaci W, vd. Polymorphism of Toll-like receptor 4 gene in bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*. 01 Ocak 2014;152-154:395-402.
141. Xiao L, Yan J, Feng D, Ye S, Yang T, Wei H, vd. Critical Role of TLR4 on the Microglia Activation Induced by Maternal LPS Exposure Leading to ASD-Like Behavior of Offspring. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 04 Mart 2021;9. Erişim adresi: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2021.634837/full>
142. Liao Y, Zhang Y nan, Liu X lou, Lu Y yuan, Zhang L lin, Xi T, vd. Maternal Murine Cytomegalovirus Infection during Pregnancy Up-regulates the Gene Expression of Toll-like Receptor 2 and 4 in Placenta. *CURR MED SCI*. 01 Ağustos 2018;38(4):632-9.

143. Franco C, Gianò M, Favero G, Rezzani R. Impairment in the Intestinal Morphology and in the Immunopositivity of Toll-like Receptor-4 and Other Proteins in an Autistic Mouse Model. *International Journal of Molecular Sciences*. Ocak 2022;23(15):8731.
144. Li F, Ke H, Wang S, Mao W, Fu C, Chen X, vd. Leaky Gut Plays a Critical Role in the Pathophysiology of Autism in Mice by Activating the Lipopolysaccharide-Mediated Toll-Like Receptor 4–Myeloid Differentiation Factor 88–Nuclear Factor Kappa B Signaling Pathway. *Neurosci Bull*. 01 Haziran 2023;39(6):911-28.
145. Ahmad SF, Ansari MA, Nadeem A, Bakheet SA, AL-Ayadhi LY, Attia SM. Toll-like receptors, NF- κ B, and IL-27 mediate adenosine A2A receptor signaling in BTBR T+ Itpr3tf/J mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 03 Ekim 2017;79:184-91.
146. Ahmad SF, Ansari MA, Nadeem A, Alzahrani MZ, Bakheet SA, Attia SM. Resveratrol Improves Neuroimmune Dysregulation Through the Inhibition of Neuronal Toll-Like Receptors and COX-2 Signaling in BTBR T+ Itpr3tf/J Mice. *Neuromol Med*. 01 Mart 2018;20(1):133-46.
147. Farrag EAE, Askar MH, Abdallah Z, Mahmoud SM, Abdulhai EA, Abdelrazik E, vd. Comparative effect of atorvastatin and risperidone on modulation of TLR4/NF- κ B/NOX-2 in a rat model of valproic acid-induced autism. *Behav Brain Funct*. 30 Eylül 2024;20(1):26.
148. Enstrom AM, Onore CE, Van de Water JA, Ashwood P. Differential monocyte responses to TLR ligands in children with autism spectrum disorders. *Brain, Behavior, and Immunity*. 01 Ocak 2010;24(1):64-71.
149. Hughes HK, Onore CE, Careaga M, Rogers SJ, Ashwood P. Increased Monocyte Production of IL-6 after Toll-like Receptor Activation in Children with Autism Spectrum Disorder (ASD) Is Associated with Repetitive and Restricted Behaviors. *Brain Sciences*. Şubat 2022;12(2):220.
150. Nadeem A, Ahmad SF, Bakheet SA, Al-Harbi NO, AL-Ayadhi LY, Attia SM, vd. Toll-like receptor 4 signaling is associated with upregulated NADPH oxidase

- expression in peripheral T cells of children with autism. *Brain, Behavior, and Immunity*. 01 Mart 2017;61:146-54.
151. Nadeem A, Ahmad SF, Al-Harbi NO, AL-Ayadhi LY, Sarawi W, Attia SM, vd. Imbalance in pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines milieu in B cells of children with autism. *Molecular Immunology*. 01 Ocak 2022;141:297-304.
152. Al-Harbi NO, Nadeem A, Ahmad SF, AL-Ayadhi LY, Al-Harbi MM, As Sobeai HM, vd. Elevated expression of toll-like receptor 4 is associated with NADPH oxidase-induced oxidative stress in B cells of children with autism. *International Immunopharmacology*. 01 Temmuz 2020;84:106555.
153. K1yat E, Aktepe E, Kumbul Dođuđ D, Bedir M, Ertürk E, Işık Ü. Comparison of HMGB1, RAGE, TLR4, and NF-κB levels in children and adolescents diagnosed with autism spectrum disorder with healthy controls.
154. Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism Dev Disord*. 01 Mart 1980;10(1):91-103.
155. Sucuoğlu N, Akkök F, Bahar G, Öktem F. Otistik çocukların değerlendirilmesinde kullanılan ölçeklere ilişkin bir alışma. *3P Dergisi Psikoloji, Psikiyatri ve Psikofarmakoloji* [İnternet]. 1996 [a.yer 02 Ocak 2025];4. Erişim adresi: <https://avesis.hacettepe.edu.tr/yayin/b3184bc3-33a7-44df-99a9-22d192892a52/otistik-cocuklarin-değerlendirilmesinde-kullanilan-olceklere-iliskin-bir-calisma>
156. Gassaloğlu Sİ, Baykara B, Avcil S, Demiral Y. Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği Türkçe formunun geçerlik ve güvenilirlik alışması. *Türk Psikiyatri Dergisi*. 2016;27(4):266-74.
157. Aman MG, Singh NN, Stewart AW, Field CJ. The aberrant behavior checklist: a behavior rating scale for the assessment of treatment effects. *Am J Ment Defic*. Mart 1985;89(5):485-91.

158. Sucuoğlu B. Sorun Davranışlar Kontrol Listesi Türkçe Formunun Psikometrik Özelliklerinin İncelenmesi. *Türk Psikoloji Dergisi - TPD*. 2003;18(52):77-91.
159. Karabekiroğlu K, Aman MG. Validity of the Aberrant Behavior Checklist in a Clinical Sample of Toddlers. *Child Psychiatry Hum Dev*. 01 Mart 2009;40(1):99-110.
160. Rabia Bodur MBU. Otizm Spektrum Bozukluklarının Doğum Mevsimi ile İlişkisinin İncelenmesi [İnternet]. *Turkish Journal of Child and Adolescent Mental Health*; 2023 [a.yer 24 Kasım 2024]. Erişim adresi: <https://cogepderg.com/tr/makaleler/otizm-spektrum-bozukluklarinin-dogum-mevsimi-ile-iliskisinin-incelenmesi/doi/tjcamh.galenos.2022.28199>
161. Khachadourian V, Mahjani B, Sandin S, Kolevzon A, Buxbaum JD, Reichenberg A, vd. Comorbidities in autism spectrum disorder and their etiologies. *Transl Psychiatry*. 25 Şubat 2023;13:71.
162. Eapen V, Walter A, Guan J, Descallar J, Axelsson E, Einfeld S, vd. Maternal help-seeking for child developmental concerns: Associations with socio-demographic factors. *J Paediatr Child Health*. Ekim 2017;53(10):963-9.
163. Hartley SL, Barker ET, Seltzer MM, Floyd F, Greenberg J, Orsmond G, vd. The relative risk and timing of divorce in families of children with an autism spectrum disorder. *J Fam Psychol*. Ağustos 2010;24(4):449-57.
164. Bonis S. Stress and Parents of Children with Autism: A Review of Literature. *Issues in Mental Health Nursing*. 03 Mart 2016;37(3):153-63.
165. Ooi KL, Ong YS, Jacob SA, Khan TM. A meta-synthesis on parenting a child with autism. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 05 Nisan 2016;12:745-62.
166. Freedman BH, Kalb LG, Zablotsky B, Stuart EA. Relationship Status Among Parents of Children with Autism Spectrum Disorders: A Population-Based Study. *J Autism Dev Disord*. 01 Nisan 2012;42(4):539-48.
167. Beşenek M. What are the Sociodemographic and Clinical Risk Factors for Autism Spectrum Disorder? [İnternet]. *Turkish Journal of Child and Adolescent*

- Mental Health; 2020 [a.yer 26 Kasım 2024]. Erişim adresi: <https://cogepderg.com/articles/what-are-the-sociodemographic-and-clinical-risk-factors-for-autism-spectrum-disorder/doi/tjcamh.galenos.2020.88597>
168. Cidav Z, Marcus SC, Mandell DS. Implications of childhood autism for parental employment and earnings. *Pediatrics*. Nisan 2012;129(4):617-23.
 169. Rai D, Lewis G, Lundberg M, Araya R, Svensson A, Dalman C, vd. Parental Socioeconomic Status and Risk of Offspring Autism Spectrum Disorders in a Swedish Population-Based Study. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 01 Mayıs 2012;51(5):467-476.e6.
 170. Durkin MS, Maenner MJ, Meaney FJ, Levy SE, DiGuseppi C, Nicholas JS, vd. Socioeconomic Inequality in the Prevalence of Autism Spectrum Disorder: Evidence from a U.S. Cross-Sectional Study. *PLOS ONE*. 12 Temmuz 2010;5(7):e11551.
 171. von Ehrenstein OS, Cui X, Yan Q, Aralis H, Ritz B. Maternal Prenatal Smoking and Autism Spectrum Disorder in Offspring: A California Statewide Cohort and Sibling Study. *Am J Epidemiol*. 04 Mayıs 2021;190(5):728-37.
 172. Tran PL, Lehti V, Lampi KM, Helenius H, Suominen A, Gissler M, vd. Smoking during pregnancy and risk of autism spectrum disorder in a Finnish National Birth Cohort. *Paediatr Perinat Epidemiol*. Mayıs 2013;27(3):266-74.
 173. Tioleco N, Silberman AE, Stratigos K, Banerjee-Basu S, Spann MN, Whitaker AH, vd. Prenatal maternal infection and risk for autism in offspring: A meta-analysis. *Autism Research*. 2021;14(6):1296-316.
 174. Jiang HY, Xu LL, Shao L, Xia RM, Yu ZH, Ling ZX, vd. Maternal infection during pregnancy and risk of autism spectrum disorders: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. Kasım 2016;58:165-72.
 175. Wang C, Geng H, Liu W, Zhang G. Prenatal, perinatal, and postnatal factors associated with autism: A meta-analysis. *Medicine*. Mayıs 2017;96(18):e6696.

176. Guinchat V, Thorsen P, Laurent C, Cans C, Bodeau N, Cohen D. Pre-, peri- and neonatal risk factors for autism. *Acta Obstet Gynecol Scand*. Mart 2012;91(3):287-300.
177. Chlebowski C, Green JA, Barton ML, Fein D. Using the childhood autism rating scale to diagnose autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord*. Temmuz 2010;40(7):787-99.
178. Matta SM, Hill-Yardin EL, Crack PJ. The influence of neuroinflammation in Autism Spectrum Disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*. 01 Temmuz 2019;79:75-90.
179. Ashwood P, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen R, Pessah I, Van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain, Behavior, and Immunity*. 01 Ocak 2011;25(1):40-5.
180. Saghazadeh A, Ataenia B, Keynejad K, Abdolalizadeh A, Hirbod-Mobarakeh A, Rezaei N. A meta-analysis of pro-inflammatory cytokines in autism spectrum disorders: Effects of age, gender, and latitude. *Journal of Psychiatric Research*. 01 Ağustos 2019;115:90-102.

EKLER

EK-1 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Belgesi

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR BELGESİ

“Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Hastalarda Periferik Kanda TLR mRNA Düzeylerinin Sağlıklı Kontrollere Karşılaştırılması” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Katılmanızı önerdiğimiz bu çalışma, araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır. Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın ne amaçla yapılmak istendiğini ve nasıl yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini bilmeniz önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve sorularınıza açık yanıtlar isteyin. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

Çalışmanın amaçları ve dayanağı nelerdir, benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

Bu çalışmanın amacı hasta ve kontrol grubu arasında periferik kan TLR mRNA düzeylerini karşılaştırmak, hasta ve kontrol grubu arasında ölçeklerden elde edilen skorların karşılaştırılması, hasta ve kontrol grubuna uygulayacağımız ölçekler olan; Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği, Anormal/Sorunlu Davranış Kontrol Listesi aracılığıyla elde edilen değerlendirme sonuçlarının, TLR mRNA maddesinin tükürük materyalinden elde edilen değerleri ile ilişkisini incelemek ve gelecek çalışmalara ışık tutmaktır. Araştırmanın ön görülen süresi 1.5 yıldır. Çalışmamıza en az 29 hasta grubu ve en az 29 gönüllü grubu olmak üzere en az 58 katılımcının dahil edilmesi planlanmaktadır.

Bu çalışmaya katılmalı mıyım?

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Eğer katılmaya karar verirseniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalaranız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Eğer katılmak istemez iseniz veya çalışmadan ayrılırsanız, doktorunuz tarafından size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

Bu çalışmaya katılırsam beni neler bekliyor?

Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz, sizinle 15-20 dakika arası süren ölçekler doldurmanız istenecektir. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin; Sosyodemografik Veri Formu, Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği, Anormal/Sorunlu Davranış Kontrol Listesi doldurması istenecektir. Hasta ve kontrol grubunda ki katılımcılardan izini olması durumunda periferik kan örneği alınacak ve bu materyaldeki TLR mRNA düzeyleri ölçülecektir.

Çalışmada yer almamanın yararları nelerdir?

Çalışmamız daha çok araştırma amaçlıdır. Ancak bu çalışmadan çıkarılan sonuçlar, hastalığı ve tedaviyi daha iyi anlamamıza yarayacak, dolayısıyla başka hastaların yararına kullanılabilir.

Bu çalışmaya katılmamanın maliyeti nedir?

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak?

Çalışma doktorunuz kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz çalışma boyunca hekiminiz tarafından gizli tutulacaktır. Çalışmanın sonunda, bu bilgiler hakkında bilgi istemeye hakkınız vardır. Yazılı izniniz olmadan, sizinle ilgili tıbbi bilgiler başka kimse tarafından görülemez ve açıklanamaz. Çalışma sonuçları çalışma bitiminde bilimsel yayınlarda kullanılabilir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim?

Çalışma ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksiniminiz olduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Çağlar Şimşek
GÖREVİ : Araştırma görevlisi
TELEFON :

(Gönüllünün/Hastanın Beyanı)

PAÜTF Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Anabilim dalında, Doç. Dr.Bürge KABUKÇU BAŞAY ve Dr. Çağlar ŞİMŞEK tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili **yukarıdaki bilgiler** bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

- Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi. Bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.**
- Sorumlu araştırmacı/hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim. Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim).**
- Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı/hekim, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.**

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Katılımcı Velisi

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Görüşme tanığı

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

Bilgilendiren Araştırmacı

Dr. Çağlar ŞİMŞEK

Adres: PAÜ Çocuk ve Ergen RSH AD

Tel:

İmza:

Ek-2 Sosyodemografik Veri Formu

| SOSYODEMOGRAFİK VERİ FORMU | |
|---|--|
| 1) Çocuğun Adı Soyadı: | |
| 2) Çocuğun Yaşı: | |
| 3) Çocuğun Cinsiyeti: 1-Kız 2-Erkek | |
| 4) Ailenizin yapısı nasıl? 1- Çekirdek aile (sadece anne-baba-çocuklar) 2- Geniş aile (anne, baba çocuk dışında anneanne, babaanne veya dede vb) 3- Eşler boşanmış/ayrı yaşıyor 4- Anne babadan birisi ya da ikisi ölmüş | |
| 5) Kaç çocuğunuz var (Bu çocuğunuz dahil): | |
| 6) Çocuğun annesinin yaşı: | |
| 7) Çocuğun annesinin öğrenim durumu: 1- Eğitim almamış 2- İlköğretim mezunu 3- Lise mezunu 4- Lisans mezunu 5- Yüksek lisans ve üzeri | |
| 8) Çocuğun babasının yaşı: | |
| 9) Çocuğun babasının öğrenim durumu: 1- Eğitim almamış 2- İlköğretim mezunu 3- Lise mezunu 4- Lisans mezunu 5- Yüksek lisans ve üzeri | |
| 10) Ailenizin ortalama aylık geliri? 1- 11.402 TL'den eşit ya da az 2- 11.402-22.804 TL arasında 3- 22.804-34.206 TL arasında 4- 34.206 TL'den fazla | |
| 11) Çocuğunuzun bilinen önemli veya kronik bir hastalığı var mı? 1-Yok 2-Bar (varsa nasıl bir hastalık yazınız)..... | |
| 12) Çocuğunuz herhangi bir ilaç tedavisi kullanıyor mu? 1-Yok 2-Var (varsa nasıl bir hastalık yazınız)..... | |
| 13) Çocuğun ruhsal hastalık tanısı veya psikiyatrik ilaç kullanımı var mı? 1-Yok 2-Var (varsa kimde ve nasıl bir hastalık yazınız)..... | |
| 14) Çocuğunuz beklenenden önce mi doğdu? 1. Hayır 2. Evet (evet cevabı verenler için) kaç haftalıkken doğum yaptınız? | |
| 15) Çocuğunuzun doğum şekli nedir? 1. Normal Doğum 2. Sezeryan | |
| 16) Çocuğunuzun doğum kilosu nedir?..... | |
| 17) Çocuğunuzun gebeliği sırasında annenin herhangi bir hastalığı oldu mu? 1.Hayır 2.Evet (evet cevabı verenler için) ne rahatsızlığınız oldu? | |
| 18) Çocuğunuzun gebeliği sırasında anne enfeksiyonel hastalık geçirdi mi? 1-Hayır 2-Evet (evet cevabı verenler için) ne rahatsızlığınız oldu? | |
| 19)Çocuğunuza hamileyken annesi sigara içti mi, sigara dumanına maruz kaldı mı? 1-İçmedi 2-İçmedi ancak sıklıkla evde sigara dumanına maruz kaldı 3-İçti (günde 1-5 tane) 4-İçti (günde 5 taneden fazla) | |