



Otizm ve Oksidatif Stres: Bir Vaka Kontrol Çalışması

Fatma Subaşı Turgut^{ID1}, Mehmet Karadağ^{ID2}, Seyithan Taysi^{ID3}, Zehra Hangül^{ID2}, Cem Gökçen^{ID2}

1 Kızıltepe Devlet Hastanesi, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi, Mardin, Türkiye

2 Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi AD, Gaziantep, Türkiye

3 Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Gaziantep, Türkiye

Geliş: 13.09.2022; Revizyon: 18.10.2022; Kabul Tarihi: 19.10.2022

Öz

Giriş ve Amaç: Otizm Spektrum Bozukluğunun etiyolojisini saptamaya yönelik çalışmalarda kesin bir sebep bulunamamış olmakla birlikte literatürde artan kanıtlar, oksidatif stresin otizmin gelişimi ve klinik tezahüründe rol oynadığını düşündürmektedir. Çalışmamız oksidatif stres ile otizm spektrum bozukluğu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde güçlü bir oksidan olan peroksinitritin destekleyici biyokimyasal belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak için tasarlanmıştır ve bildiğimiz kadarıyla peroksinitritin otizmlili çocukların serumlarında çalışıldığı ilk çalışmadır.

Yöntemler: Araştırmamızda 3-12 yaş aralığındaki 40 otizmlili çocuk ile aynı yaş grubundaki 40 sağlıklı kontrol çocuğun serum peroksinitrit düzeyleri ölçülmüş ve peroksinitrit düzeyi ile otizm şiddeti arasındaki ilişki araştırılmıştır. Otizm semptomlarının şiddeti, Childhood Autism Rating Scale puanlarına göre değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda vaka ve kontrol grupları arasında peroksinitrit değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir ($p=0,010$). Verilerimiz Peroksinitrit düzeyleri ile otizm şiddeti arasında ise anlamlı ilişki olmadığını göstermektedir ($p=0,527$).

Sonuç: Bulgularımız otizmde oksidatif stresin arttığına dair artan kanıtlarla tutarlı olarak peroksinitrit düzeylerinin otizm tanısı olan grupta daha yüksek olduğunu göstermekte ve oksidatif stresin otizm patofizyolojisindeki rolüne işaret etmektedir. Peroksinitrit gibi güçlü oksidanlar ve bu yolaktaki farklı biyobelirteçlerin kombinasyonlarının dikkate alınarak tasarlandığı çalışmaların Otizm Spektrum Bozukluğu fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabileceği ve potansiyel tedaviler için yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Otizm, Oksidatif Stres, Peroksinitrit

DOI: 10.5798/dicletip.1191425

Yazışma Adresi / Correspondence: Fatma Subaşı Turgut, Aşiti Mah. Mardin Yolu 5. Km, Kızıltepe Devlet Hastanesi, Kızıltepe /Mardin e-mail: fsubasiturgut@gmail.com

Autism and Oxidative Stress: A Case-Control Study

Abstract

Objective: Although no definite reason has been found in studies to determine the etiology of Autism Spectrum Disorder, increasing evidence in the literature suggests that oxidative stress plays a role in the development and clinical manifestation of autism. Our study was designed to investigate whether peroxynitrite, a powerful oxidant, can be used as a supportive biochemical marker in the evaluation of the relationship between oxidative stress and autism, and as far as we have researched, it is the first study to measure serum peroxynitrite levels in children with autism.

Methods: In our study, serum peroxynitrite levels of 40 children with autism between the ages of 3-12 and 40 healthy controls in the same age group were measured. In addition, the relationship between peroxynitrite level and autism severity was evaluated. The severity of autism symptoms was evaluated according to Childhood Autism Rating Scale scores.

Results: In our study, a statistically significant difference was found between children with autism and control groups in terms of peroxynitrite values ($p=0,010$). Our data show that there is no significant relationship between peroxynitrite levels and autism severity ($p=0,527$).

Conclusion: Our findings show that peroxynitrite levels are higher in the group with autism, consistent with the growing evidence that oxidative stress is increased in autism, pointing to the role of oxidative stress in the pathophysiology of autism. It is thought that studies designed by considering strong oxidants such as peroxynitrite and combinations of different biomarkers in this pathway may provide a better understanding of the pathophysiology of Autism Spectrum Disorder and may guide potential treatments.

Keywords: Autism, Oxidative Stress, Peroxynitrite.

GİRİŞ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), belirtileri ilk olarak erken çocukluk döneminde ortaya çıkan, günlük işlevselliği kısıtlayan, karşılıklı toplumsal etkileşimde süregiden bozulma ve sınırlı ve basmakalıp ilgi alanı ve davranışlar ile karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur¹. OSB yaygınlığı, son yıllarda çarpıcı bir şekilde artmış olup, ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi tarafından en son 2020 yılında yayınlanan bir raporda 1000 çocuk başına 18.5 (1/54) olarak bildirilmiştir.

OSB'nin etiyolojisini saptamaya yönelik çalışmalarda kesin bir sebep bulunamamış olup genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin birlikte yer aldığı multifaktöriyel bir etiyopatogenez şeması olduğu düşünülmektedir. Yine literatürde artan kanıtlar, oksidatif stresin otizmin gelişimi ve klinik tezahüründe rol oynadığını düşündürmektedir^{2,3}. Chen ve ark. tarafından yapılan ve toplam 87 çalışmadan 4928 OSB'li

çocuk ve 4181 sağlıklı kontrolün dahil edildiği meta analiz sonuçları oksidatif stresin OSB patogeneğinde rol oynadığına dair klinik kanıtları güçlendirmiştir². Bjørklund ve ark. ise yaptıkları kapsamlı bir derlemede oksidatif stresin OSB'nin patofizyolojisinin ayrılmaz bir parçası olduğunu belirtmişlerdir⁴.

Peroksinitrit

Nitrik Oksit (NO) ile bir serbest radikal olan süperoksit anyonu arasındaki etkileşim sonucu oluşan peroksinitrit reaktif nitrojen türlerinden biri olup son derece güçlü bir oksidandır ve NO aracılı toksisitenin önemli bir kısmından sorumludur^{5,6}. Peroksinitrit ana molekülleri NO ve süperoksit anyonundan çok daha reaktiftir. Peroksinitrit, tiyollerle doğrudan reaksiyona girebilir veya peroksinitrit ayrışmasının ürünleri, lipitler, proteinler ve DNA gibi diğer hücrenel bileşenleri dolaylı olarak oksitleyebilir^{5,7}. Peroksinitrit oluşumunun aterosklerozdan inflamatuvar, otoimmün,

psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıklara kadar birçok patolojik duruma neden olabileceği uzun zamandır teorize edilmiştir^{7,8}.

Literatüre bakıldığında in vivo peroksinitrit oluşumunun göstergesi olarak nitrotirozin kullanılmakta olduğu görülmektedir. Biyolojik sistemlerde oluşan nitrotirozin yaygın olarak peroksinitritten oluşmakta ve peroksinitrit oluşumunu yansıtmakta olsa da⁹ nitrit ve hipokloröz asit gibi ajanların peroksinitritten bağımsız olarak nitrotirozin oluşturabildikleri ve tamamen korelasyon göstermeyebileceği bildirilmektedir¹⁰.

Peroksinitritin aracılık ettiği oksidatif hasarın bir belirteci olan nitrotirozin seviyeleri otizmde araştırılmış olsa da bildiğimiz kadarıyla otizmlili bireylerde serum peroksinitrit düzeyini doğrudan ölçen bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca çalışmamızda tek bir parametre ölçülmüş olmakla birlikte ölçtüğümüz parametrenin son derece güçlü bir oksidan olduğu göz önüne alındığında otizmlili çocuklarda oksidatif stresi göstermesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız güçlü bir oksidan olan ve aynı zamanda karmaşık sitoprotektif etkileri de gösterilen peroksinitriti otizmlili çocuklarda değerlendiren ilk çalışmadır. Bu çalışmada, otizm tanısı olan çocuklardaki peroksinitrit düzeyleri ile sağlıklı çocuklarda peroksinitrit düzeylerini karşılaştırarak bunun otizm tanısı ve şiddetindeki rolünü değerlendirmeyi amaçladık.

YÖNTEMLER

Bu araştırma Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniğine ayaktan başvuran 3-12 yaş aralığındaki OSB tanısı olan çocuklar ile sağlıklı kontrollerin serum peroksinitrit düzeylerinin karşılaştırılması ve otizmlili çocuklarda bu parametrelerin otizm şiddeti ile ilişkisini amaçlayan kesitsel bir çalışmadır. Çalışma için merkezimiz Klinik Araştırmalar

Tıbbi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar no:2020/73, Tarih: 18.03.2020).

Araştırmaya, ayaktan tedavi amaçlı başvuran ve DSM 5 kriterlerine göre OSB tanısını karşılayan, 3-12 yaş hastalar ile herhangi bir psikopatolojisi bulunmayan 3-12 yaş arası sağlıklı kontroller dahil edilmiştir. Alkol ya da sigara kullanım öyküsüne sahip olan bireyler, Son 2 haftada psikotrop ilaç kullanımı hariç tutulmak üzere herhangi bir antiinflamatuvar ve antioksidan kullanımı olanlar ve herhangi bilinen akut ya da kronik tıbbi bir hastalığı olan çocuklar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Katılan tüm çocukların ebeveynleri veya yasal vasilerinden, Helsinki Bildirgesi uyarınca çalışmaya dahil edilmeden önce yazılı bilgilendirilmiş onam alındı. Hem hasta hem de kontrol grubu çocuklar bir çocuk psikiyatri uzmanı tarafından değerlendirildi ve sosyodemografik veri formu klinisyen tarafından dolduruldu.

OSB tanısı DSM-5'e dayanan bir klinik görüşme yoluyla konuldu. OSB semptomlarının şiddeti, Childhood Autism Rating Scale (CARS) puanlarına göre değerlendirildi. CARS ölçeği aynı klinisyen tarafından dolduruldu. CARS, otizm tanılandırılmasında yaygın olarak kullanılan, geçerli ve güvenilir bir ölçektir. CARS; aile ile görüşme, ilgili diğer kişilerden bilgi alma ve çocuğun gözlenmesi sonucunda elde edilen bilgiler temel alınarak klinisyen tarafından doldurulur. Değerlendirme, davranışsal belirtinin tanımlanması, araştırma ve sınıflandırma amaçlarına uygundur. Ölçeğin doldurulmasıyla otizm belirtileri ile ilgili bir derecelendirme yapılabilmektedir. Ülkemizde geçerliliği ve güvenilirliği Gassaloğlu ve ark. (2016) tarafından yapılmıştır ve otizm tanısı için kesim puanı 29,5 olarak belirtilmiştir.

Gönüllülerden kan alma işlemi Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi kan alma ünitesinde yapıldı. Alınan kan örnekleri sarı kapaklı vakumlu plastik jelli tüpe alınıp 10

dakika 4000 devirde santrifüj edildikten sonra serum ayrılıp -80 santigrat derecede analiz süresine kadar saklandı. Numuneler tamamlandıktan sonra peroksinitrit düzeyleri Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda tayin edildi. Peroksinitrit hazır kit kullanılarak ELISA yöntemi ile çalışıldı.

Peroksinitrit tayini

Peroksinitrit tayini Vanuffelen ve ark. tarafından önerilen ve Al-Nimer ve ark. tarafından modifiye edilen metoda göre yapıldı. Bu metoda göre 10 µL serum 1.990 mL 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.4) içinde çözünen 5 mM fenol ilave edildi. 37° C'de ve karanlık bir ortamda, yaklaşık 2 saat inkübasyona tabi tutuldu. Sonra, 0.1 M NaOH çözeltisinden 15 µL ilave edildi ve 412 nm dalga boyunda numunelerin absorbansı ölçüldü. Meydana gelen nitrofenol bileşiğinin molar ekstistiyon katsayısı kullanılarak ($\epsilon = 4400/M/cm$) peroksinitrit miktarı hesaplandı ve hesaplanan sonuçlar mikromol/L olarak ifade edildi.

İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistikleri sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma ile kategorik değişkenler için frekans ve yüzde analizi ile verilmiştir. Peroksinitritin normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Bu değişkenlerin kategorik değişkenlere göre karşılaştırılmasında iki grup içeren kategorik değişkenler için bağımsız örneklem t testi/ Mann-Whitney U testi, üç ve daha fazla grup içeren kategorik değişkenler için Varyans Analizi/Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Normal dağılıma uygunluk gösteren değişken için analiz sonuçları ortalama±standart sapma, normal dağılıma uymayan değişkenler için analiz sonuçları medyan (Q1-Q3) şeklinde verilmiştir. Ayrıca kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki-kare analizi ile test edilmiştir. Buna ek olarak

sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analizi ile incelenmiştir. Analizler SPSS 22.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. $p < 0,05$ anlamlılık seviyesi seçilmiştir.

BULGULAR

Katılımcıların yaşları 3 ve 12 yaş arasında değişmektedir ve ortalama yaş $7,55 \pm 2,48$ olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 1).

Tablo I: Demografik veriler

	Kontrol (n=40)		Vaka (n=40)		p
	Ort±SS	Medyan (Min-Max)	Ort±SS	Medyan (Min-Max)	
Yaş (yıl)	7,7±2,4	8 (3 -12)	7,3±2,5	8 (3 -12)	0,531
Anne Yaşı (yıl)	34,5±6,4	32,5(25 -49)	33,1±6,2	33 (20 -43)	0,336
Baba Yaşı (yıl)	38,7±6,0	37 (29 -54)	37,3±5,8	36(27-51)	0,295

Cinsiyet dağılımı incelendiğinde Erkek/Kız oranı 4/1'dir. Gruplar cinsiyet yönünden değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 2).

Tablo II: Vaka ve Kontrol Grubundaki Çocukların Cinsiyet Açısından Karşılaştırılması

	Kontrol (n=40)	Vaka (n=40)	p
Kadın (n, %)	10 (25)	6 (15)	0,264
Erkek (n, %)	30 (75)	34 (85)	
Toplam (n, %)	40 (100)	40 (100)	

Vaka ve kontrol grupları arasında peroksinitrit değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0,010$). Buna göre vaka grubunda peroksinitrit değeri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (Tablo 3).

Tablo III: Vaka ve Kontrol Grubu Arasında Serum Peroksinitrit Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Kontrol (n=40)	Vaka (n=40)	p
Peroksinitrit (mikromol/L)	1,81 (0,91-6,67)	4,54 (2,95-8,00)	0,010*

*istatistiksel olarak anlamlı

Klinisyen tarafından doldurulan CARS puanlarına göre 18 (%45) hastanın hafif-orta otizm puanlarını 22 (%55) hastanın ise ağır otizm puanlarını karşılamakta olduğu görüldü. Hafif-orta düzeyde otizm ve ağır düzeyde otizm peroksinitrit düzeyleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4).

Tablo IV: Otizm Şiddeti (CARS toplam puanına göre hafif-orta ve ağır) ile Peroksinitrit Düzeyleri Arasındaki İlişki

	CARS* Sonucu		p
	Hafif/Orta (n=18)	Aşırı Derecede (n=22)	
Peroksinitrit (mikromol/L)	4,88 (2,95-7,95)	4,44(2,95-11,59)	0,527

*Childhood Autism Rating Scale

Otizimli çocuklarda ilaç kullanımı ile peroksinitrit düzeyleri arasındaki ilişki incelendi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Tablo 5).

Tablo V: Otizmli Çocuklarda İlaç Kullanımı ile Peroksinitrit Düzeyleri Arasındaki İlişki

	İlaç Kullanımı		p
	Yok (n=14)	Var (n=26)	
Peroksinitrit (mikromol/L)	3,12 (1,14-7,27)	4,89 (3,41-10,23)	0,092

Peroksinitrit ile yaş, cinsiyet, ailede psikiyatrik hastalık, anne yaşı ve baba yaşı arasında yapılan lineer regresyon analizinde peroksinitrit değerlerinde değişim üzerinde sadece cinsiyetin anlamlı etkisi olduğu belirlendi (p<0,029, B: 2,817). Diğer değişkenlerin peroksinitrit değerleri üzerinde istatistiksel

olarak anlamlı bir etkisi saptanmadı. Buna ek olarak erkeklerde peroksinitrit değerleri daha yüksek saptandı ve cinsiyet tek başına peroksinitrit değerindeki değişimin %7,4'ünü açıklamaktadır (Tablo 6a ve 6b).

Tablo VI A: Peroksinitrit ile Yaş, Cinsiyet, Ailede Psikiyatrik Hastalık, Anne Yaşı ve Baba Yaşı Arasında Yapılan Doğrusal Regresyon Analizi

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	p
	B	Std. Error	Beta		
(Constant)	1,902	4,313		-,441	,660
Yaş (yıl)	,156	,204	,090	,762	,448
Cinsiyet (erkek)	2,817	1,264	,265	2,229	,029*
Ailede Psikiyatrik Hastalık (var)	-,206	,952	-,024	-,217	,829
Anne Yaşı (yıl)	-,040	,154	-,059	-,259	,796
Baba Yaşı (yıl)	,051	,169	,071	,300	,765

*istatistiksel olarak anlamlı

Tablo VI B: Peroksinitrit ile Yaş, Cinsiyet, Ailede Psikiyatrik Hastalık, Anne Yaşı ve Baba Yaşı Arasında Yapılan Doğrusal Regresyon Analizi

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Durbin-Watson
	,272a	,074	,012	4,24638	1,917

Otizim ve sağlıklı kontrol olmayı yordama açısından yapılan lojistik regresyon analizinde yaş, cinsiyet, ailede psikiyatrik hastalık, anne yaşı, baba yaşı, doğum zamanı ile peroksinitrit dahil edilmiştir. Peroksinitrit ile otizm arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (Peroksinitrit için OR [95% CI]: 1,35 [1,07 -1,72] p: 0,012] (Tablo 7).

Tablo VII: Yaş, Cinsiyet, Ailede Psikiyatrik Hastalık, Anne Yaşı, Baba Yaşı, Doğum Zamanı ile Peroksinitrit Seviyelerinin Lojistik Regresyon Analizi

Değişkenler	OR [95% CI]	P
Yaş (yıl)	1 [0,62-1,61]	0,994
Cinsiyet (kadın)	1,56 [0,08-32,34]	0,772
Ailede Psikiyatrik Hastalık (var)	0,18 [0,02-1,46]	0,109
Anne Yaşı (yıl)	1,11 [0,83-1,48]	0,478
Baba Yaşı (yıl)	0,86 [0,63-1,17]	0,332
Doğum Zamanı (geç doğum)	2,68 [0,11-67,49]	0,549
Peroksinitrit	1,35 [1,07-1,72]	0,012*

*istatistiksel olarak anlamlı

TARTIŞMA

Çalışma sonuçlarımız göstermiştir ki; oksidatif stresin önemli bir parametresi olan serum peroksinitrit düzeyinin yüksek olması otizm spektrum bozukluğu olan çocukların tanınmasında önemli rol oynamaktadır.

Literatüre bakıldığında otizmlili bireylerde doğrudan peroksinitrit düzeyini ölçen bir araştırma bulunmamakla birlikte Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB) tanılı bireylerde serum peroksinitrit düzeyini ölçen bir çalışma Mahdavinia ve ark (2021) tarafından yakın zamanda yapılmış ve bu çalışmada artmış peroksinitrit düzeyi ile OKB arasında bir ilişki olduğu ve güçlü bir oksidan olan peroksinitritin OKB patogenezinde rol oynayabileceği belirtilmiştir¹¹. Otizmlili bireylerde yapılan çalışmalara bakıldığında ise peroksinitriti oluşturan bileşenlerin (NO ve süperoksit) ve peroksinitritten oluşan nitrotirozinin araştırıldığı çok sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Nadeem ve ark. OSB hastalarının periferik dolaşımında ve beyinde NO seviyelerinin arttığını göstermişlerdir¹². 2021'de yapılan bir derlemede ise NO yolunun otistik hastalarda önemli bir terapötik hedef olabileceği, bununla birlikte OSB'de NO'nun rolünü değerlendirmek ve belirlemek için daha

fazla klinik kanıtı ihtiyaç olduğu belirtilmiştir¹³. Benzer şekilde otistik beyinde mitokondriyal aşırı aktivite ve anormallikler olduğunu ve mitokondrinin süperoksit kaynağı olabileceğini ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır^{14,15}. Yine in vivo peroksinitrit oluşumunun göstergesi olarak kullanılmakta olan nitrotirozinin OSB hastalarının periferik dolaşımında ve beyinde arttığını gösteren çalışmalar bu yolaktaki belirteçlere dikkatimizi çekmektedir^{12,16}. Postmortem bir çalışmada otistik beyinlerde nitrotirozin ile modifiye edilmiş proteinlerin otistik fenotipe katkı sunabileceği ileri sürülmüştür¹⁷. Otizmlili bireylerden ve etkilenmemiş kontrollerin serebellum ve temporal korteksinden (Brodmann alanı 22) alınan donmuş örneklerin incelendiği bir çalışmada ise nitrotirozin konsantrasyonunun, kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında otizm serebellumunda ve Brodmann alanı 22'de sırasıyla %42 ve %72 artmış olduğunu göstermiştir¹⁸. Çalışmamız peroksinitrit bileşenlerinin ve in vivo peroksinitrit oluşumunun göstergesi olarak kullanılan nitrotirozinin değerlendirildiği bu çalışmaları desteklemektedir. Bu bileşenlerin düzeyi büyük oranda peroksinitrit düzeyini yansıtsa da çalışmamızın otizmlili çocuklarda peroksinitrit serum düzeylerini doğrudan ölçen bir çalışma olması nedeniyle otizm ve oksidatif stres ilişkisini araştırmaya devam eden literatüre ek bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Yaş ve oksidatif stres ilişkisi ile ilgili literatür incelendiğinde bebeklerin oksidatif strese karşı yetişkinlerden daha savunmasız olduğu, oksidatif stres riskinin neonatal ve infant döneminde ve ayrıca ileri yaşlarda daha yüksek olduğu görülmektedir^{19,20}. Çalışmamızda literatür bilgilerinin aksine yaş ile peroksinitrit arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiş olması oksidatif stres riskinin yüksek olduğu erken yaş grubunun çalışmamıza dahil edilmemiş olması ile ilişkili olabilir.

Cinsiyetin oksidatif stres üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalara bakıldığında cinsiyetin inflamasyon parametreleri üzerinde etkisi olduğu ve oksidatif stresin erkeklerde daha yüksek olduğu görülmektedir. Bir hayvan çalışmasında beyinde ve diğer dokularda antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olan paraoksonaz 2 (PON2) seviyesinin dişi farelerde erkeklerden daha yüksek olduğu saptanmış ve bu durum PON2'nin östrojen tarafından modüle edilmesiyle ilişkilendirilmiştir. Beyin dokusunda önemli ölçüde daha düşük PON2 ekspresyonu seviyesi nedeniyle erkeklerin nörotoksisiteye kadınlardan daha duyarlı olacağı ileri sürülmüştür²¹. Geniş kapsamlı bir meta analiz çalışması ise cinsiyetin OSB'de oksidatif stres üzerinde ılımlı bir etkiye sahip olduğunu ve OSB için erkek / kadın oranının 4: 1 olduğu göz önüne alındığında bu sonucun akla yatkın olduğunu belirtmiştir². Çalışmamızda peroksinitritin erkeklerde yüksek saptanması oksidatif stresin erkeklerde daha yüksek olduğu yönündeki literatür bilgisini desteklemektedir. Bu veriler bu alanda yapılacak kapsamlı araştırmalarla birlikte otizm etiyolojisinde cinsiyete bağlı biyolojik farklılıkları anlamamıza fayda sağlayabilir. Otizmde cinsiyet ilişkili biyolojik temelleri anlamaya yönelik araştırmalar gelecekteki tedavi seçeneklerinin etkilenen herkes için daha yönlendirilmiş ve uygun olmasını sağlamak için çok önemlidir.

Oksidatif stres ile otizm şiddeti arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalara bakıldığında otizm şiddeti ile oksidatif stres arasında ilişki saptayan çalışmaların yoğunlukta olduğu görülmektedir. Örneğin OSB teşhisi konan 144 çocuktan oluşan bir kohortta plazma örneklerinde 27 sitokin düzeyleri ölçülmüş ve çalışmanın sonuçları, değişmiş bir sitokin tepkisinin veya profilinin, OSB ile ilişkili semptomların ciddiyeti ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur²². Otizmlilerle çocuklarla yapılan başka bir çalışmada ise CARS skorları ile oksidatif stres parametreleri arasında bir korelasyon tespit edilmemiştir²³. Bjørklund ve ark (2020) OSB ile oksidatif stres ilişkisini değerlendirdikleri derlemede oksidatif stresin OSB semptom şiddeti ile ilişkili olduğunu

belirtmişlerdir⁴. Çalışmamızda ise peroksinitrit ile otizm şiddeti arasında ilişki saptanmamıştır. Bu durum sonuçlarımızın daha büyük bir örnekleme tekrarlanması gerektiğini göstermekle birlikte bazı belirteçlerin otizm şiddetinden bağımsız olarak da otizm etiyolojisinde rol alabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak çalışmamız otizmde oksidatif stresin arttığına dair artan kanıtlarla tutarlı olarak peroksinitrit düzeylerinin otizm tanısı olan grupta daha yüksek olduğunu göstermekte ve oksidatif stresin otizm patofizyolojisindeki rolüne işaret etmektedir. Çalışmamızın kesitsel nitelikte olması ve sınırlı örneklem büyüklüğü sonuçlarımızın daha geniş bir hasta grubunda doğrulanmasını gerektirmektedir. OSB hastalarında gelecekte yapılacak çalışmaların daha büyük ve iyi eşleşen bir popülasyonda tekrarlanması ve aynı yoldaki farklı biyobelirteçlerin kombinasyonlarının dikkate alınarak tasarlanması OSB fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir ve potansiyel tedaviler için yol gösterici olabilir.

Limitasyonlar

Çalışmamızın kesitsel nitelikte bir çalışma olması, örneklem boyutunun nispeten küçük olması, vaka grubunun psikotrop ilaç kullanması çalışmamızın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır. Ayrıca periferik dokulardan elde edilen bulguların santral sinir sistemindeki düzeyleri ne ölçüde yansıttığı net olarak bilinmediğinden çalışmamızda peroksinitrit düzeylerinin serumdan bakılması çalışmamızın başka bir kısıtlılığıdır.

Etik Kurul Onayı: Çalışma için merkezimiz Klinik Araştırmalar Tıbbi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar no:2020/73, Tarih: 18.03.2020).

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Association AP: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5. Washington; 2013.
2. Chen L, Shi X-J, Liu H, et al. Oxidative stress marker aberrations in children with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis of 87 studies (N= 9109). *Translational psychiatry*. 2021; 11: 1-10.
3. İlhan A, Aylin A. Otizm Spektrum Bozukluğunda Endokrin Bozucuların Rolü Var mıdır? *H.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*. 2018; 5(3): 88-102.
4. Bjørklund G, Meguid NA, El-Bana MA, et al. Oxidative stress in autism spectrum disorder. *Molecular neurobiology*. 2020; 57: 2314-32.
5. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018; 115: 5839-48.
6. Gönlügür T, Gönlügür U. INH Direnç Mekanizmaları. *Dicle Tıp Dergisi*. 2017; 44: 287-92.
7. Ramdial K, Franco MC, Estevez AG. Cellular mechanisms of peroxynitrite-induced neuronal death. *Brain research bulletin*. 2017; 133: 4-11.
8. Tripathi MK, Kartawy M, Amal H. The role of nitric oxide in brain disorders: Autism spectrum disorder and other psychiatric, neurological, and neurodegenerative disorders. *Redox Biology*. 2020; 34: 101567.
9. Ahmad R, Hussain A, Ahsan H. Peroxynitrite: cellular pathology and implications in autoimmunity. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*. 2019; 40: 123-38.
10. Murphy MP, Bayir H, Belousov V, et al. Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. *Nature Metabolism*. 2022; 4: 651-62.
11. Mahdavinia M, Chaab M, Kouti L, Sayyah M. Increased Production of the Potent Oxidant Peroxynitrite in the Serum of Obsessive-Compulsive Disorder Patients. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2021; 16(3): e57324.
12. Nadeem A, Ahmad SF, Attia SM, et al. Dysregulated enzymatic antioxidant network in peripheral neutrophils and monocytes in children with autism. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2019; 88: 352-9.
13. Mehta R, Kuhad A, Bhandari R. Nitric oxide pathway as a plausible therapeutic target in autism spectrum disorders. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2022: 1-21.
14. Griffiths KK, Levy RJ. Evidence of mitochondrial dysfunction in autism: biochemical links, genetic-based associations, and non-energy-related mechanisms. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017; 1-12
15. Tang G, Rios PG, Kuo S-H, et al. Mitochondrial abnormalities in temporal lobe of autistic brain. *Neurobiology of disease*. 2013; 54: 349-61.
16. Nadeem A, Ahmad SF, Attia SM, et al. Activation of IL-17 receptor leads to increased oxidative inflammation in peripheral monocytes of autistic children. *Brain, behavior, and immunity*. 2018; 67: 335-44.
17. Dong D, Zielke HR, Yeh D, Yang P. Cellular stress and apoptosis contribute to the pathogenesis of autism spectrum disorder. *Autism Research*. 2018; 11: 1076-90.
18. Rose S, Melnyk S, Pavliv O, et al. Evidence of oxidative damage and inflammation associated with low glutathione redox status in the autism brain. *Translational psychiatry*. 2012; 2: e134-e.
19. Torres-Cuevas I, Parra-Llorca A, Sánchez-Illana A, et al. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. *Redox biology*. 2017; 12: 674-81.
20. Liguori I, Russo G, Curcio F, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*. 2018; 13: 757.
21. Cole TB, Coburn J, Dao K, et al. Sex and genetic differences in the effects of acute diesel exhaust exposure on inflammation and oxidative stress in mouse brain. *Toxicology*. 2016; 374: 1-9.
22. Masi A, Breen EJ, Alvares GA, et al. Cytokine levels and associations with symptom severity in male and female children with autism spectrum disorder. *Molecular autism*. 2017; 8: 1-11.
23. Ayaydin H, Akaltun İ, Koyuncu İ, et al. High KEAP1, NRF2 and Low HO-1 Serum Levels in Children with Autism. *Archives of Neuropsychiatry*. 2020; 57: 274.