

Tiyomersal Maruziyeti ve Otizm Spektrum Bozuklukları Arasındaki Olası İlişkinin Değerlendirilmesi

Evaluation of the Possible Association Between Thiomersal Exposure and Autism Spectrum Disorders

^{ID} Selinay Başak ERDEMLİ KÖSE^{a,b}, ^{ID} Aylin BALCI^a, ^{ID} Anıl YİRÜN^{a,c}, ^{ID} Pınar ERKEKOĞLU^{a,d}

^aHacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Ankara, TÜRKİYE

^bBurdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Burdur, TÜRKİYE

^cÇukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Adana, TÜRKİYE

^dHacettepe Üniversitesi Aşı Enstitüsü, Aşı Teknolojileri ABD, Ankara, TÜRKİYE

ÖZET Tiyomersal aşılarla antibakteriyel ve antifungal koruyucu olarak eklenen organik cıva bileşiğidir. Aşılar dışında birçok tıbbi ürün (immünglobulin preparatları, antitoksinler, deri preparatları, göz/kulak/burun damlaları, antiseptik merhemler, spreyleyler) ve kozmetik ürününde de kullanılmaktadır. Tiyomersalin molekül yapısının yaklaşık %50'sini cıva oluşturmaktadır ve organik cıva bileşiklerine maruziyetle otizm spektrum bozukluğu (OSB)'nin ortaya çıkabileceği literatürde yer almaktadır. Özellikle 2000'li yıllarda otizm olgularında görülen artışlar, tiyomersalin otizme neden olabileceğine dair endişeleri beraberinde getirmiştir. OSB, farklı genetik ve çevresel kökenlere sahip heterojen bir nörodavranışsal sorunlar bütünüdür. Bu patolojilerin karmaşıklığı ve kesin olarak bilinen diagnostik biyogöstergelelerin bulunmaması nedeniyle OSB fenotipik davranış özellikleri ile tanımlanır. Çocukluk çağında, aşılarla OSB arasındaki olası ilişki potansiyel bir çevresel neden olarak öne sürülmüştür. Cıva ve OSB arasındaki ilişkiye dair endişeler, ilk olarak 1990'larda başlamıştır. Şüpheler nedeniyle tiyomersal, günümüzde ülkemiz dâhil birçok ülkede çocukluk çağında kullanılan aşılardan tamamen kaldırılmıştır. Ancak ABD'de ve gelişmekte olan ülkelerde, bazı aşılar hâlâ tiyomersal içermektedir. Birçok düzenleyici kuruluş aşılarla maruz kalınan cıva miktarının oldukça düşük olduğunu ve bu miktarın herhangi bir patolojik duruma neden olmayacağını defalarca ifade etse de günümüzde tiyomersal ile ilgili spekülasyonlar nedeniyle aşı kararsızlığı giderek artmaktadır. Ancak aşılarla toplum sağlığının korunması için mutlaka gereklidir. Henüz kesinleşmemiş ve belki de hiç olmayan bu ilişki için çocukları aşılatmamak tüm toplumu büyük risk altına sokmaktadır. Bu derlemede, otizm, tiyomersal ve tiyomersal ile otizm arasındaki olası ilişki hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

ABSTRACT Thiomersal is an organic mercury compound used as antibacterial and antifungal preservative in vaccines. Other than vaccines, it is used in many medical products (immunoglobulin preparations, antitoxins, skin preparations; eye/ear/nose drops; antiseptic ointments, sprays) and cosmetics. The molecular structure of thiomersal consists of 50% mercury and literature suggests that exposure to organic mercury compounds may lead to autism spectrum disorders (ASD). Particularly in 2000s, concerns about thiomersal as a cause of autism has raised. ASD is a combination of heterogeneous neurobehavioral problems with different genetic and environmental origins. Because of the complexity of these pathologies and absence of a well-known diagnostic marker, ASD is characterized by phenotypic behavioral features. Interaction between childhood vaccination and ASD is put forward as a potential environmental cause. Concerns about the association between mercury and ASD first began in the 1990s. Because of doubts, thiomersal has been completely removed from childhood vaccines in many countries, including our country. However, some vaccines in use in the United States and developing countries still contain thiomersal. Although many regulatory organizations have repeatedly stated that amount of mercury exposure by vaccines is very low and will not cause any pathological conditions, vaccine hesitancy is gradually increasing due to speculations about thiomersal. However, vaccination is absolutely necessary to protect public health. Avoiding childhood vaccination due to unascertained or non-existent relationship puts the whole population under great risk. In this review, we aimed to give information about autism, thiomersal and possible connection between thiomersal and autism.

Anahtar Kelimeler: Otizm; tiyomersal; aşı; aşı kararsızlığı

Keywords: Autism; thiomersal; vaccine; vaccine hesitancy

OTİZM

Otizm spektrum bozukluğu (OSB) farklı genetik ve çevresel kökenlere sahip heterojen nörodavranışsal

ve iletişim sorunlarının bütünüdür. 1938 yılında Asperger ve 1943 yılında Kanner tarafından tanımlanan otizm, ağır bir nörogelişimsel bozukluktur. Otistik bozukluk, Asperger sendromu, atipik otizm ve ço-

Correspondence: Pınar ERKEKOĞLU

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Ankara, TÜRKİYE

E-mail: erkekp@yahoo.com

Peer review under responsibility of Journal of Literature Pharmacy Sciences.

Received: 02 Jan 2020

Received in revised form: 20 Mar 2020

Accepted: 05 Apr 2020

Available online: 29 Dec 2020

2630-5569 / Copyright © 2020 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



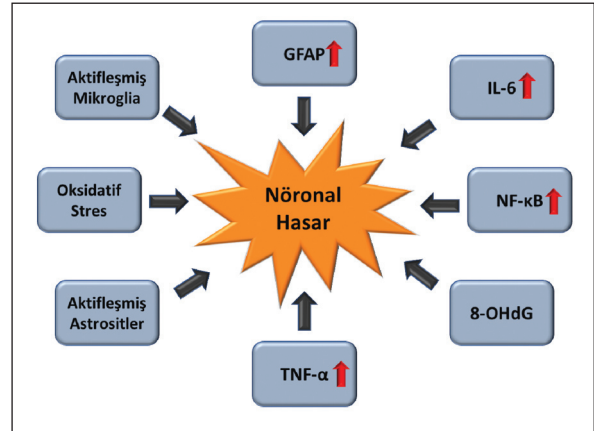
cukluk disintegratif bozukluğu olarak tanı alan yaygın gelişimsel bozuklukların tümü OSB altında değerlendirilir.¹ Bu patolojiler karmaşıktır ve kesin olarak bilinen tanı biyogöstergeleri yoktur; tümü OSB fenotipik davranış özellikleriyle tanımlanır.² En sık tanı konan çocukluk çağındaki nörogelişimsel bozukluklardan biri olan OSB, ABD’de yaklaşık 59 çocuktan birinde görülmektedir. Erkeklerde, kızlardan 4-5 kat daha sık olarak görüldüğü belirtilmiştir.¹

OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUKLARININ TANISI VE BİYOGÖSTERGELER

OSB, Amerikan Psikiyatri Birliği tarafından, “sosyal iletişim ve sosyal etkileşimdeki kalıcı eksiklikler; kısıtlı, tekrarlayan davranış kalıpları, ilgi alanları veya faaliyetler ile ilgili davranışsal bozukluklar” olarak tanımlanır. Çocuklarda tanı bu belirtiler doğrultusunda konur.^{2,3} OSB’li çocuklarda, fiziksel değişiklikler ya da sağlıkla ilgili diğer sorunlar (örneğin, tutarlıklar) da görülebilmektedir.⁴

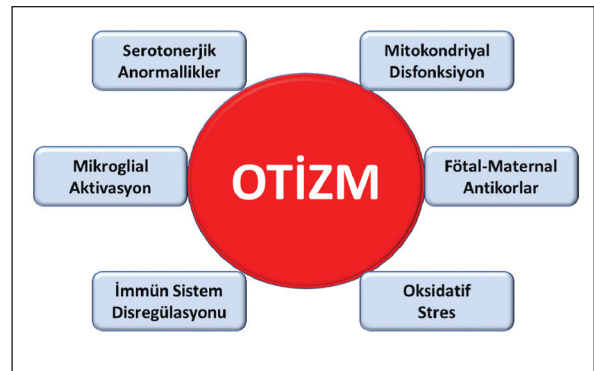
Beyin patolojisini inceleyen çalışmalarda, OSB’de belirgin devam eden bir nöroinflamasyonun varlığı gösterilmiştir.⁵⁻⁸ OSB’de görülen nöroinflamatuvar reaktivite ve nöronal hasarı gösteren belirtiler aktifleşmiş mikroglia ve astrositler, yüksek düzeylerde glial fibriler asidik protein; muhtemelen yapısal bütünlüğünü korumak için astrositler tarafından eksprese edilen bir filament proteini), oksidatif stres (örneğin, nörotrofin-3, 3-nitrotirozin ve okside glutatyon düzeylerinde artış), 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ve proinflamatuvar sitokin düzeylerinde artış, aktif B hücrelerinde nükleer faktör kappa B (NF- κ B)’nin anormal ekspresyonu ve nöronal hücre kaybıdır.^{4,5,7,8} Bu mekanizmalar, Şekil 1’de özetlenmiştir.

OSB’li birçok çocukta, çeşitli gen mutasyonları, gen ekspresyonları ve epigenetik değişikliklerin beyin gelişimi ve işlevi ile ilgili olduğu bulunmuştur.² OSB’nin ortaya çıkmasında birçok farklı mekanizma etkin olabilir. Bu mekanizmaların başlıcaları; oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, beyin serotonin düzeylerindeki anomaliler, anormal beyaz cevher bağlantısı, ERK yolağındaki değişiklikler, anormal sitokin düzeyleri ve büyüme faktörlerini içeren immün sistem disregülasyonu, fetal-maternal antikorlar ve mikroglial aktivasyondur (Şekil 2).⁹



ŞEKİL 1: Nöronal hasar oluşturan mekanizmalar.

GFAP: Glial fibriler asidik protein; NF- κ B: Nükleer faktör kappa B; 8-OHdG: 8-hidroksideoksiguanozin; IL-6: Interlökin 6; TNF- α : Tümör nekrozis faktör-alfa.



ŞEKİL 2: Otizmin olası mekanizmaları.

OSB’nin kesin bir tedavisi yoktur; tedavilerin kişiselleştirilmesi daha doğru bir yaklaşım olabilir. Erken dönem yoğun davranış terapilerinin uzun vadeli yararı büyüktür. Bazı biyogöstergeler heterojen popülasyonlar içinde klinik olarak anlamlı alt grupların tanımlanmasında yararlı olabilir. Böylece riski iyi tanımlamak ve tanıyı doğrulamak daha başarılı ve uygun bir bireysel tedavi/tıbbi bakım sağlayabilir.¹⁰⁻¹³

Biyokimyasal biyogöstergeler arasında nörotansmitterler, hormonlar ve immün işlevler ile ilgili parametreler yer almaktadır. Çalışmalar, OSB’li bireylerde kontrollere göre, trombosit serotonin düzeylerinin daha yüksek olduğunu göstermiştir.¹³⁻¹⁵ Bu durum, OSB’de zayıf konuşma gelişimi, zayıf sosyal iletişim, oyun becerilerinde eksiklikler, davranış bo-

zuklukları ve kendine zarar vermayla ilişkilendirilmiştir.¹⁶ Daha ciddi vakalarda, trombosit serotonin düzeylerinin diğer vakalara oranla daha yüksek olduğu belirtilmiştir.¹⁷ Ayrıca OSB’li bireylerde melatonin plazma düzeylerinin ve ana metaboliti olan melatonin sülfatın gece boyunca idrarla atılımının daha düşük olduğu gösterilmiştir.^{12,15} Bu durum ise OSB’de bozulmuş sosyal iletişim ve oyun becerileri ve yüksek serotonin düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur.^{12,16}

Hammock ve ark. 2 aşamalı bir çalışmada, otizm tanısı almış, ilaç tedavisi görmeyen 31 çocuk ve adölesanda oksitosin ve serotonin düzeyleri arasındaki korelasyonu incelemiştir. Takiben, oksitosin reseptörü geni olan OXTR’yi eksprese etmeyen farelerde tam kan serotonin düzeyinin değişip değişmediğini araştırmışlardır. Çocuk ve ergenlerde oksitosin ve serotonin düzeylerinin anlamlı düzeyde negatif korelasyon gösterdiği; korelasyonun 11 yaşından küçük çocuklarda daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir. İnsan bulgularına paralel olarak, OXTR’yi eksprese etmeyen farelerde, tam kan serotonin düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür.¹⁴

Pagan ve ark., serotonin-N-asetil serotonin (NAS)-melatonin yolundaki değişikliklerin, OSB’li bireylerde bir biyogösterge olabileceğini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, OSB’li 278 hastada, 506 adet 1. derece akrabalarında (129 kardeş, 199 anne, 178 baba) ve 416 adet cinsiyet ve yaşa uygun kontrollerde tam kan serotonin, trombosit N-asetil serotonin ve plazma melatonin düzeylerini ölçmüşlerdir. Serotonin düzeyleri yaşa bağlı olarak değiştiğinden, analizler yapılırken çalışma popülasyonu 16 yaş altı ve üstü olarak 2 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubunun %95’ine karşılık gelen serotonin düzeyleri referans alındığında, her 2 yaş grubunda da OSB’li bireylerin %40’ında hiperserotonemi gözlenirken, tam kan serotoninini 1. derece akrabalarının yaklaşık %15’inde önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Plazma melatonin düzeylerinin ise, OSB’li bireylerde ve akrabalarında kontrollere kıyasla anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir. Kontrol grubunun %95’ine karşılık gelen melatonin düzeyleri referans alındığında, OSB’li bireylerin %51’inde, ebeveynlerin %26’sında ve kardeşlerin %25’inde melatonin eksikliği gözlen-

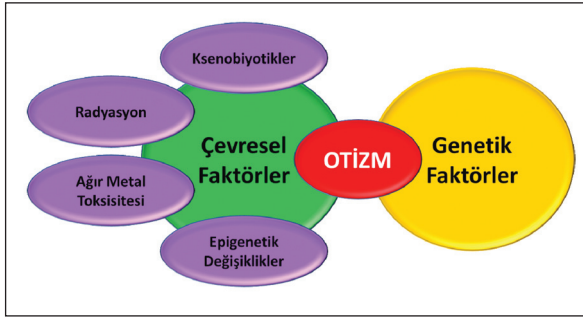
miştir. Trombositlerde ölçülen ara metabolit NAS’ın, OSB’li bireylerde ve akrabalarında kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Kontrol grubunun %95’i alındığında, NAS, OSB’li bireylerin %47’sinde, ebeveynlerin %19’unda ve kardeşlerin %17’sinde yükselmiştir. Trombosit NAS düzeyleri, OSB’li hastalarda plazma melatonin ile güçlü bir negatif korelasyon göstermiştir; bu korelasyon ebeveynler ve kontrollerde daha az belirgin olarak bulunmuştur. Sonuçlar, OSB hastalarında NAS ve melatonin düzeylerinde görülmesi olası değişikliklere işaret etmektedir. Çalışmada, OSB hastalarının yaklaşık yarısında, tam kan serotonin ve trombosit NAS düzeylerinin arttığı; plazma melatonin düzeylerinin ise azaldığı belirlenmiştir. Serotonin, NAS ve melatonin değerlerinin kombinasyonunun, OSB hastaları ve kontroller arasında iyi bir ayırım yapılmasını sağlayabileceği bildirilmiştir.¹⁵

Makrosefali, düşük 2D:4D oranı ve dismorfik yapılar gibi fiziksel özellikler, OSB’li bireylerde normal popülasyona oranla daha yaygındır; düşük IQ, dil bozuklukları ve komorbid nöbetler dâhil semptomların şiddeti ile ilişkili olabilir.¹⁸⁻²¹ OSB’li çocuklarda gastrointestinal sorunlar, uyku bozuklukları ve tutarlıklar gibi birlikte görülen değişik patolojilerin de yüksek oranlarda görüldüğü ve bu belirtilerin OSB’nin tipine göre de farklılık gösterebildiği belirtilmektedir.²²

OTİZM GELİŞİMİNDE GENETİK VE ÇEVRESEL FAKTÖRLERİN OLASI ETKİLERİ

Otizm vakalarındaki artış, hastalığın nedenleri üzerine araştırmaların multi genetik etkiler ve epigenom üzerinde yoğunlaşmasını beraberinde getirmiştir.^{4,23,24} Ancak çalışmalardan elde edilen sonuçların çelişkili olduğu görülmektedir.²⁵

Son dönemde genetik kökenli OSB’nin toplamda sadece %30-%40 olabileceği konusunda bir fikir birliği ortaya çıkmaktadır.²⁶ Kromozomal mikroarray testleriyle yapılan çalışmalar, OSB’li çocukların ~%80’inin normal genoma sahip olduğunu belirlemiştir.²⁷ Kromozomal anomali bulunan bireylerin ise sadece %7’sinde OSB’de etiyolojik rol oynayabilen *de novo* mutasyonlar görüldüğü belirtilmiştir.^{4,27}



ŞEKİL 3: Otizm gelişiminde çevresel ve genetik faktörlerin etkileri.

Hallmayer ve ark.nın, 192 ikiz üzerinde yaptıkları çalışmada, OSB'nin yüksek derecede çevresel faktörlere bağlı olduğu; daha az oranda genetik kalıttan kaynaklandığı bildirilmiştir. Tek yumurta ikizlerinin aralarında uyumsuzluk bulunması ve kesin sonuç vermeyen çok sayıda genetik çalışma, çevresel risk faktörlerinin önemini ve otizm etiolojisindeki rolünü ortaya koymaktadır. Bu nedenle, duyarlı genler ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimler otizm etiolojisinin temelini oluşturduğu öne sürülmüştür.²⁸

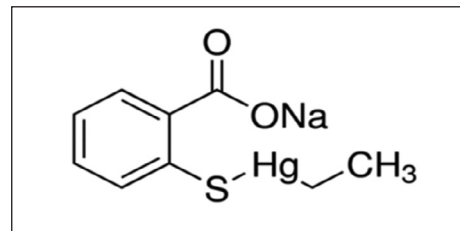
Son yıllarda prenatal/postnatal çevresel maruziyetlerin otizmin gelişimine katkısı üzerine çalışmalar yapılmış; ancak ilgili mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır.^{2,29} Çevresel faktörler, epigenetik mekanizmalar aracılığıyla gen ekspresyonunun kalitesini ve miktarını etkileyebilir. Bu değişiklikler bir sonraki jenerasyona taşınabilir.³⁰ Çevresel maruziyetler embriyo oluşumunun kritik dönemlerinde gelişimsel anahtar genlerin ekspresyonunu değiştirebilir ve otizm riskini artırabilir.³¹ Yeni araştırmalar ise doğum öncesi çevrenin fetal programlamayı etkileme olasılığı konusuna yoğunlaşmıştır.^{2,29}

Grandjean ve Landrigan, OSB'nin patolojisinde çeşitli ksenobiyotiklerin rolü olabileceğini belirtmiş; kurşun, metil cıva, poliklorlu bifenil (PCB)ler, arsenik ve tolueni "gelişimsel nörotoksik madde" olarak tanımlamışlardır.³² Mount Sinai Çocuk Çevre Sağlığı Merkezi, Amerikan Ulusal Çevre Sağlığı Bilimleri Enstitüsü ve Autism Speaks'in desteğiyle "Otizmin ve Öğrenme Güçlüklerinin Çevresel Nedenlerini Keşfetmek" konulu bir çalıştay düzenlemiştir. Çalıştayda, otizm ve öğrenme güçlüğüne yol açtığından şüphelenilen çevresel kirleticilerden bazılarının kur-

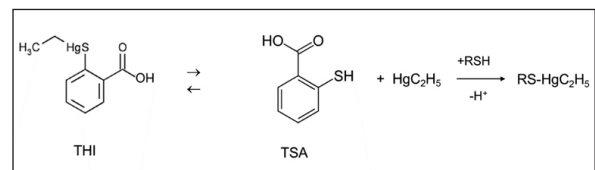
şun, metil cıva, PCB'ler, organofosfatlı ve organoklorlu pestisitler olduğu belirtilmiştir. Ayrıca ftalatlar, polibromlu difenil eterler ve perflorooktanoik asit türevleri gibi endokrin bozucular ve polisiklik aromatik hidrokarbonlara maruziyetin de otizm ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir.²⁶ Otizm gelişiminde çevresel ve genetik faktörlerin rolü Şekil 3'te gösterilmiştir.

TIYOMERSAL

Tiyomersal, ağırlıkça %49,55 cıva içeren sodyum etil cıva tiyosalisilat bileşimidir (Şekil 4). Enjeksiyondan sonra hızla etil cıva ve tiyosalisilata ayrılır (Şekil 5). Etil cıva, kan-beyin bariyeri (KBB)ni kolaylıkla geçebilecek lipofilik özelliğindedir. Tiyomersal, çeşitli enzimlerin sülfhidril içeren aktif bölgesini inhibe eder; glutasyon, sistein ve proteinlerdeki sülfhidril grupları dâhil olmak üzere sülfhidril bileşiklerine bağlanır. İnterstisyel sıvıdaki tiyol gruplarına bağlanan etil cıva önce kapiler hücrelere, sonrasında benzer kimyasal/biyokimyasal yollarla ağırlıklı olarak albümine bağlı olarak taşınır. Ayrıca tiyomersal endoplazmik retikulum membranı üzerindeki inositol trifosfat reseptörü 3'e ait kalsiyum kanalını aktive edip hücre içi kalsiyum salınımını tetikler; kalsiyum sinyallemesine bağlı olan çeşitli hücresel işlevleri indükleyebilir veya inhibe edebilir.^{33,34} Etil cıvanın yarı ömrü 1 haftadan azdır ve metil cıvaya (1,5 ay) oranla oldukça kısadır. Etil cıvanın kanda ilk dağılımı ve atılımı metil cıva ile benzerdir. Ancak dokularda



ŞEKİL 4: Tiyomersal molekül formülü.



ŞEKİL 5: Tiyomersal'in biyotransformasyonu; THI: Tiyomersal; TSA: Tiyosalisilat.

birikme ve inorganik cıvaya biyotransformasyonları keskin bir şekilde farklılık gösterir. Bu farklılıklar, metil cıva ile ilgili verilerin, tiyomersal konusundaki risk değerlendirmesi için uygun bir referans olmadığını göstermektedir.³³

1927 yılında geliştirilen tiyomersal günümüzde kozmetik ürünlerde; göz/kulak/burun damlaları ve merhemleri, antiseptik merhemler/spreyler, topikal ilaçlar ve mertiyolat tentürü gibi farmasötik ürünlerde ve antitoksinler, immünglobulinler, cilt alerji test antijenleri ve aşılarda gibi biyolojik ürünlerde kullanılmaktadır.³⁴

KORUYUCU AJAN OLARAK TİYOMERSAL

Tiyomersalin çeşitli enfeksiyonlara karşı etkin olduğunu gösteren sonuçlar, 1929 yılında meningokok menenjit salgını sırasında tiyomersalin hastanelerde kullanımını teşvik etmiştir. Hekimler 22 hastaya 180 mL'ye kadar 5 doza bölünmüş %1'lik tiyomersal çözeltisi vermiştir. Terapötik açıdan bu uygulama başarısız olmuştur. Ancak bu kadar yüksek dozda tiyomersal kullanımında bile toksisite görülmediği belirlenmiştir. Veriler, hayvan çalışmaları ile birleştirildiğinde, tiyomersalin daha önce kullanılan ticari ürünlere göre toksisitesinin daha az olduğu görülmüştür. Bu durum tiyomersalin düşük konsantrasyonlarda geniş bir biyolojik ürün yelpazesine koruyucu olarak dâhil edilmesinin önünü açmıştır.^{34,35} Stetler ve ark., difteri/tetanoz/boğmaca (DTP) aşısının üretiminde bakteriyostatik bir ajan olarak kullanılan tiyomersalin sadece zayıf bakterisid etki gösterdiğini, çoklu doz DTP aşı şişelerinde bakteri hücrelerinin 2 haftaya kadar hayatta kaldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, aşılarında bulunan konsantrasyonlarda tiyomersalin ideal bir koruyucu olmadığı sonucuna varmışlardır. Daha yüksek konsantrasyonlarda tiyomersal kullanımı ise tehlike oluşturabileceği gerekçeyle önerilememiştir.³⁶ Bir başka çalışmada, tiyomersalin tekli veya kombine kullanımları değerlendirildiğinde *Staphylococcus aureus*'un büyümesini yeterli düzeyde inhibe edemediği için, bir koruyucu olarak Avrupa Farmakopesi, antimikrobiyal etkinlik kabul kriterlerini karşılamadığı bildirilmiştir.³⁷

DeneySEL çalışmalar, tiyomersalin, koruyucu olarak kullanıldığı aşılarında istenmeyen reaksiyonlar

gelişmesine neden olabileceğini göstermektedir. Uchida ve ark. nonsensitize farelerde tiyomersal çözeltisinin ayak tabanının içine enjeksiyonunun, enjeksiyondan 1 saat sonra şişkinlik oluşturduğunu ve bunun 24 saat sürdüğünü bildirmişlerdir. Diğer taraftan, nonsensitize sıçanların sırtına kutanöz tiyomersal enjeksiyonundan sonra, artan bir vasküler geçirgenlik görülmüştür.³⁸

Tiyomersalin, *Leishmania infantum promastigotes* antijeninde farklı koruyucularla karşılaştırıldığında orta düzeyde stabilite sağladığı; boğmaca aşısında ise belirgin stabilite sağlayabildiği bildirilmiştir.³⁹ Tiyomersali koruyucu olarak içeren birçok aşının, koruyucu içermeyen aşılarından daha stabil olduğu belirtilmiştir.⁴⁰ Koruyucu içermeyen kontrollerle karşılaştırıldığında, Towne ve ark. tiyomersal içeren örneklerde hidrojen peroksit düzeyinde sıcaklığa bağlı bir düşüş olduğunu göstermişlerdir. Hidrojen peroksit, bakteriyel/viral toksinlerin aşının içinde oluşturabileceği oksidatif reaksiyonların sonucunda oluşan reaktif oksijen bileşiklerini temsil etmekte; tiyomersal oksidatif reaksiyonları önleyebilmektedir.⁴¹ Koruyucuların, aşılar içerisindeki varlığının bu nedenle oldukça önemli olduğu ifade edilebilir.

TİYOMERSAL İÇEREN AŞILARDAN CIVA MARUZİYETİ VE ÖNLEMLER

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 1990'lı yılların sonunda, yaşamın ilk 6 ayı boyunca "Amerikan Aşı Programı"na göre aşılanan bebeklerin, kullanılan aşı formülasyonlarından Çevre Koruma Ajansı (EPA)'nın metil cıva için belirlediği limitleri (0,0001 mg/kg/gün) aşan miktarda etil cıvaya maruz kalabileceğini belirten bir açıklama yapılmıştır.⁴² 1999 yılında ise, Amerikan Pediatri Akademisi ve İngiliz Halk Sağlığı Hizmeti, bebek ve çocuklara uygulanan tüm aşılarından cıva içeren koruyucuların en kısa sürede çıkarılmasını isteyen ortak bir bildiri yayınlamış; bu 2 kuruluş tiyomersal içeren aşılarından etil cıva maruziyeti ile ilişkili potansiyel riskleri araştıran çalışmaların yapılması konusunda fikir birliğine varmıştır.⁴³

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, metil ve etil cıvanın, insan vücudundaki yarı ömürleri, farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerindeki farklı-

lıklar nedeniyle aynı toksikolojik profili ortaya koymadıklarına ilişkin veriler elde edilmiştir.⁴⁴ Metil ve etil cıvadan kaynaklanan nörolojik etki eşiklerinin sırasıyla yaklaşık 200 µg/L ve 1.000-2.000 µg/L olduğu tahmin edilmektedir. Tiyomersal içeren aşıları alan 2-6 aylık bebeklerin kan cıva konsantrasyonlarının yaygın olarak kabul edilen güvenli değerlerin üzerine çıkmadığı gösterilmiştir. Etil cıvanın insanlarda eliminasyonunun çok iyi olduğu; kandaki yarı ömrünün 4-10 gün arasında değiştiği bildirilmiştir.³³

Aşı içeren çok kullanımlı flakonlara, şırınga iğnesi aşı sıvısıyla birçok kez temas ettiğinden, mikrobiyal kontaminasyonu önlemek için bir koruyucu eklenmesi mutlaka gerekmektedir. Tiyomersalin günümüzde hâlâ en iyi koruyuculardan biri olduğu düşünülmektedir. Dünya Sağlık Örgütüne bağlı Aşı Güvenliği Küresel Danışma Komitesi [Global Advisory Committee on Vaccine Safety (GACVS)] tiyomersalin olası toksisitesini ilk olarak Ağustos 2000 tarihindeki özel bir toplantıda değerlendirmiştir. Komitenin bu konudaki incelemeleri hâlen devam etmektedir. Tiyomersal, çocuklarda otizmle ilişkilendirildikten sonra günümüzde çocuklara uygulanan aşıların pek çoğunda kullanılmamaktadır. Ülkemizde, çocuk aşılama takviminde yer alan tiyomersal içeren aşılar tamamen programdan çıkarılmış; başka koruyucuları içeren aşılar takvime eklenmiştir.⁴⁵ Gelişmekte olan ülkelerde, bebeklerde cıva maruziyetinin yaklaşık %50'sinin yaşamın ilk 2 yılında tekrarlanarak uygulanan tiyomersal içeren aşılarından geldiği belirtilmektedir. Bu aşılardan maruz kalınan kümülatif doz, yaşamın ilk 6 ayında 187,5 µg cıva kadar yüksek olabilir.⁴⁶ ABD'de alınan önlemler sonucu cıva maruziyeti son yıllarda azalmış olsa da gelişmekte olan ülkelerde değişmemiştir.⁴ Ancak ABD'de erişkinler için kullanılan aşılar dâhil influenza, tetanoz, tetanoz-difteri-boğmaca, hepatit, meningokokkal polisakkarid, pnömokok ve keneler nedeniyle oluşabilecek meningoensefalit aşıları hâlâ tiyomersal içermektedir.³³

İngiltere, Kuzey İrlanda ve Danimarka'da, tiyomersal içeren aşılarla aşılama ve nöro-davranışsal bozuklukların sıklığını araştıran bağımsız epidemiyolojik çalışmaların bulguları, bebeklerde bir sorun oluşmadığını göstermiştir.^{47,48} ABD'de ulusal aşılama programından tiyomersal içeren aşıların kaldırılma-

sıyla nörogelişimsel bozuklukların azaldığını iddia eden bir çalışma yayınlanmıştır.⁴⁹ Ancak GACVS, bu çalışmaları incelemiş; yazarların çalışma tasarımı ve veri kaynağı nedeniyle ikna edici olmadığı sonucuna varmıştır. GACVS, son karar olarak farmakokinetik ve gelişimsel çalışmaların aşılarla tiyomersal güvenliği konusundaki endişeleri desteklemediği sonucuna varmıştır. GACVS, devam etmekte olan çalışmalardan doğabilecek tüm kanıtları incelemeye devam etmektedir.⁵⁰

OTİZM VE TİYOMERSAL İLİŞKİSİ

Çocukluk çağında aşılama, otizmin potansiyel nedeni olarak görüldüğü için çok fazla sayıda çalışmaya konu olmuştur ve olmaya devam etmektedir. Cıva ve OSB arasındaki ilişki hakkındaki endişeler, araştırmacıların cıva içeren aşılarla otizm riski arasında şüpheli bir ilişki olduğunu bildirdikleri 1990'larda başlamıştır. İngiltere'de, otizmle ilişkili iddialar kızamık-kabakulak-kızamıkçık (MMR) aşısına odaklanırken, ABD'de ise çoklu doz şişelerindeki aşılarla ilgili çalışmalar yürütülmüştür.²³ 2001 yılında Tıp Enstitüsü İmmünizasyon Güvenlik Değerlendirme Komitesi [Immunization Safety Review Committee of Institute of Medicine (ISR)], cıvaya maruz kalmanın otizm gibi nörogelişimsel bozukluklar için risk faktörü olmasının biyolojik olarak mümkün olabileceğini belirtmiştir.⁵¹

Çocukluk çağında organik cıvaya ve de özellikle metil cıvaya maruz kalmanın, dil, dikkat ve bellekteki nörofizyolojik anomalileriyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Çalışmalar, hipokampal hücre ölümünün, nörojenezdeki bozuklukların ve ciddi öğrenme eksikliklerinin, gelişim sürecinde metil cıvaya akut maruziyetten kaynaklandığını göstermiştir.⁵² Çocuklarda KBB'nin geçirgenliği erişkinlere göre daha yüksek olduğu için cıvanın beyinde birikebileceği, nöroinflamatuvar yanıt ve oksidatif stres sürecini başlatabileceği, aynı zamanda beyin dokusu otoantikolarının düzeylerini artırabileceği belirtilmektedir. Bu mekanizmaların otizmin patofizyolojisinde ve diğer nörogelişimsel bozukluklarda çok önemli rol oynadığı bilinmektedir.⁴ Cıva zehirlenmesinde karakteristik motor bulgular, ataksi ve dizartridir. Akut veya kronik nispeten yüksek dozlara maruz kalındığında, titreme, kaslarda ağrı ve zayıflama görülebilir. Fun-

gusitlerden etil cıva maruziyetinde de aynı belirtilerin görüldüğünü ifade eden vaka raporları vardır.⁵³

OTİZM VE AŞILARDAN MARUZ KALINAN TIYOMERSAL İLİŞKİSİ ÜZERİNE YAPILAN İNSAN ÇALIŞMALARI

Jafari ve ark.nın bir metaanalizde, OSB hastalarının kan, eritrosit ve beyin dokularındaki cıva konsantrasyonlarının sağlıklı deneklere göre anlamlı derecede yüksek olduğu, saçlarındaki cıva konsantrasyonunun ise anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür.⁵⁴ OSB hastalarının saçlarındaki düşük cıva düzeylerinin, özellikle santral sinir sistemi hücrelerin içinde cıva tutulmasından kaynaklanabileceği önerilmiştir. OSB hastalarında, cıvanın sekestrasyonunda veya detoksifikasyonunda önemli bir rol oynayan tiyol gruplarının ve bunların kullanılabilirliğinin, sağlıklı bireylere oranla düşük olduğu bulunmuştur. Bu durum, OSB hastalarında bu mekanizmalardaki farklılıkların önemli olabileceğini; OSB dâhil nörogelişimsel bozuklukların ortaya çıkmasında etkin olabileceğini göstermektedir.^{4,55} OSB hastalarında cıva gibi toksik ajanların eliminasyon (dışkı, idrar, saç, tırnak, bebek dişleri vb.) işlevinde bozukluklar olabileceği bildirilmiştir.^{54,55} Bu durumda, aslında OSB hastalarında cıvanın eliminasyonundaki bozuklukların etkin olabileceği ifade edilebilir. OSB'li bireylerde organik cıvanın eliminasyonunda görev alan mekanizmalar, yolaklar veya ilgili proteinlerdeki farklılıkların dikkatle araştırılmasının gerektiği söylenebilir.

1998 yılında Lancet'te Wakefield ve ark. tarafından yayımlanan bir makalede pediatrik gastroenteroloji bölümüne başvuran, regresif OSB'li 12 çocuktan 8'inde MMR aşısı yapılmasını takiben gelişimsel gerilemelerin görüldüğü bildirilmiştir. Araştırma grubu, MMR aşısındaki canlı virüsün bağırsak mukozasının geçirgenliğini artırarak kana, oradan da beyine geçtiğini; böylelikle otizme neden olduğunu iddia etmiştir.⁵⁶ Andrew Wakefield'in bu yayını daha sonra Lancet'ten kaldırılmış; Wakefield çalışmadaki metodoloji sorunları (örneğin sadece 12 çocuğun çalışmaya dâhil edilmesi, çocukların rastgele seçilmesi, çocuklardan bir kısmının ailelerinin aşı firmalarına dava açmış olması) ve takiben doktorun kendisine ait kabakulak aşısını piyasaya sürmek gibi girişimleri gerekçesiyle doktorluktan men edilmiştir.

Yapılan diğer epidemiyolojik çalışmalar ise MMR aşılmasıyla OSB riski arasındaki bağlantıyı destekleyen kanıtlar sunmamıştır.⁵⁷ Madsen ve ark. 1991-1998 yılları arasında Danimarka'da doğan 500.000'den fazla çocukta retrospektif kohort çalışması yürütmüşlerdir. Çocukların %82'si MMR aşısıyla aşılanmış, diğerleri ise aşılanmamıştır. Araştırmacılar, 316 çocukta otistik bozukluk ve 422 çocukta diğer OSB'leri tanımlamışlardır. Aşılanan ve aşılanmayanlar arasında, otizmle ilişkiyi ortaya koyacak fark olmadığını bildirmişlerdir.⁴⁷ Danimarka'da tiyomersal içeren aşılardan aşamalı olarak piyasadan çekildiği dönemde (2002-2004) yapılan bir kohort çalışmada ise 1994-1995 yıllarıyla karşılaştırıldığında, OSB vakalarında bir düşüş olduğu bildirilmiştir.⁵⁸

Tiyomersale bağlı olarak erişkinlerde gelişebilecek istenmeyen etkiler, kabul edilebilir sınırlar içindedir ve aşılardan kullanıma girmesi aşamasında bir sorun yaratmamaktadır. Ancak bu durum özellikle en hassas popülasyon olarak kabul edilen bebek ve çocuklar açısından önemlidir.⁵⁹ Belirli bir aşı formülasyonunun antiijenlerinin ve bileşenlerinin çeşitliliği ve etkileşimleri göz önüne alındığında, bu hassas popülasyonda düşük dozda etil cıva maruziyeti ile ilgili riskleri değerlendirmek zordur.⁶⁰ Bununla birlikte, incelenen aşılardan arasındaki tek farkın tiyomersalin varlığı veya düzeyi olduğu durumda tiyomersale maruz kalma riskini inceleyen epidemiyolojik çalışmalar, tiyomersal maruziyeti ile nörogelişimsel bozukluk riski arasında bir ilişki olabileceğini belirtmiştir. Aşı Advers Etki Raporlama Sistemi'nden elde edilen veriler ışığında tiyomersal içeren ve içermeyen DTP aşılardan istenmeyen etkileri karşılaştırıldığında, tiyomersal içeren aşıyla aşılanan grupta nörogelişimsel sorunların anlamlı düzeyde yüksek olduğu ortaya konmuştur.⁶¹ Ancak bu çalışmayı gerçekleştiren Dr. Mark Geier ve oğlu Dr. David Geier'in de Wakefield benzeri bir komploları olduğu, aşılardan nedeniyle otistik oldukları iddia edilen çocuklara, prostat kanseri hastalarına veya ciddi hormonal bozukluğu olan ergenlere verilen, hipofiz salgısını baskılayan ve geri dönüşsüz kimyasal kastrasyona yol açan löprolid astat etken maddeli LUPRON DEPOT® (TAP Pharmaceuticals-ABD ve Japonya) adındaki bir ilacı uygulayarak haksız kazanç elde ettikleri belirlenmiştir. David Geier'in aslında bir biyolog olduğu ve he-

kimlik belgesi olmadan hasta tedavi ettiği anlaşılmış; oğluna ise ağır yaptırımlar uygulanmıştır.

ABD ve İngiltere'nin veri tabanlarını kullanarak yapılan epidemiyolojik çalışmalar, tiyomersal içeren aşılarla aşılanan çocuklarda nörogelişimsel sorunların daha sık ortaya çıktığını göstermektedir.⁶² 2003-2004'te yaşamın ilk 7 ayında tiyomersal içeren aşılarla nöropsikolojik gelişim arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri tarafından yapılan bir çalışmada, aşılanmayla maruz kalınan tiyomersalle motor bozukluklar arasında bir bağlantı olabileceği gösterilmiştir.⁶³ Diğer taraftan, Uno ve ark.nın, Japon çocuklarında kombine MMR aşısına ve tiyomersal içeren aşılarla erken dönem maruziyetin olası sonuçlarını değerlendirdikleri çalışmada, tiyomersal maruziyetinin OSB'nin ortaya çıkışını anlamlı derecede artırdığı bildirilmiştir.⁶⁴ Otizm ve dikkat eksikliği-hiperaktivite bozukluğunu ele alan başka bir çalışmada ise tiyomersalle bu patolojik durumlar arasındaki ilişkinin "ihmal edilebilir düzeyde" olduğu görülmüştür.⁶⁵

Young ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir kohort çalışmada, OSB prevalansı ile çocukluk aşılarındaki (1990-1996 yılları arasında doğan doğumdan 7 aya kadar ve doğumdan 13 aya kadar olan 278.624 denek) tiyomersalden gelen cıvada dâhil edilerek hesaplanan kümülatif cıva maruziyeti arasındaki ilişki incelenmiştir. Araştırmacılar, deneklerde cıva maruziyeti ve otizm tanısı arasında bir doz-yanıt ilişkisi bulduklarını bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda, doğumdan sonraki 7 ay boyunca tiyomersal içeren aşılarla maruz kalınan 100 µg cıvanın bebeklerde otizm tanısında (2,87 kat) ve diğer otizm spektrum bozukluklarının tanısında (2,44 kat) istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğu saptanmıştır.⁶⁶

Gallagher ve Goodman, tiyomersal içeren hepatit B aşısının, yaşamın ilk aylarında uygulanmasıyla OSB riski arasındaki ilişkiyi "Ulusal Sağlık Anketi" 1997-2002 verilerini kullanarak incelemiştir. Araştırmacılar, yaşamın ilk aylarında tiyomersal içeren hepatit B aşısıyla aşılanan erkek bebeklerde, bu aşıyla hiç aşılınmayan veya yaşamın daha sonraki dönemlerinde aşılanan erkek bebeklere göre otizm teşhisi konmasının 3 kat daha fazla ol-

duğunu bildirmişlerdir.⁶⁷ Bu çalışmalar **Tablo 1**'de özetlenmiştir.

İMMÜNGLOBULİN PREPARATLARINDAN VE ANTİSEPTİKLERDEN MARUZ KALINAN TİYOMERSAL VE OTİZM İLİŞKİSİ ÜZERİNE YAPILAN İNSAN ÇALIŞMALARI

Geier ve ark., aşılarla ve kan uyuşmazlığı için kullanılan Rho (D) immünglobulin preparatlarında bulunan tiyomersal nedeniyle cıvaya maruziyet sonucu OSB tanısı alma riskini karşılaştırmalı olarak değerlendirmişlerdir. Doğum öncesi Rho (D) immünglobulinle tedavinin nörogelişimsel bozukluklar için risk faktörü olması durumunda, nörogelişimsel bozukluğa sahip çocukların çoğunun (kontrollere kıyasla) Rh-negatif annelere sahip olacağı varsayılmıştır. Ek olarak, Rho (D) immünglobulin preparatlarındaki tiyomersal nörogelişimsel bozukluklarla ilişkili bileşen ise, tiyomersalin 2002 yılında ABD'de üretilen tüm Rho (D)-immünglobulin preparatlarından çıkarılmasının ardından, nörogelişimsel bozukluğu olan çocuklar arasında anne Rh-negatifliği sıklığının, kontrol popülasyonlarına benzer olacağı da düşünülmüştür. Çalışmada, maternal Rh-negatiflik sıklığı 2 ayrı klinikte 1987'den 2001'e kadar doğmuş beyaz çocuklar arasında kliniklerden birinde 88'i OSB'ye sahip, nörogelişimsel bozukluğu olan 196 hasta; diğerinde ise 87 OSB'li hasta belirlenmiştir. 1987'den 2001 yılına kadar doğan 124 beyaz hastanın maternal Rh durumu Klinik A'da (kontrol grubu 1) ve 1980'den 1989 yılına kadar doğum öncesi genetik bakım için başvuran 1.021 beyaz gebe kadının Rh durumu Klinik B'de (kontrol grubu 2) değerlendirilmiştir. Bu sıklıklar, her bir hastanın tıbbi kayıtlarının gözden geçirilmesiyle belirlenmiştir. Maternal Rh-negatiflik sıklığının Klinik A'da tüm nörogelişimsel bozukluğa sahip hastalarda kontrol grupları 1 ve 2'yle karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı, Klinik B'de de OSB'li hastalarda kontrol grupları 1 ve 2'ye kıyasla maternal Rh-negatiflik sıklığının anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir.⁶⁸

Haziran 2005-Şubat 2006 tarihleri arasında Amerikan Genetik Merkezlerine genetik/gelişimsel değerlendirme için başvuran ve nörogelişimsel bozukluğu olan 9 pediatrik hasta vakasını inceleyen ça-

TABLO 1: Aşılardan maruz kalınan tiyomersal değerlendirenler tarafından yapılan insan çalışmaları.

Çalışma	Çalışmanın tipi	Hasta popülasyonu	Biyolojik örnek/yöntem	Sonuç
Madsen ve ark. (2002) ⁶⁷	Retrospektif kohort	OSB'li çocuk hastalar (toplam 537.303 çocuk, %82'si MMR aşısı olmuş, 316 otistik bozukluk; 422 diğer otistik spektrum bozuklukları)	Tiyomersal içeren MMR aşısının OSB gelişimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi.	Aşılanan ve aşılanmayan çocuklar arasında, otizmle ilişkili ortaya koyacak fark yoktur.
Jafari ve ark. (2017) ⁶⁴	Sistematiik derleme	OSB'li çocuk hastalar (44 farklı çalışmanın değerlendirilmesi)	Kan, eritrosit, beyin.	Hastaların kan, eritrosit ve beyin dokularındaki cıva konsantrasyonlarının sağlıklı deneklere göre anlamlı derecede yüksek olduğu, saçlardaki cıva konsantrasyonunun ise anlamlı derecede düşüktür.
Wakefield ve ark. (1998) ⁶⁶ (Çalışma Lancet'ten kaldırılmıştır.)	Araştırma	OSB'li çocuk hastalar (n=12, ortalama yaş 6, 11 erkek, 1 kız)	ileum biyopsi örnekleri; ileokolonoskopi, MRG, EEG ve lomber punktur.	MMR aşısı yapılmasını takiben gelişimsel gerileme görülmüştür.
Thompson ve ark. (2007) ⁶³	Araştırma	7-12 yaş arası çocuklar (n=1.047)	42 farklı nöropsikolojik test uygulanması.	Çocuklarda nöropsikolojik bozukluklarla aşılardan veya immünglobulinlerden tiyomersal maruziyeti arasında bir ilişki yoktur.
Uno ve ark. (2015) ⁶⁴	Vaka-kontrol	OSB'li çocuklar (n=189), kontrol (n=224)	MMR aşısının OSB'yle ilişkisinin değerlendirilmesi.	Tiyomersal içeren MMR aşısı (3, 6, 12, 18, 24 ve 36. ay) olan çocuklarla olmayan arasında karşılaştırma yapılan hiçbir ayda OSB sıklığı açısından anlamlı bir fark yoktur.
Yoshimasa ve ark. (2014) ⁶⁵	Metaanaliz	OSB'li ve ADHD'li çocuklar	Literatür taraması.	Otizm ve ADHD ve tiyomersalle bu patolojik durumlar arasındaki ilişkinin "himal edilebilir düzeyde" olduğu görülmüştür.
Young ve ark. (2008) ⁶⁶	Kohort	1990-1996 yılları arasında doğan doğumdan 7 aya kadar ve doğumdan 13 aya kadar olan ve oral çocuk felci aşısı olan bebekler (n=278.624)	Aşı Güvenlik Verisi bağlantısından alınan bilgisayar ortamındaki medikal kayıtlarla tiyomersal maruziyetinin tahmin edilmesi.	Doğumdan sonraki 7 ay boyunca tiyomersal içeren aşılarla maruz kalınan 100 µg cıva bebeklerde otizm (2.87 kat) ve diğer OSB'lerde (2.44 kat) istatistiksel olarak anlamlı bir artışa yol açmıştır.
Gallagher ve Goodman (2010) ⁶⁷	Kesitsel	1999 yılı öncesi doğan 3-17 yaş arası erkek çocuklar	"Ulusal Sağlık Anketi" 1997-2002 verilerinin kullanılması.	Yaşamın ilk aylarında tiyomersal içeren hepatit B aşısıyla aşılanan erkek bebeklerde, bu aşıyla hiç aşılanmayan veya yaşamın daha sonraki dönemlerinde aşılanan erkek bebeklere göre otizm teşhisi konmasının 3 kat daha fazladır.

OSB: Otizm spektrum bozukluğu; MMR: Kızamık-kabakulak-kızamıkçık; MRG: Manyetik rezonans görüntüleme EEG: Elektroensefalografi ADHD: Dikkat eksikliği-hiperaktivite bozukluğu.

ışmada, her çocuk için ayrıntılı bir öykü alınmış ve hastaların geçmiş tıbbi kayıtları incelenmiştir. Tüm hastaların annelerinin gebelik boyunca haftada 1 kereden daha az balık yedikleri; annelerin gebeliklerinde ortalama 6 diş amalgamı olduğu; hiçbirinin gebelik sırasında dişlerine işlem yaptırmadığı ve annelerin hiçbirinin çocuklarını çevresel cıva kaynaklarına maruz bırakacak mesleki ortamlarda bulunmadığı belirtilmiştir. Çalışmada incelenen 9 çocuğun 8'inin normal doğumlu olduğu ve yaşamın ilk yılında normal şekilde geliştiği görülmektedir. Daha sonra, bu çocukların ebeveynleri tarafından yaşamlarının 2. yılında fark edilen bir gelişimsel gerilikleri olduğu bildirilmiştir. 9 hastadan 1'inde Rett sendromu olduğu, diğer 8 çocukta regresif OSB görüldüğü belirtilmiş; yükselmiş androjen seviyeleri, şelasyon sonrası önemli miktarda cıva atılımı ve glutasyon yolaklarında işlev bozukluğu tespit edilmiştir. Tiyomersal içeren aşılardan dışındaki, bilinen herhangi bir önemli cıva maruziyetleri olmadığı bildirilmiştir. Gözlenen regresif OSB'lerin ciddiyetiyle çocukların tiyomersal içeren aşılardan aldıkları toplam cıva dozu arasında anlamlı bir doz-yanıt ilişkisi bulunmuştur. Ayrıcı tanılarına dayanarak, incelenen 9 hastanın 8'inde fetal ve bebeklik gelişim dönemlerinde tiyomersal içeren aşılardan ciddi cıva maruz kaldığı ve daha önce normal olarak gelişen bu çocuklarda, sonrasında 12 ila 24 ay arasında regresif OSB'yle tutarlı klinik semptomlarla kendini gösteren "cıva toksik ensefalopatisi" görüldüğü de bildirilmiştir.⁶⁹ Ancak bu yayının da Dr. Geier ve oğlu tarafından yapılmış olması yine soru işaretleri uyandırmaktadır.

Toronto'da 1969-1975 yılları arasında, tiyomersal içeren bir antiseptik uygulanan 13 omfalosel vakasından 10'u ölümlü sonuçlanmıştır. Otopsi sonrası elde edilen dokularda cıva düzeyleri ölçülmüş, taze doku analizinin yapıldığı 3 olguda, normal doku seviyelerinin 65-2.700 kat arasında değişen cıva yükü tespit edilmiştir.⁷⁰ Benzeri olgu raporlarından sonra tiyomersal içeren bu antiseptik kullanımdan kaldırılmıştır. Bu durum, bebeklerin tiyomersal toksisitesine erişkinlerden çok daha duyarlı olduklarını göstermektedir ve aşı ve diğer far-

TABLO 2: İmmünglobülinlerden veya diğer preparatlardan maruz kalınan tiyomersal değerlendirilerek yapılan insan çalışmaları.

Çalışma	Çalışmanın tipi	Hasta popülasyonu	Biyolojik örnek/yöntem	Sonuç
Geier ve ark. (2008) ⁶⁸	Vaka-kontrol	Kontrol 1: 1987-2001 yılları arası doğmuş beyaz çocuklar arasında kliniklerden birinde 88'i OSB'ye sahip, nörogelişimsel bozukluğu olan 196 hasta; diğerinde ise 87 OSB'li hasta 1987-2001 yılları arası doğan 124 beyaz hastanın maternal Rh durumu (Klinik A). Kontrol 2: 1980'den 1989'a kadar doğum öncesi genetik bakım için başvuran 1.021 beyaz gebe kadının Rh durumu (Klinik B).	Rho (D) immünglobulin preparatlarında bulunan tiyomersal nedeniyle cıva maruziyet sonucu OSB tanısı alma riskinin karşılaştırılması değerlendirilmesi.	Maternal Rh-negatiflik sıklığı Klinik A'da tüm nörogelişimsel bozukluğa sahip hastalarda Kontrol 1 ve 2'ye karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmıştır. Klinik B'de OSB'li hastalarda Kontrol 1 ve 2'ye kıyasla maternal Rh- negatiflik sıklığı anlamlı derecede artmıştır.
Geier ve Geier (2007) ⁶⁹	Araştırma	Haziran 2005-Şubat 2006 tarihleri arasında Amerikan Genetik Merkezlerine genetik/gelişimsel değerlendirme için başvuran; nörogelişimsel bozukluğu olan çocuklar (n=9).	Kanda total cıva düzeyinin belirlenmesi.	Gözlenen regresif OSB'lerin ciddiyle çocukların tiyomersal içeren aşılardan Rho (D) immünglobulin preparatlarından aldıkları toplam cıva dozu arasında anlamlı bir doz-yanıt ilişkisi vardır. Ayrıcı tanılarına dayanarak, incelenen 9 hastanın 8'inde fetal ve bebeklik gelişim dönemlerinde tiyomersal içeren aşılardan Rho (D) immünglobulin preparatlarından ciddi cıva maruz kaldığı; daha önce normal olarak gelişen bu çocuklarda sonrasında 12-24 ay arasında regresif OSB'yle tutarlı klinik semptomlarla kendini gösteren "cıva toksik ensefalopatisi" görülmüştür.
Fagan ve ark. (1977) ⁷⁰	Araştırma	Toronto'da 1969-1975 yılları arasında, tiyomersal içeren antiseptik uygulanan omfalosel vakaları (n=13).	Otopsi sonrası dokularda cıva düzeylerinin ölçülmesi.	13 omfalosel vakasından 10'u ölümlü sonuçlanmıştır. Taze doku analizinin yapıldığı 3 olguda, normal doku seviyelerinin 65-2.700 katı arasında değişen cıva yükü belirlenmiştir.

OSB: Otizm spektrum bozukluğu.

masötik ürünlerle bebeklerin tiyomersale maruz kalmasının sorgulanması gerektiğini ortaya koymaktadır.⁷¹ Bu çalışmalar, Tablo 2’de özetlenmiştir.

OTİZM VE AŞILARDAN MARUZ KALINAN TİYOMERSAL İLİŞKİSİ ÜZERİNE YAPILAN HAYVAN ÇALIŞMALARI

Burbacher ve ark., 41 yavru maymunda tiyomersal ve metil cıvaya maruziyet sonrası toplam ve inorganik cıvanın toksikokinetiğini ve beyin dağılımını karşılaştırmışlardır. Maymunlar, metil cıvaya oral gavaj yoluyla, tiyomersal içeren aşılarla ise doğumda; 1, 2 ve 3 haftalık iken intramüsküler enjeksiyon yoluyla maruz bırakılmışlardır. Tiyomersal maruziyetinden sonra kanda cıvanın başlangıç ve terminal yarı ömrü sırasıyla 2,1 ve 8,6 gün olarak belirlenmiştir. Metil cıvaya maruz kaldıktan sonra ise cıva yarı ömrü 21,5 gün olarak bulunmuştur. Çalışmada, etil cıvanın metil cıvadan daha yüksek kan klirensine sahip olmasına rağmen etil cıvaya maruz kalan maymunların beyinlerinde, metil cıvaya maruz kalanların beyinlerine göre inorganik cıvanın (%10’dan %71’e kadar) yüksek olduğu gösterilmiştir. Ortalama cıva beyin-kan konsantrasyonu oranı etil cıvaya maruz kalan maymunlarda biraz daha yüksek bulunmuştur. Özellikle, etil cıvaya maruz kalan maymunlarda cıvanın beyindeki yarı ömrüyle kan yarı ömrü arasında da büyük bir fark (kanda 6,9 gün; beyinde ise 24 gün) olduğu belirtilmiştir. Bu durum, kan cıva düzeylerinin beyindeki olumsuz etkileri için iyi bir gösterge olmayabileceğini düşündürmektedir. Sonuçlar, tiyomersal içeren aşılarından maruz kalınan cıva miktarı ne kadar az olsa da bu maruziyetler sonucu cıvanın beyinde birikme potansiyeli nedeniyle tehlikeli sonuçlar doğurabileceğini ortaya koymaktadır.⁷²

Gadad ve ark., 1990’lı yıllardan itibaren önerilen tiyomersal içeren aşıları bebek Rhesus makaklarına aşı çizelgeleri kapsamında uygulayarak, beyin 3 bölgesindeki davranış ve nöropatolojiyi incelemişlerdir. Beyincik, hipokampus veya amigdalada hiçbir nöronal hücre veya protein değişikliği gözlenmemiştir; sosyal davranışların analizinde, olumsuz davranışlarda anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir. Veriler, tiyomersal içeren aşıların Rhesus makaklarına uygulanmasının, OSB’de görülen nöropatolojik anomaliler veya anormal davranışlarla sonuçlanmadığını göstermiştir.⁷³

ler veya anormal davranışlarla sonuçlanmadığını göstermiştir.⁷³

Namvarpour ve ark. yenidoğan sıçanlara doğum sonrası günlerde (7, 9, 11 ve 15. günler) 240 µg cıva/kg intramüsküler tiyomersal uygulamıştır. Tiyomersale grubunda lokomotor aktivitesinde bozulma sergilemiş; sosyal etkileşimleri azalmıştır. Dona kalma ve eşeleme gibi stereotip davranışların süresi artmıştır. Histolojik çalışmaların sonuçları, her 2 cinsiyette de Purkinje hücrelerinin sayısında önemli azalma olduğunu göstermiştir.⁷⁴ Bu veriler, çocukların doğum sonrası erken dönemde tiyomersale maruz kalmasının kalıcı nöro- davranışsal değişiklikler ve histolojik bozulmalara neden olabileceğini düşündürmektedir.

OTİZM VE CIVA ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLDİĞİ DİĞER ÇALIŞMALAR

Rose ve ark., otizmlili bireylerin lenfoblastoid hücrelerde, etil cıva maruziyetini takiben ATP-bağımlı solunumda, maksimum mitokondriyal solunum ve rezerv kapasitesinde büyük bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.⁷⁵

Holmes ve ark., otizm tanısı konan 94 çocuktan ve 45 yaş-cinsiyet eşleşmeli kontrolden ilk bebeklik saçlarında cıva düzeylerini karşılaştırmışlardır. Diyet, amalgam dolgular, aşılama, Rho (D) immünglobulin uygulaması ve otizm semptom şiddeti hakkında bilgiler, maternal anket formu ve klinik gözlem yoluyla toplanmıştır. Otizmlili çocuklarda ortalama saç cıva düzeyleri (0,47 ppm) kontrollere (3,63 ppm) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca saç cıva düzeyleri hafif/orta/şiddetli otizmlili bireyler gruplandırıldığında sırasıyla 0,79; 0,46 ve 0,21 ppm olarak ölçülmüştür. Otizmlili çocukların annelerinin kontrol grubu annelerine kıyasla, Rho (D) immünoglobulin enjeksiyonları ve amalgam dolgular yoluyla daha yüksek cıva maruziyetleri olduğu bildirilmiştir. Kontroller arasındaki saç cıva düzeyleri ise, annelerin amalgam dolgusu sayısı ve balık tüketimiyle çocukluk çağı aşıları yoluyla cıvaya maruz kalma durumuyla önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur. Bu korelasyon otizmlili bireyler ve anneleri arasındaysa görülmemiştir. Otistik bebeklerde cıvanın saç atılımı kontrole göre önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Araştırmacılar, otistik çocukların prenatal dönemde

ve doğumdan kısa bir süre sonra cıvayı hücrelerinden etkili bir şekilde atamadıklarını, bu nedenle bu bireylerin ilk saç kesiminde daha az cıva tespit edildiğini öne sürmüşlerdir.⁵⁵

SONUÇ

Nörogelişimsel hastalıkların patogeneğinde genetik kadar çevresel faktörlerin de etkili olduğu bilinmektedir. Aşılarından maruz kalınan tiyomersalin nörotoksik olduğu ve OSB başta olmak üzere nörogelişimsel bozuklukların ve nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Özellikle yaşamın ilk yıllarında düzenli olarak aşıları yapılan bebek ve çocukların tiyomersal maruziyeti sonucu OSB yatkınlığını inceleyen çalışmaların sonuçları çelişkilidir.

İnsan çalışmalarının çoğu OSB'li çocuklarda cıva düzeylerinin yüksek olması nedeniyle cıva maruziyetinin bu hastalıkla ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Ancak otizm son derece kompleks bir hastalıktır; bu bireylerde genetik ve metabolik bazı bozukluklar da söz konusu olabilmektedir. Bazı çalışmalar, bu hastalarda cıvanın eliminasyonunda görevli enzimlerin etkin şekilde çalışmadığından cıvanın atılmadığı ve biyolojik sıvılarda düzeylerinin yüksek çıktığı ihtimaline dikkat çekmektedir. Hastalardan alınan biyolojik örneklerde cıva düzeylerinin kontrollere göre farklı bulunmasının hastalığın nedeni mi sonucu mu olduğu sorusunu akla getirmektedir.

ABD'de FDA Modernizasyon Kanunu ile 1997 yılında tiyomersalin, aşılarıdaki düzeyinin azaltılmasına başlanmıştır. 1999 yılında, FDA çocukluk çağı bağışıklama takviminde önerilen tüm aşılarından kümülatif tiyomersal maruziyeti metil cıva temasının güvenli sınırları dikkate alınarak hesaplanmış; maruziyetin kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu belirtilmiştir. Ancak özellikle yaşamın ilk 6 ayında uygulanan bazı aşılarından maruz kalınan kümülatif cı-

vanın, metil cıva temasının güvenli sınırları üzerinden hesaplandığında, bazı infantların EPA'nın metil cıva için öngördüğü güvenli sınırların üzerinde cıvaya maruz kaldığı görülmüştür. 2001 yılında tiyomersal çocukluk çağı aşılarından çıkartılmıştır.

Sonuç olarak, unutulmamalıdır ki aşılar yaşamın devamı için mutlaka uygulanması gereken farmasötik ürünlerdir. Tiyomersalin ülkemiz dâhil birçok ülkede çocukluk çağına uygulanan aşılarından çıkartıldığı bilinmektedir. Bu durumda, aşı uygulamalarını reddetmek doğru değildir. Aşı takvimine göre özellikle çocukluk aşılarının uygulanması hayat kurtarır, toplum sağlığının korunmasına yardımcı olur ve aşıyla önlenebilen hastalıklar için morbidite ve mortalitede ciddi düşüşler sağlar.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Pınar Erkekoğlu; **Tasarım:** Anıl Yirun, Aylin Balcı, Selinay Başak Erdemli-Köse, Pınar Erkekoğlu; **Denetleme/Danışmanlık:** Pınar Erkekoğlu, Aylin Balcı; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Selinay Başak Erdemli-Köse, Aylin Balcı, Anıl Yirun; **Analiz ve/veya Yorum:** Pınar Erkekoğlu, Aylin Balcı; **Kaynak Taraması:** Selinay Başak Erdemli-Köse; **Makalenin Yazımı:** Selinay Başak Erdemli-Köse, Aylin Balcı, Anıl Yirun, Pınar Erkekoğlu; **Eleştirel İnceleme:** Pınar Erkekoğlu, Aylin Balcı; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Pınar Erkekoğlu.

KAYNAKLAR

1. Karimi P, Kamali E, Mousavi SM, Karahmadi M. Environmental factors influencing the risk of autism. *J Res Med Sci.* 2017;22:27.[Crossref] [PubMed] [PMC]
2. Ergaz Z, Weinstein-Fudim L, Ornoy A. Genetic and non-genetic animal models for autism spectrum disorders (ASD). *Reprod Toxicol.* 2016;64:116-40.[Crossref] [PubMed]
3. American Psychiatric Association. *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM 5.* 5th ed. Arlington, VA: Bookpoint; 2013.[Link]
4. Kern JK, Geier DA, Sykes LK, Haley BE, Geier MR. The relationship between mercury and autism: A comprehensive review and discussion. *J Trace Elem Med Biol.* 2016;37:8-24.[Crossref] [PubMed]
5. Laurence JA, Fatemi SH. Glial fibrillary acidic protein is elevated in superior frontal, parietal and cerebellar cortices of autistic subjects. *Cerebellum.* 2005;4(3):206-10.[Crossref] [PubMed]
6. Tetreault NA, Hakeem AY, Jiang S, Williams BA, Allman E, Wold BJ, et al. Microglia in the cerebral cortex in autism. *J Autism Dev Disord.* 2012;42(12):2569-84.[Crossref] [PubMed]
7. Li X, Chauhan A, Sheikh AM, Patil S, Chauhan V, Li XM, et al. Elevated immune response in the brain of autistic patients. *J Neuroimmunol.* 2009;207(1-2):111-6.[Crossref] [PubMed] [PMC]
8. Rodriguez JI, Kern JK. Evidence of microglial activation in autism and its possible role in brain underconnectivity. *Neuron Glia Biol.* 2011;7(2-4):205-13.[Crossref] [PubMed] [PMC]
9. Ornoy A, Weinstein-Fudim L, Ergaz Z. Prenatal factors associated with autism spectrum disorder (ASD). *Reprod Toxicol.* 2015;56:155-69.[Crossref] [PubMed]
10. Bridgemohan C, Cochran DM, Howe YJ, Pawlowski K, Zimmerman AW, Anderson GM, et al. Investigating Potential Biomarkers in Autism Spectrum Disorder. *Front Integr Neurosci.* 2019;13:31.[Crossref] [PubMed] [PMC]
11. Wang L, Angley MT, Gerber JP, Sorich MJ. A review of candidate urinary biomarkers for autism spectrum disorder. *Biomarkers.* 2011;16(7):537-52.[Crossref] [PubMed]
12. Tordjman S, Anderson GM, Bellissant E, Botbol M, Charbuy H, Camus F, et al. Day and nighttime excretion of 6-sulphatoxymelatonin in adolescents and young adults with autistic disorder. *Psychoneuroendocrinology.* 2012;37(12):1990-7.[Crossref] [PubMed]
13. Gabriele S, Sacco R, Persico AM. Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2014;24(6):919-29.[Crossref] [PubMed]
14. Hammock E, Veenstra-VanderWeele J, Yan Z, Kerr TM, Morris M, Anderson GM, et al. Examining autism spectrum disorders by biomarkers: example from the oxytocin and serotonin systems. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2012;51(7):712-21.e1. Erratum in: *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2012;51(8):851.[Crossref] [PubMed] [PMC]
15. Pagan C, Delorme R, Callebort J, Goubran-Botros H, Amsellem F, Drouot X, et al. The serotonin-N-acetylsertotonin-melatonin pathway as a biomarker for autism spectrum disorders. *Transl Psychiatry.* 2014;4(11):e479. [Crossref] [PubMed] [PMC]
16. Mulder EJ, Anderson GM, Kemperman RF, Oosterloo-Duinkerken A, Minderaa RB, Kema IP. Urinary excretion of 5-hydroxyindoleacetic acid, serotonin and 6-sulphatoxymelatonin in normoserotonemic and hyperserotonemic autistic individuals. *Neuropsychobiology.* 2010;61(1):27-32.[Crossref] [PubMed]
17. Kolevzon A, Newcorn JH, Kryzak L, Chaplin W, Watner D, Hollander E, et al. Relationship between whole blood serotonin and repetitive behaviors in autism. *Psychiatry Res.* 2010;175(3):274-6.[Crossref] [PubMed] [PMC]
18. Sacco R, Militerni R, Frolia A, Bravaccio C, Gritti A, Elia M, et al. Clinical, morphological, and biochemical correlates of head circumference in autism. *Biol Psychiatry.* 2007;62(9):1038-47.[Crossref] [PubMed]
19. Schaefer GB, Mendelsohn NJ; Professional Practice and Guidelines Committee. Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders. *Genet Med.* 2008;10(4):301-5.[Crossref] [PubMed] [PMC]
20. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010;86(5):749-64.[Crossref] [PubMed] [PMC]
21. Hönekopp J. Digit ratio 2D:4D in relation to autism spectrum disorders, empathizing, and systemizing: a quantitative review. *Autism Res.* 2012;5(4):221-30.[Crossref] [PubMed]
22. Aldinger KA, Lane CJ, Veenstra-VanderWeele J, Levitt P. Patterns of Risk for Multiple Co-Occurring Medical Conditions Replicate Across Distinct Cohorts of Children with Autism Spectrum Disorder. *Autism Res.* 2015;8(6):771-81.[Crossref] [PubMed] [PMC]
23. Sealey LA, Hughes BW, Sriskanda AN, Guest JR, Gibson AD, Johnson-Williams L, et al. Environmental factors in the development of autism spectrum disorders. *Environ Int.* 2016;88:288-98.[Crossref] [PubMed]
24. Weiss LA, Arking DE; Gene Discovery Project of Johns Hopkins & the Autism Consortium, Daly MJ, Chakravarti A. A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature.* 2009;461(7265):802-8.[Crossref] [PubMed] [PMC]
25. Nguyen A, Rauch TA, Pfeifer GP, Hu VW. Global methylation profiling of lymphoblastoid cell lines reveals epigenetic contributions to autism spectrum disorders and a novel autism candidate gene, RORA, whose protein product is reduced in autistic brain. *FASEB J.* 2010;24(8):3036-51.[Crossref] [PubMed] [PMC]
26. Landrigan PJ, Lambertini L, Birnbaum LS. A research strategy to discover the environmental causes of autism and neurodevelopmental disabilities. *Environ Health Perspect.* 2012;120(7):a258-60.[Crossref] [PubMed] [PMC]
27. Shen Y, Dies KA, Holm IA, Bridgemohan C, Sobeih MM, Caronna EB, et al. Autism Consortium Clinical Genetics/DNA Diagnostics Collaboration. Clinical genetic testing for patients with autism spectrum disorders. *Pediatrics.* 2010;125(4):e727-35.[Crossref] [PubMed] [PMC]
28. Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, Phillips J, Cohen B, Torigoe T, et al. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch Gen Psychiatry.* 2011;68(11):1095-102.[Crossref] [PubMed] [PMC]
29. Geschwind DH. Genetics of autism spectrum disorders. *Trends Cogn Sci.* 2011;15(9):409-16.[Crossref] [PubMed] [PMC]
30. Perera F, Herbstman J. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease. *Reprod Toxicol.* 2011;31(3):363-73.[Crossref] [PubMed] [PMC]
31. Wang SC, Oelze B, Schumacher A. Age-specific epigenetic drift in late-onset Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2008;3(7):e2698.[Crossref] [PubMed] [PMC]
32. Grandjean P, Landrigan PJ. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet.* 2006;368(9553):2167-78.[Crossref] [PubMed]
33. Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol.* 2006;36(8):609-62.[Crossref] [PubMed]
34. Dórea JG, Farina M, Rocha JB. Toxicity of ethylmercury (and Thimerosal): a comparison with methylmercury. *J Appl Toxicol.* 2013;33(8):700-11.[Crossref] [PubMed]
35. Smithburn KC, Kempf GE, Zerfas LG, Gilman LH. Meningococcal meningitis: a clinical study of one hundred and forty-four cases. *JAMA.* 1930;95(11):776-80.[Crossref]

36. Stetler HC, Garbe PL, Dwyer DM, Facklam RR, Orenstein WA, West GR, et al. Outbreaks of group A streptococcal abscesses following diphtheria-tetanus toxoid-pertussis vaccination. *Pediatrics*. 1985;75(2):299-303.[PubMed]
37. Khandke L, Yang C, Krylova K, Jansen KU, Rashidbaigi A. Preservative of choice for Prev(e)nar 13™ in a multi-dose formulation. *Vaccine*. 2011;29(41):7144-53.[Crossref] [PubMed]
38. Uchida T, Naito S, Kato H, Hatano I, Harashima A, Terada Y, et al. Thimerosal induces toxic reaction in non-sensitized animals. *Int Arch Allergy Immunol*. 1994;104(3):296-301.[Crossref] [PubMed]
39. Gama Ker H, Dian de Oliveira Aguiar-Soares R, Mendes Roatt B, das Dores Moreira N, Coura-Vital W, Martins Carneiro C, et al. Effect of the preservative and temperature conditions on the stability of *Leishmania infantum* promastigotes antigens applied in a flow cytometry diagnostic method for canine visceral leishmaniasis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;76(4):470-6.[Crossref] [PubMed]
40. Mason JM, Osborne PT, Hall AJ, Skolnik JS, Woods LL, Wood CL, et al. Example of a thimerosal-dependent antibody without apparent blood group specificity. *Vox Sang*. 1985;48(5):313-6.[Crossref] [PubMed]
41. Towne V, Oswald CB, Mogg R, Antonello J, Will M, Gimenez J, et al. Measurement and decomposition kinetics of residual hydrogen peroxide in the presence of commonly used excipients and preservatives. *J Pharm Sci*. 2009;98(11):3987-96.[Crossref] [PubMed]
42. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Thimerosal in vaccines: a joint statement of the American Academy of Pediatrics and the Public Health Service. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1999;48(26):563-5. [PubMed]
43. Thimerosal in vaccines--An interim report to clinicians. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases and Committee on Environmental Health. *Pediatrics*. 1999;104(3 Pt 1):570-4.[Crossref] [PubMed]
44. Hurley AM, Tadrous M, Miller ES. Thimerosal-containing vaccines and autism: a review of recent epidemiologic studies. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2010;15(3):173-81.[Crossref] [PubMed] [PMC]
45. TC Sağlık Bakanlığı. Aşı Portali. Aşı İçerikleri. 2018. (Erişim Tarihi: 19.09.2019) [Link]
46. Bigham M, Copes R. Thiomersal in vaccines: balancing the risk of adverse effects with the risk of vaccine-preventable disease. *Drug Saf*. 2005;28(2):89-101.[Crossref] [PubMed]
47. Madsen KM, Hviid A, Vestergaard M, Schendel D, Wohlfahrt J, Thorsen P, et al. A population-based study of measles, mumps, and rubella vaccination and autism. *N Engl J Med*. 2002;347(19):1477-82.[Crossref] [PubMed]
48. Andrews N, Miller E, Grant A, Stowe J, Osborne V, Taylor B. Thimerosal exposure in infants and developmental disorders: a retrospective cohort study in the United Kingdom does not support a causal association. *Pediatrics*. 2004;114(3):584-91.[Crossref] [PubMed]
49. Verstraeten T, Davis RL, DeStefano F, Lieu TA, Rhodes PH, Black SB, et al; Vaccine Safety Datalink Team. Safety of thimerosal-containing vaccines: a two-phased study of computerized health maintenance organization databases. *Pediatrics*. 2003;112(5):1039-48. Erratum in: *Pediatrics*. 2004;113(1):184. [PubMed]
50. World Health Organization. Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 2006. Erişim Tarihi: 11.12.2019.[Link]
51. Institute of Medicine (US) Immunization Safety Review Committee. Immunization Safety Review: Thimerosal-Containing Vaccines and Neurodevelopmental Disorders. Stratton K, Gable A, McCormick MC, eds. Washington (DC): National Academies Press (US);2001.[PubMed]
52. Landrigan PJ, Kimmel CA, Correa A, Eskenazi B. Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment. *Environ Health Perspect*. 2004;112(2):257-65. [Crossref] [PubMed] [PMC]
53. Cinca I, Dumitrescu I, Onaca P, Serbănescu A, Nestorescu B. Accidental ethyl mercury poisoning with nervous system, skeletal muscle, and myocardium injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1980;43(2):143-9. [Crossref] [PubMed] [PMC]
54. Jafari T, Rostampour N, Fallah AA, Hesami A. The association between mercury levels and autism spectrum disorders: A systematic review and meta-analysis. *J Trace Elem Med Biol*. 2017;44:289-297.[Crossref] [PubMed]
55. Holmes AS, Blaxill MF, Haley BE. Reduced levels of mercury in first baby haircuts of autistic children. *Int J Toxicol*. 2003;22(4):277-85.[Crossref] [PubMed]
56. Wakefield AJ, Murch SH, Anthony A, Linnell J, Casson DM, Malik M, et al. Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. *Lancet*. 1998;351(9103):637-41. Retraction in: *Lancet*. 2010;375(9713):445. Erratum in: *Lancet*. 2004;363(9411):750. [Crossref] [PubMed]
57. Newschaffer CJ, Fallin D, Lee NL. Heritable and nonheritable risk factors for autism spectrum disorders. *Epidemiol Rev*. 2002;24(2):137-53.[Crossref] [PubMed]
58. Grønberg TK, Schendel DE, Parner ET. Recurrence of autism spectrum disorders in full- and half-siblings and trends over time: a population-based cohort study. *JAMA Pediatr*. 2013;167(10):947-53.[Crossref] [PubMed] [PMC]
59. Tomljenovic L, Shaw CA. "One-size fits all"? *Vaccine*. 2012;30(12):2040. [Crossref] [PubMed]
60. Dórea JG. Abating Mercury Exposure in Young Children Should Include Thimerosal-Free Vaccines. *Neurochem Res*. 2017;42(10):2673-85.[Crossref] [PubMed]
61. Geier DA, Kern JK, King PG, Sykes LK, Geier MR. The risk of neurodevelopmental disorders following a thimerosal-preserved DTaP formulation in comparison to its thimerosal-reduced formulation in the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS). *J Biochem Pharmacol Res*. 2014;2(2):64-73.[Link]
62. Dórea JG. Making sense of epidemiological studies of young children exposed to thimerosal in vaccines. *Clin Chim Acta*. 2010;411(21-2):1580-6.[Crossref] [PubMed]
63. Thompson WW, Price C, Goodson B, Shay DK, Benson P, Hinrichsen VL, et al. Vaccine Safety Datalink Team. Early thimerosal exposure and neuropsychological outcomes at 7 to 10 years. *N Engl J Med*. 2007;357(13):1281-92.[Crossref] [PubMed]
64. Uno Y, Uchiyama T, Kurosawa M, Aleksic B, Ozaki N. Early exposure to the combined measles-mumps-rubella vaccine and thimerosal-containing vaccines and risk of autism spectrum disorder. *Vaccine*. 2015;33(21):2511-6.[Crossref] [PubMed]
65. Yoshimasu K, Kiyohara C, Takemura S, Nakai K. A meta-analysis of the evidence on the impact of prenatal and early infancy exposures to mercury on autism and attention deficit/hyperactivity disorder in the childhood. *Neurotoxicology*. 2014;44:121-31.[Crossref] [PubMed]
66. Young HA, Geier DA, Geier MR. Thimerosal exposure in infants and neurodevelopmental disorders: an assessment of computerized medical records in the Vaccine Safety Datalink. *J Neurol Sci*. 2008;271(1-2):110-8.[Crossref] [PubMed]
67. Gallagher CM, Goodman MS. Hepatitis B vaccination of male neonates and autism diagnosis, NHIS 1997-2002. *J Toxicol Environ Health A*. 2010;73(24):1665-77.[Crossref] [PubMed]
68. Geier DA, Mumper E, Gladfelder B, Coleman L, Geier MR. Neurodevelopmental disorders, maternal Rh-negativity, and Rho(D) immune globulins: a multi-center assessment. *Neuro Endocrinol Lett*. 2008;29(2):272-80.[PubMed]
69. Geier DA, Geier MR. A case series of children with apparent mercury toxic encephalopathies manifesting with clinical symptoms of regressive autistic disorders. *J Toxicol Environ Health A*. 2007;70(10):837-51.[Crossref] [PubMed]

70. Fagan DG, Pritchard JS, Clarkson TW, Greenwood MR. Organ mercury levels in infants with omphaloceles treated with organic mercurial antiseptic. *Arch Dis Child*. 1977;52(12):962-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
71. Mutter J, Naumann J, Schneider R, Walach H, Haley B. Mercury and autism: accelerating evidence? *Neuro Endocrinol Lett*. 2005;26(5):439-46. [[PubMed](#)]
72. Burbacher TM, Shen DD, Liberato N, Grant KS, Cernichiari E, Clarkson T. Comparison of blood and brain mercury levels in infant monkeys exposed to methylmercury or vaccines containing thimerosal. *Environ Health Perspect*. 2005;113(8):1015-21. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
73. Gadad BS, Li W, Yazdani U, Grady S, Johnson T, Hammond J, et al. Administration of thimerosal-containing vaccines to infant rhesus macaques does not result in autism-like behavior or neuropathology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(40):12498-503. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
74. Namvarpour Z, AminiA, Nasehi M, Zarrindast MR. The Effects of Early Exposure to Thimerosal on Impairments of Social and Stereotyped Behaviors and the Number of Purkinje Cells of Cerebellum in Rats. *J Appl Biotechnol Rep*. 2018;5(3):105-11. [[Crossref](#)]
75. Rose S, Wynne R, Frye RE, Melnyk S, James SJ. Increased susceptibility to ethylmercury-induced mitochondrial dysfunction in a subset of autism lymphoblastoid cell lines. *J Toxicol*. 2015;2015:573701. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]