

T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ  
KOORDİNASYON BİRİMİ



OTİSM VE DİKKAT EKSİKLİĞİ HİPERAKTİVİTE BOZUKLUĞU OLAN ÇOCUKLARDA  
OTOİMMÜNİTENİN VE ENDOKRİN BOZUCULARIN ROLUNUN ARAŞTIRILMASI

**Proje No:** TSA-12-3782

Proje Türü: Araştırma Projesi

**SONUÇ RAPORU**

**Proje Yürütücüsü:**

Adı Soyadı

Birimi/Bölümü

Doç. Dr. Hüseyin Per

Çocuk Nöroloji Bilim Dalı

Araştırmacının Adı Soyadı

Birimi/Bölümü

Yrd. Doç. Dr. Fatih Kardaş

Çocuk beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı

Şubat 2014

KAYSERİ



**TEŐEKKÖR:**

Bu alıŐma ERÖ BAP Birimi tarafından desteklenmiŐtir. ÇalıŐmanın yapılması sırasında desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Figen Narin, Prof. Dr. Mustafa Kendirci ve Yrd. Doç. Dr. Leyla Akın'a teŐekkÖr ederiz.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	5
1. Giriş	6
2. Materyal ve Metod	6
3. Sonuçlar	7
4. Tartışma	7
KAYNAKLAR	9

## Özet

Çalışmamızın amacı otizmlili veya dikkat eksikliği olan çocuklarda fitalatların ve bisfenol A seviyeleri ile glutamik asit dekarboksilaz (GAD-Abs), glutamat reseptör ve 7 tip gangliosidlere (antinöronal antikorlar)karşı gelişen antikorları tespit etmek ve bunların seviyeleri ile hastalıkların ilişkilerini anlamaktır.

Çalışmamıza yaşları 2-12 arasında değişen, 42 (24 erkek, 18 kız) otizm, 35(21 erkek, 14 kız) dikkat eksikliği hiperaktiviteli çocuk ve 21(13 erkek, 9 kız) sağlıklı (çocuk kontrol grubu) dâhil edilmiştir. Antinöronal antikorlar tüm gruplarda negatif olarak bulunmuştur. Otizmlili ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu olan hastalarda hastalarda Bisfenol A, di(2-etilhekzil) fitalat ve mono-etilhekzil fitalat seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Sonuç olarak endokrin bozucukların (Bisfenol A, di(2-etilhekzil) fitalat ve mono-etilhekzil fitalat) otizm ve dikkat eksikliği hiperaktivitenin patogenezinde rol oynadığı göstermekle birlikte antinöronal antikorların bu iki durumun patogenezinde etkili olmadığını bulduk.

**Anahtar kelimeler:** Dikkat eksikliği hiperaktivite, otizm, endokrin bozucular, Antinöronal antikorlar

## Abstract

The aim of this study is to investigate the association of bisphenol A, phthalate, the positivity of antineuronal antibodies such as glutamic acid decarboxylase (GAD–Abs), glutamate receptors (GluR), and seven types of gangliosides levels in children with autistic and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). 42 children (24 male, 18 female) with autism and 35 children (21 male, 13 female) in comparison to 21 (13 male, 9 female) healthy-matched children aged between 2-12 years. There was no seropositivity of antineuronal antibodies in either of the groups. Bisphenol A, di(2-ethylhexyl) phthalate and mono-ethylhexyl phthalate levels were higher compared to control group in both groups ( $p<0.05$ ).

In conclusion, we suggest that, higher levels of bisphenol A, di(2-ethylhexyl) phthalate and mono-ethylhexyl phthalate may play a role in the pathogenesis of autism and ADHD.

**Keywords:** attention deficit hyperactivity disorder, autism, endocrine disruptorsü, antineuronal antibodies

## 1. Giriş

Endokrin bozucular olarak da bilinen çevresel kirleticilerden fitalat ve bisfenol A'nın aynı zamanda nörotoksik bazı etkileri olduğu bildirilmiştir. Nörotoksik etkilerinin biyolojik mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Otizm ve DEHB da etiyolojik neden olarak, diğer nedenler yanında fitalat ve bisfenol A'nın da olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu nedenler arasında otoimmün mekanizmaların rolü olabileceğine dair kanıtlar giderek artmaktadır. SSS'deki bazı bozukluklarda da otoimmün etiyoloji ile ilgili bulgular mevcuttur. SSS'de otoimmün kaynaklı olduğu düşünülen bazı hastalıklarda hangi antijene karşı antikor geliştiği tespit edilebilmiş iken bir grup hastalıkta ise henüz antijen tanımlanamamıştır. Henüz (Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) ve Otizm de birçok neden etyolojide düşünülmüş ancak kesin bir sebep bulunamamıştır. Her iki hastalıkta da Genetik zeminde çevresel etmenlerin tetiklediği nedenler araştırılmaktadır. Bisfenol-A (BPA) bir ksenoöstrojen olup, günlük yaşamda sıklıkla maruz kaldığımız önemli bir kimyasal endokrin bozucudur. Fitalatlar, fitalik asit esterleri olup, plastiklerin saydamlık, esneklik, dayanıklılık kazandırılmasında sıklıkla kullanılan endüstriyel bileşiklerdir. En sık kullanılan fitalatlar; di(2-etilhekzil) fitalat (DEHP), diizodesil fitalat (DIDP) ve diizononil fitalat (DINP) olarak sayılabilir. MEHP (mono-etilhekzil fitalat), DEHP'nin en toksik metabolitlerinden biridir Bizde her iki hastalıkta da etyolojide fitalat ve bisfenol A ve otoimmüitenin rol alıp almadığını görmek için bu çalışmayı planladık.

Otoimmüniteyi değerlendirmek üzere antinöronal antikorlar olarak bilinen, otizm ve DEHB'de rolü olabileceği düşünülen glutamik asit dekarboksilaz (GAD-Abs), glutamat reseptör ve 7 tip gangliosidlere (antinöronal antikorlar) karşı gelişen antikorlar bu çalışmada araştırılacaktır.

## 2. Materyal ve Metod

Çalışma Erciyes Üniversitesi tıp Fakültesi çocuk nöroloji ve çocuk psikiyatrisi bilim dalına başvuran hastalar ve sosyal pediatri polikliniğine başvuran sağlıklı çocuklar üzerinde yapılmıştır. Çalışma Mayıs 2012-Mayıs 2013 arasında yapıldı. Aileler çalışma hakkında bilgilendirilmiş olup yazılı onam formu alınmıştır. Fakültemiz etik kurulu tarafından onaylanmıştır. Tecrübeli çocuk psikiyatrisler ve çocuk nörologlar tarafından değerlendirilen hastalara DSM-IV tanı kriterlerine göre otizm veya DEHB tanısı konulmuştur.

Fitalatlar ve BPA HPLC yöntemi ile metabolizma laboratuvarında, otoantikordardan GAD ELISA (Euroimmun, Germany) yöntemi ile glutamat reseptör antikorları (NMDA tipi) immunofluorescence test (Euroimmun, Germany) yöntemi ile gangliosidlere (GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GT1b ve GQ1b) karşı oluşan antikorlar immunoblot assay (Euroimmun, Germany) yöntemi ile araştırıldı.

Sonuçlar, SPSS version 17,0 (SPSS. Inc., Chicago, IL, USA) istatistik paket programı ile yorumlandı. Sonuçlar ortalama ve standart deviasyon olarak bildirildi. Gruplar arası değişkenlerin karşılaştırılması student t testi ile yapıldı.

### 3. Sonuçlar

Çalışmamıza 42 (24 erkek, 18 kız) otizm, 35(21 erkek, 14 kız) dikkat eksikliği hiperaktiviteli çocuk ve 21(13 erkek, 9 kız) sağlıklı (çocuk kontrol grubu) dâhil edilmiştir. Çocukların yaşları 2-12 arası idi. Otizm grubunun yaş ortalaması  $5,4 \pm 2,9$ , DEHB grubunun yaş ortalaması  $6,1 \pm 3,1$ , kontrol grubunun yaş ortalaması ise  $6,1 \pm 2,3$  olarak tespit edildi.

Antinöronal antikor sonuçları tüm gruplarda negatif olarak bulundu.

BPA, MEHP ve DEHP sonuçları tablo 1.'de belirtilmiştir.

**Tablo1.** Gruplara göre değişkenlerin sonuçları ve kontrol grubuna göre karşılaştırılmaları sonucu p- değerleri

Parametreler	Kontrol grubu (n=21)	Otizm grubu (n=42)	DEHB grubu (n=35)	p- değeri
BPA (ng/ml)	$0,7 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,4$	$1,3 \pm 0,5$	< 0,05
MEHP ( $\mu\text{g/ml}$ )	$0,33 \pm 0,07$	$0,45 \pm 0,09$	$0,53 \pm 0,1$	< 0,05
DEHP ( $\mu\text{g/ml}$ )	$2,7 \pm 0,4$	$3,3 \pm 1,2$	$3,6 \pm 1,1$	< 0,05

### 4. Tartışma

Otizmin etyopatogeneai tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak sebepleri içerisinde otoimmünitenin rol aldığı konusunda son yıllarda artan sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmaların bazılarında antinöronal antikorlar diye bilinen glutamik asit dekarboksilaz (GAD-Abs), glutamat reseptör ve 7 tip gangliosidlere karşı gelişen antikorların etkili olduğu bildirilmekle birlikte bunların rolünün olmadığını bildiren yayınlarda mevcuttur. Ayrıca Lyme hastalığının ve antifosfolipid antikorların etyolojide rol aldığını bildiren çalışmalar yapılmıştır.

Bizim çalışmamızda Antinöronal otoantikör seviyeleri tüm gruplarda negatif olarak tespit edilmiştir. Bu durumda otoantikörlerle otizm ilişkisinden söz etmek mümkün görülmemektedir.

DEHB’da otizm gibi etyolojisi henüz tam olarak aydınlatılmamış hastalıklar içerisinde yer almaktadır. Aynı şekilde DEHB grubunda da otoantikör seviyeleri negatif olarak tespit edilmiştir.

BPA ve ftalatlar endokrin bozucular olup daha çok Günlük maruziyet, plastik yemek kapları (özellikle ısıtıldığında ya da mikrodalgaya konulduğunda), biberonlar, karbonsuz çıktı kâğıtları gibi çok çeşitli yollarla olmaktadır. Bu yüzden, özellikle bu malzemelere sıkça maruz kalan, yenidoğan hasta bebekler, sık transfüzyon gerektiren hematolojik hastalar, dializ hastaları gibi gruplarda risk fazladır (69). Avrupa Komisyonu Sağlık ve Çevresel Riskler Bilimsel Komitesi’ne (SCHER) göre, bu özel gruplarda DEHP maruziyeti günlük tolere edilebilir dozun ötesindedir (70). Amerikan Pediatri Akademisi, DEHP içermeyen alternatif ürünleri önermektedir. BPA ve ftalatlarla ilgili yapılan çalışmalarda her ikisinin de otizm ve DEHB bozukluğuna neden olabileceği ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Ancak az sayıda da olsa ölçülen BPA ve ftalat seviyelerinin toksik sınırların daha altında olduğu vücutta toksik etki gösterebilmesi için çok yüksek dozlarda maruziyetin olması gerektiği ile ilgili çalışmalar da yayınlanmıştır. Bu çalışmada BPA ve ftalat seviyelerinin otizm ve DEHB gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkması her iki hastalığında etyolojisinde BPA ve ftalatların etkili olabileceğini düşündürmektedir.



## Kaynaklar

- 1- Dalton R, Forman MA, Boris NW. Pervasive developmental disorders and childhood psychosis. In Nelson textbook of Pediatrics. 17 edition. Edited by Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Philadelphia: WB Saunders:2004;93-94.
- 2- Mattila ML, Kielinen M, Linna SL, Jussila K, Ebeling H, Bloigu R, Joseph RM, Moilanen I. Autism spectrum disorders according to DSM-IV-TR and comparison with DSM-5 draft criteria: an epidemiological study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2011 Jun;50(6):583-592
- 3- Kim YS, Leventhal BL, Koh YJ, Fombonne E, Laska E, Lim EC, Cheon KA, Kim SJ, Kim YK, Lee H, Song DH, Grinker RR. Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry*. 2011 Sep;168(9):904-12.
- 4- Careaga M, van de Water J, Ashwood P. Immune dysfunction in autism: a pathway to treatment. *Neurotherapeutics*. 2010; 7(3): 283-292.
- 5- Vojdani A, Pangborn JB, Vojdani E, Cooper EL. Infections, toxic chemicals, and dietary peptides binding to lymphocyte receptors and tissue enzymes are major investigators of autoimmunity in autism. *Int j Immunopathol Pharmacol* 2003; 16(3): 189-99.
- 6- Mostafa GA, El-Sayed ZA, El-Aziz MM, El-Sayed MF. Serum anti-myelin-associated glycoprotein antibodies in Egyptian autistic children. *J Child Neurol*. 2008 Dec;23(12):1413-8
- 7- Sweeten TL, Bowyer SL, Posey DJ, Halberstadt GM, McDougle CJ. Increased prevalence of familial autoimmunity in probands with pervasive developmental disorders. *Pediatrics*. 2003 Nov;112(5):e420.
- 8- Mostafa GA, Kitchener N. Serum anti-nuclear antibodies as a marker of autoimmunity in Egyptian autistic children. *Pediatr Neurol*. 2009 Feb;40(2):107-12.
- 9- 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.
- 10- Mostafa GA, El-Hadidi ES, Hewedi DH, Abdou MM. Oxidative stress in Egyptian children with autism: relation to autoimmunity. *J Neuroimmunol*. 2010 Feb 26;219(1-2):114-8.
- 11- Rout UK, Dhossche DM. A pathogenetic model of autism involving Purkinje cell loss through anti-GAD antibodies. *Med Hypotheses*. 2008 Aug;71(2):218-21

- 12- Twyman RE, Gahring LC, Spiess J, Rogers SW. Glutamate receptor antibodies activate a subset of receptors and reveal an agonist binding site. *Neuron*. 1995 Apr;14(4):755-62.
- 13- Mostafa GA, Al-Ayadhi LY Increased serum levels of anti-ganglioside M1 auto-antibodies in autistic children: relation to the disease severity. *J Neuroinflammation*. 2011 Apr 25;8:39.
- 14- Dalton P, Deacon R, Blamire A, Pike M, McKinlay I, Stein J, Styles P, Vincent A. Maternal neuronal antibodies associated with autism and a language disorder. *Ann Neurol*. 2003 Apr;53(4):533-7.
- 15- Solimena M, Folli F, Denis-Donini S, Comi GC, Pozza G, De Camilli P, Vicari AM. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in a patient with stiff-man syndrome, epilepsy, and type I diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1988 Apr 21;318(16):1012-20.
- 16- Vulliemoz S, Vanini G, Truffert A, Chizzolini C, Seeck M. Epilepsy and cerebellar ataxia associated with anti-glutamic acid decarboxylase antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007 Feb;78(2):187-9.
- 17- Tural U, Onder E. Glutamaterjik Sistem, N-Metil-D-Aspartik Asit Reseptörleri ve Depresyon. *Klinik Psikiyatri* 2002; Ek 4:30-34.
- 18- Manent JB, Represa A. Neurotransmitters and brain maturation: early paracrine actions of GABA and glutamate modulate neuronal migration. *Neuroscientist*. 2007 Jun;13(3):268-79. Review.
- 19- Carlson GC. Glutamate receptor dysfunction and drug targets across models of autism spectrum disorders. *Pharmacol Biochem Behav*. 2012 Feb;100(4):850-4.
- 20- Ariga T, McDonald MP, Yu RK. Role of ganglioside metabolism in the pathogenesis of Alzheimer's disease--a review. *J Lipid Res*. 2008 Jun;49(6):1157-75.
- 21- Chopra V, Harley K, Lahiff M, Eskenazi B. Association between phthalates and attention deficit disorder and learning disability in U.S. children, 6-15 years. *Environ Res*. 2014;128:64-9.
- 22- Yen TH, Lin-Tan DT, Lin JL. Food safety involving ingestion of foods and beverages prepared with phthalate-plasticizer-containing clouding agents. *J Formos Med Assoc*. 2011; 110(11):671-84.
- 23- Kim BN, Cho SC, Kim Y, Shin MS, Yoo HJ, Kim JW, Yang YH, Kim HW, Bhang SY, Hong YC. Phthalates exposure and attention-deficit/hyperactivity disorder in school-age children. *Biol Psychiatry*. 2009;66(10):958-63.

- 24- Wolstenholme JT, Goldsby JA, Rissman EF. Transgenerational effects of prenatal bisphenol A on social recognition. *Horm Behav.* 2013;64(5):833-9.
- 25- de Cock M, Maas YG, van de Bor M. Does perinatal exposure to endocrine disruptors induce autism spectrum and attention deficit hyperactivity disorders? Review. *Acta Paediatr.* 2012;101(8):811-8.