

OTİSTİK BOZUKLUĞU OLAN ÇOCUKLARDA ANTIÖKSİDAN ENZİMLERİN VE BUNLARLA İLGİLİ ESER ELEMENTLERİN ARAŞTIRILMASI

Özgür Yorbık*, Ahmet Sayal**, Cemal Akay***, Teoman Söhmen****

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada otistik bozukluğu olan çocukların plazmalarında glutatyon peroksidaz (GSH-Px), selenyum (Se), çinko (Zn), mangan (Mn), bakır (Cu); eritrositlerinde süperoksid dismutaz (SOD), GSH-Px, Se, Zn, Mn düzeylerinin araştırılması ve normal çocuklarla karşılaştırılması amaçlandı. **Yöntem:** Araştırma grubunu, DSM-IV tanı ölçütlerine göre otistik bozukluk tanısı konan 4-12 yaş grubu 45 çocuk (39 erkek, 6 kız) oluşturdu. Kontrol grubu olarak da herhangi bir tıbbi hastalığı olmayan 4-12 yaş grubu 41 çocuk (35 erkek, 6 kız) seçildi. Eritrositlerde SOD, eritrosit ve plazmada GSH-Px ölçümleri spektrofotometrik olarak; eritrositlerdeki ve plazmadaki bakır, çinko, selenyum ve mangan ölçümleri ise atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak yapıldı. **Sonuç:** Araştırma grubundaki otistik bozukluğu olan çocuklarda normal çocuklara göre eritrosit SOD ile eritrosit ve plazma GSH-Px etkinliğinde, eritrosit ve plazma selenyum, çinko ve mangan düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu bulundu. Otistik bozukluğu olan çocukların plazma bakır düzeylerinde ise kontrol grubundaki normal çocuklara göre anlamlı bir artışın olduğu saptandı. **Tartışma:** Bu sonuçlar otistik bozuklukta, normal çocuklara göre antioksidan enzim savunma sistemi işlevlerinde azalmanın olduğunu ve bu nedenle biriken serbest radikallere bağlı olarak beyin dokusunda örselemenin olabileceğini düşündürmektedir. Otistik çocuklarda plazmadaki ve eritrositlerdeki düşük düzeydeki eser elementlerin SOD ve GSH-Px işlevlerinde azalmaya neden olduğu ileri sürülebilir. Yaptığımız çalışmada söz konusu olan bu durum, plazma bakırı için geçerli bulunmamıştır.

Anahtar Sözcükler: Otistik bozukluk, antioksidan enzimler, eser elementler.

SUMMARY: INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT ENZYMES AND RELATED TRACE ELEMENTS IN THE CHILDREN WITH AUTISTIC DISORDER

Objective: The plasma levels of glutathion peroxidase (GSH-Px), Se, Zn, Mn, Cu and superoxide dismutase (SOD), GSH-Px, Se, Zn, Mn in the erythrocyte were investigated in the children with autistic disorder and compared with normals in this study. **Method:** The study group were consisted of 45 children (39 boys, 6 girls), age range between 4 and 12 years, and met DSM IV criteria for autistic disorder. The control group were consisted of 41 children (35 boys, 6 girls), age range between 4 and 12 years, and had no history of any medical diseases and psychiatric disorders. Levels of erythrocyte SOD, erythrocyte and plasma GSH-Px were performed spectrophotometrically, erythrocyte and plasma zinc, selenium, manganese, and plasma copper were measured with atomic absorption spectrophotometry. **Results:** Activity of erythrocyte SOD, erythrocyte and plasma GSH-Px, erythrocyte and plasma selenium, zinc and manganese levels in the children with autistic disorder were significantly lower than normals. Plasma copper levels of children with autistic disorder were significantly higher than normals. **Conclusion:** These results assumed that children with autism have low levels of activity of antioxidant enzyme systems, for that reason the accumulation of the free radicals could damage brain tissue. It was suggested that low levels of plasma and erythrocyte trace elements may cause low activity levels of SOD and GSH-Px in the children with autistic disorder. This suggestion was not valid for plasma copper.

Key words: Autistic disorder, antioxidant enzymes, trace elements.

GİRİŞ

Serbest radikaller çiftleşmemiş elektronları olan

* Uzm. Dr., GATA Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı., Ankara.

** Doç. Dr., GATA Toksikoloji Bilim Dalı., Ankara.

*** Dr., GATA Toksikoloji Bilim Dalı., Ankara.

**** Prof. Dr., GATA Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı., Ankara.

kimyasal parçalardır (Cheeseman ve Slatter 1993). Serbest radikaller güçlü oksidan ajanlardır (Tüzün 1994, Mahadik ve Mukherjee 1996). Hücrelerde serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı savunmalar geliştirilmiştir. Bunlar antioksidan savunmalar olarak bilinmektedir; rol oyna-

dıkları iki ana alan serbest radikallerin meydana gelmesini önlemek ve meydana gelmiş olanları durdurmak (Cheeseman ve Slatter 1993). Bu sistem enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri içerir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), hidrojen peroksidaz katalaz (CAT) serbest radikalleri ortadan kaldıran enzimlerdir. Enzimatik olmayan başlıca antioksidan moleküller şunlardır: glutatyon, alfa-tokoferol (vitamin E), askorbik asit (vitamin C), beta-karoten, ürik asitten meydana gelen urat, sülfidril içeren proteinler, glutatyon (GSH) gibi peptitler ve koenzim Q (Mahadik ve Mukherjee 1996, Reddy ve Yao 1996).

Antioksidan enzim sistemi işlevlerinin aksaması sonucunda hücre zarlarının yapısında bozulma, hücre zarı akışkanlığında ve geçirgenliğinde değişme, reseptör işlevinde ve sinyal iletiminde bozulma, proteinlerde oksidatif değişiklikler ile biyolojik etkinliklerinin inaktivasyonu, enzim modifikasyonu, nöronal gelişimde ve hücre farklılaşmasında bozulma, gen ekspresyonunda değişme, mutajenite ve sitotoksiste meydana gelebileceği ileri sürülmektedir (Cheeseman ve Slatter 1993, Mahadik ve Mukherjee 1996, Mukherjee ve ark 1996, Reddy ve Yao 1996). Serbest radikallerin birikimi merkezi sinir sisteminde (MSS) yapısal ve işlevsel değişiklikler meydana getirebilir, bu şekilde nöropsikiyatrik bozuklukların etyolojisinde rol oynayabilir. Bu görüşler ışığında; bu çalışmanın amacı; Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi ile Hacettepe ve Ankara Üniversitelerinin Tıp Fakülteleri Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dallarına başvuran ve DSM-IV tanı ölçütlerine uygun olarak otistik bozukluk tanısı konulan çocukların plazma GSH-Px aktivitesinin ve Se, Zn, Mn, Cu düzeylerinin; eritrosit SOD, GSH-Px aktivitelerinin ve Se, Zn, Mn düzeylerinin araştırılmasıdır. Bu amaca yönelik varsayımlar şunlardır: (1) Otistik bozuklukta SOD ve GSH-Px antioksidan enzim aktiviteleri düşüktür. Antioksidan enzim işlevlerinin aksaması sonucunda, başta hidroksil (*OH) radikali olmak üzere, serbest radikaller MSS'de birikir ve beyin hücrelerinin gelişimini, yapısını, işlevini bozar (2) Otistik bozuklukta SOD ve GSH-Px en-

zimlerinin yapısına giren eser elementlerin serum ve eritrositte ölçülen miktarları düşüktür. Bu nedenle antioksidan enzim sistemi işlevlerinde yetersizlik söz konusudur.

YÖNTEM

Bu çalışmadaki araştırma grubunu Ekim 1997 ile Şubat 1999 ayları arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi ile Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dallarına anne ya da babaları tarafından getirilen ve DSM-IV tanı ölçütlerine göre otistik bozukluk tanısı konan 4-12 yaş grubu 46 (40 erkek, 6 kız) çocuk oluşturdu. Ancak otistik erkek çocuklardan birisi ilaç kullandığı için çalışmadan çıkarıldı. Bu nedenle çalışma grubu 45 (39 erkek, 6 kız) otistik çouktan meydana geldi. Kontrol grubu olarak da Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalına aşı nedeni ile gelen ve herhangi bir tıbbi hastalık öyküsü olmayan 41 (35 erkek 6 kız) normal çocuk seçildi.

Araştırma ve kontrol grubuna epilepsisi, ciddi kafa travması ya da psikotik bir atak geçirme öyküsü, endokrin, metabolik ve diğer sistemik ya da önemli diğer tıbbi hastalığı olan çocuklar ve son bir aydır herhangi bir ilaç kullanmış olan çocuklar alınmadı.

Araştırma ve kontrol grubuna katılan çocukların anne ve/veya babalarına çalışma hakkında bilgi verildi ve çocuklarının çalışmaya katılması konusunda kendilerinden izin alındı.

Bölümümüz tarafından hazırlanan sosyodemografik bilgi formu ile araştırma ve kontrol grubuna alınan çocukların sosyodemografik özellikleri araştırıldı. Bu formlar anne ya da babadan alınan bilgiler doğrultusunda dolduruldu.

Araştırma ve kontrol grubunu oluşturan çocuklardan sabah saat 9 ile 10 arasında, aç karnına iken, tripotasyum etilendiamintetraasetik asit (EDTA) li tüplere 10 ml kan alındı. Kan örnekleri GATA Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Laboratuvarlarında incelendi. Alınan kan örnekleri derhal 4 C'de 4000 rpm'de 6 dakika süre ile santrifüj edildi. Plazma kısmı alınarak beş bölüme ayrıldı. Polipropilen tüplerde -25 C'de analiz yapılmaya kadar saklandı. Geride kalan şekilli elemanlar üzerine hacmin üç katı kadar %0.9'luk NaCl solüsyonu eklenerek hafifçe ters yüz edildi. 4 C'de 6 dakika santrifüj edilerek üstteki süpernatant atıldı. Bu işlem iki defa daha tekrar edildi. Daha sonra 1 ml eritrosit alınarak üzerine 4 ml soğuk distile su konuldu. Vorteksenerek lize edildi. 4 °C'de 10 dakika tutuldu. Ardından 4°C'de 30 dakika santrifüj edilerek eritrosit kabuklarının ayrılması sağlandı. Sonra örnekler beş parçaya ayrılarak polipropilen tüplerde -25°C'de analiz edilene kadar saklandı. Eritrositlerde Cu, Zn, SOD, eritrosit ve plazmada GSH-Px ölçümleri spektrofotometrik olarak yapıldı. Eritrosit ve plazmada Cu ve Zn ölçümleri alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi, eritrosit ve plazmada Se ve Mn ölçümleri ise grafit fırınli atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak yapıldı.

Verilerin istatistiksel analizi, SPSS (Statistical Package for Social Sciences, for Windows Release 7.0.4, SPSS Inc., 1998) paket programı ile yapıldı. Nonparametrik verilerin değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı. Pearson ki-kare değerine göre anlamlılık düzeyleri belirlendi. Parametrik veriler için t testi uygulandı. Testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alındı.

BULGULAR

Araştırma grubu ile kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak

anlamli bir farklılık yoktu (Tablo 1).

Araştırma grubundaki çocukların eritrosit SOD etkinlik değerleri, eritrosit ve plazma GSH-Px etkinlik değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olarak saptandı ($p<.05$) (Tablo 2)

Araştırma grubundaki çocukların eritrosit Se, Zn, Mn ve plazma Se, Zn, Mn düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü ($p<.05$). Plazma bakır düzeyleri ise araştırma grubundaki çocuklarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<.05$) (Tablo 2)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Antioksidan enzim sistemleri, şizofreni (Mukherjee ve ark. 1996), Alzheimer hastalığı (Papolla ve ark. 1998), Down sendromu (Pastor ve ark. 1998), Parkinson hastalığı (Cassarino ve ark. 1997) gibi bir çok klinik tabloda araştırılmasına karşın otistik bozuklukta bu alanda yapılmış çalışma yoktur. Bu çalışmada otistik bozuklukta antioksidan enzimler ve bunlarla ilgili eser elementlerin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmadaki varsayımlar şunlardır: (1) Otistik bozuklukta SOD ve GSH-Px antioksidan enzim aktiviteleri düşüktür. Antioksidan enzim işlevlerinin aksaması sonucunda, başta hidroksil ($^{\circ}\text{OH}$) radikali olmak üzere, serbest radikaller MSS'de birikir ve beyin hücrelerinin gelişimini, yapısını, işlevini bozar. (2) Otistik bozuklukta SOD ve GSH-Px enzimlerinin yapısına giren eser elementlerin serum ve eritrositte ölçülen miktarları düşüktür. Bu nedenle antioksidan enzim sistemi

Tablo 1: Araştırma ve Kontrol Grubundaki Çocukların Cinsiyet ve Yaş Özellikleri

Cinsiyet	Araştırma Grubu (n=45)		Kontrol Grubu (n=41)	
	Erkek (n=39)	Kız (n=6)	Erkek (n=35)	Kız (n=6)
Yaş	6.0±1.8	9.1±2.9	6.3±2.3	8.8±2.7
	6.4±2.2		6.7±2.5	

Tablo 2: Araştırma ve Kontrol Grubuna İlişkin Eritrosit SOD, GSH-Px, Se, Zn, Mn; Plazma GSH-Px, Se, Cu, Zn, Mn Düzeyleri*.

Parametre	Araştırma Grubu (n=45)			Kontrol Grubu (n=41)		
	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
E-SOD (U/gr Hb)	723,78	90,03	13,42	993,17	118,31	18,48
E-GSH-Px (U/g Hb)	28,72	2,64	0,39	38,01	5,03	0,78
P-GSH-Px (U/ml)	0,27	0,04	0,01	0,39	0,08	0,01
E-Se (ng/ml)	294,33	26,03	3,88	401,83	31,72	4,95
P-Se (ng/ml)	72,74	8,33	1,24	96,13	8,24	1,29
E-Zn (µg/ml)	9,90	1,06	0,16	12,79	1,22	0,19
P-Zn (µg/ml)	0,85	0,11	0,02	1,10	0,10	0,02
E-Mn (ng/ml)	8,21	1,39	0,21	12,26	1,62	0,25
P-Mn (ng/ml)	1,73	0,55	0,08	3,27	0,72	0,11
P-Cu (µg/ml)	1,53	0,10	0,01	1,22	0,10	0,02

* Bütün parametreler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<.05).

E-SOD: Eritrosit süperoksit dismutaz etkinliği; E-GSH-Px: Eritrosit glutatyon peroksidaz etkinliği; P-GSH-Px: Plazma glutatyon peroksidaz etkinliği; E-Se: Eritrosit selenyum düzeyi; P-Se: Plazma selenyum düzeyi; E-Zn: Eritrosit çinko düzeyi; P-Zn: Plazma çinko düzeyi; E-Mn: Eritrosit mangan düzeyi; P-Mn: Plazma mangan düzeyi; P-Cu: Plazma bakır düzeyi.

işlevlerinde yetersizlik sözkonusudur.

Çalışma sonucunda otistik bozukluğu olan çocuklar eritrositlerde ve plazmada GSH-Px etkinliği azalmış olarak bulunmuştur. Bu durum, hidrojen peroksidin (H_2O_2) ortadan kaldırılmasındaki yetersizliğe ve $^{\circ}OH$ radikalinin artmış üretimine işaret etmektedir.

Otistik bozukluğu olan araştırma grubu çocuklarında eritrosit SOD etkinliğinde azalmanın olduğu saptanmıştır. Bu durum, süperoksit radikalinin (O_2°) ortadan kaldırılmasındaki yetersizliği, $^{\circ}OH$ radikallerinin artmış üretimini ve oksidatif örselenmeye karşı ilk sıradaki savunmanın bozulduğunu ve bunların sonunda lipid peroksidasyonunun arttığını göstermektedir.

Bu bulgular otistik bozuklukta antioksidan savunma sisteminde önemli işlevleri olan SOD ve GSH-Px enzim etkinliklerinin yetersizliği sonucunda oksiradikallerin biriktiğini ve zarar verici etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular birinci varsayımımızı desteklemektedir.

Golse ve arkadaşlarının (1978) yaptıkları bir çalışmada, gelişimsel infantil psikozda eritrositlerde süperoksit dismutaz I ve glutatyon peroksidaz etkinliklerinin, plateletlerde ise yalnızca süperoksit dismutaz I etkinliğinin anormal olduğu ileri sürülmüştür. Eritrositlerdeki anormal enzim etkinlikleri bizim çalışmamız ile uyumludur.

Diğer taraftan otistik bozukluğu olan bazı ço-

cuklarda plazma serotonininin, beyin omurilik sıvısında (BOS) dopaminin metaboliti olan homovalinik asitin (HVA) arttığı bildirilmektedir (Kaplan ve Sadock 1998). Otistik bozuklukta da şizofrenide ileri sürüldüğü gibi (Mahadik ve Mukherjee 1996) katekolamin metabolizması artışının bir sonucu olarak oksiradikal üretiminde artış olabilir. Antioksidan enzim aktiviteleri normal olsa bile oksiradikal üretimindeki aşırılık ve serbest radikallerin birikmesi sonucunda hücre yapısına ve işlevlerine zarar verici etkiler olabilir (Reddy ve Yao 1996). Otistik bozuklukta katekolamin metabolizmasının artışı da oksiradikallerin neden olduğu zehelenmeyi kolaylaştırabilir.

Bucman ve arkadaşları (1987, 1990) GSH-Px enzim düzeylerindeki azalmanın negatif belirtili şizofrenide beyin hasarı öyküsü olanlarda ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Negatif belirtili şizofreni ile otistik bozukluk arasında klinik yönden benzerlikler vardır. Bucman ve arkadaşları (1990) genetik olarak belirlenen GSH-Px düzeylerinin azalmasının hücrenin örselenebilirliğini kolaylaştıran bir etken olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu durum negatif belirtili şizofreniye benzer bir klinik tablosu olan otistik bozuklukta da düşünülebilir.

Otistik bozukluğun meydana gelmesinde, gebelikteki, doğum sırasındaki, doğum öncesindeki ve sonrasındaki etmenlerin önemli olabileceği bildirilmektedir (Lord ve ark. 1991) Pre-eklampsi olan gebelerin plasentalarında lipit peroksit düzeylerinin arttığı ve SOD aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur (Myatt ve ark. 1997). Bu durum pre-eklampsi hastalarında gebelik ürünlerinin daha çok serbest radikallerle örselendiğini düşündürmektedir.

Eritrosit SOD, plazma ve eritrosit GSH-Px aktiviteleri varsayımımızla uyumlu olarak düşük olarak bulunmuştur. Bu enzimlerin düşük etkinlikleri sonucunda biriken oksiradikaller şu alanlarda etkilerini göstererek otistik bozukluğun etyolojisinde önemli olabilir:

(1) Hücrenin büyümesi, yaşaması ve işlevinde oksiradikallerin çoğunlukla patolojik rolleri üzerinde durulmakta ise de, önemli fizyolojik rolle-

ri de vardır. Tüm dokuların gelişimi ve farklılaşmasında O_2^{+} 'in kritik rolünün olduğu bilinmektedir. Ancak oksiradikallerin aşırı miktarlarda birikmesi bu fizyolojik işlevleri aksatabilir (Mahadik ve Mukherjee 1996). Yapılan otopsi çalışmaları, otistik bozuklukta, başta serebellumda Purkinje hücreleri olmak üzere beyinin çeşitli bölgelerinde hücre kayıpları olduğu bildirilmiştir (Kemper ve Bauman 1993). Serbest radikallerin sitotoksik etkilerinin olabileceği ileri sürülmektedir (Evans 1993, Reddy ve Yao 1996). Otistik bozuklukta bu hücrelerin kaybı serbest radikaller ile örselenmeye bağlı olabilir. Otistik bozukluğun gelişimin çok erken döneminde olduğu varsayılmaktadır. Gelişimin erken dönemlerinde hasara uğramış nöronal hücrelerin kaybının nörogelişimsel olayların sonucunu değiştirebileceği ileri sürülmektedir (Mahadik ve Mukherjee 1996). Bu durum otistik bozuklukta anormal nöronal bağlantı örüntülerine neden olabilir.

(2) Son yıllarda otistik bozukluğun etyolojisinde genetik etmenlerin önemli olduğu varsayılmaktadır (Smalley ve ark. 1988, Steffenburg ve ark. 1989, Bolton ve ark. 1994, Ciaranello ve Ciaranello 1995). Serbest radikallerin birikiminin gen ekspresyonunda değişmeye ve mutajeniteye neden olabileceği bildirilmektedir (Mahadik ve Mukherjee 1996, Mukherjee ve ark. 1996).

(3) Yapılan manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve otopsi çalışmalarında, şizofrenide olduğu gibi otistik bozukluğun etyolojisinde de gelişimin erken dönemlerinde nöronal hücrelerinin göçündeki bozuklukların önemli olabileceği bildirilmiştir. (Kemper ve Bauman 1993, Kaplan ve Sadock 1998). Serbest radikallerin nöron hücrelerinin göçünde bozulmaya neden oldukları ileri sürülmektedir (Mahadik ve Mukherjee 1996).

(4) Nöronal hücrelerin işlevlerini yerine getirebilmesi için hücre zarlarındaki lipit ve protein içeriğinin, yapısının, akışkanlığının ve işlevinin sağlıklı olması gereklidir (Alberts ve ark. 1994). Hücre zarı akışkanlığındaki küçük değişikliklerin çeşitli hücre zarı işlevlerine önemli etkileri vardır. Özgül olarak, hücre zarı akışkanlığındaki

değişikliklerin, serotonin, norepinefrin, opiatlar ve dopamin dahil olmak üzere nörotransmitterlerin ve nörohormonların bağlanma affinitelerinin ve nörotransmisyonun düzenlenmesi ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür (Reddy ve Yao 1996). Otistik bozukluğun etyolojisinde opiatlar ve katekolaminlerin önemli olabileceği düşünülmektedir (Lake ve ark 1977, Panksepp 1979, Gillberg ve Svennerholm 1987, Sahley ve Panksepp 1987, Barthelemy ve ark. 1988, Akkök ve ark. 1995, Kaplan ve Sadock 1998, Leboyer ve ark. 1999). Hücre zarlarında yoğun olarak bulunan poliansatüre yağ asitleri (PUFAs), serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonu sonucunda kolayca örselenebilir (Mukherjee ve ark. 1996). PUFAs'ın örselenmesi ile hücre zarı akışkanlığının değiştiği ve işlevinin bozulduğu ileri sürülmektedir (Reddy ve Yao 1996). Otistik bozuklukta, hücre zarının yapısında ve işlevinde bozukluklar olabilir ve bu bozukluklardan serbest radikaller sorumlu olabilir.

(5) Nöronların işlevlerini yerine getirmesi sağlıklı reseptör ve reseptör sonrası olaylara bağlıdır. Serbest radikaller reseptör yapılarını ve işlevlerini bozarak da otistik bozukluğun meydana gelmesine neden olabilir.

(6) Serbest radikallerin diğer bir etkisi de proteinlerde oksidatif değişiklikler yaparak biyolojik etkinlikleri inaktive etmesi ve enzimlerde modifikasyon meydana getirmesidir (Mahadik ve Mukherjee 1996, Mukherjee ve ark. 1996). Otistik bozuklukta bilinen bir enzim anormallığı olmakla birlikte gelişimin erken dönemlerinde geçici olarak meydana gelen bu etkiler ile beyin gelişimi, yapısı ve işleyişi de değişebilir.

(7) Otistik bozuklukta epileptik nöbetler %4-32 (Minshew 1991, Rossi ve ark. 1995), çeşitli EEG anormallikleri ise %10-83 arasında görülmektedir (Minshew 1991, Kaplan ve Sadock 1998). Bu oranlar topluma göre önemli derecede yüksektir (Tuchman ve Rapin 1997). Epilepsinin genetik yatkınlıktan, nöropatolojik değişikliklerden ve nöron hücrelerinde ve bağlantılarında kimyasal değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Menkes 1990). Otistik bozuklukta serbest radikallerin birikimi aşağıdaki nedenlerle epilepsi

görülme oranını artırıyor olabilir: (a) Serbest radikaller nöronların yapısında ve işlevlerinde değişiklikler meydana getirmektedir Beyinde oluşan çeşitli morfolojik değişikliklerin epilepsiye neden olabileceği ileri sürülmektedir. (b) Serebellumda, Purkinje hücrelerinin elektriksel aktivitesinin artması ile nöbet süresinin azaldığı bildirilmektedir. Purkinje hücrelerinin örselenmesi ile epileptik nöbetleri kontrol eden inhibitör sistemde aksamalar meydana gelmektedir. Bilindiği gibi otistik bozuklukta Purkinje hücrelerinde kayıplar sözkonusudur. Purkinje hücrelerinin örselenmesinden serbest radikaller sorumlu olabilir. (c) Nörofizyolojik açıdan bakıldığında epilepsi, kortikal gri cevher ya da beyin sapındaki hücrelerin işlevlerinin aksaması sonucunda spontan elektriksel boşalmaların meydana gelmesi, MSS işlevinin değişmesi olarak tanımlanabilir. Epilepsinin oluşumu sırasında çeşitli iyonik değişiklikler olmaktadır (Menkes 1990). Serbest radikaller hücre zarının yapısına, akışkanlığına, reseptörlerine ve taşınım işlevlerine zarar vererek nöron hücresindeki fizyolojik iyon dengesini bozabilir.

Eritrositlerde araştırılan antioksidan enzim aktivitesinin merkezi sinir sistemindeki antioksidan enzim aktivitesini gösterip göstermediği önemli bir konudur. Antioksidan enzim sisteminin temel etkinlikleri dokuya özgü şekilde değil, yapısal olarak düzenlenir ve oksidatif tondaki artışa sistemik olarak yanıt başlar (Allen 1991). Hayvan modellerinde fokal iskemik stroktan sonra hem eritrositlerdeki hem de beyindeki SOD etkinliğinde artışın olduğu gösterilmiştir (Kramer ve ark. 1987). Diğer taraftan beyin, çeşitli biyokimyasal, fizyolojik ve anatomik nedenlerden dolayı reaktif oksijen metabolitleri ile diğer organlara göre daha kolay örselenebilir. (Evans 1993, Mahadik ve Mukherjee 1996, Reddy ve Yao 1996).

Şizofreni, Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı gibi diğer bozukluklarda da antioksidan enzim sistemi işlevlerinde aksaklıkların olduğu bildirilmiştir. (Evans 1993). Farklı klinik tabloların etyolojisinde aynı patolojinin rol oynadığının ileri sürülmesi de tartışılması gereken bir konu-

dur. Beyindeki örselenmenin yeri ve ciddiyeti, oksidatif örselenmenin hangi gelişim döneminde meydana geldiği önemlidir. Diğer taraftan serbest radikal üretimi ve antioksidan savunma sisteminin işlevi açısından MSS'nin çeşitli bölgelerinde farklılıklar olabilir. Bu nedenle, oksidatif örselenmeyle karşı karşıya kalan MSS'de yere göre klinik tablonun değişmesi de söz konusudur.

Antioksidan enzimlerin yapısına giren eser elementler bu enzimlerin işlevleri açısından gereklidir. Eksikliklerinde bu enzimlerin çalışmalarında aksamaların olması beklenir. Bu çalışmada otistik bozukluğu olan araştırma grubu çocuklarında, plazma ve eritrosit selenyum, çinko, mangan düzeylerinde azalmanın olduğu bulunmuştur. Bu durum ikinci varsayımımızla uyumludur. Selenyum, GSH-Px enziminin yapısına girer. Bu eser elementin, plazmadaki ve eritrositlerdeki düzeylerinin düşük olması, GSH-Px etkinliğinin azalmasına neden olabilir. Selenyumun farelerde kurşun zehirlenmesini azalttığı bildirilmiştir (Wilber 1980). Otistik bozukluğu olan çocukların, normal olan kardeşlerine ve otistik bozukluğu olmayan psikotik çocuklara göre kan kurşun düzeyinin yüksek olduğu ileri sürülmüştür (Cohen 1976). Artmış kan kurşun düzeyi olan çocuklarda da otistik davranışlar görüldüğü bildirilmiştir. (Eppright 1996). Otistik bozuklukta da selenyum eksikliği, kurşun toksitesine olan yatkınlığı artırabilir.

Bakır, bakır-çinko SOD metaloenziminin yapısına girer (Freeman 1982). Bu çalışmada otistik bozukluğu olan araştırma grubu çocuklarda plazma bakır düzeylerinde artışın olduğu bulunmuştur. Bu durum ikinci varsayımımız ile uyumsuzdur. Ancak diğer taraftan hidrojen peroksitten, bakır ve demir gibi geçiş metal iyonlarının varlığında, oldukça reaktif ve örselleyici olan $^{\circ}\text{OH}$ in kolayca meydana geldiği bildirilmektedir (Cheeseman ve Slatter 1993, Reddy ve Yao 1996). Otistik bozuklukta yüksek bakır düzeylerinin olması oksidatif örselenmeyi kolaylaştıran etmenlerden birisi olabilir. Bakır-çinko SOD metaloenziminin düşük aktivite düzeyleri nedeniyle organizma kompensasyon olarak bakır düzeylerini arttırabilir.

Bu çalışmada otistik bozukluğu olan çocukların plazma ve eritrosit çinko düzeyleri kontrol grubundaki sağlıklı çocuklara göre daha düşük olarak bulunmuştur. Bu durum ikinci varsayımımız ile uyumludur. Çinko, bakır-çinko SOD metaloenziminin yapısına girer (Freeman 1982). Bu eser elementin plazmada ve eritrositlerde düşük düzeylerde olması, bakır-çinko SOD metaloenziminin etkinliğinin azalmasına neden olur. Beyindeki çinkonun bir kısmı glutamaterjik nöronların sinaptik veziküllerinde bulunmaktadır. Sinaptik veziküllerdeki çinko elektriksel uyarı ile salınır ve çeşitli nörotransmitterlerin reseptör yanıtını düzenler. Bunlara, başta NMDA ve GABA(A) reseptörleri olmak üzere inhibitör ve eksitator reseptörler dahildir. Otistik bozuklukta nörotransmitter işlevlerinin bozulmasına neden olabilir. Diğer taraftan bir çinko kaynağı olarak işlev gören "metallothionein" serbest radikalleri ortadan kaldırır. Çinkonun kendisi de thiol gruplarına bağlanarak oksidatif stresi azaltır (Cuajungco ve ark. 1997). Bu nedenle çinko düzeylerindeki azalmanın serbest radikallerin oluşturduğu örselenmeye yol açabileceği düşünülür.

Selenyum, çinko ve manganın bağışıklık sistemi işlevlerinin yürütülmesinde önemli rolleri vardır (Tanındı 1978, Motsenbocker ve Tappel 1982, Neve 1989, Prasad 1997). Otistik bozuklukta görülen bağışıklık sistemi patolojilerinde (Gent ve Heijnen 1997), bu eser elementlerin eksiklikleri önemli olabilir.

Bu çalışmada otistik bozukluğu olan çocukların plazma ve eritrosit mangan düzeyleri kontrol grubundaki normal çocuklara göre daha düşük olarak bulunmuştur. Bu durum ikinci varsayımımızla uyumludur. Mangan, mangan SOD metaloenziminin yapısına girer (Freeman 1982). Bu eser elementin plazma ve eritrosit düzeylerinin düşük olması, SOD mangan metaloenziminin etkinliğinin azalmasına neden olabilir.

Bu sonuçlar otistik bozukluğu olan çocuklarda, normal çocuklara göre antioksidan enzim savunma sistemi işlevlerinde ve bu enzimlerin yapısına giren eser elementlerin düzeylerinde farklılıkların olduğunu ve serbest radikallere bağlı olarak beyin dokusunda örselenmenin olabilece-

ğini düşündürmektedir.

Oksiradikalın aracılık ettiği örselenme, oksiradikal üretimi ve antioksidan savunma sistemleri ile bunların inaktivasyonu arasındaki dengeye bağlı olduğundan, her iki süreçteki değişiklikleri değerlendirmek önemlidir. Ancak oluşan serbest radikaller çok kısa sürede ortamdan kaldırıldığından bunların ölçümlerinde teknik olarak güçlükler vardır. Sağlıklı bir antioksidan savunması için katalaz, SOD ve GSH-Px enzimlerinin birlikte işlev görmesi gerekir (Mahadik ve Mukherjee 1996). Yaptığımız çalışmada SOD ve GSH-Px enzimleri araştırılmış, ancak katalaz enzimi üzerinde çalışılmamıştır. Antioksidan savunma sistemi yalnızca enzimlerden oluşmamaktadır. Glutasyon, bilirubin, E ve C vitaminleri gibi enzimatik olmayan öğeleri de içermektedir (Cheeseman ve Slatter 1993, Sayal 1992, Tüzün 1994). Bu çalışmada bu parametreler araştırılmamıştır. Otistik bozuklukta önemli olabileceğini düşündüğümüz diğer parametrelerin de çalışılması ile daha aydınlatıcı sonuçlara ulaşılabilir.

KAYNAKLAR

Akkök F, Gökler B, Öktem F, Reid LD, Sucuoğlu B (1995) Otizmde naltrekson sağaltımın darvanışsal ve biyokimyasal boyutları. *Türk Psikiyatri Dergisi* 6 (4): 251-262.

Albert B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD (1994) Membrane structure. *Molecular Biology of the Cell içinde, Grand Publishing, New York, s: 478-505.*

Allen RG (1991) Oxygen-reactive species and antioxidant responses during development: the metabolic paradox of cellular differentiation. *Proc Soc Exptl Biol Med* 196: 117-129.

Barthelemy C, Bruneau N, Cottet-Eymard JM, Domesnech-Jouve J, Garreau B, Lelord C, Muh JP, Peyrin L (1988) Urinary free and conjugated catecholamines and metabolites in autistic children. *J Autism Dev Disord* 18: 583-591.

Bolton P, Macdonald H, Pickles A, Rios P, Goode S, Crowson M, Bailey A, Rutter M (1994) A case-control family history study of autism. *J Child Psychol Psychiatry* 35: 877-900.

Buckman TD, Kling AS, Sutphin MS, Steinberg A, Eiduson S (1990) Platelet glutathione peroxidase and monoamine oxidase activity in schizophrenics with CT scan abnormalities: relation to psychosocial variables. *Psychiatry Research* 31: 1-14.

Buckman TD, Kling AS, Eiduson S, Sutphin MS, Stein-

berg A (1987) Glutathione peroxidase and CT scan abnormalities in schizophrenia. *Biological Psychiatry* 22: 1349-1356.

Cassarino DS, Fall CP, Swerdlow RH, Smith TS, Halvorsen FM, Miller SW, Parks JP, Parker WD, Bennet JP (1997) Elevated reactive oxygen species and antioxidant enzyme activities in animal and cellular models of Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta* 1362(1): 77-86.

Cheeseman KH, Slatter TF (1993) An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 49(3): 481-493.

Ciranello AL, Ciaranello RD (1995) The neurobiology of autism. *Annu Rev Neurosci* 18: 101-128.

Cohen DJ (1976) Pica and elevated blood lead in autistic and atypical children. *Am J Dis Child* 130: 47-48.

Cuaungco MP, Less GJ (1997) Zinc metabolism in the brain: relevance to human neurodegenerative disorders. *Neurobiol Dis* 4(3-4): 137-169.

Eppright TD, Sanfacon JA, Horwitz EA (1996) Attention deficit hyperactivity disorder, infantile autism, and elevated blood lead: a possible relationship. *Mo Med* 93(3): 136-138.

Evans PH (1993) Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 49(3): 577-587.

Freeman BA, Crapo JD (1982) Biology of disease. *Free Radicals and Tissue Injury, Lab Invest* 47: 417-426.

Gent TV, Heijnen CJ, Treffers PDA (1997) Autism and the immune system. *J Child Psychol Psychiatry* 38(3): 337-349.

Gillberg C, Svennerholm L (1987) CSF monoamines in autistic syndromes and other pervasive developmental disorders of early childhood. *Br J Psychiatry* 151: 89-94.

Gölse B, Debray-Ritzen P, Durosay P, Puget K, Michelson AM (1978) Alteration in two enzymes: superoxide dismutase and glutathione peroxidase in developmental infantile psychosis. *Rev Neurol* 134(11): 699-705.

Kaplan HI, Sadock BJ (1998) Pervasive developmental disorder. *Synopsis of Psychiatry içinde, Williams & Wilkins, Baltimore, s: 1179-1192.*

Kemper TL, Bauman ML (1993) The contribution of neuropathologic studies to the understanding of autism. *Neurologic Clinics* 11(1): 175-187.

Kramer K, Voss HP, Grimbergen JA, Timmerman H, Bast A (1987) The effect of ischemia and recirculation, hypoxia and recovery on anti-oxidant factors and b-adrenoreceptor density. *Biochem Biophys Res Commun* 149: 568-579.

Lake CR, Ziegler Mg, Murphy DL (1977) Increased norepinephrine levels and decreased dopamine-beta-hydroxylase activity in primary autism. *Arch Gen Psychiatry* 34: 533-536.

- Leboyer M, Phillippe A, Bouvard M, Guilloud B, Bondoux D, Tabuteau F, Feingold J, Mouren-Simeoni MC, Launay JM (1999) Whole blood serotonin and plasma beta-endorphin in autistic probands and their first-degree relatives. *Biological Psychiatry* 45: 158-163.
- Lord C, Mulloy C, Wendelboe M, Schopler E (1991) Pre- and perinatal factors in high functioning females and males with autism. *J Autism Dev Disord* 21(2): 197-209.
- Mahadik SP, Mukherjee S (1996) Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophrenia Research* 19: 1-17.
- Menkes JH (1990) Paroxysmal disorders. *Textbook of Child Neurology* içinde. Lea & Febiger, Malvern, Pennsylvania, s: 602-674.
- Minshev NJ (1991) Indices of neural function in autism: clinical and biologic implications. *Pediatrics* 87: 774-780.
- Motsenbocker MA, Tappel AL (1982) A selenocysteine-containing selenium-transport protein in rat plasma. *Biochimica et Biophysica Acta* 719: 147-153.
- Mukherjee S, Mahadik SP, Scheffer R, Correnti EE, Kelkar H (1996) Impaired antioxidant defense at the onset of psychosis. *Schizophrenia Research* 19: 19-26.
- Myatt L, Eis AL, Brockman DE, Kossenjans W, Greer IA, Lyall F (1997) Differential localization of superoxide dismutase isoforms in placental villous tissue of normotensive "preeclamptic" and intrauterine growth-restricted pregnancies. *J Histochem Cytochem* 45(10): 1433-1438.
- Neve J (1989) Selenium: current epidemiological and physiopathological findings. Status in Belgium. *Bull Mem Acad R Med Belg* 144(3-4): 250-256.
- Pankseep J (1979) A neurochemical theory of autism. *Trends Neurosci* 2: 174-177.
- Pappolla MA, Chyan YJ, Omar RA, Hsiao K, Perry G, Smith MA, Bozner P (1998) Evidence of oxidative stress and in vivo neurotoxicity of beta-amyloid in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: a chronic oxidative paradigm for testing antioxidant therapies in vivo. *Am J Pathol* 152(4): 871-877.
- Pastor MC, Sierra C, Dolade M, Navarro F, Brandi N, Cabre F, Mira A, Seres A (1998) Antioxidant enzymes and fatty acid status in erythrocyte of Down's syndrome patients. *Clin Chem* 44(5): 924-929.
- Prasad AS (1997) Zinc and immunity. *Trace Elements in Humans* içinde. Çavdar AO (ed) TÜBİTAK, Ankara, s: 1-9.
- Reddy RD, Yao JK (1996) Free radical pathology in schizophrenia: a review. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 55: 33-43.
- Rossi PG, Parmeggiani A, Bach V (1995) EEG features and epilepsy in patients with autism. *Brain Dev* 17(3): 169-74.
- Sahley TL, Pankseep J (1987) Brain opioids and autism: an update analysis of possible linkages. *J Autism Dev Disord* 17: 201-216.
- Saya A (1992) Değişik kanser türlerinde plazma ve eritrositlerde glutatyon peroksidaz ve eser elementlerin düzeyleri. *Yayımlanmamış Doktora Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ankara.*
- Smalley SL, Asarnow RF, Spence A (1988) Autism and genetics. *Arch Gen Psychiatry* 45: 953-961.
- Steffenburg S, Gillberg C, Hellgren L, Anderson L, Gillberg I, Jakobsson G (1989) A twin study of autism in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden. *J Child Psychol Psychiatry* 30: 405-416.
- Tanındı Ş (1978) Malnutrisyonlu çocuklarda humarol ve hücrel immünite. iz elementler, çinko ve demirin bu fonksiyonlara etkisi. *GATA Bülteni* 20: 311-334.
- Tuchman RF, Rapin I (1997) Regression in pervasive developmental disorders: seizures and epileptiform EEG correlates. *Pediatrics* 99: 560-566.
- Tüzün A (1994) Behçet hastalığında süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri. *Yayımlanmamış Uzmanlık Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ankara.*
- Wilber GC (1980) Toxicology of selenium: a review. *Clin Toxicol* 17: 171-230.