

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI HASTALARDA
VEGF, IGF-1 VE HIF-1 KAN DÜZEYLERİNİN SAĞLIKLI
KONTROLLERLE KARŞILAŞTIRILMASI**

DR.FULYA ŞİMŞEK

**UZMANLIK TEZİ
ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Ümit IŞIK

Doç. Dr. Evrim AKTEPE

2020-İSPARTA

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI HASTALARDA
VEGF, IGF-1 VE HIF-1 KAN DÜZEYLERİNİN SAĞLIKLI
KONTROLLERLE KARŞILAŞTIRILMASI**

DR.FULYA ŞİMŞEK

**UZMANLIK TEZİ
ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Ümit IŞIK

Doç. Dr. Evrim AKTEPE

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Ofisi tarafından
TTU-2019-7441 nolu proje numarası ile desteklenmiştir.**

2020-İSPARTA

KABUL VE ONAY



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, desteğini her zaman yanımda hissettiğim, çalışkanlığı ile örnek aldığım, mesleki hayatıma ışık tutan, tez çalışmam boyunca yardımını esirgemeyen, anabilim dalı başkanımız ve eş tez danışmanım değerli hocam sayın Doç.Dr.Evrin AKTEPE'ye,

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini özveri ile aktaran, bu tezin planlanmasında ve yazım sürecinde her konuda sabırla desteğini esirgemeyen, bilimsel anlamda ufkumu açan, çalışkanlığı ve mesleki motivasyonu bana ilham veren tez danışmanım, değerli hocam sayın Dr.Öğr.Üyesi Ümit IŞIK'a,

Psikiyatri ve Çocuk Nöroloji rotasyonlarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum tüm saygıdeğer Psikiyatri Anabilim Dalı ve Çocuk Nöroloji Bilim Dalı hocalarıma,

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, psikiyatri hemşirelerine ve personel arkadaşlarıma,

Tez çalışmama katılan tüm çocuklara ve ailelerine,

Yaşamımın her döneminde, her türlü fedakarlıkla yanımda olan, her daim bana inanan ve güvenen, karakterleri ve ebeveynlikleri ile gurur duyduğum, hayatımdaki en büyük şansım canım annem ve babama,

Hayatımın neşesi, moral ve motivasyon kaynağım olan, zaman zaman ablam olup yol gösteren, hayatımın her adımında beni destekleyen ve yüreklendiren canım kız kardeşime,

Bu tezin finansal kaynağını sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Ofisine,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Fulya ŞİMŞEK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMA VE SİMGELER DİZİNİ.....	iv
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1 Otizm Spektrum Bozukluğu	4
2.1.1 Tanım	4
2.1.2 Tarihçe	7
2.1.3 Epidemiyoloji.....	8
2.1.4 Klinik Özellikler	8
2.1.5 Klinik Değerlendirme, Tanı ve Tanısal Araçlar	9
2.1.6 Ayırıcı Tanı.....	10
2.1.7 Komorbidite	10
2.1.8 Etiyoloji	11
2.2.Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)	17
2.3.İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1).....	20
2.4. Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1 alfa (HIF-1 α)	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1 Örneklem	26
3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme ve Dışlanma Ölçütleri.....	26
3.2. Veri Toplama Araçları.....	28
3.2.1.Sosyodemografik Veri Formu	28
3.2.2.Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ) (Childhood Autism Rating Scale, CARS)	28
3.2.3.Anormal/Sorunlu Davranış Kontrol Listesi (SDKL).....	28
3.2.4.Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi – Şimdi ve Yaşam Boyu Şekli (ÇDŞG – ŞY) (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School Age Children – Present and Lifetime Version, K-SADS-PL)	29
3.3. Yöntem	29

3.4.Biyokimyasal Analiz	30
3.4.1.Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması	30
3.4.2.Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	31
3.4.3.Kullanılan Kit	31
3.4.4.IGF-1 Çalışma Prensibi:	31
3.4.5.VEGF-A Çalışma Prensibi:	32
3.4.6.HIF-1 Çalışma Prensibi:	32
3.5 İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	34
5.TARTIŞMA	47
6.SONUÇ	53
ÖZET.....	54
ABSTRACT.....	55
KAYNAKLAR	56

KISALTMA VE SİMGELER DİZİNİ

ABC	Otizm Davranış Kontrol Listesi
ADI-R	Otizm Tanı Görüşmesi-Gözden Geçirilmiş
ADMM	Otizm ve Gelişimsel Bozukluklar İzlem Ağı
ADOS	Otizm Tanı Gözlem Ölçeği
ALS	Asit Labil Alt Ünitesi
ARNT	Aril Hidrokarbon Reseptör Nükleer Translokator
BMI	Vücut Kitle İndeksi
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BTA	Başka Türlü Adlandırılmayan
CARS	Çocukluk Otizmini Derecelendirme Ölçeği
CDC	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
DEHB	Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
DHEA	Dehidroepiandrosteron
DSM	Ruhsal Hastalıkların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı
DSM-III-R	Ruhsal Hastalıkların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı-III- Düzenlenmiş
EEG	Elektroensefalografi
ELISA	Enzim Bağımlı İmmunabsorbant
EPO	Eritropoetin
EPOR	EPO reseptörü
fMRI	Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme
GABA	Gama Aminobütirik Asit
HIF-1	Hipoksi İle İndüklenebilir Faktör-1
HRE	Hipoksi Yanıt Elementi
HVA	Homovanilik Asit
IFN-gama	İnterferon gama

IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IGFBP	IGF Bağlayıcı Protein
IGF1R	IGF-1 Reseptörü
IL-1 β	İnterlökin 1 Beta
IQ	Zeka Katsayısı
K-SADS-PL	Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi – Şimdi ve Yaşam Boyu Şekli
M-CHAT	Değiştirilmiş Erken Çocukluk Dönemi Otizm Tarama Ölçeği
MDB	Majör Depresif Bozukluk
MMR	Kızamık Kabakulak Kızamıkçık
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NP 1-2	Nörofilin 1-2
OSB	Otizm Spektrum Bozukluğu
PET	Pozitron Emisyon Tomografi
PLGF	Plasental Büyüme Faktörü
PTH	Paratiroid Hormonu
PTHrp	PTH ilişkili Peptit
SDKL	Sorunlu Davranış Kontrol Listesi
SCQ	Sosyal İletişim Ölçeği
sVEGFR	Çözünür Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör Reseptörü
TCA	Trikarboksilik Asit
TGF- α	Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEGFR	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör Reseptörü
VEGFR-1(Flt-1)	VEGF Reseptör-1 (fms benzeri tirozin kinaz-1)

VEGFR-2(Flk1/KDR)	VEGF Reseptör-2 (Fetal Karaciğer Kinazı /Kinase Dependent Receptor)
VEGFR-3(Flt-4)	VEGF Reseptör-3 (fms benzeri tirozin kinaz-4)
YE	Yenidoğan Ensefalopatisi
YGB	Yaygın Gelişimsel Bozukluklar



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. DSM-5 Otizm Spektrum Bozukluğu Tanı Ölçütleri.....	6
Tablo 2. OSB ve Kontrol Grubunun Sosyodemografik Özelliklerinin Karşılaştırılması	34
Tablo 3. OSB ve Kontrol Grubunun Sosyodemografik ve Klinik Özelliklerinin Karşılaştırılması	36
Tablo 4. OSB ve Kontrol Grubunun Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α Düzeyleri	38
Tablo 5. OSB ve Kontrol Grubunun Serum IGF-1,VEGF-A ve HIF-1 α Düzeyleri	40
Tablo 6. OSB ve Kontrol Grubunun Ölçek Puanlarının Karşılaştırması	41
Tablo 7. OSB Tanılı Çocukların Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri ile Yaş, Cinsiyet ve BMI Persentili Arasındaki İlişkinin İncelenmesi.....	42
Tablo 8. OSB Tanılı Çocukların Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri ile CARS Toplam Puanı ve SDKL Alt Ölçek Puanları Arasındaki İlişki.....	43
Tablo 9. OSB ve Kontrol Grubu Erkek Çocukların Yaş, BMI Persentil ve Ölçek Puanlarının Karşılaştırılması.....	44
Tablo 10. OSB ve Kontrol Grubu Erkek Çocukların Serum IGF-1,VEGF-A ve HIF-1 α Düzeyleri	45
Tablo 11. OSB Tanılı Erkek Çocukların Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri ile Yaş,BMI persentili, CARS Toplam Puanı ve SDKL Alt Ölçek Puanları Arasındaki İlişki.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. OSB ve Kontrol Grubunun Serum IGF-1 Düzeyleri.....	38
Şekil 2. OSB ve Kontrol Grubunun Serum VEGF-A Düzeyleri.....	39
Şekil 3. OSB ve Kontrol Grubunun Serum HIF-1 α Düzeyleri.....	39



1.GİRİŞ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), sosyal etkileşime girme ve iletişim alanında yetersizlikler, basmakalıp ya da stereotipik davranışlar, sınırlı ilgi alanları ve aynılıkta ısrarcı olma, duyuşal uyarınlara karşı olağan dışı tepkiler ile karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur (1).

Günümüzde sıklığı giderek artan OSB'nin görölme oranları, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin (CDC), Otizm ve Gelişimsel Bozukluklar İzlem Ağı (ADMM)'ndan aldığı verilere göre, 2012 raporunda 1/88, 2014 raporunda 1/68, 2016 raporunda 1/69, 2018 raporunda 1/59, 2020 raporunda ise 1/54 olarak bildirilmiştir (2). OSB'nin etyopatogenezi henüz tam aydınlatılamamış olmakla birlikte, günümüzde kabul gören anlayış otizmin poligenik kalıtım ve çevresel faktörlerden etkilenen multifaktöriyel nörogelişimsel bir bozukluk olduğu yönündedir. Genetik kalıtımın yanı sıra nöroanatomik, nörofizyolojik, nörokimyasal ve nöronal gelişimi etkileyen pek çok çevresel faktörün OSB etyopatogeneğinde önemli rol oynadığı belirtilmiş olsa da otizmin sebebi ve altta yatan patolojik mekanizmalar hala belirsizliğini korumaktadır (3,4). Son zamanlarda otizmde etiyolojiye yönelik biyobelirteç belirlemeye yönelik ilgi artmıştır.

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), vaskülogenezi, anjiyogenezi ve vasküler fonksiyonu etkileyen güçlü bir büyüme faktörüdür (5). Aynı zamanda nöronal fonksiyonu da düzenlediğı gösterilmiştir. VEGF gelişim sırasında kritik işlevlerde rol oynar, nöronal migrasyonu, kan damarlarının büyüme ve dallanmasını yönlendirir (6). Nöroproteksiyon, nöronal hayatta kalma, rejenerasyon, büyüme, farklılaşma, aksonal büyüme, sinaptik iletim gibi nöronal süreçlerde önemli rol oynadığı, glial hücreler için de büyüme faktörü işlevi gördüğü bildirilmiştir (7–9). VEGF ve OSB ilişkisini araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, serum VEGF seviyeleri otizm tanılı olgularda kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır (10). OSB, Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB), Duygudurum Bozukluğu, Şizofreni, Bipolar Bozukluk tanısı alan olguların yenidoğan döneminde alınan kanlarının incelendiğı bir başka araştırmada otizm tanılı grupta VEGF-A konsantrasyonlarında azalmaya yönelik bir eğilim saptanmıştır (11). Rett sendromu ve otizm tanılı olgularla yapılan bir diğerk çalışmada da otizm tanılı olguların serum VEGF düzeyleri, Rett sendromu tanılı olgulardan düşük saptanmakla birlikte, otizm

grubuyla kontrol grubunun serum VEGF konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık gösterilememiştir (12). Otizm tanılı bireylerle kontrol grubunun VEGF düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediğini tespit eden başka çalışmalar da vardır (13,14). OSB tanılı çocuklarda, sitokin düzeyleri ile semptom şiddeti ve diğer klinik özellikler arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, kızlarda otizm semptom şiddeti VEGF düzeyleri ile negatif ilişkili bulunmuştur (15). Her ne kadar tutarlı sonuç tespit edilemese de, otizm tanılı olgularda dolaşımdaki VEGF düzeylerinin etyopatogeneizde rolü olabileceği ileri sürülmüştür.

Büyüme faktörleri içerisinde, OSB ilişkili olabileceği öne sürülen bir diğer büyüme faktörü de insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)'dir. IGF-1, büyüme hormonunun etkilerine aracılık eden, fetal gelişim, çocukluk ve ergenlik dönemi, yetişkinlik boyunca etkili bir polipeptid yapısında bir moleküldür (16,17). IGF-1'in merkezi sinir sistemi gelişiminde, nöronal hücre tiplerinin büyümesi, farklılaşması, olgunlaşması, hücrenin hayatta kalması, sinaptik etkinliğin düzenlenmesi, miyelinasyon ve metabolik süreçlerin kontrol edilmesi gibi önemli rolleri vardır (18–21). Otizm tanılı olgularda IGF-1 düzeyini inceleyen çeşitli çalışmalar olup, bu çalışmaların bazılarında IGF-1 seviyeleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (22,23). Üriner IGF-1 atılımının ölçüldüğü bir çalışmada otizm tanılı bireylerde üriner IGF-1 seviyesinin kontrollerden anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir (24). Buna karşın, Mills ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, otizm tanılı çocuklarda plazma IGF-1 seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (25). Başka bir çalışmada ise otizm tanılı grup ve kontrol grubu arasında orta frontal girus ve serebellum IGF-1 düzeylerinde anlamlı farklılık olmadığı, ancak otizm tanılı olgularda anterior singulat girusta IGF-1 düzeylerinde kontrollere göre artış olduğu saptanmıştır (26). Yakın zamanda yapılan postmortem bir çalışmada otizm grubuyla kontrol grubunun fuziform girus dokularında IGF-1 protein ve IGF-1 mRNA seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (27). IGF-1'in merkezi sinir sistemindeki önemli rolleri düşünüldüğünde, serum IGF-1 düzeylerinin OSB tanılı grupta, kontrol grubuna göre daha düşük olacağı, otizm şiddeti ile negatif bir ilişki göstereceği hipotezi kurulmuştur.

Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 (HIF-1), memelilerde azalan oksijen seviyesine karşı temel homeostatik yanıtlara aracılık eden bir transkripsiyon

faktörüdür (28). HIF-1 tarafından düzenlenen genler anjiyogenez, glukoz metabolizması, eritropoez, demir metabolizması, hücre çoğalması, hücrenin hayatta kalması ve apoptozda rol oynar (29). HIF-1'in hipoksik hücrelerde transkripsiyonunu aktive ettiği genlerden birisi de VEGF genidir (30). VEGF'nin otizm patofizyolojisinde rolünün olabileceğine dair kanıtlar (10,11) göz önüne alındığında, HIF-1α'nın da otizm etyopatogenezinde yer alabileceği düşünülebilir. Bizim bilgimize göre, HIF-1α düzeylerini otizm tanılı bireylerde inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çeşitli çalışmalar hipoksi ve iskeminin, OSB ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (31,32). Hipoksi dışında, HIF-1 kompleksini normoksi şartlarında aktive eden bir dizi hipoksik olmayan uyaran olduğu gösterilmiştir (33–41). Bu uyaranlar içerisinde proinflamatuvar sitokinler TNF-α ve IL-1β da vardır (42–44). Otizmin etiyolojine yönelik yapılan immünolojik çalışmalarda otizm tanılı bireylerde sitokin profilinde değişikliklerin ve düzensizliklerin olduğu tespit edilmiştir (45–47). HIF-1α'yı uyaran sitokinlerin otizmle ilişkisi gösterildiğinden, HIF-1α düzeylerinin OSB tanılı olgularda kontrollerle farklılık gösterebileceğini düşündük.

Literatür incelendiğinde otizm tanılı olgularda serum VEGF, IGF-1 ve HIF-1α düzeylerini birlikte inceleyen herhangi bir çalışma saptanmamıştır. Bu çalışmada temel olarak OSB tanılı bireylerde VEGF, IGF-1 ve HIF-1α düzeylerinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması, OSB tanılı bireylerde otizm şiddeti ve otizmle sık birliktelik gösteren davranışsal sorunların şiddeti ile bu biyokimyasal parametrelerin arasında herhangi bir ilişki bulunup bulunmadığının incelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Otizm Spektrum Bozukluğu

2.1.1 Tanım

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), sosyal etkileşime girme ve iletişim alanında yetersizlikler, basmakalıp ya da stereotipik davranışlar, sınırlı ilgi alanları ve aynılıkta ısrarcı olma, duyuşal uyarılara karşı olağan dışı tepkiler ile karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur (1).

DSM-IV (1994)'te Yaygın Gelişimsel Bozukluklar (YGB) terimi altında 'Otistik Bozukluk', 'Asperger Sendromu', 'Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu', 'Rett Sendromu', 'Başka Türölü Adlandırılmayan (BTA) Yaygın Gelişimsel Bozukluk' olarak beş grup tanımlanmıştır (48). DSM-5 (2013)'te Yaygın Gelişimsel Bozukluk tanımı, Otizm Spektrum Bozukluğu olarak değiştirilmiştir. 'Otistik Bozukluk', 'Asperger Sendromu', 'Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu' ve 'BTA Yaygın Gelişimsel Bozukluk' tanıları OSB tanı kategorisi altında birleştirilerek, genetik alt yapısı sebebiyle 'Rett Sendromu' bu tanı kategorisine dahil edilmemiştir (1).

DSM-IV'te Otistik Bozukluk tanısı için, sosyal etkileşim alanında en az iki; iletişim alanında en az bir; kısıtlayıcı, tekrarlayıcı davranışlar, ilgiler alanında en az bir semptom olmak üzere, bu 3 temel alandaki 12 belirtiden en az 6 semptomun bulunması ve belirtilerin en az bir grubunda başlangıcın 3 yaşından önce olması gerektiği belirtilmiştir (49).

DSM-5'te aynı zamanda OSB tanı kriterlerinde değişiklikler yapılarak, temel belirti grupları "toplumsal etkileşim ve iletişimde eksiklikler" ve "sınırlı, tekrarlayıcı ilgiler, davranışlar veya faaliyetler" olmak üzere iki alana indirilmiştir. OSB tanısı için "toplumsal etkileşim ve iletişimde eksiklikler" alanında yer alan üç ölçütten üçünün; "sınırlı, tekrarlayıcı ilgiler, davranışlar veya faaliyetler" alanında yer alan dört ölçütten

en az ikisinin karşılanma gerekliliği belirtilmiştir. “Sınırlı, tekrarlayıcı ilgiler, davranışlar veya faaliyetler” alanına duyuşal uyarılara çok fazla veya az tepki gösterme ya da duyuşal uyarılara olağandışı şekilde ilgi gösterme ölçütü eklenmiştir. Belirtilerin erken çocukluktan itibaren mevcut olması gerekliliği hala geçerli olmasına rağmen, kişinin sınırlı kapasitesini aşan toplumsal taleplerle karşılaştığı zamana dek belirtilerin fark edilememe ihtimaline ayrıca not düşölmüştür (50). DSM-5 OSB ölçütleri Tablo 1’de gösterilmiştir.



Tablo 1. DSM-5 Otizm Spektrum Bozukluğu Tanı Ölçütleri

A. Aşağıda belirtildiği gibi, şimdi veya geçmişte farklı şekillerde görülen toplumsal iletişim ve toplumsal etkileşimde sürekli yetersizliğin olması. 1) Toplumsal-duygusal karşılık vermedeki yetersizlik (örn. olağandışı toplumsal yaklaşımdan karşılıklı diyalog yürütmekte çekilen güçlüğü; ilgilerini, duygularını veya duygulanımını paylaşmadaki yetersizlikten, sosyal etkileşime cevap verememeye 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 eksikliklerin varlığı). 3) İlişkileri geliştirmekte, devam ettirmekte ve anlamakta güçlük (örn. farklı toplumsal ortamlara uygun davranmamaktan, hayali oyun paylaşamamaya ve arkadaş edinememeye, arkadaşla ilgi duyamamaya kadar görülen davranışlar). <i>Şu anki şiddeti:</i> Şiddet sosyal iletişimsel alanda yetersizlikler ve kısıtlı, tekrarlayıcı davranışlara göre belirlenir.
B. Aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı ile kendini gösteren, şu an veya geçmişte sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar, ilgiler ya da etkinlikler. 1) Basmakalıp veya tekrarlayıcı motor hareketler, obje kullanımı veya konuşma (basit motor stereotipler, oyuncakları dizme veya çevirme, ekolali, idiyosenkritik cümleler). 2) Aynı olmakta ısrar, rutine sıkı sıkıya bağlı olma veya rutinleşmiş sözel ve sözel olmayan davranışlar (ufak değişimlerde aşırı stres, geçişlerde zorluk, sert düşünce tarzı, selamlaşma ritüelleri, her gün aynı yolu veya aynı yemeği tercih etme). 3) Konu veya yoğunluk açısından anormal olan sınırlı, sabitlenmiş ilgiler (yaygın olmayan nesnelere anormal aşırı bağlılık, aşırı tekrarlayıcı ve sınırlı ilgiler). 4) Duyusal olarak aşırı ya da az duyarlılık veya çevrenin duyuşal boyutlarına aşırı ilgi (acıya/sıcağa aşırı duyarsızlık, belirli ses ve dokunuşlara karşı beklenmeyen tepki, nesneleri aşırı koklama veya onlara aşırı dokunma, ışık ve hareketle görsel olarak çok meşgul olma). <i>Şu anki şiddeti:</i> Şiddet sosyal iletişimsel alanda yetersizlikler ve kısıtlı, tekrarlayıcı davranışlara göre belirlenir.
C. Belirtiler gelişimin erken evrelerinde mevcut olmalı (toplumsal beklentiler sınırları aşındıran fark edilmemiş veya daha sonra hayatta öğrendiği stratejilerle maskelenmiş olabilir).
D. Belirtiler sosyal, mesleki ve başka önemli alanlarda klinik olarak anlamlı düzeyde bozukluğa yol açmalıdır.
E. Bu bozukluk zihinsel yetersizlik veya genel gelişimsel gerilik sebebi ile olmamalıdır. Gerçi zihinsel yetersizlik ve OSB sıklıkla bir arada görülür, ancak OSB ve zihinsel engellilik tanısı konulması için sosyal iletişimsel düzeyin genel gelişimin altında olması gerekir.
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. • 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.

2.1.2 Tarihçe

Otizm terimi ilk defa psikiyatrist Eugen Bleuler tarafından kullanılmıştır. Bleuler *otizm* terimini, Yunancada *kendi, ben* anlamlarına gelen *autos* kelimesinden türetmiş ve şizofrenideki egosantrik (benmerkezci) düşünceyi ifade ederken kullanarak, dışardan gelen herhangi bir uyarının oluşturduğu dayanılmaz rahatsızlık duygusuna karşın, kişinin fantezilerine otistik çekilmesi olarak tanımlamıştır (51). Leo Kanner, *Autistic Disturbances of Affective Contact* başlıklı makalesinde (1943), insanlarla ilişki kurmaya karşı ilgisiz, değişime karşı dirençli, zamirleri tersten söyleme, ekolali, olağandışı davranışlar gibi özellikleri olan 11 çocuktan bahsetmiştir. Kanner, bu olguları *erken bebeklik otizmi (early infantile autism)* olarak tanımlamıştır (52). Hans Asperger 1944 yılında yayınladığı makalesinde, yaşlılarıyla kaynaşmakta zorluk çeken, özelleşmiş ilgi alanlarına sahip olan, empati kuramayan, fiziksel hareketlerinde sakarlık olan çocukları tanımlayarak, bu durumu *otistik psikopati* olarak adlandırmıştır (53). 1978 yılında Rutter *çocukluk çağı otizmini* 30.aydan önce başlayan, sosyal gelişimde bozulma, aynılıkta ısrar ve dil gelişiminde gecikme-sapma şeklinde tanımlamıştır (54).

Otizm, DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) sistemine ilk 1980 yılında DSM-III ile girmiş olup, “Yaygın Gelişimsel Bozukluklar” kategorisi altında “Erken Bebeklik Otizmi”, “Çocukluk Başlangıçlı YGB” ve “Atipik YGB” olarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmada, belirtilerin başlangıç zamanına göre (30 aydan önce veya sonra), Erken Bebeklik Otizmi ile Çocukluk Başlangıçlı YGB birbirinden ayrılmıştır (55). 1987 yılında DSM-III-R’de “Otistik Bozukluk” ve “BTA-YGB” olarak iki ayrı grup olarak revize edilip, “YGB” başlığı altında yer almıştır (56). DSM-IV (1994)’te ise “YGB”, “Otistik Bozukluk”, “Asperger Bozukluğu”, “Rett Sendromu”, “Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu” ve “BTA-YGB” olmak üzere beş alt gruba ayrılmıştır (48). DSM-5 (2013)’te “YGB” tanımı kaldırılarak “Otizm Spektrum Bozukluğu” olarak değiştirilmiştir. Rett Sendromu bu sınıflamanın dışında bırakılarak, “YGB” başlığı altındaki diğer bozuklukların kategorik ayrımı ortadan kaldırılmış, OSB yelpazesi altında toplanmıştır (1).

2.1.3 Epidemiyoloji

Otizmin görülme sıklığında artış olduğu son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin (CDC), Otizm ve Gelişimsel Bozukluklar İzlem Ağı (ADMM)'ndan aldığı verilere göre, otizm görülme oranı 2012 raporunda 1/88, 2014 raporunda 1/68, 2016 raporunda 1/69, 2018 raporunda 1/59, 2020 raporunda ise 1/54 olarak bildirilmiştir (2). Güney Kore'de, 7-12 yaş grubu 55,266 okul çocuğuyla yapılan bir epidemiyolojik çalışmada ise OSB prevalansı %2.64, erkeklerde %3.74, kızlarda %1.47 olarak bulunmuştur (57).

OSB prevalansında görülen artışın tanı kriterlerinin genişletilmesi, otizm ile ilgili daha fazla bilgi sahibi olma ve toplumsal farkındalığın artması gibi faktörlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (58).

Cinsiyet açısından değerlendirildiğinde, OSB erkeklerde kızlara oranla daha sık görülmekte olup, ortalama erkek/kız oranının 4.2:1 olduğu bildirilmiştir (58). Yapılan bir çalışmada otizme mental retardasyon eşlik etmediğinde cinsiyet farklılıklarının daha belirgin olduğu bildirilmiş, normal zeka düzeyine sahip OSB tanılı olgularda erkek/kız oranı 5.75/1; mental retardasyonun eşlik ettiği olgularda ise bu oran 1.9/1 olarak saptanmıştır (59).

2.1.4 Klinik Özellikler

OSB, sosyal iletişim-etkileşim alanında yetersizlikler ve sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar ve ilgi alanları olmak üzere, bu iki temel alanda meydana gelen bozukluklarla karakterize nörogelişimsel bozukluktur (1).

OSB tanılı olgularda sosyal etkileşimi düzenlemek için kullanılan sözel olmayan davranışlarda bozulma, gelişim seviyesine uygun arkadaş ilişkisi geliştirememesi, empati kurmada başarısızlık, sosyal-duygusal karşılık vermede ve ilgi alanlarını başkalarıyla paylaşmada eksiklik görülür. Ortak dikkatte bozulma otizm tanılı çok küçük çocuklarda bile görülebilen, erken dönemde tespit edilebilen önemli bir semptomdur. OSB tanılı çocuklar göz teması, vücut duruşu, jestler gibi sözel olmayan davranışları tipik gelişen çocuklardan daha az kullanırlar. Konuşmada

gecikme ya da dilin hiç gelişmemesi, karşılıklı konuşmayı başlatmada ve sürdürmede sorun yaşama, kalıplaşmış, tekrarlayan veya kendine özgü bir dil, ekolali, taklit oyunlarında ve hayali oyunlarda eksiklik görülür. Konuşma dilinin gelişmemesi, konuşmada gecikme ve konuşulan dilde tuhaflıklar OSB’de sık görülür ve genellikle ebeveynlerin ilk endişesidir (60).

Sınırlı, tekrarlayıcı ve basmakalıp davranışlar, ilgi alanları ve etkinlikler; duyuşal girdilere aşırı duyarlılık (hipersensitivite) veya az duyarlılık (hiposensitivite) otizmin diğer temel belirtisidir (1). Bazı konulara aşırı ilgi gösterme, ilgi alanının spesifik bir kısmına odaklanma, başka konuya geçmekte zorlanma, fonksiyonel olmayan rutinlere ya da ritüellere katı şekilde bağlı olma, çevrelerindeki ve rutinlerindeki ufak değişikliklere direnç gösterme ve bu değişikliklerin günlük hayatlarında ve aile içinde önemli problemlere neden olması, kalıplaşmış ve tekrarlayan motor davranışlar ve nesnelerin parçaları ile sürekli meşgul olma (dönen tekerlekler gibi); parmak ucunda yürüme, sallanma, el ve parmak hareketleri, sıra dışı görsel bakış, gıda dışı nesneleri koklama ve yalama gibi davranışlar gözlenebilmektedir (60).

2.1.5 Klinik Değerlendirme, Tanı ve Tanısal Araçlar

Otizm tanısı için hekimin ayrıntılı bir klinik değerlendirme yapması gerekmektedir. OSB tanılı çocuğun ayrıntılı psikiyatrik muayenesi, hem çocuğun gözlemine hem de aileden detaylı bilgi ve öykü alınmasını, ayrıca gerekli tıbbi incelemelerin yapılmasını içerir. Otizmde klinik muayene tanısal değerlendirmenin önemli bir bölümü olmakla birlikte, nöropsikolojik değerlendirme, dil becerilerinin değerlendirilmesi, gerekli tıbbi incelemelerin ve gerektiğinde nörolojik ve genetik konsültasyonların istenmesi gereklidir (61).

Değerlendirmede kullanılan ölçekler (62):

Yapılandırılmış görüşme araçları: Otizm Tanı Görüşmesi-Gözden Geçirilmiş (Autism Diagnostic Interview-R, ADI-R), Otizm Tanı Gözlem Ölçeği (Autism Diagnostic Observation Scale, ADOS)

Ölçekler: Değiştirilmiş Erken Çocukluk Dönemi Otizm Tarama Ölçeği (Modified Checklist for Autism in Toddlers, M-CHAT), Çocukluk Otizmini Derecelendirme Ölçeği (Childhood Autism Rating Scale, CARS), Otizm Davranış Kontrol Listesi (Autism Behavioral Checklist, ABC), Sosyal İletişim Ölçeği (Social Communication Questionnaire, SCQ)

2.1.6 Ayırıcı Tanı

OSB ile en sık ayırıcı tanısının yapılması gereken durumlar (61):

- Dil bozuklukları
- Sosyal-iletişimsel bozukluk
- Mental retardasyon
- Tepkisel bağlanma bozukluğu
- Görme ve işitme engelliler
- Çok erken başlangıçlı şizofreni
- Selektif mutizm
- Landau-Kleffner sendromu

2.1.7 Komorbidite

OSB tanılı bireylerin daha fazla davranışsal sorun yaşadıkları ve çoğuna en az bir psikiyatrik bozukluğun eşlik ettiği bildirilmiştir (63). OSB tanılı 10-14 yaş arası çocuklarla yapılan bir çalışmada %71'inin en az bir, %41'inin iki veya daha fazla, %24'ünün üç veya daha fazla psikiyatrik bozukluk tanısı aldığı tespit edilmiştir (64). DEHB, depresyon, bipolar bozukluk, kaygı bozuklukları, obsesif kompulsif bozukluk, travma sonrası stres bozukluğu, tik bozukluğu, cinsel kimlik bozukluğu, beslenme

problemleri, uyku problemleri, katatoni, intihar girişimleri gibi psikiyatrik bozukluklarla birliktelik görülebilmektedir (61).

2.1.8 Etiyoloji

Otizm spektrum bozukluğunun etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, poligenik kalıtım ve çevresel faktörlerin genetik faktörler ile etkileşime girmesiyle oluştuğu düşünülmektedir (65).

2.1.8.1. Genetik Faktörler

Son yıllarda, OSB'nin etiyojisini aydınlatmaya yönelik genetik çalışmaların artış gösterdiği görülmekte olup, pek çok ikiz ve aile çalışmaları, kromozomal anomali inceleme araştırmaları ve moleküler genetik çalışmalar yapılmıştır.

Tek yumurta ikizlerinde, çift yumurta ikizlerine göre otizm görülme oranının daha fazla olduğunu gösteren ikiz çalışmaları, OSB'nin etiyojisinde genetik etmenlerin rolü olduğunu düşündürmektedir (66). İkiz çalışmalarında monozigot ikizler arası %36-96 konkordans, dizigot ikizler arasında %0-27 konkordans bildirilmiştir (67). Bir başka ikiz çalışmasında, monozigot ikizlerde otizm birlikteliği %60'dan fazla, dizigot ikizlerde %0 olarak bulunmuştur. Bununla beraber, ikizlerden birinin 'geniş otizm fenotipi' olması halinde konkordansın monozigotlarda %92'ye, dizigotlarda % 10'a yükseldiği saptanmıştır (68). Bu veriler otizmin yüksek genetik kalıtımına yönelik teoriyi güçlendirmekle birlikte, tek yumurta ikizleri arasında konkordans olduğunda bile, semptom şiddeti ve zeka düzeyi (IQ) açısından klinik görünümde farklılık olabileceği ifade edilmiştir (61).

Aile çalışmaları özellikle geniş fenotip otizm kavramı olmak üzere, otizmdeki ailesel yatkınlığı desteklemektedir (61). Otizm ve Down Sendromu tanılı çocukların aile çalışmalarında, otizm tanılı çocukların ailelerinde %12-20, Down Sendromu tanılı çocukların ailelerinde %2-3 oranında geniş otizm fenotipi tespit edilmiştir (69). Otizm tanılı bireylerin biyolojik ve biyolojik olmayan akrabalarının araştırıldığı bir

çalışmada, ailevi geçişin genetik yatkınlık ile ilişkili olduğu, geniş fenotip oranının IQ> 60 olan yüksek işlevli otizm tanılı bireylerin ailelerinde ve çoğul etkilenmiş ailelerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir (70).

Yapılan bir çalışmada otizm riskinin, otizm tanılı çocukların kardeşlerinde 22 kat arttığı, geniş otizm tanısı alan çocukların kardeşlerinde ise 13 kat arttığı saptanmıştır (71). OSB tanılı çocukların kardeşlerinde otizm görülme oranının araştırıldığı prospektif bir çalışmada, OSB tanılı en az bir büyük kardeşi olan bebeklerin %18,7'sinde bozukluk geliştiği bildirilmiştir. OSB tanısının en güçlü iki yordayıcısı bebeğin cinsiyeti ve etkilenen büyük kardeşlerin sayısı olmak üzere, erkek cinsiyet ve multipleks aile durumu OSB gelişimi için bağımsız ve anlamlı belirleyiciler olarak bulunmuştur (72).

OSB tanılı çocukların %20-25'inin genetik nedeni tespit edilebilirken, kalan %75-80'inin nedeni bilinmemektedir. Tanımlanmış genetik nedenler sitogenetik kromozom anomalileri (~%5), kopya sayısı değişiklikleri (%10-20) ve tek gen bozuklukları (~%5) olarak sınıflandırılabilir (73). Otizmdeki en yaygın sitogenetik anomalilerin 15q11-13 kromozomunda gözlemlendiği, en sık tek gen bozukluklarının Frajil X sendromu ve tüberoz skleroz olduğu bildirilmiştir (74,75).

2.1.8.2. Nörobiyolojik Faktörler

Nörobiyolojik faktörler nöroanatomik, nörofizyolojik ve nörokimyasal faktörler başlıkları altında incelenecektir:

2.1.8.2.1. Nöroanatomik Faktörler

Özellikle altı ay ile üç yaş arası nöronal hücrelerin olgunlaşması, sinaptogenez ve sinir sisteminin şekillenmesinin gerçekleştiği, insan beyninin gelişiminde en önemli dönemlerdir. Bu gelişimsel süreçlerin anormal şekilde ilerlemesi otizm belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (61). Otizm tanılı bireylerde yapılan nörogörüntüleme çalışmaları, elektrofizyolojik çalışmalar ve postmortem otopsi

alışmaları sonucunda makroanatomik ve mikroanatomik değişiklikler bildirilmiştir. Kemper ve Bauman'ın yaptığı postmortem çalışmada beynin ağırlığının arttığı, hipokampus, septal nukleuslar, subikulum, bazı amigdala alt çekirdeklerinde küçük ve yoğunlaşmış nöronlar ve purkinje hücrelerinin yoğunluğunda azalma saptanmıştır (76). Yapılan nörogörüntüleme çalışmalarında otizm tanılı olgularda beyin volümünde artış olduğu saptanmıştır. Bu artış en fazla pariyetal, temporal ve oksipital loblarda olup, frontal lobda değişiklik gözlenmemiştir (67). Araştırılan konulardan biri de nöral bağlantı bozukluğudur. Casanova 2006 yılında yaptığı çalışmasında, neokortekste daralmış nöronal minikolumnların sayısında artış tespit etmiştir (77). Minikolumnların sayıca artması hücre yoğunluğunda artışa sebep olmakta ve beyaz madde hacminde büyümenin neokortikal alandaki bağlantıları etkilediği düşünölmektedir. Bununla ilgili olarak en çok araştırılan bölgeler limbik sistem, bazal ganglionlar ve serebellumdur. Bazı kortikal alanlarda aşırı bağlantı, bazılarında (özellikle subkortikal bölgelerde) azalmış nöronal bağlantı olduğu saptanmıştır (78,79). Bu konuyla alakalı bir diğer görüş ise, kortikal az bağlantırlık kuramıdır. Bu kurama göre otizm tanılı bireylerde frontal lob ile oksipital lob arasındaki iletişimsel bandın genişliği azalmıştır ve buna bağlı olarak fronto-okspital senkronizasyon bozulmuştur (80).

2.1.8.2.2. Nörofizyolojik Faktörler

Otizmin etyopatogeneziini açıklamak için nöropatolojik bulguların yetersiz kalması araştırmaların son yıllarda fonksiyonel değişiklikler üzerine de odaklanmasını sağlamıştır. OSB ile epilepsi ilişkisi üzerinde sıkça araştırmaların yapıldığı bir alandır. OSB tanılı olguların %10 ile %83'ünde EEG anormalliklerine rastlanmaktadır (67). OSB ve epilepsi aynı kişide sıklıkla birlikte bulunmaktadır ve bu durum iki bozukluğun ortak nörogelişimsel temeli olabileceğine işaret etmektedir. Hücresel düzeyde, hem preklinik hem de klinik alışmalar, OSB ve epilepsinin değişik genetik nedenlerinin çeşitli beyin bölgelerindeki uyarıcı ve inhibitör devrelerde işlev bozukluğuna bağlı olarak eksitasyon/inhibisyon dengesini bozabileceğini göstermektedir. Her iki bozukluk için de, eksitasyon/inhibisyon dengesizliği ortak patojenik mekanizmayı temsil edebilir (81). Otizm tanılı olgularda yapılan fonksiyonel

manyetik rezonans görüntüleme (fMRI) çalışmalarında yüz işleme sırasında ventral temporal lobun fuziform girus yüz alanında hipoaktivasyon; resimlerden duyguları anlama ile ilgili görevler sırasında amigdala aktivasyon azlığı saptanmıştır. Yüz algısı ve sosyal bilişsel becerilerin gelişiminin amigdala-fuziform sistemi tarafından desteklendiği ve buradaki defisitlerin otizme yol açan sebeplerden olabileceği ileri sürülmüştür (82).

2.1.8.2.3. Nörokimyasal Faktörler

Nörokimyasal faktörler ile ilgili çalışmalar nörotransmitterlerle ilişkili, endokrinolojik, immünolojik faktörler alt başlıkları altında incelenecektir:

2.1.8.2.3.1. Nörotransmitterle İlişkili Faktörler

Beyin gelişiminin çeşitli aşamalarında (nörotrofik etki, hücre farklılaşması, hücre göçü, nöroblast bölünmesi, sinaptogenez gibi) görevli olan serotonin, bu kritik önemi nedeniyle OSB’de araştırılan bir nörotransmitterdir (83). PET ile yapılan çalışmalarda OSB’de frontal korteks, serebellum ve talamusta serotonin biyosentezinde asimetri saptanmıştır (84). OSB’nin patogenezinde serotonerjik sistemin gelişiminde bozukluk ve serotonin düzeyinde artış olabileceği bildirilmiştir (83,85). Seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin basmakalıp davranışları azalttığını ve sosyal iletişimi olumlu etkilediğini bildiren çalışmalar, otizmin etyopatogenezinde serotonin sistemindeki bozuklukların etkisi olabileceğini düşündürmektedir (86).

Otizm tanılı olgularda dopamin ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, dopamin antagonistleriyle otizm belirtilerinde olumlu etkilerin olması, dopamin nörotransmisyonunda bozukluk olabileceğini desteklemektedir. Otizmde görülen stereotipiler ve hiperaktivite, beyinde dopaminerjik aktivitenin artması ile ilişkilendirilmiştir (87). Dopaminin metaboliti olan homovanilik asit (HVA) düzeyi de beyin omurilik sıvısında yüksek bulunmuştur (88).

OSB etiyojisinde glutamaterjik iyonotropik reseptörler en çok araştırılan reseptörlerdendir. Erişkinlerle yapılmış bir çalışmada otizm tanılı olgularda serum

glutamat seviyeleri normal kontrollerden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (89). Otizm tanılı bireylerle yapılan postmortem çalışmalarda GABA-A ve GABA-B reseptörlerinin farklı beyin bölgelerinde azaldığı saptanmıştır (90,91).

2.1.8.2.3.2. Endokrinolojik Faktörler

Sağlıklı çocuklara kıyasla otizm tanılı çocuklarda plazma oksitosin düzeyi birçok araştırmada daha düşük bulunmuştur (92–94). Normalde yaşla birlikte artış gösteren plazma oksitosin düzeylerinin, OSB tanılı olgularda yaşa bağlı aynı artışı göstermediği saptanmıştır (92).

“Aşırı erkek beyni” teorisi ile Baron Cohen ve arkadaşlarının (2011) amniyosentez sıvısında fetal androjen seviyelerini ölçtüğü çalışmasında, otizm tanılı çocuklarda fetal androjen seviyesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun otizmde görülen sosyal-iletişimsel-davranışsal problemlere, dikkatle ilişkili nörobilişsel sorunlara, empati yoksunluğuna yol açabileceği ve OSB’nin erkeklerde daha sık görülmesini açıklayabileceği öne sürülmüştür (95).

2.1.8.2.3.3. İmmünolojik Faktörler

İmmün sistem değişikliklerinin rolü otizm etiyolojisinde uzun süredir araştırılmaktadır. Nöronal gelişim ve nöron işlevlerinde önemli role sahip olan sitokinlerin uygunsuz aktivasyonlarının ya da düzensizliklerinin nörogelişimsel bozuklukların etyopatogenezinde etkisinin olabileceği bildirilmiştir. Enfeksiyöz ajanlar, toksinler gibi otizm etiyolojisinde rol oynayabilen çevresel etkenlerin immün sistemi uyarmasıyla ortaya çıkan sitokin düzensizliklerinin nörotoksik etkilere aracılık ettiği öne sürülmüştür. Uzun süreli nöroinflamasyonun, hücrel immün fonksiyonlarda bozulmaya yol açtığı, BOS ve serumda proinflamatuvar sitokinlerde artış ortaya çıkardığı, bu durumun da temel nörogelişimsel süreçleri etkileyerek otizmin patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (45). Otizmde hücre aracılı immünitenin bozulduğu gösterilmiştir (96). Th1/Th2 oranında azalma, artan Th2 düzeyini destekleyecek şekilde IFN-gama ve IL-2 düzeyinde azalma ve IL-4 düzeyinde artma bildirilmiştir (97). Proinflamatuvar sitokinlerde görülen artışın

otizmde görülen sosyal içe çekilme, keşifsel davranışların baskılanması, duygudurum değişiklikleri, uyku bozuklukları gibi belirtilerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (98).

Yapılan çalışmaların sonucuna göre ailesel otoimmün hastalıklar ile otizm arasında anlamlı ilişki olduğu, otoimmün hastalığı olan annelerin çocuklarında OSB'nin daha sık görüldüğü bildirilmiştir (99,100).

2.1.8.3. Çevresel Faktörler

Otizmin klinik heterojenite göstermesi, monozigot ikizlerde konkordansın tam olmaması, yapılan epidemiyoloji çalışmalarında otizmin görülme sıklığında hızlı artış görülmesi, OSB araştırmalarında genetik etioloji üzerinde daha çok durulmasına rağmen çevresel faktörlerin de etkisi olabileceğini düşündürmüştür (101).

Yapılan meta analizlerden ve derlemelerden elde edilen verilere göre OSB için ileri baba yaşı ve ileri anne yaşı risk faktörü olmakla birlikte, ileri baba yaşının daha önemli risk faktörü olabileceği belirtilmiştir (102–104). Yaşı 30'un altında olan annelerin çocuklarıyla karşılaştırılınca, otizm riskinin 30-34 yaşları arasındaki annelerin çocuklarında %27, 40 yaşın üzerindeki annelerin çocuklarında %106 arttığı saptanmıştır (102).

Bir dönem otizm ve aşıların ilişkisi sıkça tartışılmış, yapılan çalışmalar neticesinde aşılarda, özellikle de sıklıkla suçlanan kızamık-kabakulak-kızamıkçık (MMR) aşısıyla otizm arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (105,106).

Gestasyonel diyabet, gebelikte ilaç (talidomit, valproat, misoprostol gibi) kullanımı, kanama, enfeksiyon, travma, gestasyonel yaşa göre düşük doğum ağırlığı, ilk doğum, çoklu doğum, prematürite, mekonyum aspirasyonu, doğumda makat geliş şekli, umbilikal kord komplikasyonları, ağlamada gecikme, düşük apgar skoru, respiratuvar distres sendromu, neonatal anemi, kan uyuşmazlığı, hiperbilirubinemi gibi durumların OSB olan çocuklarda daha sık gözlemlendiği bildirilmiştir (102,107–109). Otizm etiolojisinde çevresel faktörleri (hava kirliliği, egzoz dumanı, pestisitler, kurşun, manganez, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, polibromlu difenil eterler gibi) araştıran çalışmaların sonuçları bunlara maruz kalmanın tek başına otizm için bir sebep

olmadığı, genetik yatkınlık ve çoklu çevresel faktörlere maruz kalmanın birlikte OSB için kolaylaştırıcı olabileceğini bildirmiştir (110–112).

OSB ve çevresel faktörler arasındaki ilişkinin mekanizmaları tartışılmakla birlikte inflamasyon, oksidatif stres, hipoksi/iskemi, sinyal yollarındaki anormallikler, nörotransmitter değişiklikleri, endokrin bozulmalar ve genetik faktörlerle bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (113).

Correles ve Herbert (2011), genetik ve çevresel risk faktörlerinin OSB riskini ve şiddetini birlikte belirlemede aşağıdaki dört mekanizmayı tanımlamıştır (114):

- Gen-çevre etkileşimi: çevresel maruziyetin genetik yatkınlığı olanlarda otizm riskini artırması
- Çevresel faktörlerin üreme hücrelerinde yapısal değişimlerle veya nokta mutasyonlarla genetik hasara yol açması
- Çevresel faktörlerin kalıtsal epigenetik modifikasyonlar aracılığıyla etki etmesi
- Genetik eğilimlerin çevresel maruziyeti sağlaması

2.2.Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF, vasküler endotelial hücrelerin proliferasyonunu ve hayatta kalmasını sağlayan, vasküler geçirgenliği uyaran güçlü bir anjiyojenik faktördür (115). VEGF ailesi, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plasental büyüme faktörü (PlGF) olmak üzere altı homolog faktör içermektedir (116). Genellikle VEGF olarak ifade edilen VEGF-A'dır (117). VEGF geni 6p21.3 kromozom bölgesinde bulunur (118).

Endotel, aktive trombositler, makrofajlar, T lenfositler, astrositler, nöronal kök hücreler, düz kas hücreleri, keratinositler, böbrek hücreleri, osteoblastlar ve kanser hücrelerinde sentezlenir (119).

VEGF, tirozin kinaz reseptörleri üzerinden etkili olmaktadır. Bu reseptörler VEGFR1 (Flt-1) ve VEGFR2 (Flk-1/KDR)'dir. Üçüncü bir reseptör olan VEGFR3

(Flt-4), VEGF-C ve VEGF-D'yi bağlar. VEGF, tirozin kinaz reseptörlerine ek olarak nörofilin (NP-1 ve NP-2) reseptörlerine bağlanır (120). VEGF'nin anjiojenik, mitojenik ve vasküler geçirgenlik arttırıcı etkilerine esas aracılık eden reseptörünün VEGFR2 olduğu düşünülmektedir (120). VEGFR1 ekspresyonu, Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1 (HIF-1)'e bağlı bir mekanizma aracılığıyla hipoksi tarafından düzenlenir. Hipoksi önce HIF-1'i uyarır, HIF-1 de VEGF gen promoter bölgesini uyarır. Hipoksi VEGF salınımını uyararak en önemli faktördür (120,121). VEGFR1 ve VEGFR2'nin, çözünür (soluble) VEGFR1 (sVEGFR-1) ve çözünür VEGFR2 (sVEGFR-2) olmak üzere çözünebilir formları vardır. Bunların VEGF'nin aktivitesini inhibe ettiği düşünülmektedir (5,122). Oksidatif stres, düşük pH, hipoglisemi gibi diğer hücrel stres etkenlerinin de VEGF üretimini uyardığı saptanmıştır (123–125).

VEGF fizyolojik ve patolojik anjiyogenez süreçlerine katılır (119). Tümör anjiyogenezini destekleyerek tümör progresyonunda da önemli rol oynadığı bildirilmiştir (126). VEGF'nin yalnızca anjiyogenezde rolünün olmadığı, aynı zamanda nöronal fonksiyonu da düzenlediği gösterilmiştir. Nöronların büyümesi, çoğalması, farklılaşması üzerinde etkilerinin olduğu, nöroproteksiyon sağladığı, nörogenezi uyardığı, sinaptik iletiyi etkilediği, glial hücrelerin büyümesi ve çoğalmasında işlev gördüğü, strese verilen cevapta rol aldığı bildirilmiştir (119,120,127,128). İn vivo ve in vitro hipoksi ve nöronal iskemi araştırmalarıyla VEGF'nin nöroprotektif etkisi kanıtlanmıştır. İskemik beyinde nöronal VEGF artıp, nöroprotektif etki göstermektedir. İskemik hasarı azaltmakla birlikte, rat modellerinde parkinson hastalığında dopaminerjik nöronları dejenerasyona karşı koruduğu da saptanmıştır (129). VEGF'nin bilişsel fonksiyonlara fayda sağladığına inanılmaktadır. Yetişkin sıçanlarda VEGF'nin hipokampal gen transferinin nöroenezde artışa ve daha iyi performansa yol açtığı, VEGF ekspresyonunun inhibe edilmesinin ise nöroenezin çevresel indüksiyonunu engellediği bildirilmiştir (130). VEGF'nin nörojenik etkilerini doğrudan endotel hücrelerinden nörotrofik faktörlerin salınmasını uyararak, dolaylı olarak endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyararak ya da nöron prekürsörlerine mitojenik etki yaparak gösterdiği düşünülmektedir (131–134). Beyin ve nöral tüp gelişimi sırasında nöron hücrelerinin sentezlediği VEGF vaskülarizasyonu düzenlemektedir (135). Nöronal kök hücreleriyle kan damarları yakın bir ilişkidir

(136). Anjiogenez sürerken VEGF salınımının fazla olduğu kan damarlarına yakın bölgelerde nörogenezin meydana geldiği saptanmıştır (137).

Nöronlara ve beyin damarlarına olan etkisi nedeniyle VEGF, nöropsikiyatrik hastalıklarda ve psikotropik ilaçlarda yapılan çalışmalarda ilgi duyulan bir faktör olmuştur. Hem hayvan hem de insan beyni araştırmalarından VEGF'nin nöropsikiyatrik bozuklukların etyopatogenezinde rol oynadığını gösteren pek çok kanıt vardır (138–143). Sharma ve arkadaşlarının yaptığı derlemede incelemeye dahil edilen VEGF çalışmalarının çoğunda, majör depresif bozukluk hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla VEGF'nin serum, plazma ve mRNA ekspresyon seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (142). OSB gibi nörogelişimsel bir bozukluk olan DEHB'de yapılan bir çalışmada, DEHB tanılı çocuklarda serum VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptanmış, ancak DEHB belirtileri ile serum VEGF düzeyleri arasında korelasyon bulunmamıştır (144). Bleulerin 4A belirtisinden biri olan otizmi de içeren şizofrenide VEGF ile ilgili olarak yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (145–147). Şizofreni hastalarında tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında plazma VEGF düzeylerinin incelendiği bir çalışmada, hasta grubunda tedavi öncesi plazma VEGF düzeyleri sağlıklı gruba göre anlamlı derecede düşükken, 6 haftalık antipsikotik tedavisi sonrasında VEGF düzeylerinin anlamlı olarak arttığı saptanmıştır (146). Di Nicola ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ilk epizod psikoz hastalarıyla kontrol grubunun serum VEGF seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hasta grubunda çocukluk çağı travması olanlarda, olmayanlara göre VEGF seviyeleri daha düşük saptanmıştır (148). Murphy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ilk epizod psikoz hastalarının tedavi öncesi ve 12 haftalık ketiyapin tedavisi sonrasındaki serum VEGF düzeyleri, sağlıklı kontrol grubunun serum değerleri ile karşılaştırılmış ve 3 grup arasında anlamlı farklılık olmadığı gösterilmiştir (149). Şizofreni hastalarının beyinlerinde postmortem yapılan bir çalışmada, dorsolateral prefrontal kortekste VEGF mRNA ekspresyonu anlamlı derecede daha düşük bildirilmiştir (145).

Otizm tanılı hastalarda yapılan bir çalışmada dolaşımdaki VEGF seviyeleri ve endojen antagonist çözünür VEGF reseptörleri sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 düzeyleri ölçülmüş ve otizm hastalarında kontrol grubuna göre düşük VEGF ve artmış sVEGFR-1 düzeyleri bulunmuştur (10). OSB, DEHB, Duygudurum Bozukluğu, Şizofreni,

Bipolar Bozukluk tanısı alan olguların yenidoğan döneminde alınan kanlarının incelendiği araştırmada, otizm tanılı olgularda VEGF-A konsantrasyonlarında azalmaya yönelik bir eğilim olduğu saptanmıştır (11). Rett sendromu ve otizm tanılı olgularla yapılan bir çalışmada otizm tanılı olguların serum VEGF seviyesi, Rett sendromu tanılı olgulardan düşük saptanmış, ancak otizm grubuyla kontrol grubunun serum VEGF seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (12). Yapılan bir başka araştırmada otizm tanılı grup ile kontrol grubu arasında kan plazma VEGF düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği bulunmuştur (13). Aynı şekilde Kajizuka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da otizm tanılı hastalarla kontrol grubunun serum VEGF seviyeleri benzer tespit edilmiştir (14). OSB tanılı çocuklarda, sitokin düzeyleri ile semptom şiddeti ve diğer klinik özellikler arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, kızlarda otizm semptom şiddeti VEGF düzeyleri ile negatif ilişkili bulunmuştur. Bu durum OSB tanılı çocuklarda sitokin ekspresyonunda cinsiyet farklılıklarının olabileceğini düşündürmüştür (15).

2.3.İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1)

İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) 70 aminoasit içeren tek zincirli polipeptid yapısında olan bir moleküldür (150). IGF-1 geni 12.kromozomunun uzun kolundadır (12q23.2) (151,152). IGF bağlayıcı proteinler (IGFBP), IGF'lerin dolaşımında taşınarak hedef dokulara dağılımını, yarı ömrünü, hedef dokulardaki aktivitelerini modüle eder. 6 adet IGFBP tanımlanmıştır (153). İnsanlarda, dolaşımdaki IGF-1'in çoğu insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) tarafından taşınır (154). Bir heterotetramerik glikoprotein olan IGF-1 Reseptörü (IGF1R), hem nöral kök hücrelerde hem de yaşam boyunca tüm nöral hücrelerde eksprese edilir (155,156).

IGF-1 birçok doku tarafından salgılanmaktadır, çoğu karaciğer tarafından sentezlenir ve diğer dokulara taşınır, endokrin hormonu olarak işlev görür (157). IGF-1'in diğer dokular tarafından da salgılandığı ve lokal olarak parakrin/otokrin etkilerinin olduğu gösterilmiştir (158,159).

IGF-1'in kan beyin bariyerini geçebildiği gösterilmiştir (156). Ayrıca IGF-1 serebral korteks, hipokampus, hipotalamus ve serebellumdaki hücreler başta olmak üzere, MSS'ndeki önemli hücre tipleri tarafından da üretilir (160,161). Bu bölgelerdeki IGF-1 ekspresyonu perinatal dönemde pik yapıp, yaşam boyunca azalmasına rağmen, ekspresyon dentat girus ve subventriküler bölgelerde devam eder (162–164). IGF-1'in merkezi sinir sistemi gelişiminde, nöronal hücre tiplerinin büyümesi, farklılaşması, olgunlaşması, hücrenin hayatta kalması, sinaptik etkinliğin düzenlenmesi, miyelinasyon ve metabolik süreçlerin kontrol edilmesi gibi önemli rolleri vardır (18–21). IGF-1 knock out (Igf1 -/-) farelerin beyinleri, yaş olarak eşleştirilmiş vahşi tip farelerin beyinlerinden daha küçük bulunmuştur (20). Öte yandan, IGF-1'i aşırı eksprese eden transgenik farelerin beyinleri normal kontrollerden daha büyük ve toplam miyelin içeriğinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (165). Nöronal plastisite süreçlerini etkileyen IGF-1 sinaps oluşumunu, dendritik büyümeyi, nörotransmitter salınımını ve nöronal uyarılabilirliği düzenler (19,166). IGF-1 aynı zamanda nöronları apoptozdan korumaktadır (167,168).

Birçok genetik ve çevresel faktör IGF-1'in serum seviyelerini etkilemektedir. Büyüme hormonu dolaşımdaki IGF-1'in ana düzenleyicisidir. Gıda alımı ve beslenme durumu IGF-1'in serum seviyelerindeki değişimin önemli belirleyicilerindendir. Yetersiz beslenme, IGF-1'in karaciğerde büyüme hormonuyla indüksiyonunu bozabilmektedir. Kronik beslenme yetersizliği serum IGF-1'in azalmasına yol açar (169,170). Doğumda düşük olan plazma IGF-1 düzeyleri çocukluk çağında yükselerek ergenlikte pik yapıp, yaşla birlikte azalmaktadır (16). Bu üç faktör kontrol altına alınsa bile serum IGF-1 düzeylerinde bireyler arası farklılık görülmesi, dolaşımdaki IGF-1'in genetik belirleyiciler tarafından düzenlenebileceği varsayımına yol açmıştır. Bu varsayımı destekleyen, IGF-1 fenotipinin kalıtsal belirleyicileri olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (171,172).

Dolaşımdaki IGF-1 düzeylerini etkileyen faktörler (169):

- Dolaşımdaki IGF-1 düzeylerini doğrudan etkileyen ana belirleyiciler:
Büyüme hormonu, protein-kalori alımı, katabolik stresörler, hastalıklar, sepsis, travma, anoreksiya nervoza/bulimia nervoza, tiroid hormonları, insülin, asit labil alt ünitesinin (ALS) IGFBP-3/IGF-1'e bağlanma afinitesi

- GH-IGF-1 ekseninde etkilili olan belirleyiciler:
Yaşlanma, beden yağ kitlesi (?leptin), östrojenler, androjenler, ?adrenal androjenler (dehidroepiandrosteron (DHEA) gibi), ?inflamatuvar sitokinler, egzersiz
- Dolaşımdaki IGF-1'i doğrudan etkileyen diğer belirleyiciler:
Çinko, paratiroid hormonu (PTH), PTH ilişkili peptit (PTHrp), östrojenler, androjenler, adrenal androjenler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, inflamatuvar sitokinler

Otizimde IGF-1 düzeyini inceleyen çeşitli çalışmalar olup, OSB tanıli çocuklarda, kontrol gruplarına kıyasla kan, BOS, korteks ve idrarda farklı IGF-1 seviyeleri bulunmuştur (22–26). Riikonen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BOS IGF-1 konsantrasyonu otizm tanıli hastalarda daha düşük bulunmuştur (23). Bir başka çalışmada benzer şekilde otizm tanıli grubun BOS IGF-1 düzeyi kontrol grubundan düşük saptanmıştır (22). Üriner IGF-1 ekskresyonunun ölçüldüğü çalışmada otizm tanıli hastalarda idrar IGF-1 seviyesinin anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir (24). Daha büyük bir çalışmada ise otizm tanıli çocuklarda kan IGF-1 seviyeleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (25). İdiyopatik otizm olgularının postmortem fuziform girus dokularında IGF-1 ve IGF-1R ekspresyonunun ölçüldüğü bir çalışmada, IGF-1 ve IGF-1R mRNA ve protein seviyelerinde kontrol grubu ve otizm grubu arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (27).

Fetüs/yenidoğan serum IGF düzeyi ile daha sonra gelişebilecek otizm arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada yapılan literatür incelemesi sonucu, intrauterin ve postpartum hatalı nöral yolların gelişimini en aza indirmek için yeterli IGF-1 seviyesine ihtiyaç duyulduğu, azalmış intrauterin/postpartum IGF-1 seviyesinin daha sonra ortaya çıkabilecek otizmin klinik görünümü açısından erken bir biyobelirteç olabileceği hipotezi ileri sürülmüştür. Bu nedenle otizme ilerleme riski yüksek olan olgulara erken dönemde farmakoterapi uygulanabileceği düşünülmüştür (173).

2.4. Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1 alfa (HIF-1 α)

Hipoksi ile indüklenabilir faktör 1 (HIF-1), memelilerde azalan oksijen seviyesine karşı temel homeostatik yanıtlara aracılık eden bir transkripsiyon faktörüdür (28). HIF-1, HIF-1 α ve HIF-1 β alt birimlerinden oluşur. Her alt birim, heterodimerizasyon ve DNA bağlanmasına aracılık eden basic-helix-loop-helix-PAS (bHLH-PAS) alanları içerir (174,175). Alfa (α) alt birimi oksijenle düzenlenir. Beta (β) alt birimi oksijenden bağımsızdır, bu aynı zamanda aril hidrokarbon reseptör nükleer translokator (ARNT) olarak da bilinir (176). ARNT proteini yapısal olarak tüm hücrelerde eksprese edilirken, HIF-1 α 'nın ekspresyonu normoksik koşullar altında çoğu hücrede düşük seviyelerde tutulur (177,178). Normoksik şartlar altında, prolil hidroksilaz enzimi HIF-1 α 'nın prolin kısımlarını hidroksiller. Protein Von Hippel-Lindau hidroksillenmiş prolin kısımları tanır, HIF-1 α proteazomal degradasyona uğrar (179,180). Düşük oksijen konsantrasyonuna yanıt olarak, nükleusta alfa ve beta alt birimleri dimer oluşturur. Oluşan bu aktif heterodimer hedef genlerde hipoksi yanıt elementine (HRE) bağlanır ve eritropoez, demir metabolizması, anjiyogenez, vasküler tonüs, glukoz metabolizması, hücre çoğalması, hücrenin hayatta kalması, nekroz, antiapoptoz ve apoptoz dahil olmak üzere çeşitli işlevleri olan bir dizi genin transkripsiyonunu başlatır (181–185).

Ayrıca hipoksi dışında, HIF-1 kompleksini normoksi şartlarında aktive eden bir dizi hipoksik olmayan uyaran olduğu gösterilmiştir (33–41).

Anjiyogenez: Farklı hücre tipleri tarafından eksprese edilen çok sayıda gen ürünü anjiyogenezde yer alır (186). VEGF, TNF- α , fibroblast büyüme faktörleri, transforme edici büyüme faktörleri, hepatosit büyüme faktörü, anjiyojenin, anjiyopoetinler, interlökin-8 gibi çok sayıda molekülün anjiyogenezin pozitif düzenleyicisi olarak görev yaptığı gösterilmiştir. Bunlar içinde VEGF anjiyogenezin temel düzenleyicisidir (187). VEGF hipoksik şartlarda endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyarır ve doğrudan anjiyogeneze katılır (186). Hipoksi sırasında HIF-1 α , VEGF'nin ekspresyonunda önemli bir rol oynar (30).

Eritropoez: Eritrositlerin oluşumu için gerekli olan eritropoetin (EPO) ekspresyonu hipoksiyle artar (188). EPO reseptörünün (EPOR) nöronlar, astrositler ve mikrogliyal hücreler tarafından eksprese edildiği bulunmuştur (189). Yenidoğan

hipoksisi sırasında EPO'nun nöroprotektif etkisinin olduğu gösterilmiştir (188,190). Yapılan bir çalışmada, EPO ile tedavinin hipoksi-iskemi sonrası nörovasküler yeniden şekillenmeye katkıda bulunarak nörodavranışsal sonuçları olumlu etkilediği tespit edilmiştir (191).

Hücre Proliferasyonu ve Sağkalımı: Hipoksida insülin benzeri büyüme faktörü-2 (IGF-2) ve transforme edici büyüme faktörü- α (TGF- α) gibi büyüme faktörleri HIF-1 aracılığıyla indüklenir (33,192). Bu gibi büyüme faktörlerinin aynı kökenli reseptörlerine bağlanması, HIF-1 α 'nın ekspresyonunun uyarılmasını ve hücre çoğalması/hayatta kalmasını sağlayan sinyal transdüksiyon yollarını aktive eder (193).

Apoptoz: Hipoksiye hücrenin adaptasyonu bazı durumlarda hücre ölümüne de yol açabilmektedir. Carmeliet ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hipoksi ve hipogliseminin, yabanıl tip (HIF-1 α +/+) embriyonik kök hücrelerde proliferasyonu azalttığı ve apoptozu arttırdığı gösterilmiş, ancak inaktive HIF-1 α genlerine sahip embriyonik kök hücrelerde bu durum gösterilememiştir (194). Hipoksik şartlar altında, bazı hücre tiplerinde Apaf-1 aracılığıyla kaspaz-9 aktivasyonu ve sitokrom c'nin mitokondriden salınımı ile apoptotik sinyalizasyonun gerçekleştiği bildirilmiştir (195,196).

Glukoz Metabolizması: Düşük oksijen seviyelerinde, hücrelerin glukoz metabolizması yolları oksijen bağımlı trikarboksilik asit (TCA) döngüsünden oksijen bağımsız glikolize çevrilir (197,198). Glikoz alımı ve glikolizde yer alan birçok gen, HIF-1 hedef genleri olarak tanımlanmıştır (199).

Embriyonik Gelişim: HIF-1 α , HIF-1 β ve HIF-2 α 'nın embriyonik gelişimde önemli rol oynadığı ve bunlardan herhangi birinin işlevsiz hale getirilmesinin farelerde anormal vasküler gelişim ve ölümle sonuçlandığı saptanmıştır (200–205). HIF-1 α ekspresyonunun normal fare embriyolarında 8.5 ve 9.5 embriyonik günler arasında arttığı gösterilmiştir (200). HIF-1 α eksikliği olan embriyoların kardiyovasküler malformasyon, nöral tüp defektleri, yetersiz kan damarı oluşumu nedeniyle 11.embriyonik günde öldüğü görülmüştür (200,201).

Artan kanıtlar, HIF-1'in inflamasyon, iskemik hastalıklar, kanser ve duygudurum bozuklukları özellikle de majör depresif bozukluk ile ilgili olduğunu göstermektedir (206–209). Shibata ve ark. majör depresif bozukluk ve bipolar

bozukluk tanılı olgularda HIF-1 α mRNA ekspresyonunu incelemiş ve hasta grubunda özellikle de depresif epizot sırasında artmış HIF-1 α mRNA düzeyleri tespit etmişlerdir (209). Bizim bilgimize göre, HIF-1 α düzeylerini otizm tanılı bireylerde inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çeşitli çalışmalar hipoksi ve iskeminin, OSB ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (31,113). Kolevzon ve ark. epidemiyolojik kanıtlara dayanarak, yenidoğan veya fetal hipoksinin OSB etyolojisinde rolü olabileceğini ileri sürmüştür (31). Bir başka çalışmada, yenidoğan ensefalopatisi geçirmiş 239 çocuk incelenmiş ve bu çocukların %5'inde OSB tanısı saptanmıştır. Bu oran yenidoğan ensefalopatisi geçirmeyen 563 çocuktaki otizm sıklığına (%0.9) göre yaklaşık 6 kat artmış riski ifade etmektedir (210).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Örneklem

Etik kurul onayının alınmasının ardından, Mayıs 2019-Mart 2020 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine başvuran, Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) tanısı yeni konulmuş ya da OSB tanısı ile kliniğimizde takiplerine devam etmekte olan ve belirlenen dahil olma ölçütlerini karşılayan 40 çocuk “otizm grubu” olarak çalışmaya alınmıştır. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi ayaktan tedavi kliniklerine başvuran, ebeveynleri ve kendileri gönüllü olan, kontrol grubu için belirlenen dahil olma ölçütlerini taşıyan 40 sağlıklı çocuk yaş ve cinsiyet açısından eşleştirildikten sonra “kontrol grubu” olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya başlanmadan önce Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan 07.05.2019 tarihinde 159 sayılı karar ile etik kurulu onayı alınmıştır. Araştırmanın örneklemine alınan çocuklar ve aileleri, çalışmanın amacı ve içeriği hakkında bilgilendirilmiş, çalışmaya katılmayı kabul eden tüm ailelerden ve kontrol grubundaki okul çağındaki çocuklardan yazılı onam alınmıştır. Çalışmanın finansal kaynağı Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Ofisi tarafından TTU-2019-7441 nolu proje kodu ile sağlanmıştır.

3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme ve Dışlanma Ölçütleri

Otizm Grubunun Çalışmaya Dahil Edilme Ölçütleri

- DSM-5 kriterlerine göre “Otizm Spektrum Bozukluğu” tanısı almak
- 4-12 yaş arasında olmak
- Çalışmaya katılmaya gönüllü olmak
- Anne ve baba en az ilkokul mezunu olması
- En az bir biyolojik ebeveyni ile yaşıyor olmak

Otizm Grubunun Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri

- Çalışmaya katılmaya gönüllü olmamak
- 4 yaş altı ve 12 yaş üstü olmak
- Kanser hastalığı olanlar
- Klinik olarak aktif enfeksiyon hastalığı olanlar
- Çocukluk otizmi derecelendirme ölçeğinde (CARS) 15-29 puan (=otizm yok) alanlar

Kontrol Grubunun Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- Çalışmaya katılmaya gönüllü olmak
- 4-12 yaş arasında olmak
- Anne ve baba en az ilkokul mezunu olması
- En az bir biyolojik ebeveyni ile yaşıyor olmak
- Herhangi bir ilaç tedavisi almamak
- Kronik tıbbi hastalığı olmamak
- DSM-5 kriterlerine göre “Otizm Spektrum Bozukluğu” tanısı almış olmamak
- Çocukluk Otizm Derecelendirme Ölçeğinden (CARS) 30’un aşağısında puan almak (CARS< 30)
- K-SADS uygulanarak ve K-SADS’de yer almayan psikiyatrik bozuklukları da içerecek şekilde DSM-5’e dayalı tanısız psikiyatrik görüşmede psikiyatrik bir tanı almamış olmak

Kontrol Grubunun Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

- Çalışmaya katılmaya gönüllü olmamak
- 4 yaş altı ve 12 yaş üstünde olmak
- Kronik sistemik hastalığı olanlar
- Herhangi bir ruhsal hastalığı olanlar

- Klinik olarak aktif enfeksiyon hastalığı olanlar
- Psikotrop, antikonvulzan, antioksidan veya herhangi türde rutin ilaç kullanımı olmak

3.2. Veri Toplama Araçları

3.2.1. Sosyodemografik Veri Formu

Araştırmacılar tarafından geliştirilen form aracılığı ile çocuk ve ebeveynlerine ait sosyodemografik özellikler (yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi, anne-baba yaşı, anne-baba eğitim süresi, aile yapısı, aylık gelir, kardeş sayısı, kaçınıcı çocuk olduğu, psikiyatrik tanı ve eş tanı durumu, tıbbi tanı durumu, otizm tanı yaşı gibi) sorgulanmaktadır.

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

Schopler ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan bu ölçek, otizmi olan çocukların diğer gelişimsel bozukluğu olan çocuklardan ayırt edilmesinde kullanılmaktadır (211). Aileyle görüşme ve çocuğun gözlemlenmesi sonucunda elde edilen bilgiler temel alınarak doldurulmaktadır. Ölçek 15 maddeden oluşmaktadır, her madde 1-4 arasında yarım derecelik puanlama ile derecelendirilmektedir. '15-29,5 puan' çocuklar otizm belirtileri göstermemektedir. '30-36,5 puan' klinik olarak hafif-orta düzeyde otizm şiddetini, '37-60 puan' ağır düzeyde otizm şiddeti göstermektedir. CARS'ın geçerlilik ve güvenilirlik çalışması Sucuoğlu ve ark. (1996) ve Gassaloğlu ve ark. (2016) tarafından yapılmıştır (212,213).

3.2.3. Anormal/Sorunlu Davranış Kontrol Listesi (SDKL)

Aman ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan bu ölçek, otizm tanılı çocuklarda görülen davranış problemlerini belirlemeye yönelik kullanılmaktadır (214). SDKL ölçeğinde 58 madde bulunmaktadır, 'İrritabilite', 'Letarji-Sosyal Geri

Çekilme', 'Stereotipi', 'Hiperaktivite' ve 'Uygunsuz Konuşma Sorunu' olarak adlandırılmış 5 alt ölçekten oluşmaktadır. Her bir madde 0 ile 3 arasında puanlanmak üzere dörtlü dereceleme içerir ve ebeveynler tarafından doldurulmaktadır (215). Türkçe geçerlik ve güvenirlik çalışması Sucuoğlu (2003) ve Karabekiroğlu ve Aman (2009) tarafından yapılmıştır. (216,217).

3.2.4.Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi – Şimdi ve Yaşam Boyu Şekli (ÇDŞG – ŞY) (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School Age Children – Present and Lifetime Version, K-SADS-PL)

Kaufman ve arkadaşları tarafından, çocuk ve ergenlerin geçmişteki ve şu andaki psikopatolojilerini saptamak amacıyla geliştirilmiş olan yarı yapılandırılmış bir görüşme formudur (218). Görüşme formu sosyodemografik özelliklerin sorgulandığı ilk bölüm, şimdi ve geçmiş psikiyatrik belirtilerin sorgulandığı ikinci bölüm ve çocuğun değerlendirme yapıldığı andaki işlev düzeyinin değerlendirildiği üçüncü bölümden oluşmaktadır. Görüşme çizelgesinin Türkçe uyarlamasının geçerlilik ve güvenirlik çalışması Gökler ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (219).

3.3. Yöntem

SDÜ Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları polikliniği ve SDÜ Tıp Fakültesi ayaktan tedavi kliniklerine başvuran çalışma için dahil edilme ve dışlama ölçütlerini karşılayan çocuklar ve aileleri, çalışmanın amacı ve içeriği hakkında bilgilendirilmiş, çalışmaya katılmayı kabul eden tüm ailelerden ve kontrol grubundaki okul çağındaki çocuklardan yazılı onam alınmıştır.

SDÜ Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine yeni başvurmuş veya takip edilmekte olan OSB tanılı çocuklardan, otizm grubu için belirlenen dahil edilme ve dışlama ölçütlerini karşılayan çocuklar, araştırmacı çocuk psikiyatristi tarafından DSM-5'e dayalı tanısal psikiyatrik görüşme ile

değerlendirilerek OSB tanıları doğrulanmış ve otizm grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. SDÜ Tıp Fakültesi ayaktan tedavi kliniklerine başvuran, ebeveynleri ve kendileri çalışmaya katılmaya gönüllü olan çocuklar araştırmacı tarafından psikiyatrik görüşme çerçevesinde değerlendirilmiş, kontrol grubu için belirlenen dahil edilme ve dışlama ölçütlerini karşılayan çocuklar kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Her iki grup için, klinisyen tarafından belirtilerin klinik gözlemi ve aile bildirimlerinden faydalanarak CARS uygulanmış, sosyodemografik veri formu doldurulmuş, ebeveynlerinin SDKL'yi doldurmaları sağlanmıştır. Kontrol grubuna, klinisyen tarafından altı yaş ve üzerindeki çocuklar için K-SADS-PL ve DSM-5 tanı ölçütlerine dayalı klinik görüşme, altı yaşın altındaki çocuklara ise sadece DSM-5 tanı ölçütlerine dayalı klinik görüşme uygulanmıştır. Her iki gruptaki çocukların boy ve kiloları ölçülmüştür. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan çocuklardan gece açlığını takiben sabah 08.00-10.00 saatleri arası projenin amacını oluşturan IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeylerinin belirlenebilmesi için venöz kan örnekleri alınmıştır.

3.4.Biyokimyasal Analiz

3.4.1.Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması

Psikometrik değerlendirmenin yapılacağı gün hasta ve kontrol gruplarından sabah 08.00-10.00 arası alınan yaklaşık 10 ml açlık venöz kan örnekleri jelli biyokimya tüplerine alındıktan sonra 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek serum kısmı elde edilmiştir. Daha sonra numuneler eppendorf tüplerine üç porsiyona ayrılarak -80°C'de çalışma gününe kadar saklanmıştır. Tüm örnekler toplandıktan sonra enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında belirlenmiştir.

3.4.2.Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

1. Derin dondurucu: Kirsch Bosch -80°C (Almanya)
2. Santrifüj cihazı: Nüve NF 1200 R model soğutmalı (Türkiye)
3. Santrifüj cihazı: Eppendorf 5415 R eppendorf (Almanya)
4. Otomatik pipetler: Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
5. ELISA plate yıkayıcı: Bio-tek marka ELx 50 model otomatik strip yıkayıcı (ABD)
6. ELISA okuyucu: Rayto RT-6000 Microplate Reader (Çin)
7. Vorteks cihazı: Nüve NM 100 (Türkiye)

3.4.3.Kullanılan Kit

1. Elabscience VEGF-A ELISA Kiti Katalog no: E-EL-H0111 (Wuhan, Çin)
2. Elabscience HIF-1 ELISA Kiti Katalog no: E-EL-H6066 (Wuhan, Çin)
3. Elabscience IGF-1 ELISA Kiti Katalog no: E-EL-H0086 (Wuhan, Çin)

3.4.4.IGF-1 Çalışma Prensibi:

Serum IGF-1 seviyesinin kantitatif ölçümü enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile ticari kit (Elabscience, Wuhan, China) kullanılarak yapılmıştır. Kit 7 standart içermektedir (1,56 ng/ml, 3,13 ng/ml, 6,25 ng/ml, 12,5 ng/ml, 25 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml). Tüm standartlar duplike çalışılarak bu konsantrasyonlara karşılık gelen optik dansite verileri alındı. Prosedür sonunda standartların optik dansite- konsantrasyon grafiği çizilerek tüm numunelerin konsantrasyonları bu grafikten yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar ng/ml olarak ifade edildi. Kitin duyarlılığı 0.94 ng/ml, saptama aralığı 1,56-100 ng/ml idi.

3.4.5.VEGF-A Çalışma Prensibi:

Serum VEGF-A seviyesinin kantitatif ölçümü enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile ticari kit (Elabscience, Wuhan, China) kullanılarak yapılmıştır. Kit 7 standart içermektedir (31,25 pg/ml, 62,5 pg/ml, 125 pg/ml, 250 pg/ml, 500 pg/ml, 1000 pg/ml, 2000 pg/ml). Tüm standartlar duplike çalışılarak bu konsantrasyonlara karşılık gelen optik dansite verileri alındı. Prosedür sonunda standartların optik dansite- konsantrasyon grafiği çizilerek tüm numunelerin konsantrasyonları bu grafikten yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar pg/ml olarak ifade edildi. Kitin duyarlılığı 18 pg/ml, saptama aralığı 31,5-2000 pg/ml idi.

3.4.6.HIF-1 Çalışma Prensibi:

Serum HIF-1 seviyesinin kantitatif ölçümü enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile ticari kit (Elabscience, Wuhan, China) kullanılarak yapılmıştır. Kit 7 standart içermektedir (62,5 pg/ml, 125 pg/ml, 250 pg/ml, 500 pg/ml, 1000 pg/ml, 2000 pg/ml, 4000 pg/ml). Tüm standartlar duplike çalışılarak bu konsantrasyonlara karşılık gelen optik dansite verileri alındı. Prosedür sonunda standartların optik dansite- konsantrasyon grafiği çizilerek tüm numunelerin konsantrasyonları bu grafikten yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar pg/ml olarak ifade edildi. Kitin duyarlılığı 37,5 pg/ml, saptama aralığı 62,5-4000 pg/ml idi.

3.5 İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences) paket programı kullanılarak incelenmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun analizi için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama, standart sapma ve yüzde olarak sunuldu. OSB ve kontrol grubu arasındaki kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare Testi ve Fisher's Exact Test kullanılmıştır. Ortalama ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında iki bağımsız grup arasında dağılımların normal olduğu verilerde Bağımsız Gruplar t-testi,

dağılımların normal olmadığı verilerde ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen IGF-1 düzeyleri parametrik analiz için logaritmik transforme edildi. Çoklu testlerden kaçınmak için aşamalı veri analizi yapıldı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunan ve/veya biyokimyasal parametreleri etkileyebileceği düşünülen yaş, cinsiyet ve BMI persentili parametreleri kovaryant olarak alınıp OSB ve kontrol grubunun serum VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri ve log-IGF-1 düzeyleri MANCOVA testi ile karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki biyokimyasal parametre farklılıkları cinsiyet açısından da değerlendirildi. Erkek cinsiyette OSB ve kontrol grubunda serum IGF-1 düzeyleri arasında farklılık saptanması üzerine, yaş ve BMI persentili kovaryant olarak alınıp serum VEGF-A, HIF-1 α ve log-IGF düzeyleri erkek cinsiyette de MANCOVA testi ile karşılaştırıldı. Ayrıca biyokimyasal parametreler ile sosyodemografik ve klinik değişkenler arasındaki korelasyona bakılmış ve Spearman korelasyon testi yapılmıştır. Analizlerde %95 güven aralığında anlamlılık değeri $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen OSB tanılı çocukların (n=40) cinsiyet dağılımları %92.5 (n=37) erkek ve %7.5 (n=3) kız olarak saptanmış olup, yaş ortalaması 83.75 ± 30.95 ay bulunmuştur. Kontrol grubu çocukların (n=40) cinsiyet dağılımları %92.5 (n=37) erkek ve %7.5 (n=3) kız olarak saptanmış olup, yaş ortalaması 93.47 ± 24.65 ay tespit edilmiştir. Tablo 2'de grupların sosyodemografik özellikleri verilmiş olup gruplar arasında yaş, cinsiyet, ebeveyn yaşı, baba-anne yaş farkı, ebeveyn eğitim süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 2. OSB ve Kontrol Grubunun Sosyodemografik Özelliklerinin Karşılaştırılması						
Değişkenler	OSB (n=40)		Kontrol (n=40)		İstatistiksel Analiz	
	n	%	n	%	p	
Kız/Erkek	3/37	7.5/92.5	3/37	7.5/92.5	1.0 ^a	
	Ortalama ± SS		Ortalama ± SS		t	p
Yaş (ay)	83.75±30.95		93.47±24.65		-1.554	0.124 ^b
Anne Yaş (yıl)	36.50±5.09		37.30±6.76		-0.598	0.552 ^b
Baba Yaş (yıl)	39.52±6.16		40.85±7.52		-0.862	0.392 ^b
Baba-Anne Yaş Farkı (yıl)	3.02±4.06		3.55±3.44		-0.624	0.535 ^b
Anne Eğitim (yıl)	9.57±4.46		9.15±4.13		0.442	0.660 ^b
Baba Eğitim (yıl)	10.82±4.21		11.25±3.46		-0.493	0.623 ^b
^a Fisher's Exact Test ^b Student's t Test SS:Standart Sapma						

Tablo 3’te grupların sosyodemografik ve klinik özellikleri verilmiş olup gruplar arasında doğum şekli, toplam kardeş sayısı, ailenin kaçınıcı çocuğu olduğu, ailenin aylık maddi geliri, anne ve babalarında halihazırda psikiyatrik tedavi alma, anne-babanın birliktelik durumu, aile yapısı, yerleşim yeri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). Örneklemimize dahil edilen çocuklardan hiçbirisinin forseps ya da vakum kullanımı gibi zor doğum öyküsü bulunmamaktadır. Örneklemimize dahil edilen çocukların anne-baba birliktelik durumunda, ebeveynlerin ayrı yaşaması ya da anne ya da babadan birinin vefatı durumlarına rastlanmamıştır. Gruplar doğum zamanı bakımından değerlendirildiğinde gruplar arasında doğum zamanı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, preterm doğum OSB grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir ($p=0.029$). Örneklemimize dahil edilen hiçbir çocuğun postterm doğum öyküsü yoktur. OSB ve kontrol grubu çocuklar, kelime söyleme, cümle kurma, ilaç kullanımı açısından kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (sırasıyla, $p=0.012$; $p < 0.001$; $p < 0.001$).

Tablo 3. OSB ve Kontrol Grubunun Sosyodemografik ve Klinik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Değişkenler		OSB (n=40)	Kontrol (n=40)	İstatistiksel Analiz p
Doğum Zamanı	Term	32	39	0.029 ^a
	Preterm	8	1	
Doğum Şekli	Normal	11	13	0.626 ^b
	Sezaryen	29	27	
Kelime	Var	33	40	0.012 ^a
	Yok	7	0	
Cümle Kurma	Var	25	40	< 0.001 ^b
	Yok	15	0	
İlaç Kullanımı	Var	19	0	< 0.001 ^b
	Yok	21	40	
Kardeş Sayısı (Toplam)	1	7	2	0.378 ^b
	2	21	23	
	3	10	12	
	4	2	3	
Kaçınıcı Çocuk	1	14	11	0.335 ^b
	2	15	21	
	3	11	7	
	4	0	1	
Ailenin Maddi Geliri (Aylık)	1600 ve altı	2	3	0,411 ^b
	1600-2500	13	19	
	2500-4000	15	8	
	4000-6000	5	3	
	6000-10000	5	6	
	10000 ve üzeri	0	1	
Annede Psikiyatrik Tedavi	Var	5	5	1 ^b
	Yok	35	35	
Babada Psikiyatrik Tedavi	Var	1	4	0.359 ^a
	Yok	39	36	
Anne Baba Birliktelik	Evli	35	40	0.055 ^a
	Boşanmış	5	0	
Ailenin Yapısı	Çekirdek	32	36	0,095 ^b
	Geniş	3	4	
	Tek ebeveynli	5	0	
Yerleşim Yeri	İl	20	19	0.821 ^b
	İlçe	15	14	
	Köy/kasaba	5	7	

^a Fisher's Exact Test ^b Pearson's Ki Kare

OSB grubu olguların öğrenim durumu değerlendirildiğinde OSB tanılı olguların %85'inin (n=34) özel eğitime, %15'inin (n=6) OÇEM'e, %20'sinin (n=8) özel alt sınıfa, %15'inin (n=6) kaynaştırma eğitimine, %20'sinin (n=8) kreşe, %7.5'inin (n=3) örgün eğitime devam ettiği, %7.5'inin (n=3) herhangi bir eğitim kurumuna gitmediği saptanmıştır. OSB grubu çocukların %82.5'inin (n=33) kelimesinin olduğu, %62.5'inin (n=25) cümle kurduğu tespit edilmiştir. Otizmlili çocuklar ilaç kullanımı açısından incelendiğinde %47.5'inin (n=19) ilaç kullandığı bulunmuştur.

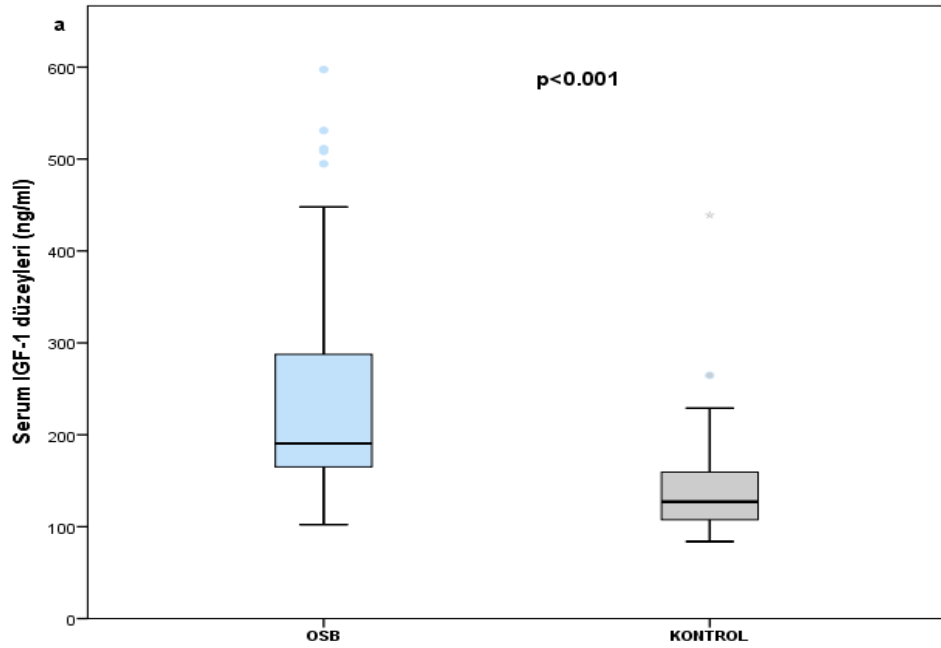
OSB grubu çocukların otizm belirtilerinin ilk fark edildiği yaş ortalaması 29.33 $\pm$ 11.93 ay otizm tanısının ilk konulduğu yaş ortalaması ise 42.72 $\pm$ 19.32 ay olarak saptanmıştır.

Ortalama serum IGF-1 düzeyleri OSB grubunda 250.1 $\pm$ 131.5 ng/ml ve kontrol grubunda 141.9 $\pm$ 62.36 ng/ml olarak, ortalama serum VEGF-A düzeyleri OSB grubunda 65.57 $\pm$ 18.22 pg/ml ve kontrol grubunda 64.05 $\pm$ 17.36 pg/ml olarak, ortalama serum HIF-1 α düzeyleri OSB grubunda 100.1 $\pm$ 42.66 pg/ml ve kontrol grubunda ise 118.1 $\pm$ 58.50 pg/ml olarak tespit edildi. Her iki grubun IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri karşılaştırıldığında, OSB grubunda kontrol grubuna göre IGF-1 düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (z = -5.273, p < 0.001) (Şekil 1, Tablo 4). Ancak VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri açısından OSB grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (sırasıyla, t=0.381, p=0.704; t= -1.573, p= 0.120) (sırasıyla, Şekil 2, Şekil 3, Tablo 4).

Tablo 4. OSB ve Kontrol Grubunun Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α Düzeyleri

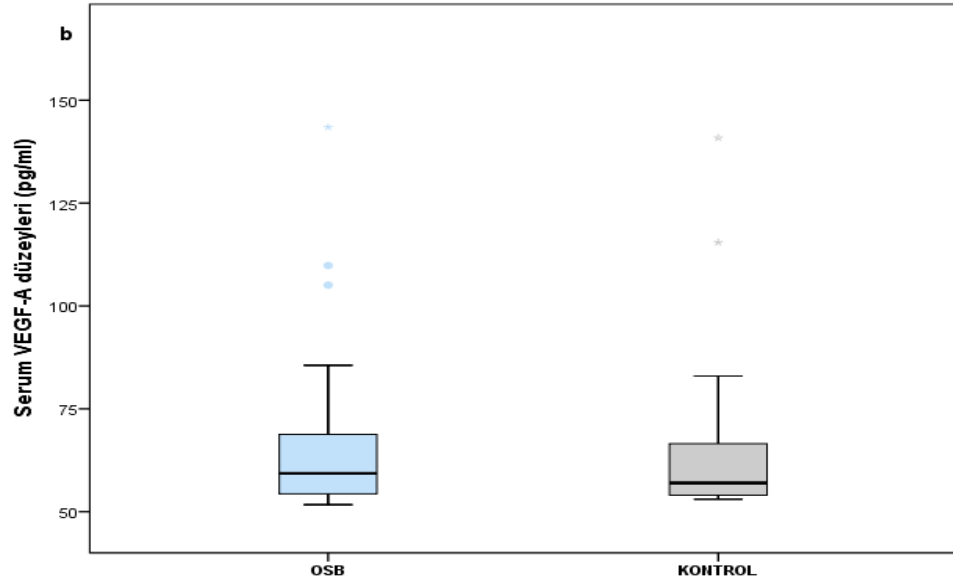
Değişkenler	OSB (n=40)	Kontrol (n=40)	İstatistiksel Analiz	
	Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS	t/z	p
IGF-1	250.1 $\pm$ 131.5	141.9 $\pm$ 62.36	-5.273 ^a	<0.001 ^a
VEGF-A	65.57 $\pm$ 18.22	64.05 $\pm$ 17.36	0.381 ^b	0.704 ^b
HIF-1 α	100.1 $\pm$ 42.66	118.1 $\pm$ 58.50	-1.573 ^b	0.120 ^b

^aMann-Whitney U test ^bStudent's t test
SS:Standart Sapma



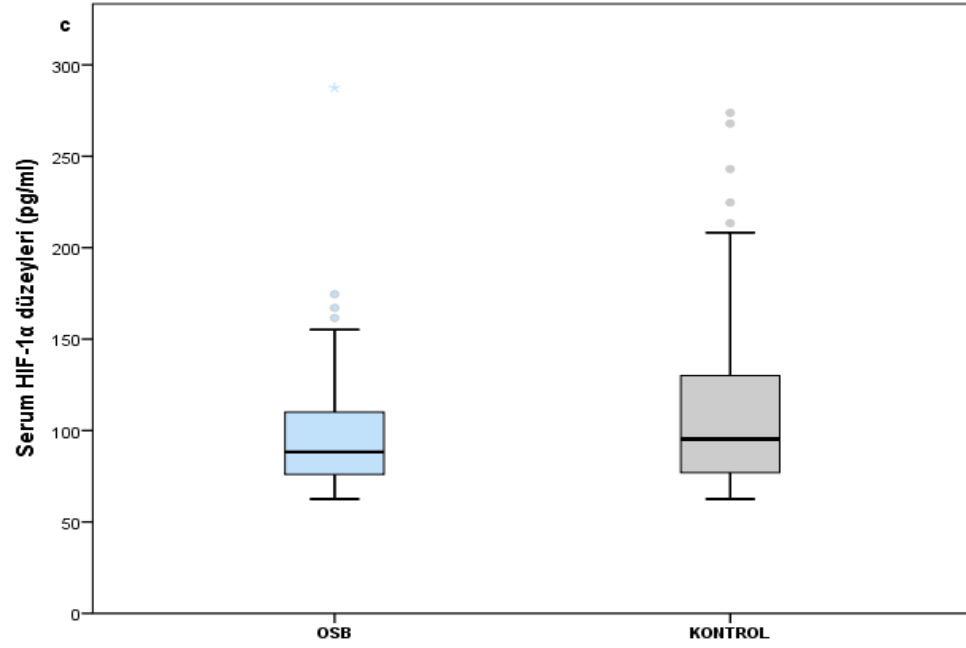
Mann-Whitney U test

Şekil 1. OSB ve Kontrol Grubunun Serum IGF-1 Düzeyleri



Student's t test

Şekil 2. OSB ve Kontrol Grubunun Serum VEGF-A Düzeyleri



Student's t test

Şekil 3. OSB ve Kontrol Grubunun Serum HIF-1α Düzeyleri

IGF-1 değerleri pozitif eğimli olduğundan dolayı logaritmik dönüşüm uygulandı. Kolmogorov-Smirnov testi yapılarak normal dağılım doğrulandı. Grup karşılaştırmaları IGF-1 logaritmik değerleri ile yapıldı. Grupların serum log-IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri yaşı, cinsiyet ve BMI persentili kovaryant olarak alınıp MANCOVA testi ile karşılaştırıldı. MANCOVA testi sonucunda gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı (Pillai's trace V=0.364, F(3,73) = 13.941, p <0.001, η_p^2 = 0.364). Sonuç değişkenleri üzerine ayrı ayrı tek değişkenliği ANCOVA yapıldığında serum log-IGF-1 düzeyleri açısından çalışma grupları arasında anlamlı farklılık saptandı (F(1,75) = 34.970, p<0.001, η_p^2 = 0.318). Serum HIF-1 α düzeyleri açısından çalışma grupları arasında anlamlılık eğilimi tespit edilirken (F(1,75) = 3.933, p = 0.051, η_p^2 = 0.050), serum VEGF-A düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (F(1,75) = 0.753, p = 0.388, η_p^2 = 0.010) (Tablo 5).

Tablo 5. OSB ve Kontrol Grubunun Serum IGF-1,VEGF-A ve HIF-1 α Düzeyleri							
	OSB (n=40)	Kontrol (n=40)	İstatistiksel Analiz				
					ANCOVA ^c		
			t/z	p	F(1,75)	p	η_p^2
IGF-1* (ng/ml)	250.1±131.5	141.9±62.36	-5.273 ^a	<0.001 ^a	34.970	<0.001	0.318
VEGF-A (pg/ml)	65.57±18.22	64.05±17.36	0.381 ^b	0.704 ^b	0.753	0.388	0.010
HIF-1α (pg/ml)	100.1±42.66	118.1±58.50	-1.573 ^b	0.120 ^b	3.933	0.051	0.050
^a Mann-Whitney U test ^b Student's t test SS:Standart Sapma ^c ANCOVA analizinde kovaryant olarak yaşı, cinsiyet ve BMI persentili kullanılmıştır. *Serum IGF-1 düzeyleri ANCOVA analizi öncesi log-tranforme edilmiştir.							

CARS toplam ve SDKL alt ölçek puan ortalamaları OSB grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$) (Tablo 6).

Tablo 6. OSB ve Kontrol Grubunun Ölçek Puanlarının Karşılaştırması				
Değişkenler	OSB (n=40)	Kontrol (n=40)	İstatistiksel Analiz	
			z	p
CARS toplam	41.02±7.01	15.27±0.45	-7.841	<0.001
SDKL irritabilite	13.32±8.89	3.72±4.31	-5.072	<0.001
SDKL letarji	11.70±7.27	1.67±2.96	-6.498	<0.001
SDKL stereotipi	6.32±4.25	0.45±0.78	-6.756	<0.001
SDKL hiperaktivite	19.32±11.09	3.42±4.50	-6.478	<0.001
SDKL uyg konuşma	3.15±2.93	0.75±1.12	-4.344	<0.001
Mann-Whitney U test				

Çalışmaya alınan OSB tanılı olgularda serum IGF-1 düzeyleri ile yaş (Spearman korelasyon: $r=0.314$, $p=0.048$) arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. Serum VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri ile yaş, cinsiyet, BMI persentil arasında ve serum IGF-1 düzeyleri ile cinsiyet, BMI persentil arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir (Tablo 7).

Tablo 7. OSB Tanılı Çocukların Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri ile Yaş, Cinsiyet ve BMI Persentili Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

	İstatistiksel Analiz	IGF-1	VEGF-A	HIF-1 α
Yaş	r	0.314	-0.187	-0.069
	p	0.048	0.249	0.671
BMI persentil	r	0.209	-0.125	-0.084
	p	0.196	0.440	0.605
Cinsiyet	r	0.177	-0.074	0.070
	p	0.275	0.650	0.668
Spearman Korelasyon Analizi				

Çalışmaya alınan OSB tanılı olgularda serum IGF-1, VEGF-A, HIF-1 α düzeyleri ve CARS toplam puan, SDKL alt ölçek puanları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, serum IGF-1, VEGF-A, HIF-1 α düzeyleri ve CARS toplam puan, SDKL alt ölçek puanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (Tablo 8).

Tablo 8. OSB Tanılı Çocukların Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri ile CARS Toplam Puanı ve SDKL Alt Ölçek Puanları Arasındaki İlişki

	İstatistiksel Analiz	CARS toplam	SDKL irritabl.	SDKL letarji	SDKL stereotipi	SDKL hiperakt.	SDKL uyg.konuş.
IGF-1	r	0.011	0.044	-0.049	-0.148	-0.198	-0.229
	p	0.947	0.786	0.763	0.362	0.221	0,154
VEGF-A	r	-0.067	-0.220	-0.097	0.026	0.005	0.019
	p	0.681	0.172	0.550	0.872	0.974	0.906
HIF-1α	r	0.136	0.279	0.188	0.231	0.298	0.024
	p	0.403	0.081	0.244	0.151	0.062	0.885

Spearman Korelasyon Analizi

OSB grubu erkek çocukların yaş ortalaması 82.24 ± 29.73 ay, kontrol grubu erkek çocukların yaş ortalaması 92.75 ± 25.47 ay olarak saptanmış olup gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($t = -1.633$, $p = 0.107$). Erkek çocukların BMI persentilinin OSB grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($z = -2.654$, $p = 0.008$). CARS toplam ve SDKL alt ölçek puan ortalamaları OSB grubu erkek çocuklarda kontrol grubu erkek çocuklara göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (sırasıyla; $p < 0.001$, $p < 0.001$) (Tablo 9).

Tablo 9. OSB ve Kontrol Grubu Erkek Çocukların Yaş, BMI Persentil ve Ölçek Puanlarının Karşılaştırılması

Değişkenler	OSB (n=37)	Kontrol (n=37)	İstatistiksel Analiz	
			t/z	P
Yaş (ay)	82.24±29.73	92.75±25.47	-1.633 ^b	0.107 ^b
BMI persentil	67.65±32.22	47.22±39.45	-2.654 ^a	0.008^a
CARS toplam	41.53±6.97	15.27±0.46	-7.552 ^a	<0.001^a
SDKL irritabl.	13.91±8.94	3.62±4.46	-5.050 ^a	<0.001^a
SDKL letarji	12.13±7.37	1.75±3.06	-6.212 ^a	<0.001^a
SDKL stereotipi	6.62±4.27	0.45±0.80	-6.489 ^a	<0.001^a
SDKL hiperakt.	20.18±10.99	3.48±4.67	-6.337 ^a	<0.001^a
SDKL uyg.konuş.	3.18±3.02	0.75±1.16	-4.076 ^a	<0.001^a
^a Mann-Whitney U test ^b Student's t test				

Erkek çocuklarda serum IGF-1 düzeyleri OSB grubunda 244.1±129.1 ng/ml ve kontrol grubunda 131.8±37.99 ng/ml, serum VEGF-A düzeyleri OSB grubunda 66.17±18.82 pg/ml ve kontrol grubunda 64.04±17.92 pg/ml, serum HIF-1 α düzeyleri ise OSB grubunda 100.4±44.16 pg/ml ve kontrol grubunda 117.8±59.22 olarak tespit edilmiştir. Her iki grubun serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeylerinin ortalaması karşılaştırıldığında serum VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken (sırasıyla, t= 0.500, p= 0,619; t= -1.433, p=0.156), serum IGF-1 düzeyleri OSB grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (z= -5.368, p<0.001) (Tablo 10).

Erkek çocuklarda IGF-1 değerleri pozitif eğimli olduğundan dolayı logaritmik dönüşüm uygulandı. Kolmogorov-Smirnov testi yapılarak normal dağılım doğrulandı. Grup karşılaştırmaları IGF-1 logaritmik değerleri ile yapıldı. Grupların serum log-IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri yaş ve BMI persentili kovaryant olarak alınıp MANCOVA testi ile karşılaştırıldı. MANCOVA testi sonucunda gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı (Pillai's trace $V=0.385$, $F(3,68) = 14.189$, $p<0.001$ $\eta_p^2=0.385$). Sonuç değişkenleri üzerine ayrı ayrı tek değişkenliği ANCOVA yapıldığında serum log-IGF-1 düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı [$F(1,70) = 36.490$, $p<0.001$, $\eta_p^2 = 0.343$]. Ancak serum VEGF-A düzeyleri [$F(1,70) = 0.849$, $p = 0.360$, $\eta_p^2 = 0.012$] ve HIF-1 α düzeyleri [$F(1,70) = 3.484$, $p = 0.066$, $\eta_p^2 = 0.047$] açısından çalışma grupları arasında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 10).

Tablo 10. OSB ve Kontrol Grubu Erkek Çocukların Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α Düzeyleri

	OSB (n=37)	Kontrol (n=37)	İstatistiksel Analiz				
					ANCOVA ^c		
			t/z	p	F(1,70)	p	η_p^2
IGF-1* (ng/ml)	244.1 $\pm$ 129.1	131.8 $\pm$ 37.99	-5.368 ^a	<0.001 ^a	36.490	<0.001	0.343
VEGF-A (pg/ml)	66.17 $\pm$ 18.82	64.04 $\pm$ 17.92	0.500 ^b	0.619 ^b	0.849	0.360	0.012
HIF-1α (pg/ml)	100.4 $\pm$ 44.16	117.8 $\pm$ 59.22	-1.433 ^b	0.156 ^b	3.484	0.066	0.047

^a Mann-Whitney U test ^b Student's t test
SS: Standart Sapma

^c ANCOVA analizinde kovaryant olarak yaş ve BMI persentili kullanılmıştır.

*Serum IGF-1 düzeyleri ANCOVA analizi öncesi log-tranforme edilmiştir.

Çalışmaya alınan OSB tanılı erkek olgularda serum IGF-1, VEGF-A, HIF-1 α düzeyleri ve yaş, BMI persentili, CARS toplam puan, SDKL alt ölçek puanları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, serum HIF-1 α düzeyleri ve SDKL irritabilite ve hiperaktivite alt ölçek puanları arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur (sırasıyla; $r=0.331, p=0.045$; $r=0.332, p=0.045$) (Tablo 11).

Tablo 11. OSB Tanılı Erkek Çocukların Serum IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeyleri ile Yaş, BMI persentili, CARS Toplam Puanı ve SDKL Alt Ölçek Puanları Arasındaki İlişki

	İstatistiksel Analiz	Yaş	BMI persentili	CARS toplam	SDKL irritabl.	SDKL letarji	SDKL stereotipi	SDKL hiperakt.	SDKL uyg.konuş
IGF-1	r	0.235	0.254	0.111	0.098	0.026	-0.133	-0.117	-0.229
	p	0.161	0.130	0.513	0.565	0.877	0.433	0.490	0.174
VEGF-A	r	-0.180	-0.133	-0.100	-0.263	-0.140	-0.022	-0.025	0.007
	p	0.288	0.432	0.556	0.115	0.409	0.895	0.885	0.967
HIF-1α	r	-0.019	-0.098	0.145	0.331	0.229	0.274	0.332	0.012
	p	0.909	0.564	0.391	0.045	0.174	0.101	0.045	0.942

Spearman Korelasyon Analizi

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada OSB tanılı bireylerde VEGF, IGF-1 ve HIF-1 α düzeylerinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırılarak, farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesi ve OSB tanılı bireylerde otizm şiddeti ve otizmle sık birliktelik gösteren davranışsal sorunların şiddeti ile bu biyokimyasal parametrelerin arasında herhangi bir ilişki bulunup bulunmadığının incelenmesi amaçlanmıştır. OSB tanılı çocuklarda sağlıklı kontrol grubuna göre serum IGF-1 düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Serum HIF-1 α düzeyleri OSB grubunda düşük olup istatistiksel olarak sınırda anlamlılık düzeyinde bir fark bulunmuştur. Buna karşın serum VEGF-A düzeyleri açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Ayrıca serum VEGF-A, IGF-1 ve HIF-1 α düzeyleri ile klinik parametreler arasında da anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

IGF-I'in merkezi sinir sisteminde önemli rolleri vardır. Nöral hücre çoğalması, farklılaşması ve hayatta kalması dahil olmak üzere beyin gelişiminin birçok aşaması üzerinde etkilidir (220). Literatür incelendiğinde otizmde kan, BOS, korteks ve idrarda IGF-1 düzeyini inceleyen çeşitli çalışmalar (22–27) olduğu ve sonuçlar arasında tutarsızlıklar olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda OSB tanılı grupta serum IGF-1 seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek tespit edilmiştir. Çalışmamızla benzer şekilde, Mills ve arkadaşları da yaptığı çalışmada OSB ve kontrol grubunun plazma IGF-1 düzeylerini karşılaştırmış, OSB grubunda IGF-1 düzeylerini kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek saptamışlardır (25). Otizm tanılı bireylerin beyin dokularının ve BOS'un incelendiği bir diğer araştırmada da, otizm tanılı grup ve kontrol grubu arasında orta frontal girus ve serebellum IGF-1 düzeylerinde anlamlı farklılık olmadığı, ancak otizm tanılı grupta anterior singulat girusta IGF-1 düzeylerinde kontrollere göre artış saptandığı gösterilmiştir (26). Buna karşın, yakın zamanda yapılan postmortem bir çalışmada otizm grubuyla kontrol grubunun fuziform girus dokularında IGF-1 protein ve IGF-1 mRNA seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (27). Vanhala ve arkadaşlarının, otizm tanılı hastalarla kontrol grubunun beyin omurilik sıvılarında IGF-1 konsantrasyonlarını karşılaştırdığı çalışmasında ise otizm tanılı hastalarda BOS IGF-1 konsantrasyonu kontrol grubundan düşük bulunmuştur. Ancak bu çalışmada kontrol grubunun çeşitli nörolojik hastalıkları ve şikayetleri olan çocuklardan

oluşturulmuş olması en önemli kısıtlılıktır (22). BOS IGF-1 konsantrasyonlarının incelendiği bir diğer çalışmada, otizm grubunun ortalama BOS IGF-1 konsantrasyonu kontrol grubundan düşük bulunmuştur. Bu çalışmada, post hoc analiz sonucu 5 yaş altı otizm tanılı çocukların ortalama BOS IGF-1 konsantrasyonunun, yaş olarak eşleştirilmiş kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşük olduğu, ancak 5 yaş ve üzeri otizm tanılı çocukların ortalama BOS IGF-1 konsantrasyonu ile kontrol grubu arasında farklılık olmadığı gösterilmiştir (23). Aynı şekilde Vanhala ve arkadaşlarının otizm tanılı çocuklarda BOS IGF-1 konsantrasyonunu kontrollerden düşük bulduğu çalışmasında da, otizm grubunun erken yaş çocuklardan oluştuğu görülmektedir (22). Ancak bu çalışmalarda tespit edilen düşük BOS IGF-1 konsantrasyonunun beyin gelişim aşamalarıyla olan ilişkisi belirsizdir (23). Yapılan bir diğer çalışmada OSB tanısı almış 2-5 yaşları arası çocuklarda üriner IGF-1 atılımı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada CARS skorları ile değerlendirilen otistik özelliklerin ciddiyeti veya türü ile IGF-1 düzeyleri korelasyon göstermemiştir (24). Bizim çalışmamızda da CARS skorları ile IGF-1 düzeyleri arasında korelasyon bulunamamıştır. Anlar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada üriner IGF-1 atılımı OSB'li çocuklarda düşük bulunmuştur (24), bu sonuçtan yola çıkarak otizmde IGF-1 eliminasyonunun azalmasının, kan IGF-1 düzeylerindeki artışın nedenlerinden biri olabileceği düşünülebilir. Ayrıca hormonal, genetik ve çevresel pek çok faktör (büyüme hormonu, insülin tiroid hormonları, beslenme, egzersiz, yaş gibi), serum IGF-1 düzeylerini etkilemektedir (169). Çeşitli çalışmalarda psikofarmakolojik tedavi sonrası IGF-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (221,222). Bizim çalışmamızda da vakaların %47,5'i ilaç kullanmakta, %85'i ise özel eğitim almaktadır. Bu müdahalelerin de serum IGF-1 düzeylerinde artışa yol açabileceği düşünülmüştür. OSB patofizyolojisinde beyaz cevher ve miyelin anormalliklerinin olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (223–226). IGF-1'in miyelinasyondaki önemli rolleri (21) göz önüne alındığında OSB tanılı grupta yüksek serum IGF-1 düzeylerinin, beyaz cevher ve miyelin anormallikleri için telafi edici bir mekanizma olabileceği düşünülmüştür. Hücre sağ kalımı üzerindeki etkileri (227,228) düşünüldüğünde otizm tanılı çocuklarda kompensatuar bir cevap olarak IGF-1 artmış olabilir. Ayrıca çalışmalar arasındaki metodolojik farklılıkların (serum, BOS, beyin dokusu çalışılması) bulunması ve OSB'nin heterojen bir bozukluk olması da IGF-1 düzeylerinin çalışmalar arasında farklılık göstermesine neden olmuş olabilir.

VEGF, vaskülogenezi, anjiyogenezi ve vasküler fonksiyonu etkileyen güçlü bir büyüme faktörüdür (5). Ek olarak VEGF'nin, merkezi sinir sisteminde nöroproteksiyon ve nörogenez ile ilgili önemli fonksiyonları olduğu bildirilmiştir (127,132). Literatürde OSB ile VEGF arasındaki ilişkiyi inceleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ağır otizmi olan (CARS skoru >40) erişkin hastalarla yapılan bir çalışmada, otizm tanılı bireylerde kontrollere kıyasla daha düşük VEGF düzeyleri saptanmıştır. Ayrıca çalışmada incelenen anjiyojenik faktörlerin serum seviyeleri ile CARS dahil klinik değişkenler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (10). Şizofreni, Bipolar Bozukluk, Duygudurum Bozukluğu, OSB ve DEHB tanısı alan olgularla doğum yılları eşleştirilmiş kontrol grubunun yenidoğan döneminde alınan kanlarının incelendiği çalışmada, otizm tanılı olgularda VEGF-A konsantrasyonlarında azalmaya yönelik bir eğilim olduğu gösterilmiştir (11). Rett Sendromu ve otizm tanılı hastalarla yapılan bir çalışmada, serum VEGF konsantrasyonları otizm tanılı bireylerde Rett Sendromu tanılı olgulara göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Otizm ve Rett Sendromu tanılı hastalarda VEGF konsantrasyonlarında gözlenen bu farklılığın, gelecekte iki bozukluk arasında ayırım yapmak için yararlı bir tarama ve tanı aracı olabileceği öne sürülmüştür. Ancak aynı çalışmada otizm grubuyla kontrol grubunun serum VEGF konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (12). Yapılan bir başka araştırmada otizm tanılı grup ile kontrol grubu arasında kan plazma VEGF düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği bulunmuştur (13). Aynı şekilde Kajizuka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da otizm tanılı hastalarla kontrol grubunun serum VEGF seviyeleri benzer tespit edilmiştir (14). Çalışmamızın sonuçları, OSB ve VEGF arasında ilişkinin gösterilemediği bu literatür bilgileri ile uyumludur. Ancak serum VEGF konsantrasyonlarının merkezi sinir sistemindeki VEGF seviyelerini yansıtmıyorsa belirsizdir. OSB tanılı 144 çocuğun dahil edildiği bir çalışmada düşük plazma VEGF seviyelerinin kızlarda daha yüksek OSB şiddeti ile ilişkili olduğu saptanmış, ancak bu ilişki OSB tanılı erkek olgularda gösterilmemiştir. Ayrıca bu çalışmada, OSB tanılı erkeklerde ve kızlarda VEGF seviyeleri ile yaş arasında bir ilişki bulunmamıştır (15). Çalışmamızda da otizm grubunda serum VEGF-A düzeyleri ile yaş, cinsiyet ve CARS toplam puanı arasında bir ilişki tespit edilmemiştir. Bu bulgu

serum VEGF-A düzeylerinin hem OSB tanısı hem de OSB belirti şiddeti açısından yordayıcı olmayabileceğini düşündürmüştür.

HIF-1, çok sayıda gelişimsel ve fizyolojik süreçte kritik rol oynayan, oksijen homeostazının ana düzenleyicisidir (229). Hipoksik şartlarda anjiyogenez, vasküler tonüs, glikoliz, mitokondriyal fonksiyon ve hücrenin hayatta kalmasından sorumlu bir dizi geni transkripte eder (181–184). HIF-1'in hipoksik hücrelerde transkripsiyonunu aktive ettiği genlerden birisi de VEGF genidir (30). OSB ve VEGF ilişkisini gösteren çalışmalara yukarıda değinilmiş olup, VEGF ve HIF-1 α arasındaki ilişki dikkate alındığında, HIF-1 α 'nın da otizm etyopatogenezinde yer alabileceği düşünülebilir. Artan kanıtlar, HIF-1'in inflamasyon, iskemik hastalıklar, kanser ve duygudurum bozuklukları ile ilgili olduğunu göstermektedir (206–209). Shibata ve arkadaşlarının majör depresif bozukluk (MDB) ve bipolar bozukluk tanılı olguların periferik kan hücrelerinde HIF-1 (α ve β) mRNA ekspresyon düzeylerini inceledikleri çalışmada, MDB ve depresif dönemdeki bipolar bozukluk tanılı hastalarda kontrol grubuna kıyasla artmış HIF-1 α ve HIF-1 β mRNA ekspresyonu saptamışlardır. Remisyonadaki MDB hastalarında ise sadece HIF-1 α mRNA ekspresyonunda kontrollere göre artış tespit etmişlerdir (209). Bizim bilgimize göre, HIF-1 α düzeylerini otizm tanılı bireylerde inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çeşitli çalışmalar hipoksi ve iskeminin, OSB ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (31,113). Kolevzon ve ark. epidemiyolojik kanıtlara dayanarak, yenidoğan veya fetal hipoksinin OSB etiyolojisinde rolü olabileceğini ileri sürmüştür (31). Yapılan bir çalışmada, yenidoğan ensefalopatisi (YE) geçirmiş 239 çocuk incelenmiş ve bu çocukların %5'inde OSB tanısı saptanmıştır. Bu oran yenidoğan ensefalopatisi geçirmeyen 563 çocuktaki otizm sıklığına (~%0.9) göre yaklaşık 6 kat artmış riski ifade etmektedir (210). YE ve OSB için ortak risk faktörlerinin bulunmasından dolayı, OSB ve YE arasındaki ilişki biyolojik olarak akla yatkın bulunmuştur (210). Başka bir çalışmada da hafif hipoksik-iskemik ensefalopati geçiren 18-22 aylık 43 bebekten %5'ine OSB tanısı konulmuştur (230). Hafif perinatal hipoksiye maruz kalan yavru sıçanlarda prefrontal korteks, hipokampus ve kan örneklerinde IL-6 ve IL-1 β mRNA ve protein seviyesinde artış saptanmıştır. Aynı zamanda bu yavrularda sosyal defisitler olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada moleküler ve davranışsal değişikliklerin doğum sonrası 25. ve 30. günlerde değerlendirildiği, bu aşamadaki sıçan beyninin, insanlarda 4-11 yıllık beyin gelişimine

karşılık geldiği bildirilmiştir. Perinatal hipoksik-iskemik maruziyetin süregelen proinflatuar duruma yol açtığı gösterilmiştir (231). Hipoksi dışında, HIF-1 kompleksini normoksi şartlarında aktive eden bir dizi hipoksik olmayan uyaran olduğu gösterilmiştir (33–41). Proinflatuar sitokinler TNF- α ve IL-1 β 'nın, HIF-1 α 'nın birikmesini ve transkripsiyonel aktivitesini arttırdığı saptanmıştır (42–44). Otizmin etiyolojine yönelik yapılan immünolojik çalışmalarda otizm tanılı bireylerde sitokin profilinde değişikliklerin ve düzensizliklerin olduğu tespit edilmiştir (45–47). OSB tanılı olgularda TNF- α (47,232) ve IL-1 β 'nın (233,234) düzeylerinde artış saptanan sitokinlerden olduğu göz önüne alındığında, HIF-1 α düzeylerinin otizm etiyolojisinde rolü olabileceği düşünülebilir.

HIF-1'in aktivasyonunu indükleyebilen bir diğer uyaranın IGF-1 olduğu saptanmıştır. Ratlarla yapılan çalışmada kardiyak arrest ve resüsitasyondan sonra serebral kortekste IGF-1 gen ekspresyonunun upregüle edildiği saptanmıştır. Geçici global iskemiden sonra, gecikmiş beyin IGF-1 indüksiyonunun HIF-1 α birikimi ile geçici olarak ilişkili olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada ratlarda IGF-1'in periferik ve intraserebroventriküler infüzyonunun beyinde HIF-1 α birikmesine neden olduğu gösterilmiştir (235). Bu bilgiye göre artmış IGF-1 düzeylerinin HIF-1 α düzeylerini arttırması beklenmektedir, ancak çalışmamızın sonucu bu durumu desteklememektedir. Bizim çalışmamızda OSB tanılı olgularda serum IGF-1 düzeyleri kontrol grubundan yüksek bulunmasına rağmen, serum HIF-1 α düzeyleri OSB grubunda kontrollere göre düşük olup, anlamlıya yakın bir farklılık tespit edilmiştir. Bu durumun sebebi çalışmamızda HIF-1 α düzeylerinin beyinde ölçülmemesi, serumda ölçülmesi olabilir. Ayrıca olguların normoksik durumda olması da bu sonucu vermiş olabilir. HIF-1 α ve OSB ilişkisini değerlendirmek için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın kesitsel nitelikte olması, örneklem sayısının az olması, çalışma grubunun sadece üniversite hastanesine başvuran olgulardan oluşturulması, OSB tanısı koymada kullanılan ADOS ve ADI-R gibi yapılandırılmış araçların çalışmamızda kullanılamamış olması, biyokimyasal parametrelerin sadece serumda incelenmesi, biyokimyasal parametreleri etkileyebileceği düşünülen bazı faktörlerin (insülin,

kortizol, büyüme hormonu, inflamatuvar belirteçler vs.) kontrol edilmemiş olması, otizm grubundaki olguların yaklaşık yarısının psikofarmakolojik tedavi alıyor olması çalışmamızın kısıtlılıklarıdır. Tüm bu kısıtlılıklara karşın çalışmamız literatürde OSB tanılı olgularda IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α düzeylerinin araştırıldığı ilk çalışma olması, IGF-1, VEGF-A ve HIF-1 α kan düzeylerini etkileyebileceği düşünülen yaş, cinsiyet ve BMI persentili gibi parametrelerin analizlerde kontrol edilmesi çalışmamızın güçlü yanlarını oluşturmaktadır.



6.SONUÇ

Çalışmamızda OSB grubunda serum IGF-1 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Serum HIF-1 α düzeyleri OSB grubunda düşük olup anlamlılık eğilimi tespit edilmiştir. OSB grubu ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum VEGF-A düzeyleri ise anlamlı farklılık göstermemiştir. OSB tanılı olgularda yükselmiş serum IGF-1 düzeylerinin ve OSB grubunda düşük olup anlamlılık eğilimi saptanan HIF-1 α düzeylerinin etyopatogeneizde rol oynayabileceği düşünülmüştür. IGF-1, HIF-1 α ve OSB arasındaki nedensellik ilişkisi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.



ÖZET

OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI HASTALARDA VEGF, IGF-1 VE HIF-1 KAN DÜZEYLERİNİN SAĞLIKLI KONTROLLERLE KARŞILAŞTIRILMASI, FULYA ŞİMŞEK, UZMANLIK TEZİ, ISPARTA, 2020

Amaç: Bu çalışmada Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) tanılı olgular ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum VEGF, IGF-1 ve HIF-1 düzeylerinin farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya çocuk ve ergen psikiyatri polikliniğine başvuran, DSM-5 tanı ölçütlerine göre OSB tanısı konan 4-12 yaş arası çocuklar (n=40) ile yaş ve cinsiyet olarak hasta grubu ile eşleştirilmiş sağlıklı kontroller (n=40) alınmıştır. Tüm katılımcılara Sosyodemografik Veri Formu ve Çocukluk Otizm Derecelendirme Ölçeği uygulanmıştır. Çalışmaya katılan çocukların ebeveynlerinden Sorun Davranış Kontrol Listesi ölçeğini doldurmaları istenmiştir. Katılımcılardan serum VEGF, IGF-1 ve HIF-1 düzeylerini ölçmek için, gece açlığını takiben saat 8.00-10.00 arasında venöz kan örnekleri alınmıştır. Tüm örnekler toplandıktan sonra enzimle-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile IGF-1, VEGF ve HIF-1 düzeyleri belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda OSB tanılı grupta serum IGF-1 düzeyleri sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Serum HIF-1 düzeyleri OSB grubunda düşük olup istatistiksel olarak sınırda anlamlılık düzeyinde bir fark tespit edildi. Çalışmada yer alan gruplar arasında serum VEGF düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Sonuç: OSB tanılı olgularda yükselmiş serum IGF-1 düzeylerinin ve OSB grubunda düşük olup anlamlılık eğilimi saptanan HIF-1 α düzeylerinin etyopatogeneizde rol oynayabileceği düşünülmüştür. IGF-1, HIF-1 α ve OSB arasındaki nedensellik ilişkisi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Otizm Spektrum Bozukluğu, VEGF, IGF-1, HIF-1

ABSTRACT

COMPARISON OF SERUM VEGF, IGF-1 AND HIF-1 LEVELS BETWEEN PATIENTS WITH AUTISM SPECTRUM DISORDER AND HEALTHY CONTROLS, FULYA ŞİMŞEK, DISSERTATION, ISPARTA, 2020

Objective: The aim of this study was to determine whether serum VEGF, IGF-1 and HIF-1 levels differed between Autism Spectrum Disorder (ASD) patients and healthy controls.

Method: Children aged 4-12 years (n=40) who were admitted to the child and adolescent psychiatry outpatient clinic and diagnosed with ASD according to DSM-5 diagnostic criteria and age- and sex- matched healthy controls (n=40) were included in the study. A Sociodemographic Data Form and the Childhood Autism Rating Scale were administered to all participants. Their parents were asked to fill the Aberrant Behavior Checklist scale. Venous blood samples were taken from each participant at 8.00-10.00 am after overnight fasting to measure serum VEGF, IGF-1 and HIF-1 levels. Then, serum VEGF, IGF-1 and HIF-1 levels were measured by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method.

Results: Serum IGF-1 levels were found to be statistically significantly higher in the ASD group than the healthy control group. Serum HIF-1 levels were borderline significantly lower in the ASD group. There was no statistically significant difference in serum VEGF levels between the two groups.

Conclusion: Increased serum IGF-1 levels and borderline significantly decreased HIF-1 levels in the ASD group have been thought to play an important role in the etiopathogenesis. More studies are needed to determine the causality relationship between IGF-1, HIF-1 and ASD.

Keywords: Autism Spectrum Disorder, VEGF, IGF-1, HIF-1

KAYNAKLAR

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition: DSM-5.
2. CDC.Data & Statistics on Autism Spectrum Disorder | CDC.Centers for Disease Control and Prevention.
3. Hallmayer J. Genetic Heritability and Shared Environmental Factors Among Twin Pairs With Autism. *Arch Gen Psychiatry*. 2011 Nov 1;68(11):1095.
4. Newschaffer CJ, Croen LA, Daniels J, Giarelli E, Grether JK, Levy SE, et al. The Epidemiology of Autism Spectrum Disorders. *Annu Rev Public Health*. 2007 Apr;28(1):235–58.
5. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. Vol. 109, *Clinical Science. Clin Sci (Lond)*; 2005. p. 227–41.
6. James JM, Gewolb C, Bautch VL. Neurovascular development uses VEGF-A signaling to regulate blood vessel ingression into the neural tube. *Development*. 2009 Mar 1;136(5):833–41.
7. Sun Y, Jin K, Xie L, Childs J, Mao XO, Logvinova A, et al. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest*. 2003 Jun 15;111(12):1843–51.
8. Storkebaum E, Lambrechts D, Carmeliet P. VEGF: Once regarded as a specific angiogenic factor, now implicated in neuroprotection. Vol. 26, *BioEssays*. Bioessays; 2004. p. 943–54.
9. Krum JM, Khaibullina A. Inhibition of endogenous VEGF impedes revascularization and astroglial proliferation: Roles for VEGF in brain repair. *Exp Neurol*. 2003 Jun 1;181(2):241–57.
10. Emanuele E, Orsi P, Barale F, di Nemi SU, Bertona M, Politi P. Serum levels of vascular endothelial growth factor and its receptors in patients with severe autism. *Clin Biochem*. 2010 Feb;43(3):317–9.
11. Skogstrand K, Hagen CM, Borbye-Lorenzen N, Christiansen M, Bybjerg-Grauholm J, Bækvad-Hansen M, et al. Reduced neonatal brain-derived neurotrophic factor is associated with autism spectrum disorders. *Transl Psychiatry*. 2019 Dec 1;9(1).
12. Pecorelli A, Cervellati F, Belmonte G, Montagner G, Waldon PA, Hayek J, et al. Cytokines profile and peripheral blood mononuclear cells morphology in Rett and autistic patients. *Cytokine*. 2016 Jan 1;77:180–8.
13. Zakareia FA, Al-Ayadhi LY, Al-Drees AA. Study of dual angiogenic/neurogenic growth factors among Saudi autistic children and their correlation with the severity of this disorder. *Neurosciences (Riyadh)*. 2012 Jul;17(3):213–8.
14. Kajizuka M, Miyachi T, Matsuzaki H, Iwata K, Shinmura C, Suzuki K, et al. Serum levels of platelet-derived growth factor BB homodimers are increased in male children with autism. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2010 Jan 20;34(1):154–8.
15. Masi A, Breen EJ, Alvares GA, Glozier N, Hickie IB, Hunt A, et al. Cytokine levels and associations with symptom severity in male and female children with autism spectrum disorder. *Mol Autism*. 2017 Dec 2;8(1).

16. Juul A. Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. Vol. 13, Growth Hormone and IGF Research. Churchill Livingstone; 2003. p. 113–70.
17. Laron Z. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): A growth hormone. *J Clin Pathol - Mol Pathol*. 2001;54(5):311–6.
18. Russo VC, Gluckman PD, Feldman EL, Werther GA. The Insulin-Like Growth Factor System and Its Pleiotropic Functions in Brain. *Endocr Rev*. 2005 Dec;26(7):916–43.
19. Llorens-Martín M, Torres-Alemán I, Trejo JL. Mechanisms mediating brain plasticity: IGF1 and adult hippocampal neurogenesis. *Neuroscientist*. 2009 Apr;15(2):134–48.
20. Beck KD, Powell-Braxton L, Widmer HR, Valverde J, Hefti F. Igf1 gene disruption results in reduced brain size, CNS hypomyelination, and loss of hippocampal granule and striatal parvalbumin-containing neurons. *Neuron*. 1995;14(4):717–30.
21. Ye P, Li L, Richards RG, DiAugustine RP, D’Ercole AJ. Myelination is altered in insulin-like growth factor-I null mutant mice. *J Neurosci*. 2002 Jul 15;22(14):6041–51.
22. Vanhala R, Turpeinen U, Riikonen R. Low levels of insulin-like growth factor-I in cerebrospinal fluid in children with autism. *Dev Med Child Neurol*. 2001 Sep;43(09):614.
23. Riikonen R, Makkonen I, Vanhala R, Turpeinen U, Kuikka J, Kokki H. Cerebrospinal fluid insulin-like growth factors IGF-1 and IGF-2 in infantile autism. *Dev Med Child Neurol*. 2006 Sep 14;48(9):751–5.
24. Anlar B, Oktem F, Bakkaloglu B, Haliloglu M, Oguz H, Unal F, et al. Urinary epidermal and insulin-like growth factor excretion in autistic children. *Neuropediatrics*. 2007 Jun;38(3):151–3.
25. Mills JL, Hediger ML, Molloy CA, Chrousos GP, Manning-Courtney P, Yu KF, et al. Elevated levels of growth-related hormones in autism and autism spectrum disorder. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007 Aug;67(2):230–7.
26. Vargas DL, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman AW, Pardo CA. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Ann Neurol*. 2005 Jan;57(1):67–81.
27. Cioana M, Michalski B, Fahnstock M. Insulin-Like Growth Factor and Insulin-Like Growth Factor Receptor Expression in Human Idiopathic Autism Fusiform Gyrus Tissue. *Autism Res*. 2020;
28. Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: Master regulator of O₂ homeostasis. *Curr Opin Genet Dev*. 1998;8(5):588–94.
29. Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: Oxygen homeostasis and disease pathophysiology. Vol. 7, Trends in Molecular Medicine. Elsevier Ltd; 2001. p. 345–50.
30. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer N V, Agani F, Leung SW, Koos RD, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol*. 1996 Sep;16(9):4604–13.
31. Kolevzon A, Gross R, Reichenberg A. Prenatal and perinatal risk factors for autism: A review and integration of findings. Vol. 161, Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine. 2007. p. 326–33.
32. Modabbernia A, Velthorst E, Reichenberg A. Environmental risk factors for

- autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. Vol. 8, Molecular Autism. 2017. p. 13.
33. Feldser D, Agani F, Iyer N V., Pak B, Ferreira G, Semenza GL. Reciprocal positive regulation of hypoxia-inducible factor 1 α and insulin-like growth factor 2. *Cancer Res.* 1999 Aug 15;59(16):3915–8.
 34. Fukuda R, Hirota K, Fan F, Jung Y Do, Ellis LM, Semenza GL. Insulin-like growth factor 1 induces hypoxia-inducible factor 1-mediated vascular endothelial growth factor expression, which is dependent on MAP kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling in colon cancer cells. *J Biol Chem.* 2002 Oct 11;277(41):38205–11.
 35. Treins C, Giorgetti-Peraldi S, Murdaca J, Semenza GL, Van Obberghen E. Insulin stimulates hypoxia-inducible factor 1 through a phosphatidylinositol 3-kinase/target of rapamycin-dependent signaling pathway. *J Biol Chem.* 2002 Aug 2;277(31):27975–81.
 36. Stiehl DP, Jelkmann W, Wenger RH, Hellwig-Bürgel T. Normoxic induction of the hypoxia-inducible factor 1 α by insulin and interleukin-1 β involves the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *FEBS Lett.* 2002 Feb 13;512(1–3):157–62.
 37. Scharte M, Han X, Bertges DJ, Fink MP, Delude RL. Cytokines induce HIF-1 DNA binding and the expression of HIF-1-dependent genes in cultured rat enterocytes. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2003 Mar 1;284(3 47–3).
 38. Görlach A, Diebold I, Schini-Kerth VB, Berchner-Pfannschmidt U, Roth U, Brandes RP, et al. Thrombin activates the hypoxia-inducible factor-1 signaling pathway in vascular smooth muscle cells role of the p22phox-containing NADPH oxidase. *Circ Res.* 2001 Jul 6;89(1):47–54.
 39. Richard DE, Berra E, Pouyssegur J. Nonhypoxic pathway mediates the induction of hypoxia-inducible factor 1 α in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 2000 Sep 1;275(35):26765–71.
 40. Sandau KB, Zhou J, Kietzmann T, Brüne B. Regulation of the Hypoxia-inducible Factor 1 α by the Inflammatory Mediators Nitric Oxide and Tumor Necrosis Factor- α in Contrast to Desferrioxamine and Phenylarsine Oxide. *J Biol Chem.* 2001 Oct 26;276(43):39805–11.
 41. Liu XH, Kirschenbaum A, Lu M, Yao S, Dosoretz A, Holland JF, et al. Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1 α stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line. *J Biol Chem.* 2002 Dec 20;277(51):50081–6.
 42. Jung YJ, Isaacs JS, Lee S, Trepel J, Liu ZG, Neckers L. Hypoxia-inducible factor induction by tumour necrosis factor in normoxic cells requires receptor-interacting protein-dependent nuclear factor κ B activation. *Biochem J.* 2003 Mar 15;370(3):1011–7.
 43. Zhou J, Schmid T, Brüne B. Tumor necrosis factor- α causes accumulation of a ubiquitinated form of hypoxia inducible factor-1 α through a nuclear factor- κ B-dependent pathway. *Mol Biol Cell.* 2003 Jun 1;14(6):2216–25.
 44. Jung Y-J, Isaacs JS, Lee S, Trepel J, Neckers L. IL-1 β mediated up-regulation of HIF-1 α via an NF κ B/COX-2 pathway identifies HIF-1 as a critical link between inflammation and oncogenesis. *FASEB J.* 2003 Nov;17(14):1–22.
 45. Goines PE, Ashwood P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders

- (ASD): Possible role of the environment. *Neurotoxicol Teratol*. 2013 Mar;36:67–81.
46. Xu Ningang, Li Xiaohong ZY. Inflammatory Cytokines: Potential Biomarkers of Immunologic Dysfunction in Autism Spectrum Disorders. 2015.
 47. Eftekharian MM, Ghafouri-Fard S, Noroozi R, Omrani MD, Arsang-jang S, Ganji M, et al. Cytokine profile in autistic patients. *Cytokine*. 2018 Aug 1;108:120–6.
 48. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV. 4th ed.
 49. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV-TR (Text Revision). 2000.
 50. Wing L, Gould J, Gillberg C. Autism spectrum disorders in the DSM-V: Better or worse than the DSM-IV? *Res Dev Disabil*. 2011 Mar;32(2):768–73.
 51. Kuhn R. Eugen Bleuler's Concepts of Psychopathology. *Hist Psychiatry*. 2004 Sep 25;15(3):361–6.
 52. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Acta Paedopsychiatr*. 1968;35(4):100–36.
 53. Asperger H. 'Autistic psychopathy' in childhood. In: *Autism and Asperger Syndrome*. Cambridge University Press; 2009. p. 37–92.
 54. Rutter M. Diagnosis and definition of childhood autism. *J Autism Child Schizophr*. 1978 Jun;8(2):139–61.
 55. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 3rd ed. 1980.
 56. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-III-R. American Psychiatric Association.; 1987
 57. Kim YS, Leventhal BL, Koh YJ, Fombonne E, Laska E, Lim EC, et al. Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry*. 2011 Sep;168(9):904–12.
 58. Fombonne E. Epidemiology of pervasive developmental disorders. Vol. 65, *Pediatric Research*. *Pediatr Res*; 2009. p. 591–8.
 59. Fombonne E. Epidemiological surveys of autism and other pervasive developmental disorders: An update. Vol. 33, *Journal of Autism and Developmental Disorders*. *J Autism Dev Disord*; 2003. p. 365–82.
 60. Fuentes J, Bakare M, Munir K, Aguayo P, Gaddour N, Öner Ö. Autism Spectrum Disorder. In: *IACAPAP e-Textbook of Child and Adolescent Mental Health*. Rey J, Martin A, editors. Geneva: International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions. 2014
 61. Mukaddes N. Otizm Spektrum Bozuklukları: Tanı ve Takip. Istanbul, Turkey: Nobel Tıp Kitabevi; 2013.
 62. Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları. Türkiye Çocuk ve Genç Psikiyatrisi Derneği; 2016.
 63. Mazefsky CA, Oswald DP, Day TN, Eack SM, Minshew NJ, Lainhart JE. ASD, a Psychiatric Disorder, or Both? Psychiatric Diagnoses in Adolescents with High-Functioning ASD. *J Clin Child Adolesc Psychol*. 2012 Jul;41(4):516–23.
 64. 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*. 2008;47(8):921–9.

65. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Perinatal and neonatal risk factors for autism: A comprehensive meta-analysis. Vol. 128, *Pediatrics*. American Academy of Pediatrics; 2011. p. 344–55.
66. Lichtenstein P, Carlström E, Råstam M, Gillberg C, Anckarsäter H. The genetics of autism spectrum disorders and related neuropsychiatric disorders in childhood. *Am J Psychiatry*. 2010 Nov;167(11):1357–63.
67. Sadock B and VS. Pervasive developmental disorders. In: Kaplan and Sadock's *Concise Textbook of Child and Adolescent Psychiatry*. Philadelphia, PA.: Wolters Kluwer/Lippincott William & Wilkins; 2008. p. 65–74.
68. Le Couteur AL, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, Rutter M, et al. Autism as a strongly genetic disorder evidence from a british twin Study. *Psychol Med*. 1995 Jan;25(1):63–77.
69. Rutter M. Genetic influences and autism. *Handb Autism Pervasive Dev Disord*. third. 2005;1:425–52.
70. Szatmari P, MacLean JE, Jones MB, Bryson SE, Zwaigenbaum L, Bartolucci G, et al. The Familial Aggregation of the Lesser Variant in Biological and Nonbiological Relatives of PDD Probands: a Family History Study. *J Child Psychol Psychiatry*. 2000 Jul 28;41(5):579–86.
71. Lauritsen MB, Pedersen CB, Mortensen PB. Effects of familial risk factors and place of birth on the risk of autism: A nationwide register-based study. *J Child Psychol Psychiatry Allied Discip*. 2005 Sep;46(9):963–71.
72. Ozonoff S, Young GS, Carter A, Messinger D, Yirmiya N, Zwaigenbaum L, et al. Recurrence risk for autism spectrum disorders: A baby siblings research consortium study. *Pediatrics*. 2011 Sep;128(3).
73. Miles JH. Autism spectrum disorders-A genetics review. Vol. 13, *Genetics in Medicine*. Genet Med; 2011. p. 278–94.
74. Freitag CM. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: A review of the literature. Vol. 12, *Molecular Psychiatry*. Mol Psychiatry; 2007. p. 2–22.
75. Freitag CM, Staal W, Klauck SM, Duketis E, Waltes R. Genetics of autistic disorders: Review and clinical implications. Vol. 19, *European Child and Adolescent Psychiatry*. Springer; 2010. p. 169–78.
76. Kemper TL, Bauman M. Neuropathology of infantile Autism. Vol. 57, *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. J Neuropathol Exp Neurol; 1998. p. 645–52.
77. Casanova MF, van Kooten IAJ, Switala AE, van Engeland H, Heinsen H, Steinbusch HWM, et al. Minicolumnar abnormalities in autism. *Acta Neuropathol*. 2006 Sep;112(3):287–303.
78. Geschwind DH, Levitt P. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Curr Opin Neurobiol* . 2007 Feb;17(1):103–11.
79. Minshew NJ, Williams DL. The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization. *Arch Neurol*. 2007 Jul;64(7):945–50.
80. Kana RK, Libero LE, Moore MS. Disrupted cortical connectivity theory as an explanatory model for autism spectrum disorders. *Phys Life Rev*. 2011 Dec;8(4):410–37.
81. Bozzi Y, Provenzano G, Casarosa S. Neurobiological bases of autism–epilepsy comorbidity: a focus on excitation/inhibition imbalance. *Eur J Neurosci*. 2018 Mar 1;47(6):534–48.

82. Schultz RT. Developmental deficits in social perception in autism: The role of the amygdala and fusiform face area. *Int J Dev Neurosci.* 2005;23(2-3 SPEC. ISS.):125–41.
83. Chugani DC. Role of altered brain serotonin mechanisms in autism. *Mol Psychiatry.* 2002;7 Suppl 2:S16-7.
84. Chugani DC, Muzik O, Rothermel R, Behen M, Chakraborty P, Mangner T, et al. Altered serotonin synthesis in the dentatohalamocortical pathway in autistic boys. *Ann Neurol.* 1997 Oct;42(4):666–9.
85. Anderson GM. Genetics of childhood disorders: XLV. Autism, part 4: serotonin in autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2002 Dec;41(12):1513–6.
86. Gillberg C, Coleman M. The biology of the autistic syndromes. Cambridge University Press; 2000. 330 p.
87. Ghaziuddin M. Mental Health Aspects of Autism and Asperger Syndrome. 2005
88. Gillberg C, Svennerholm L. CSF monoamines in autistic syndromes and other pervasive developmental disorders of early childhood. *Br J Psychiatry.* 1987 Jul;151:89–94.
89. Shinohe A, Hashimoto K, Nakamura K, Tsujii M, Iwata Y, Tsuchiya KJ, et al. Increased serum levels of glutamate in adult patients with autism. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2006 Dec 30;30(8):1472–7.
90. Fatemi SH, Reutiman TJ, Folsom TD, Thuras PD. GABAA receptor downregulation in brains of subjects with autism. *J Autism Dev Disord.* 2009 Feb;39(2):223–30.
91. Oblak AL, Gibbs TT, Blatt GJ. Decreased GABAB receptors in the cingulate cortex and fusiform gyrus in Autism. *J Neurochem.* 2010 Sep;114(5):1414–23.
92. Modahl C, Green LA, Fein D, Morris M, Waterhouse L, Feinstein C, et al. Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biol Psychiatry.* 1998 Feb 15;43(4):270–7.
93. Al-Ayadhi LY. Altered oxytocin and vasopressin levels in autistic children in Central Saudi Arabia. *Neurosciences.* 2005 Jan;10(1):47–50.
94. Zhang H-F, Dai Y-C, Wu J, Jia M-X, Zhang J-S, Shou X-J, et al. Plasma Oxytocin and Arginine-Vasopressin Levels in Children with Autism Spectrum Disorder in China: Associations with Symptoms. *Neurosci Bull.* 2016 Oct 1;32(5):423–32.
95. Baron-Cohen, S., Auyeung, B., Ashwin, E., Knickmeyer, R.C., Lombardo, M., Chakrabarti, B. The extreme male brain theory of autism, the role of fetal androgen. In: Autism spectrum disorders. Amaral D., Geschwind D., and Dawson G., editor. Oxford University Press.; 2011
96. Cohly HHP, Panja A. Immunological Findings in Autism. Vol. 71, International Review of Neurobiology. *Int Rev Neurobiol*; 2005. p. 317–41.
97. Gupta S, Aggarwal S, Rathanravan B, Lee T. Th1- and Th2-like cytokines in CD4+ and CD8+ T cells in autism. *J Neuroimmunol.* 1998 May 1;85(1):106–9.
98. Croonenberghs J, Bosmans E, Deboutte D, Kenis G, Maes M. Activation of the inflammatory response system in autism. *Neuropsychobiology.* 2002;45(1):1–6.
99. Comi AM, Zimmerman AW, Frye VH, Law PA, Peeden JN. Familial clustering of autoimmune disorders and evaluation of medical risk factors in autism. *J Child Neurol.* 1999;14(6):388–94.

100. Onore C, Careaga M, Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. Vol. 26, *Brain, Behavior, and Immunity*. Brain Behav Immun; 2012. p. 383–92.
101. van Engeland H, Buitelaar JK. Autism spectrum disorders. In: Rutter's Child and Adolescent Psychiatry. Rutter M, Bishop D, Pine D, Scott S, Stevenson J, Taylor E, Thapar A., editors. 2008. p. 759–81.
102. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Prenatal risk factors for autism: Comprehensive meta-analysis. Vol. 195, *British Journal of Psychiatry*. Br J Psychiatry; 2009. p. 7–14.
103. Hultman CM, Sandin S, Levine SZ, Lichtenstein P, Reichenberg A. Advancing paternal age and risk of autism: New evidence from a population-based study and a meta-analysis of epidemiological studies. *Mol Psychiatry*. 2011 Dec;16(12):1203–12.
104. Sandin S, Hultman CM, Klevzon A, Gross R, MacCabe JH, Reichenberg A. Advancing maternal age is associated with increasing risk for autism: A review and meta-analysis. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2012;51(5).
105. Uno Y, Uchiyama T, Kurosawa M, Aleksic B, Ozaki N. The combined measles, mumps, and rubella vaccines and the total number of vaccines are not associated with development of autism spectrum disorder: The first case-control study in Asia. *Vaccine*. 2012 Jun 13;30(28):4292–8.
106. Goin-Kochel RP, Mire SS, Dempsey AG, Fein RH, Guffey D, Minard CG, et al. Parental report of vaccine receipt in children with autism spectrum disorder: Do rates differ by pattern of ASD onset? *Vaccine*. 2016 Mar 8;34(11):1335–42.
107. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Perinatal and neonatal risk factors for autism: A comprehensive meta-analysis. Vol. 128, *Pediatrics*. Pediatrics; 2011. p. 344–55.
108. Guinchat V, Thorsen P, Laurent C, Cans C, Bodeau N, Cohen D. Pre-, peri- and neonatal risk factors for autism. Vol. 91, *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. Acta Obstet Gynecol Scand; 2012. p. 287–300.
109. Juul-Dam N, Townsend J, Courchesne E. Prenatal, perinatal, and neonatal factors in autism, pervasive developmental disorder-not otherwise specified, and the general population. *Pediatrics*. 2001;107(4).
110. Hertz-Picciotto I, Schmidt RJ, Krakowiak P. Understanding environmental contributions to autism: Causal concepts and the state of science. Vol. 11, *Autism Research*. John Wiley and Sons Inc.; 2018. p. 554–86.
111. Picciotto IH. Environmental risk factors in autism: results from large-scale epidemiological studies. In: Amaral D. GD, Dawson G, editor. *Autism Spectrum Disorders*. Oxford University Press.; 2011
112. Dietert RR, Dietert & Jamie JM, Dewitt CC. Environmental risk factors for autism. *Emerg Health Threats J*. 2011;4(1):7111.
113. Modabbernia A, Velthorst E, Reichenberg A. Environmental risk factors for autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. *Mol Autism*. 2017 Dec 17;8(1):13.
114. Corrales MA, Herbert MR. Autism and Environmental Genomics: Synergistic Systems Approaches to Autism Complexity. *Autism Spectrum Disorders*. Oxford University Press; 2011. p. 875–92.
115. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. Vol. 9, *Nature Medicine*. Nat Med; 2003. p. 669–76.

116. Chauvet S, Burk K, Mann F. Navigation rules for vessels and neurons: Cooperative signaling between VEGF and neural guidance cues. Vol. 70, Cellular and Molecular Life Sciences. Cell Mol Life Sci; 2013. p. 1685–703.
117. Stefanini MO, Wu FTH, Mac Gabhann F, Popel AS. A compartment model of VEGF distribution in blood, healthy and diseased tissues. BMC Syst Biol. 2008 Aug 19;2:77.
118. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico MG. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. Circulation. 1996 Apr 15;93(8):1493–5.
119. Nowacka MM, Obuchowicz E. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its role in the central nervous system: A new element in the neurotrophic hypothesis of antidepressant drug action. Neuropeptides . 2012 Feb;46(1):1–10.
120. Brockington A, Lewist C, Whartont S, Shaw PJ. Vascular endothelial growth factor and the nervous system. Vol. 30, Neuropathology and Applied Neurobiology. Neuropathol Appl Neurobiol; 2004. p. 427–46.
121. Harms KM, Li L, Cunningham LA. Murine Neural Stem/Progenitor Cells Protect Neurons against Ischemia by HIF-1 α -Regulated VEGF Signaling. PLoS One. 2010;5(3).
122. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. J Biochem. 2013;153(1):13-19.
123. Zhao F, Deng J, Yu X, Li D, Shi H, Zhao Y. Protective effects of vascular endothelial growth factor in cultured brain endothelial cells against hypoglycemia. Metab Brain Dis. 2015 Aug 1;30(4):999–1007.
124. Goerges AL, Nugent MA. Regulation of vascular endothelial growth factor binding and activity by extracellular pH. J Biol Chem. 2003 May 23;278(21):19518–25.
125. Schäfer G, Cramer T, Suske G, Kemmner W, Wiedenmann B, Höcker M. Oxidative stress regulates vascular endothelial growth factor-A gene transcription through Sp1- and Sp3-dependent activation of two proximal GC-rich promoter elements. J Biol Chem. 2003 Mar 7;278(10):8190–8.
126. Yu Y-F, Zhang Y, Shen N, Zhang R-Y, Lu X-Q. Effect of VEGF, P53 and telomerase on angiogenesis of gastric carcinoma tissue. Asian Pac J Trop Med. 2014 Apr;7(4):293–6.
127. Jin KL, Mao XO, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor: Direct neuroprotective effect in in vitro ischemia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Aug 29;97(18):10242–7.
128. McCloskey DP, Croll SD, Scharfman HE. Depression of Synaptic Transmission by Vascular Endothelial Growth Factor in Adult Rat Hippocampus and Evidence for Increased Efficacy after Chronic Seizures. J Neurosci. 2005 Sep 28;25(39):8889–97.
129. Yasuhara T, Shingo T, Kobayashi K, Takeuchi A, Yano A, Muraoka K, et al. Neuroprotective effects of vascular endothelial growth factor (VEGF) upon dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. Eur J Neurosci. 2004 Mar;19(6):1494–504.
130. Cao L, Jiao X, Zuzga DS, Liu Y, Fong DM, Young D, et al. VEGF links hippocampal activity with neurogenesis, learning and memory. Nat Genet. 2004 Aug 18 ;36(8):827–35.

131. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel D V., Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* (80-). 1989;246(4935):1306–9.
132. Jin K, Zhu Y, Sun Y, Mao XO, Xie L, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Sep 3;99(18):11946–50.
133. Warner-Schmidt JL, Duman RS. VEGF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Mar 13;104(11):4647–52.
134. Louissaint A, Rao S, Leventhal C, Goldman SA. Coordinated interaction of neurogenesis and angiogenesis in the adult songbird brain. *Neuron*. 2002 Jun 13;34(6):945–60.
135. De Almodovar CR, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. Vol. 89, *Physiological Reviews*. Physiol Rev; 2009. p. 607–48.
136. Tavazoie M, Van der Veken L, Silva-Vargas V, Louissaint M, Colonna L, Zaidi B, et al. A Specialized Vascular Niche for Adult Neural Stem Cells. *Cell Stem Cell*. 2008 Sep 11;3(3):279–88.
137. Palmer TD, Willhoite AR, Gage FH. Vascular Niche for Adult Hippocampal Neurogenesis. *J Comp Neurol*. 2000;425(4).
138. Hohman TJ, Bell SP, Jefferson AL, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Neurodegeneration and Cognitive Decline. *JAMA Neurol*. 2015 May 1;72(5):520.
139. Isung J, Mobarrez F, Nordström P, Åsberg M, Jokinen J. Low plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) associated with completed suicide. *World J Biol Psychiatry*. 2012 Sep 18;13(6):468–73.
140. Jung J, Kim S, Yoon K, Moon Y, Roh D, Lee S, et al. The Effect of Depression on Serum VEGF Level in Alzheimer's Disease. *Dis Markers*. 2015;2015:1–6.
141. Newton SS, Fournier NM, Duman RS. Vascular growth factors in neuropsychiatry. *Cell Mol Life Sci*. 2013 May 12;70(10):1739–52.
142. Sharma AN, da Costa e Silva BF, Soares JC, Carvalho AF, Quevedo J. Role of trophic factors GDNF, IGF-1 and VEGF in major depressive disorder: A comprehensive review of human studies. *J Affect Disord*. 2016 Jun;197:9–20.
143. Tseng P-T, Cheng Y-S, Chen Y-W, Wu C-K, Lin P-Y. Increased levels of vascular endothelial growth factor in patients with major depressive disorder: A meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2015 Oct;25(10):1622–30.
144. Yurteri N, Şahin İE, Tufan AE. Altered serum levels of vascular endothelial growth factor and glial-derived neurotrophic factor but not fibroblast growth factor-2 in treatment-naïve children with attention deficit/hyperactivity disorder. *Nord J Psychiatry*. 2019 Jul 4;73(4–5):302–7.
145. Fulzele S, Pillai A. Decreased VEGF mRNA expression in the dorsolateral prefrontal cortex of schizophrenia subjects. *Schizophr Res*. 2009 Dec;115(2–3):372–3.
146. Lee BH, Hong JP, Hwang JA, Ham BJ, Na KS, Kim WJ, et al. Alterations in plasma vascular endothelial growth factor levels in patients with schizophrenia before and after treatment. *Psychiatry Res*. 2015 Jul 30;228(1):95–9.
147. Pillai A, Howell KR, Ahmed AO, Weinberg D, Allen KM, Bruggemann J, et

- al. Association of serum VEGF levels with prefrontal cortex volume in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2016 May 1;21(5):686–92.
148. Di Nicola M, Cattaneo A, Hepgul N, Di Forti M, Aitchison KJ, Janiri L, et al. Serum and gene expression profile of cytokines in first-episode psychosis. *Brain Behav Immun*. 2013 Jul;31:90–5.
149. Murphy BP, Pang TY, Hannan AJ, Proffitt T-M, McConchie M, Kerr M, et al. Vascular Endothelial Growth Factor and Brain-Derived Neurotrophic Factor in Quetiapine Treated First-Episode Psychosis. *Schizophr Res Treatment*. 2014.
150. Rinderknecht E, Humbel RE. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J Biol Chem*. 1978;253(8):2769-2776.
151. Mullis PE, Patel MS, Brlckell PM, Hindmarsh PC, Brook CGD. Growth characteristics and response to growth hormone therapy in patients with hypochondroplasia: genetic linkage of the insulin-like growth factor I gene at chromosome 12q23 to the disease in a subgroup of these patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1991;34(4):265–74.
152. Brissenden JE, Ullrich A, Francke U. Human chromosomal mapping of genes for insulin-like growth factors I and II and epidermal growth factor. *Nature*. 1984;310(5980):781–4.
153. Duan C, Xu Q. Roles of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins in regulating IGF actions. In: *General and Comparative Endocrinology*. Academic Press Inc.; 2005. p. 44–52.
154. Ranke MB. Insulin-like growth factor binding-protein-3 (IGFBP-3). Vol. 29, *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. Bailliere Tindall Ltd; 2015. p. 701–11.
155. Baron-Van Evercooren A, Olichon-Berthe C, Kowalski A, Visciano G, Van Obberghen E. Expression of IGF-I and insulin receptor genes in the rat central nervous system: A developmental, regional, and cellular analysis. *J Neurosci Res*. 1991;28(2):244–53.
156. Popken GJ, Dechert-Zeger M, Ye P, D’Ercole AJ. Brain development. Vol. 567, *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Adv Exp Med Biol; 2005. p. 187–220.
157. Merimee T, Laron Z, eds. *Growth Hormone, IGF-I and Growth: New Views of Old Concepts*. In: *Modern endocrinology and diabetes*, vol 4. London, Freund Publishing House Ltd; 1996.
158. Nilsson A, Isgaard J, Lindahl A, Dahlstrom A, Skottner A, Isaksson O. Regulation by growth hormone of number of chondrocytes containing IGF-I in rat growth plate. *Science (80-)*. 1986 Aug 1;233(4763):571–4.
159. D’Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE. Tissue concentrations of somatomedin C: Further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81(3 I):935–9.
160. Bondy CA, Lee WH., Patterns of Insulin-like Growth Factor and IGF Receptor Gene Expression in the Brain: Functional Implications. *Ann N Y Acad Sci*. 1993;692(1):33–43.
161. Bach MA, Shen-Orr Z, Lowe WL, Roberts CT, Leroith D. Insulin-like growth factor I mRNA levels are developmentally regulated in specific regions of the rat brain. *Mol Brain Res*. 1991;10(1):43–8.
162. Perez-Martin M, Azcoitia I, Trejo JL, Sierra A, Garcia-Segura LM. An

- antagonist of estrogen receptors blocks the induction of adult neurogenesis by insulin-like growth factor-I in the dentate gyrus of adult female rat. *Eur J Neurosci*. 2003 Aug;18(4):923–30.
163. O’Kusky J, Ye P. Neurodevelopmental effects of insulin-like growth factor signaling. Vol. 33, *Frontiers in Neuroendocrinology*. Front Neuroendocrinol; 2012. p. 230–51.
 164. Zhang J, Moats-Staats BM, Ye P, D’Ercole AJ. Expression of insulin-like growth factor system genes during the early postnatal neurogenesis in the mouse hippocampus. *J Neurosci Res*. 2007 Jun;85(8):1618–27.
 165. Carson MJ, Behringer RR, Brinster RL, McMorris FA. Insulin-like growth factor I increases brain growth and central nervous system myelination in tTransgenic mice. *Neuron*. 1993 Apr 1;10(4):729–40.
 166. Russo VC, Gluckman PD, Feldman EL, Werther GA. The insulin-like growth factor system and its pleiotropic functions in brain. Vol. 26, *Endocrine Reviews*. Oxford Academic; 2005. p. 916–43.
 167. Hodge RD, D’Ercole AJ, O’Kusky JR. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) inhibits neuronal apoptosis in the developing cerebral cortex in vivo. *Int J Dev Neurosci*. 2007 Jun;25(4):233–41.
 168. Chrysis D, Calikoglu AS, Ye P, D’Ercole AJ. Insulin-like growth factor-I overexpression attenuates cerebellar apoptosis by altering the expression of Bcl family proteins in a developmentally specific manner. *J Neurosci*. 2001 Mar 1;21(5):1481–9.
 169. Rosen CJ, Pollak M. Circulating IGF-I: New perspectives for a new century. Vol. 10, *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Trends Endocrinol Metab; 1999. p. 136–41.
 170. Ketelslegers JM, Maiter D, Maes M, Underwood LE, Thissen JP. Nutritional regulation of insulin-like growth factor-I. *Metabolism*. 1995;44(10 Suppl 4):50–57.
 171. Kao PC, Matheny AP, Lang CA. Insulin-like growth factor-I comparisons in healthy twin children. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994 Feb;78(2):310–2.
 172. Harrela M, Koistinen H, Kaprio J, Lehtovirta M, Tuomilehto J, Eriksson J, et al. Genetic and environmental components of interindividual variation in circulating levels of IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, and IGFBP-3. *J Clin Invest*. 1996 Dec 1;98(11):2612–5.
 173. Steinman G, Mankuta D. Insulin-like growth factor and the etiology of autism. *Med Hypotheses*. 2013 Apr;80(4):475–80.
 174. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Jun 6;92(12):5510–4.
 175. Jiang BH, Rue E, Wang GL, Roe R, Semenza GL. Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia- inducible factor 1. *J Biol Chem*. 1996;271(30):17771–8.
 176. Stolze IP, Tian YM, Appelhoff RJ, Turley H, Wykoff CC, Gleadle JM, et al. Genetic analysis of the role of the asparaginyl hydroxylase factor inhibiting hypoxia-inducible factor (HIF) in regulating HIF transcriptional target genes. *J Biol Chem*. 2004 Oct 8;279(41):42719–25.
 177. Salceda S, Caro J. Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its

- stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *J Biol Chem*. 1997 Sep 5;272(36):22642–7.
178. Semenza GL. HIF-1 and tumor progression: Pathophysiology and therapeutics. Vol. 8, Trends in Molecular Medicine. Trends Mol Med; 2002
 179. Maxwell PH, Wlesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, Cockman ME, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature*. 1999 May 20;399(6733):271–5.
 180. Cockman ME, Masson N, Mole DR, Jaakkola P, Chang GW, Clifford SC, et al. Hypoxia inducible factor- α binding and ubiquitylation by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *J Biol Chem*. 2000 Aug 18;275(33):25733–41.
 181. Ebert BL, Firth JD, Ratcliffe PJ. Hypoxia and mitochondrial inhibitors regulate expression of glucose transporter-1 via distinct cis-acting sequences. *J Biol Chem*. 1995;270(49):29083–9.
 182. Firth JD, Ebert BL, Ratcliffe PJ. Hypoxic regulation of lactate dehydrogenase A: Interaction between hypoxia-inducible factor 1 and cAMP response elements. *J Biol Chem*. 1995 Sep 8;270(36):21021–7.
 183. Gleadle JM, Ebert BL, Firth JD, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenic growth factor expression by hypoxia, transition metals, and chelating agents. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 1995;268(6 37-6).
 184. Liu Y, Cox SR, Morita T, Kourembanas S. Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells: Identification of a 5' enhancer. *Circ Res*. 1995;77(3):638–43.
 185. Fan X, Heijnen CJ, van der Kooij MA, Groenendaal F, van Bel F. The role and regulation of hypoxia-inducible factor-1 α expression in brain development and neonatal hypoxic-ischemic brain injury. Vol. 62, Brain Research Reviews. Elsevier; 2009. p. 99–108.
 186. Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. Vol. 49, Cardiovascular Research. Cardiovasc Res; 2001. p. 507–21.
 187. Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis. Vol. 73, Biochemistry (Moscow). Biochemistry (Mosc); 2008. p. 751–62.
 188. van der Kooij MA, Groenendaal F, Kavelaars A, Heijnen CJ, van Bel F. Neuroprotective properties and mechanisms of erythropoietin in in vitro and in vivo experimental models for hypoxia/ischemia. Vol. 59, Brain Research Reviews. Brain Res Rev; 2008. p. 22–33.
 189. Nagai A, Nakagawa E, Choi HB, Hatori K, Kobayashi S, Kim SU. Erythropoietin and Erythropoietin Receptors in Human CNS Neurons, Astrocytes, Microglia, and Oligodendrocytes Grown in Culture. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001;60(4).
 190. Mu D, Jiang X, Sheldon RA, Fox CK, Hamrick SEG, Vexler ZS, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 α and induction of vascular endothelial growth factor in a rat neonatal stroke model. *Neurobiol Dis*. 2003;14(3):524–34.
 191. Iwai M, Cao G, Yin W, Stetler RA, Liu J, Chen J. Erythropoietin promotes neuronal replacement through revascularization and neurogenesis after neonatal hypoxia/ischemia in rats. *Stroke*. 2007 Oct;38(10):2795–803.
 192. Krishnamachary B, Berg-Dixon S, Kelly B, Agani F F, D, Ferreira G, Iyer N, LaRusch J, Pak B TP, GL. S. Regulation of colon carcinoma cell invasion by

- hypoxia-inducible factor 1. *Cancer Res.* 2003;63(5):1138–1143.
193. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2003 Dec;3(10):721–32.
 194. Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, Fukumura D, Brusselmans K, Dewerchin M, et al. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature.* 1998 Jul 30;394(6692):485–90.
 195. Brunelle JK, Chandel NS. Oxygen deprivation induced cell death: An update. Vol. 7, *Apoptosis.* Apoptosis; 2002. p. 475–82.
 196. McClintock DS, Santore MT, Lee VY, Brunelle J, Budinger GRS, Zong W-X, et al. Bcl-2 Family Members and Functional Electron Transport Chain Regulate Oxygen Deprivation-Induced Cell Death. *Mol Cell Biol.* 2002 Jan 1;22(1):94–104.
 197. Dang C V., Semenza GL. Oncogenic alterations of metabolism. Vol. 24, *Trends in Biochemical Sciences.* Trends Biochem Sci; 1999. p. 68–72.
 198. Seagroves TN, Ryan HE, Lu H, Wouters BG, Knapp M, Thibault P, et al. Transcription Factor HIF-1 Is a Necessary Mediator of the Pasteur Effect in Mammalian Cells. *Mol Cell Biol.* 2001 May 15;21(10):3436–44.
 199. Wenger RH. Mammalian oxygen sensing, signalling and gene regulation. Vol. 203, *Journal of Experimental Biology.* 2000. p. 1253–63.
 200. Iyer N V., Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH, et al. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 α . *Genes Dev.* 1998 Jan 15;12(2):149–62.
 201. Ryan HE, Lo J and JR. HIF-1 α is required for solid tumor formation and embryonic vascularization. *EMBO J.* 1998;17(11):3005–15.
 202. Kotch LE, Iyer N V., Laughner E, Semenza GL. Defective vascularization of HIF-1 α -null embryos is not associated with VEGF deficiency but with mesenchymal cell death. *Dev Biol.* 1999 May 15;209(2):254–67.
 203. Tian H, Hammer RE, Matsumoto AM, Russell DW, McKnight SL. The hypoxia-responsive transcription factor EPAS1 is essential for catecholamine homeostasis and protection against heart failure during embryonic development. *Genes Dev.* 1998 Nov 1;12(21):3320–4.
 204. Peng J, Zhang L, Drysdale L, Fong GH. The transcription factor EPAS-1/hypoxia-inducible factor 2 α plays an important role in vascular remodeling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Jul 18;97(15):8386–91.
 205. Maltepe E, Schmidt J V., Baunoch D, Bradfield CA, Simon MC. Abnormal angiogenesis and responses to glucose and oxygen deprivation in mice lacking the protein ARNT. *Nature.* 1997 Mar 27;386(6623):403–7.
 206. Ke Q, Costa M. Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol.* 2006 Nov;70(5):1469–80.
 207. Shay JES, Celeste Simon M. Hypoxia-inducible factors: Crosstalk between inflammation and metabolism. *Semin Cell Dev Biol.* 2012 Jun;23(4):389–94.
 208. Tang C-M, Yu J. Hypoxia-inducible factor-1 as a therapeutic target in cancer. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Mar 1;28(3):401–5.
 209. Shibata T, Yamagata H, Uchida S, Otsuki K, Hobara T, Higuchi F, et al. The alteration of hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) and its target genes in mood disorder patients. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2013 Jun 3;43:222–9.
 210. Badawi N, Dixon G, Felix JF, Keogh JM, Petterson B, Stanley FJ, et al. Autism

- following a history of newborn encephalopathy: more than a coincidence? *Dev Med Child Neurol.* 2006 Jan 17;48(02):85.
211. Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism Dev Disord.* 1980 Mar;10(1):91–103.
212. Sucuoğlu B, Öktem F, Akkök F, Gökler B. Otistik Çocukların Değerlendirilmesinde Kullanılan Ölçeklere İlişkin Bir Çalışma. *Psikiyatri Psikoloji Psikofarmakoloji (3P) Dergisi.* 1996;4(2):116–21.
213. Gassaloğlu S.,et al. Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği Türkçe Formunun Geçerlik ve Güvenilirlik Çalışması. *Türk Psikiyatri Dergisi.* 27(4): p. 266-274. 2016.
214. 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 .* 1985 Mar;89(5):485–91.
215. Kaat AJ, Lecavalier L, Aman MG. Validity of the Aberrant Behavior Checklist in Children with Autism Spectrum Disorder. *J Autism Dev Disord.* 2014 May 29;44(5):1103–16.
216. Sucuoğlu B. Sorun Davranışları Kontrol Listesi Türkçe Formunun Psikometrik Özelliklerinin İncelenmesi. In: *Türk Psikoloji Dergisi.* 2003. p. 77–91.
217. Karabekiroğlu K, Aman MG. Validity of the aberrant behavior checklist in a clinical sample of toddlers. *Child Psychiatry Hum Dev.* 2009 Mar 4;40(1):99–110.
218. Kaufman J, Birmaher B, Brent D, Rao U, Flynn C, Moreci P, et al. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 1997 Jul;36(7):980–8.
219. Gökler B, Ünal F, Pehlivan Türk B, Kültür EÇ, Akdemir D, Taner Y. Okul Çağı Çocukları İçin Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi-Şimdi ve Yaşam Boyu Şekli-Türkçe Uyarlamasının Geçerlik ve Güvenirliği. In: *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi.* 2004. p. 109–16.
220. D’Ercole AJ, Ye P, Calikoglu AS, Gutierrez-Ospina G. The role of the insulin-like growth factors in the central nervous system. *Mol Neurobiol.* 1996;13(3):227–55.
221. Venkatasubramanian G, Chittiprol S, Neelakantachar N, Shetty T, Gangadhar BN. Effect of antipsychotic treatment on Insulin-like Growth Factor-1 and cortisol in schizophrenia: A longitudinal study. *Schizophr Res.* 2010 Jun;119(1–3):131–7.
222. Schilling C, Blum WF, Heuser I, Paslakis G, Wudy SA, Deuschle M. Treatment with antidepressants increases insulin-like growth factor-I in cerebrospinal fluid. Vol. 31, *Journal of Clinical Psychopharmacology.* J Clin Psychopharmacol; 2011. p. 390–2.
223. Wolff JJ, Gu H, Gerig G, Ellison JT, Styner M, Gouttard S, et al. Differences in white matter fiber tract development present from 6 to 24 months in infants with autism. *Am J Psychiatry.* 2012 Jun 1;169(6):589–600.
224. Carmody DP, Lewis M. Regional white matter development in children with autism spectrum disorders. *Dev Psychobiol.* 2010 Dec;52(8):755–63.
225. Shen HY, Huang N, Reemmer J, Xiao L. Adenosine actions on oligodendroglia and myelination in autism spectrum disorder. Vol. 12, *Frontiers in Cellular*

- Neuroscience. Frontiers Media S.A.; 2018.
226. Swanson MR, Hazlett HC. White matter as a monitoring biomarker for neurodevelopmental disorder intervention studies. Vol. 11, *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. BioMed Central Ltd.; 2019
 227. Bozyczko-Coyne D, Glicksman MA, Prantner JE, et al. IGF-I Supports the Survival and/or Differentiation of Multiple Types of Central Nervous System Neurons. *Ann N Y Acad Sci*. 1993;692(1):311–3.
 228. D’Mello SR, Borodezt K, Soltoff SP. Insulin-like growth factor and potassium depolarization maintain neuronal survival by distinct pathways: Possible involvement of PI 3-kinase in IGF-1 signaling. *J Neurosci*. 1997 Mar 1;17(5):1548–60.
 229. Semenza GL. HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing. Vol. 13, *Current Opinion in Cell Biology*. Elsevier Ltd; 2001. p. 167–71.
 230. Chalak LF, Nguyen KA, Prempunpong C, Heyne R, Thayyil S, Shankaran S, et al. Prospective research in infants with mild encephalopathy identified in the first six hours of life: neurodevelopmental outcomes at 18–22 months. *Pediatr Res*. 2018 Dec;84(6):861–8
 231. Driscoll DJO, Felice VD, Kenny LC, Boylan GB, O’Keeffe GW. Mild prenatal hypoxia-ischemia leads to social deficits and central and peripheral inflammation in exposed offspring. *Brain Behav Immun*. 2018 Mar 1;69:418–27.
 232. Chez MG, Dowling T, Patel PB, Khanna P, Kominsky M. Elevation of Tumor Necrosis Factor-Alpha in Cerebrospinal Fluid of Autistic Children. *Pediatr Neurol*. 2007 Jun 1;36(6):361–5.
 233. 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 Behav Immun*. 2011 Jan;25(1):40–5.
 234. Suzuki K, Matsuzaki H, Iwata K, Kamenno Y, Shimmura C, Kawai S, et al. Plasma cytokine profiles in subjects with high-functioning autism spectrum disorders. *PLoS One*. 2011;6(5).
 235. Chavez JC, LaManna JC. Activation of hypoxia-inducible factor-1 in the rat cerebral cortex after transient global ischemia: Potential role of insulin-like growth factor-1. *J Neurosci*. 2002 Oct 15;22(20):8922–31.