



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU HASTALARINDA HEDEF GEN TMLHE
EKSPRESYON PROFİLİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. İPEK KUŞÇU ÖZÜCER

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. MURAT COŞKUN

İSTANBUL 2019

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Dr. İpek KUŞÇU ÖZÜCER

2019

ÖNSÖZ

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda geçirdiğim 4 yıl boyunca eğitimim için destek, yönlendirme, bilgi ve deneyimlerini paylaşan anabilim dalı başkanımız ve tez danışmanım olan Doç. Dr. Murat Coşkun başta olmak üzere Doç. Dr. Nusret Soylu, Uzm. Dr. İlyas Kaya ve Uzm. Dr. Ali Karayağmurlu'ya,

Tez konusunu belirlememde öncülük eden, süreç içerisinde bana yol gösteren, bilgi ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet Okay Çağlayan'a,

Dostluğunu ve desteğini hiç eksik etmeyen arkadaşlarım Dr. Alper Alnak, Oya Çelebi Çakıroğlu, Dr. Süleyman Çakıroğlu, Dr. Burcu Ece Kök, Dr. İdil Haspalamutgil, Dr. Sena Saygılı, Dr. Dilara Bulanık ve adını sayamadığım asistanlığım süresince birlikte olmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Bir ekip olarak birlikte çalıştığımız tüm psikolog, pedagog, hemşire, sekreter ve personelimize,

Psikiyatri ve Çocuk Nörolojisi rotasyonlarım sırasında birlikte çalıştığım değerli hocalarım, asistan arkadaşlarım ve diğer tüm sağlık çalışanı arkadaşlarıma,

Yaşamım boyunca üzerimde sevgi, destek ve fedakarlıklarını her zaman hissettiğim annem ve babama,

Tez süreci boyunca hep yanımda olan hayat arkadaşım sevgili eşime,

Tez için katkıda bulunmayı kabul eden hastalar ve ailelerine, klinikte geçirdiğim dört yılda kendilerinden çok fazla şey öğrendiğim tüm çocuklara,

Sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. İpek KUŞÇU ÖZÜCER

2019

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	I
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLolar LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	VII
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1 OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU.....	6
2.1.1 Tanım ve Tarihçe.....	6
2.1.2 Epidemiyoloji.....	9
2.1.3 Klinik Özellikler.....	9
2.1.4 Etiyoloji.....	11
2.2 OTİZM ve GENETİK.....	16
2.2.1 Otizmde Genetik Mimari.....	16
2.2.2 Otizmde Kullanılan Genetik Yöntemler.....	17
2.2.3 TMLHE.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1 Örneklem Seçimi.....	27
3.1.1 Hasta Grubunun Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	28
3.1.2 Hasta Grubunun Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri.....	28
3.1.3 Kontrol Grubunun Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	28
3.1.4 Kontrol Grubunun Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri.....	28
3.2 Gereç ve Yöntemler.....	28
3.2.1 Araştırmada Kullanılan Veri Toplama Formları.....	28
3.2.2. Araştırmada Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri.....	30
3.3 İstatistiksel Analiz.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1 Sosyodemografik Verilerden Elde Edilen Bulgular.....	35
4.1.1 Hasta Grubuna İlişkin Bulgular.....	35

4.1.2 Kontrol Grubuna İlişkin Bulgular	37
4.1.3 Hasta ve Kontrol Gruplarının Sosyodemografik Verilerinin Karşılaştırılması	39
4.2 Kullanılan Ölçek ve Değerlendirme Araçlarından Elde Edilen Bulgular	39
4.3 Gen Ekspresyon Verilerine İlişkin Bulgular	42
5. TARTIŞMA	46
5.1 Olguların Sosyodemografik ve Klinik Özellikleri.....	46
5.2 <i>TMLHE</i> Gen Ekspresyonu.....	48
5.2.1 <i>TMLHE</i> Geninin Otizm ile İlişkisi.....	48
5.2.2 Genom Düzeyindeki İlişkiden İşleve.....	49
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	56
7. KAYNAKLAR.....	57
8. EKLER.....	66
Ek-1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu.....	66
Ek-2: Sosyodemografik Veri Formu.....	78
Ek-3: Çocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği	79
Ek-4: Sorunlu Davranışlar Kontrol Listesi	87
Ek-5: Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-V'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeği	89
Ek-6: Etik Kurul Onayı.....	91
9. ÖZGEÇMİŞ	96

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. <i>TMLHE</i> Geni Allelik Varyantları.....	25
Tablo 2. Ters Transkripsiyon Ön Karışımının Hazırlanması	31
Tablo 3. Ters Transkripsiyon İçin Isı Döngüleyici Ayarları	32
Tablo 4. Hasta Grubunun Sosyodemografik Özellikleri	36
Tablo 5. Kontrol Grubunun Sosyodemografik Özellikleri	38
Tablo 6. Hasta ve Kontrol Gruplarının Temel Gelişimsel Basamakları Kazanma Açısından Karşılaştırılması	39
Tablo 7. Olguların ÇODÖ ve SDKL Puanları.....	40
Tablo 8. ÇODÖ ve SDKL Alt Boyutları Arasındaki İlişkinin İncelenmesi	40
Tablo 9. Turgay Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-V'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeğinde Belirti Şiddetinin ÇODÖ ve SDKL Toplam Puanları İle İlişkisi.....	40
Tablo 10. Anne ve Babanın Çocuğun Doğumundaki Yaşları ile ÇODÖ ve SDKL Toplam Puanları Arasındaki İlişki.....	41
Tablo 11. Olguların Cinsiyetlerine Göre ÇODÖ ve SDKL Puanlarının Karşılaştırılması.....	41
Tablo 12. Kontrol Grubundaki Katılımcıların Psikiyatrik Tanı Frekansları	42
Tablo 13. <i>TMLHE</i> Gen Ekspresyonunun Hasta Ve Kontrol Grubu Ortalamaları ve FC Oranlarının T-Test Yöntemi İle İncelenmesi	43
Tablo 14. DEHB Belirti Şiddeti ile <i>TMLHE</i> Ekspresyonu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi	44
Tablo 15. Problemlili Davranışların Belirti Şiddeti ile <i>TMLHE</i> Ekspresyonu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi	45
Tablo 16. Nesne Kullanımı, Dinleme Tepkisi, Otizm Şiddeti ile <i>TMLHE</i> Ekspresyonu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Şematize Edilmiş <i>TMLHE</i> Geni	24
Şekil 2. Housekeeping Genler ve <i>TMLHE</i> Ekspresyon Profili	43
Şekil 3. <i>TMLHE</i> Ekspresyon Verilerinin Kontrol ve Hasta Örnekleri Arasındaki İlişkiyi Gösteren Boxplot Grafikleri	44
Şekil 4. Literatürde Otizmle İlişkili Olduğu Gösterilen <i>TMLHE</i> Geni Mutasyonlarının Şematik Gösterimi.....	49
Şekil 5. Farklı Veritabanlarından Elde Edilen <i>TMLHE</i> Ekspresyon Profilleri	51
Şekil 6. <i>TMLHE</i> Geninin Fetal ve Yetişkin Dönemdeki Transkripsiyonel Durumu	52
Şekil 7. <i>TMLHE</i> Kan Ekspresyon Düzeyi	53
Şekil 8. <i>TMLHE</i> Geniyle Koeksprese Edilen Genler	55

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
CDC	:Center for Disease Control
cDNA	:Komplementer DNA
CNV	:Kopya Sayısı Değişiklikleri
ÇODÖ	:Çocukluk Çağı Otizm Değerlendirme Ölçeği
DEHB	:Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu
DNA	:Deoksiriboz Nükleik Asit
DSM	:The Diagnostic and Statistical Manuel of Mental Disorders
EDTA	:Etilendiamin Tetraasetik Asit
EEG	:Elektroensefalografi
FAO	:Yağ asidi b-oksidasyon
FC	:Fold Change
fMRG	:Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme
ICD	:International Classification of Diseases
MSS	:Merkezi Sinir Sistemi
OSB	:Otizm Spektrum Bozukluğu
PCR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	:Ribonükleik Asit
SD	:Standart Sapma
SDKL	:Sorunlu Davranışlar Kontrol Listesi
TML	:Trimetillizin
TMLD	:Trimetillizin Dioksijenaz
TMLHE	:Trimetillizin Hidroksilaz, Epsilon
WES	:Tüm Ekzom Dizileme
WGS	:Tüm Genom Dizileme
YGB	:Yaygın Gelişimsel Bozukluklar
ZY	:Zihinsel Yetersizlik

ÖZET

Arkaplan ve Amaç:

Otizm spektrum bozukluğunun (OSB) etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış olsa da, birçok çalışma OSB’de genetik etmenlerin önemini vurgulamaktadır. Bu genetik mekanizmaların olgular arasında geniş heterojenite gösterdiği ve nörogelişimden sorumlu genlerin ifadesini etkileyebilen çevresel faktörlerle etkileşim içerisinde OSB etiyopatogenezinde kompleks bir biçimde rol oynadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada *TMLHE* (Trimetillizin Hidroksilaz, Epsilon) geninin ekspresyon profilini inceleyerek fenotip üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

Yöntem:

Çalışmaya DSM-5 tanı kriterlerine göre OSB tanısı almış 100 kişilik hasta grubu ile yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş OSB tanısı almayan 100 kişilik kontrol grubu dahil edildi. Katılımcılarla gerçekleştirilen görüşmelerde sosyodemografik verileri, otizm şiddetleri ve ilişkili sorunlu davranışlar tarandı ve kan örnekleri alınarak gen ekspresyon düzeyleri Gerçek Zamanlı PZR yöntemi ile belirlendi. İstatistiksel analizler R ve Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paket Programı (SPSS, 21.0) paket programları kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular:

Araştırmada hasta grubunda yer alan katılımcıların %87’si erkek, %13’ü kadın olup, ay cinsinden yaş ortalaması $111,33 \pm 43,53$ ay iken, kontrol grubunda yer alan katılımcıların %85’si erkek, %15’ü kadın olup, ay cinsinden yaş ortalaması $110,56 \pm 42,85$ aydı. Gruplar arasında cinsiyet ve yaş açısından anlamlı bir farklılık yoktu. Gen ekspresyon analizlerinden elde edilen sonuçlara göre *TMLHE* gen ekspresyonunun hasta örneklerinde kontrol örneklerine göre istatistiksel olarak sınırda anlamlı şekilde daha yüksek olduğu gösterildi ($p=0.048$). (hasta ort=7,9, kontrol ort=7,6, fold change=0,06). Olgularda ekspresyonu etkilemeyen yanlış anlamlı mutasyonların çoğunlukta olabilmesi, olası posttranskripsiyonel ve posttranslasyonel değişiklikler, ekspresyon düzeyini değiştirebilecek diğer tüm faktörlerden etkilenmiş olabilmesi, ya da düşük protein ekspresyonunun olası kompensasyonu sonucu olarak yüksek gen ekspresyonu olabilmesi bu durumu açıklayabilir.

Sonuç:

TMLHE geni ekspresyon profiline dair literatürde uzlaşılmış bir veri olmadığı göz önünde bulundurulduğunda, sonraki çalışmalar için bir temel olabilecek çalışmamızda saptanan

ekspresyon düzeylerinin eşlik eden olası genetik değişikliklerle ilişkiselliğini tespit etmek için, *TMLHE* geni ile koeksprese edilen diğer genlerin genomik ve transkripsiyonel değişiklikleri, *TMLHE* geninin testin uygulandığı kan dışındaki diğer dokulardaki ekspresyon düzeyleri, *TMLHE* gen ürününün biyokimyasal analizleri de dahil edilerek daha büyük örnekleimde araştırılması otizmin etiyolojisine dair genetik etmenlere dair kavrayışımızı arttıracaktır.

Anahtar Sözcükler: Otizm Spektrum Bozukluğu, *TMLHE*, Gen Ekspresyonu



ABSTRACT

Background and Aim:

Although the etiopathogenesis of autism spectrum disorder (ASD) has not been fully understood, many studies emphasize the importance of genetic factors in ASD. It has been shown that these genetic factors are heterogeneous among cases and play a complex role in interacting with environmental factors that can modify the expression of genes responsible for neurodevelopment. In this study, we aimed to understand *TMLHE* expression profile and its correlation with ASD phenotype.

Method:

This study included a patient group of 100 participants who were fulfilling criteria for ASD according to DSM-V and a control group of 100 age and gender matched participants without diagnosis of ASD. Interviews with participants and their families were conducted and their sociodemographic data, disease severity and accompanying symptoms were evaluated. Blood samples were obtained from all patients and gene expression levels determined by Real Time PCR method. R and Statistical Program for Social Sciences (SPSS for Windows, 21.0) were used for statistical analyses.

Results:

Mean age of patient group was $111,33 \pm 43,53$ months and 87% were male and 13% were female; while mean age of control group was $110,56 \pm 42,85$ months and 85% were male and 15% were female. Groups did not differ significantly in terms of gender and age. According to results obtained from gene expression analysis, *TMLHE* gene expression was shown to be statistically significantly higher in patient samples compared to control samples. (patient mean=7,9, control mean=7,6, fold change=0,06). This may be explained by the fact that missense mutations, which do not affect expression in the cases, can be in the majority; possible posttranscriptional and posttranslational changes; all other factors that may change the gene expression level; and high gene expression as a possible compensatory result of low protein expression.

Conclusion:

Considering that there is no consensus data in the literature on the *TMLHE* gene expression profile, in our study, which may be a basis for further studies, investigating the expression

levels in terms of relationality with possible genetic changes, including the genomic and transcriptional changes of other nearby or co-expressed genes, the expression levels in tissues other than blood, the biochemical analysis of substrates in a larger sample will enhance our understanding of the genetic factors related to the etiology of autism.

Key Words: Autism Spectrum Disorder, *TMLHE*, Gene Expression



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), sosyal-iletişimsel alanda belirgin yetersizlikler ve sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar ve ilgi alanları ile seyreden nörogelişimsel bir bozukluktur. Hastalığın patogeneğinde rol oynayan etmenler tam olarak aydınlatılamamış olsa da, birçok çalışma OSB’de genetik etmenlerin önemini vurgulamaktadır. Bu genetik mekanizmaların olgular arasında geniş heterojenite gösterdiği ve nörogelişimden sorumlu genlerin ifadesini etkileyebilen çevresel faktörlerle etkileşim içerisinde kompleks bir biçimde rol oynadığı gösterilmiştir.

OSB ile ilişkili olan aday genlerden birisi Xq28 lokusunda yer alan Trimetillizin Hidroksilaz, Epsilon genidir (*TMLHE*). *TMLHE*, karnitin biyosentez yolağının ilk basamağındaki trimetillizin dioksijenaz (TMLD) enzimini kodlar (1,2) ve bu enzim, trimetillizini (TML) hidroksimetillizine dönüştürür. Karnitin, uzun zincirli yağ asitlerini b-oksidasyonda kullanılmak üzere iç mitokondri zarından matrikse taşıyarak yağ asidi katabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. *TMLHE* geni, yaygın olarak tüm yetişkin ve fetal dokularda eksprese edilmektedir. *TMLHE* geni mutasyonları ile OSB gibi nörogelişimsel bozuklukları arasında literatürde daha önce klinik ilişki kurulmuştur.(2–8) Çalışmamızda mutasyona uğraması durumunda OSB’ye sebep olabilen *TMLHE*’nin ekspresyon profilini OSB hasta ve kontrol gruplarında inceleyerek OSB ile ilişkisini aydınlatmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU

2.1.1 Tanım ve Tarihçe

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) yaşamın erken dönemlerinde ortaya çıkan, sosyal ve iletişimsel alanlarda belirgin yetersizlikler ve basmakalıp davranışlar ve/veya sınırlı ilgi alanları ile karakterize olan nörogelişimsel bir bozukluktur(9).

OSB'ye özgü belirtilerden gelişimsel problemler, basmakalıp davranış örüntüleri ve konuşma kaybının olduğu bir grup vaka Heller tarafından 1930 yılında bebeklik demansı olarak tanımlanmıştır(10). Literatürde otizm belirtileri önceleri psikoz kavramı altında değerlendirilmiş olup, 1933 yılında Potter tarafından “Çocukluk Şizofrenisi” olarak tanımlanmış ve tanılama ölçütleri önerilmiştir(11).

“Otizm” terim olarak ilk kez 1912 yılında Eugene Bleuler tarafından şizofreni hastalarını tanımlamak için kullanılmıştır(12). Antik Yunanca’da *autos* (kendi) ve *ismos* (durum veya harekete ait bir ek) kelimelerinden türetilmiştir.

Leo Kanner 1943 yılında yayınlanan, 11 vakadan (8 erkek ve 3 kız) oluşan bir vaka serisinde “infantil otizm” tanımından bahsetmiş, vakaların ortak özelliklerini diğer insanlarla iletişim kurma ile ilgili yetersizlikler, ekolali, zamirlerin uygunsuz kullanımı, yineleyici davranışlar ve aynılıkta ısrar olarak tanımlamıştır(13). Daha sonraları, 1944 yılında Hans Asperger tarafından “Otistik Psikopati”, 1955 yılında Rank tarafından “Atipik Çocuk” gibi farklı tanımlamalar altında benzer özellikleri olan bu çocuklar sınıflandırılmıştır(14,15). “Otizm Spektrum Bozukluğu” teriminden ise ilk kez Wing ve Gould tarafından 1979 yılında bahsedilmiş ve üç temel etkilenen alan olarak tanımladıkları (sosyal karşılıklılık, iletişim ve sınırlı ilgi alanları ve/veya yineleyici davranışlar) belirtilerin değişen şiddet ve varyasyonlar ile ortaya çıkabileceğini vurgulamışlardır(16).

Uluslararası tanılama sistemleri içerisine ilk kez ICD-8’de (International Classification of Diseases 8th Edition) şizofreni alt gruplarından birisi olarak dahil edilen otizm, DSM (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) psikiyatrik tanılama sistemi içerisine ilk kez 1980 yılında yayınlanan DSM-III’te “Yaygın Gelişimsel Bozukluklar” başlığı altında sınıflandırılmış olup, 1987 yılında yayınlanan DSM-III-R’de “Erken Bebeklik Otizmi”,

“Çocukluk Başlangıçlı Yaygın Gelişimsel Bozukluklar” ve “Atipik Yaygın Gelişimsel Bozukluklar” alt kategorileri tanımlanmıştır.

1994 yılında yayınlanan DSM-IV’te ise Yaygın Gelişimsel Bozukluklar (YGB), Otistik Bozukluk, Asperger Sendromu, Rett Sendromu, Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu ve Başka Türü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk olarak beş ayrı alt kategoriye ayrılarak her biri için tanılama kriterleri belirlenmiştir.

2013 yılında yayınlanan DSM-V’te birçok alanda çoklu radikal değişikliklere gidilerek eksenlerin kaldırıldığı, ortak etiyolojik faktörlere göre ve daha boyutsal bir yaklaşımla gruplandırmayı hedefleyen değişiklikler yapılmıştır. Nörogelişimsel bozukluklar ana başlığı içerisinde Otistik Spektrum Bozuklukları tanısı altında DSM-IV’te mevcut olan Otistik Bozukluk, Asperger Sendromu, Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu ve Başka Türü Adlandırılmayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk tanıları birleştirilmiştir. Rett Sendromu, MECP2 gen lokusundaki mutasyonla ilişkisinin aydınlatılması ve diğer YGB’lerden farklı bir klinik gidişata sahip olması nedeniyle bu kılavuzdan çıkarılmıştır.

DSM-V Otizm Spektrum Bozuklukları Tanı Ölçütleri(17):

“A. Şimdi veya geçmişte farklı şekillerde görülen toplumsal iletişim ve toplumsal etkileşimde sürekli yetersizliğin olması.

1) Sosyal -duygusal karşılık vermede yetersizlik (örn. sıradışı toplumsal yaklaşma, karşılıklı konuşmada güçlük; ilgilerini, duygularını veya duygulanımını paylaşmada yetersizlik, sosyal etkileşime cevap vermeme gibi yetersizlikler.)

2) Sosyal etkileşim için kullanılan sözel olmayan iletişimsel davranışlarda yetersizlik (örn. sözel ve sözel olmayan iletişimde yetersizlikler, sıra dışı göz kontağı, beden dili veya jestleri anlamakta ve kullanmakta yetersizlik; yüz ifadesi ve beden dilinde bariz eksikler.)

3) İlişkileri geliştirmekte, devam ettirmekte ve anlamakta güçlük, Örneğin farklı toplumsal ortamlara uygun davranmamak, hayali oyunda yetersizlik, arkadaş edinememe ve arkadaşla ilgi duymama gibi.

Şu anki şiddeti: Şiddet sosyal iletişimsel alanda yetersizlikler ve kısıtlı, tekrarlayıcı davranışlara göre belirlenir.

B. Aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı ile kendini gösteren, şu an veya geçmişte sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar, ilgiler ya da etkinlikler.

1) Basmakalıp veya tekrarlayıcı motor hareketler, nesne kullanımı veya konuşma (Basit motor stereotipiler, oyuncakları dizme veya çevirme, ekolali, kendine özgü cümleler)

2) Aynılıkta ısrarcılık, rutinlere sıkı sıkıya bağlı olma veya ritüelleşmiş sözel ve sözel olmayan davranışlar, (önemsiz değişikliklerde aşırı kaygı, geçişlerde zorlanma, katı düşünce tarzı, selamlaşma ritüelleri, her gün aynı yolu veya aynı yemeği tercih etme gibi.)

3) Konu veya yoğunluk açısından sıradışı sınırlı, sabit ilgiler (sıradışı nesnelere anormal aşırı bağlılık, aşırı tekrarlayıcı veya sınırlı ilgiler.)

4) Duyusal olarak aşırı ya da az duyarlılık veya uyarıların duyusal boyutuna aşırı ilgi (acıya/sıcağa aşırı duyarsızlık, belirli ses veya dokunuşlara karşı beklenmeyen tepki, nesneleri aşırı koklama veya onlara aşırı dokunma, ışık veya hareketle görsel olarak çok meşgul olma.)

Şu anki şiddeti: Şiddet sosyal iletişimsel alandaki yetersizlikler ve kısıtlı, tekrarlayıcı davranışlara göre belirlenir.

C. Belirtiler erken gelişim dönemlerinde mevcut olmalı (toplumsal beklenti sınırlarını aşındırma ya da fark edilmemiş veya daha sonra öğrendiği yollarla gölgelenmiş olabilir.)

D. Belirtiler sosyal, mesleki ve başka önemli alanlarda klinik olarak anlamlı düzeyde bozukluğa yol açmalıdır.

E. Bu bozukluk zihinsel yetersizlik veya genel gelişimsel gerilik sebebi ile olmamalıdır.

Gerçi zihinsel yetersizlik ve OSB sıklıkla bir arada görülür, ancak OSB ve zihinsel engellilik tanısı konması için sosyal iletişimsel düzeyin genel gelişimin altında olması gerekir.

2.1.2 Epidemiyoloji

Otizm tanımlandıktan sonraki yıllarda yapılan ilk epidemiyolojik çalışmada Ritvo ve arkadaşları toplumda görülme prevalansını 4/10,000 olarak belirlemiştir(18). 1966-1998 yılları arasında yapılan, 23 epidemiyolojik çalışmanın bir meta-analizinde, otizmin görülme sıklığı 14,3/10000 olarak belirlenmiştir(19). Dünya genelinde yapılan daha güncel çalışmalarda değişen oranlarda artan bir sıklık göze çarpmaktadır. Güncel olarak Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin (Center for Disease Control, CDC) 2002, 2008 ve 2012 yıllarında yaptıkları toplum tabanlı çalışmalarda görülme sıklığı sırasıyla 1/150, 1/88 ve 1/68 olarak belirlenmiştir(20). Daha güncel olarak, aynı merkez tarafından 2014 yılında yapılan çalışmada bu oran 1/59 olarak belirlenmiş ve erkeklerde görülme sıklığının kızlara göre yaklaşık 4,5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir(21). Klinik örneklemeleri hedefleyen farklı çalışmalarda bu oran erkekler için daha da fazla olarak bildirilmektedir.

Yıllar içerisinde otizmin görülme sıklığının artışına neden olan farklı nedenler söz konusu olabilir. Bu nedenler arasında kullanılan ölçek ve tarama enstrümanları, DSM ve ICD tanılama ölçütlerindeki değişiklikler ve klinisyenlerin otizm ile ilgili farkındalığının artması gibi nedenlerin yanı sıra yapılan epidemiyolojik araştırmaların metodolojik dizayn biçimlerindeki farklılıklar da sayılabilir. Bununla birlikte bu artışın yukarıdaki nedenlerin yanı sıra gerçek nedenlerden dolayı da olabileceğini, bu nedenle bu konuda daha fazla yapılacak araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu belirten araştırmacılar da bulunmaktadır.(22,23)

2.1.3 Klinik Özellikler

DSM-V tanılama sisteminde, OSB'nin klinik özellikleri sosyal-iletişimsel yetersizlikler ile tekrarlayıcı ritüelistik davranışlar olarak iki alt boyutta ele alınır. Belirtilerin önemli bir kısmı gelişimsel olarak erken dönemde ortaya çıkar ve çocuğun günlük hayattaki işlevselliğinde önemli bir bozulma ile ilişkilidir. Belirtilerin ortaya çıkışı erken dönemde olsa da bu belirtilerin fark edilmesi, belirtilerin şiddeti, gelişimsel seviye ve kronolojik yaşla ilişkili olarak, ileriki dönemlere sarkabilir.

Yaşamın birinci yılında OSB belirtilerine dair veriler, daha sonraki hayatlarında OSB tanısı alan çocukların ebeveynlerinin bildirimleri ve olgu sunumları ile bu dönemde çekilen video kayıtlarının ayrıntılı analizlerinden gelmektedir(24). Bu çalışmalarda, OSB tanısı alacak olan çocukların, ilk altı ayda diğer insanları daha az arama davranışlarının olduğunu ve onlara

daha az baktıkları bildirilmiştir. İlk bir yılda saptanan belirtiler sosyal-iletişimsel yetersizlikle ilişkili olarak arasında nötr duygulanım, kucağa alınmaktan haz almama, sosyal gülümsemenin daha az olması, babıldamanın olmaması ya da nadir olması, anormal yüksek tonda ciyıklama görülebilir. Duysal uyaranlara karşı aşırı ya da az tepki verme ya da özellikle eklem bölgelerinde hipotoni ve genel motor gelişim gecikmesi gibi belirtilerinde görüldüğü bildirilmiştir(25,26).

Belirtilerin bir kısmı yaşamın ilk yılında da görülse de sıklıkla ikinci ve üçüncü yıllarında belirgin hale gelir ve konsolide olur. Hastalar en sık 2-3 yaşlarında ve konuşmada gecikme sebebiyle başvururlar. OSB tanılı çocukların ebeveynlerinin yaklaşık dörtte biri, çocuklarının birkaç anlamlı kelime söyledikten sonra konuşmayı bıraktığını ve sosyal becerilerinde gerileme olduğunu bildirmişlerdir(27). Bu yaşlarda taklit becerilerinde kısıtlılık, yalnız kalmayı tercih etme, seslenince bakmama, ortak dikkat gerektiren eylemleri başlatamama, bakış anormallikleri ve akran ilişkisinin zayıf olması, paralel oyun oynayamama belirtileri görülür. Dil gelişimi, iki yaşında çocuktan beklenen iki kelimelik basit cümleler kurabilme olan normal gelişim seviyelerinin altındadır. Sözel dikkat, alıcı ve ifade edici dil gelişimlerinde gerilikler görülür. Bu dönemde motor basmakalıp davranışlar belirgin hale gelmeye başlar; parmak ucunda yürüme, kendi etrafında dönme, el çırpma, kanat çırpma gibi davranışlar işlevselliği kötü olan çocuklarda daha sık görülür.

OSB tanısı almış bireylerin %70'ten fazlasında eşlik eden bir psikiyatrik, tıbbi ya da gelişimsel bozukluk görülür. OSB'nin karmaşık etiyolojisi ve fenotipik heterojenitesi göz önüne alındığında, çoğu zaman bu değişkenlerle ilişkili olarak eşlik eden patolojiler ve başlangıç yaşları değişebilmekle birlikte, genel olarak çocuklukta mevcut olan komorbid hastalıklar çoğunlukla erişkin yaşamda devam etme eğiliminde olarak değerlendirilir. Eşlik eden komorbid hastalıklar ne kadar fazla ise bireyin yetersizlikleri de o kadar fazladır. Eşlik eden komorbid hastalıkların fazlalığı ile ilgili öne sürülen nedenler içerisinde ortak patofizyolojik yollar, otizmi olmanın getirdiği sekonder güçlükler, paylaşılan semptom alanları ve ilişkili mekanizmalar ve tanı kriterleri arasındaki örtüşmeler sayılabilir(28,29).

Otizmi bireylerde en sık görülen gelişimsel patoloji zihinsel yetersizliktir (ZY). Zekanın tanımlanması ve değerlendirilmesindeki farklılıklar nedeniyle farklı sıklıklar bildirilse de yaklaşık %45 vakada eşlik eden ZY mevcuttur. Otizmi kızlarda IQ düzeyleri erkeklerden daha düşük olarak belirlenmiştir. Zekâ düzeyi, otizmin ileriki yıllardaki gidişatın önemli belirleyicilerindendir ve düşük zeka düzeyleri genel olarak daha kötü gidişat ile ilişkilidir. Ek olarak, daha düşük zekâ düzeylerine sahip bireylerde eşlik eden epilepsi gibi ek

nörolojik hastalıklar da daha sık olarak görülür. Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB) (%28-83), Tik Bozuklukları (%14-38) ve Dil Bozuklukları da otizmlili bireylerde sıklıkla görülen diğer nörogelişimsel bozukluklara örnek olarak verilebilir(25–30).

Otizmlili bireylerde yaygın olarak görülen psikiyatrik bozukluklar ise Anksiyete Bozuklukları (%42-56), Depresif Bozukluklar (%12-70), Obsesif Kompulsif Bozukluk (%7-24) ve Uyku Bozukluklarıdır (%50-80). Psikotik Bozukluklar ve Yeme Bozuklukları gibi diğer birçok psikiyatrik bozukluğun görülme sıklığı da otizmlili olmayan bireylere kıyasla artmıştır. Anksiyete Bozuklukları bir spektrum olarak değerlendirildiğinde hemen her yaşta sık olarak görülür ve Yaygın Anksiyete Bozukluğu ve Sosyal Anksiyete Bozukluğu en sık olarak görülen türleridir. Yüksek işlevselliğe sahip bireylerde daha sık tanı konulmakla birlikte, bu artmış birliktelik semptomların daha gözlemlenebilir ve belirlenebilir olması ile de ilişkili olabilir. Depresif bozukluklar daha sık olarak ergen ve yetişkin otizmlili bireylerde görülür ve akran zorbalığı ya da eşlik eden diğer psikososyal stresörler görüşmelerde belirlenebilir(29).

2.1.4 Etiyoloji

Kanner otizmi ilk olarak tanımladığında, onun kalıtsal bir hastalık olduğundan bahsetmiştir. Sonrasında yapılan çalışmalarda hastalığın etiopatogenezinde rol oynayabilecek farklı etmenler üzerine çok sayıda araştırma yapılmış ve farklı teoriler öne sürülmüştür. 1950’lerde uygun olmayan ebeveyn yaklaşımlarının otizme sebep olduğu düşünülürken, 1960’ların sonlarında bu görüş yerini biyolojik bir temele bırakmıştır. Güncel olarak OSB’nin etiyojisi net olarak aydınlatılamamıştır ancak, birçok genetik ve çevresel etmenlerin birlikte rol oynadığı karmaşık ve heterojen bir nörolojik gelişim bozukluğu olarak düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda bu etmenler sonucunda beyinde ortaya çıkan hem işlevsel hem de yapısal farklılıkları, bu değişimlerin zamanlaması ve söz konusu etmenlerle ilişkilerinin aydınlatılmasına odaklanmaktadır.

2.1.4.1 Genetik Etmenler

Genetik etmenlerin OSB etiyojisinde en azından kısmen etkileri olduğuna dair görüşler uzun zamandır mevcuttur. Bu ilişki ile ilgili ilk veriler, otizmin özgül genetik sendromlar ile ilişkisini inceleyen çalışmalar ve ikiz ve aile çalışmalarından gelmektedir. Bu çalışmalarda Tübero Skleroz, Frajil X gibi farklı genetik sendromlarda OSB prevalansının beklenenden yüksek olduğu gösterilmiş ve ikiz çalışmalarında monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre

artan prevalans belirlenmiştir. Moleküler genetik alanındaki teknolojik ilerlemelerle birlikte OSB'nin etiolojisinde rol oynayan genetik etmenlere dair bilgimiz büyük ölçüde artmıştır.

Genel olarak otizmde kalıtlılabirliğin %90'ın üzerinde olduğu kabul edilir(31). 1977'den itibaren yapılan farklı ikiz çalışmalarında otizmin monozigot ve dizigot ikizlerdeki konkordans oranları monozigotik ikizler için %36-96, dizigotik ikizler için ise %0-24 aralığında belirlenmiştir(32,33). Bu oran farklılıklarının esas nedeni çalışmaların metodolojileri ile ilgilidir. Otizm tanıli kardeşi olan bireylerde otizm görölme sıklığı normal popölasyonda görölün otizm sıklığından 22-25 kat daha fazladır(34,35). Multipleks ailelerde bu oranın daha da arttığı bilinmektedir. Bu ailelerde otizmin tekrarlama oranı %35 olarak saptanmıştır(18). Cinsiyete göre bu oranı inceleyen bir çalışmada otizmli bir bireyin erkek kardeşinin %7, kız kardeşinin ise %1 otizm olma riski taşıdığı gösterilmiştir(36). Yapılan ikiz ve aile çalışmaları otizmin kalıtlılabirliği hakkında ilk verileri ortaya koyan çalışmalar olmakla birlikte genomdaki yapısal ve işlevsel değışiklikleri hakkında bilgi sunamamaktadır.

OSB ile ilişkili genetik değışiklikler mikroskobik ve submikroskopik kromozomal anomalilerden, Kopya Sayısı Değışikliklerine (CNV) tek gen mutasyonlarına varana kadar farklı biçimlerde ortaya çıkabilir. Epigenetik değışiklikler ve kromozomal ya da segmental homozigotiste ile sonuçlanan uniparental dizominin de otizmin patogeneğinde rol oynayabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte, vakaların en fazla %20-25'lik bir kısmında altta yatan genetik neden belirlenebilmiştir. Belirlenebilen nedenler sıklıkla sitogenetik olarak saptanabilen kromozomal anomaliler (~%5), CNV'ler (%10-20) ve metabolik ya da nörolojik bulgularla seyreden ve sıklıkla Mendelian kalıtılan tek gen hastalıklarıdır (~%5).

2.1.4.2 Nöroanatomik Etmenler

OSB'li bireylerde nöroanatomik değışikliklere dair ilk veriler postmortem incelemelerden gelmektedir ve beyin ağırlığında artış ve megalensefali bildirilmiştir(37,38). Ancak ilerleyen yıllarda yapılan çalışmalarda beyindeki büyümenin, 12-24 ayları arasında ortaya çıktığı, bu büyümeden önce bazı başka mikro ve makroanatomik değışikliklerin olduğu bildirilmiştir(39). 1 yaşından öncesinde nöro-progenitör hücrelerin artmış proliferasyonları sonrası kortikal yüzey alanında tekdüze olmayan bir genişleme olduğu, bu genişlemenin bozulmuş sensorimotor ve görsel dikkat ile ilişkili olduğu bilinmektedir(39). Bu bozulmuş işlevlere ikincil olarak deneyime bağımlı nöral gelişim sekteye uğrar ve nöronal döngülerin yeniden biçimlendirilmesindeki eksikliklere neden olarak total kortikal volüm artışına neden olur. Bu kortikal aşırı büyüme en fazla frontal lob, temporal lob ve amigdala gözlemlenir ve

otizmle ilişkili sosyal yetersizliklerin ortaya çıkması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Gri madde değişikliklerine ek olarak, corpus callosum ve serebral pedinküllerdeki beyaz madde organizasyonlarında da bazı değişiklikler olduğu ve bu değişikliklerin duysal aşırı ya da az duyarlılık ile belirgin bir biçimde ilişkili olduğu gösterilmiştir(40). Ekstra aksiyal sıvı kompartmanlarındaki artan hacmin beyin omurilik sıvısı (BOS) sirkülasyonunun azalmasına ve BOS içerisinde serebral metabolitlerin artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Ekstra aksiyal sıvı kompartmanlarındaki bu artışın motor belirtilerle ilgili olabileceği de öne sürülmektedir(41,42).

Yukarıda bahsedilen değişikliklere ek olarak, mikroanatomik başka değişiklikler de gösterilmiştir. Hücresel düzeydeki bu değişiklikler: hipokampus, subikulum, septal nükleuslar ve amigdalada dens, küçük nöronlar ve serebellar purkinje hücrelerinde azalma, mikrokolonlarda daralma ve nicel olarak artış, bazı kortikal devrelerde aşırı bağlantı ile bazı subkortikal devrelerde azalmış bağlantı yoğunluklarıdır(37,39,43).

Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme (fMRG) çalışmalarında ise yüzü algılama görevleri sırasında fuziform girus aktivasyonunda azalma, sosyal ve duygusal muhakeme ile ilgili görevler sırasında amigdala aktivasyonunda azalma bildirilmiştir(25,44).

2.1.4.3 Prenatal/Natal ve Postnatal Etmenler

Literatürde OSB ile ilişkili olabilecek birçok perinatal etmen ileri sürülmüş olup, bunlar geçirilen enfeksiyonlar, maruz kalınan kimyasallar ve gebelik ve doğum ile ilgili komplikasyonlar gibi başlıklar altında toplanabilir. Gebelik döneminde geçirilen enfeksiyonların doğrudan (Rubella ve Sitomegalovirus), maternal immünite üzerinden nöroinflamasyona bağlı olarak ya da plasental kan akımını etkileyerek OSB için bir risk faktörü oluşturabileceği öne sürülmüştür(45). D vitamini eksikliğinin otizm ile ilişkili henüz net aydınlatılamamış olsa da, gebelik ve erken çocukluk döneminde D vitamini eksikliğinin gen ifadesinin düzenlenmesi, immün sistemin regülasyonu ve serebral homeostazisi üzerine olumsuz etkileri aracılığıyla rol oynuyor olması mümkündür(46). Prenatal dönemde kimyasallara maruziyet açısından pestisid ve tarım ilaçların, talidomid, valproik asit, terbütalin, misoprostol gibi farklı ajanlar ile fetal dönemde karşılaşılmasının otizm ile ilişkili olabileceğine dair yayınlar mevcuttur(25,47–49). Düşük doğum tartısı, prematür doğumlar, düşük apgar skorları ve hiperbilirubinemi gibi neonatal dönemdeki olumsuz olayların da otizm için farklı oranlarda risk faktörleri olabileceği bilinmektedir. Ancak farklı perinatal olayların değerlendirildiği 40 araştırmayı kapsayan bir meta-analizinde, bu etmenlerin otizm

gelişimi için özgül olmadıkları ve her birinin münferit olarak etiyojiden başlı başına sorumlu tutulamayacağı gösterilmiştir(49).

2.1.4.4 Nörokimyasal Etmenler

OSB olan olgularda yapılan çalışmalarda hem merkezi sinir sistemi (MSS) düzeyinde nörotransmitter anormallikleri hem de periferel dolaşımında nörotransmitterler ve metabolitleri ve diğer biyokimyasal anormallikler gösterilmiştir. Otizmle ilişkisi görece olarak daha iyi çalışılmış nörotransmitterler serotonin, glutamat ve gama amino bütirik asittir (GABA). Serotonin, nörogenez esnasında farklı aşamalarda (nöronal differansiasyon, proliferasyon, migrasyon ve sinaptogenez) rol oynamaktadır. Otizimli bireylerin yaklaşık üçte birinin serum serotonin (5-HT) düzeylerinde artma olduğu ve bu serum düzeyinin MSS ile ters korelasyon gösterdiği bilinmektedir(50). Beynin temel eksitatuvar nörotransmitteri olan glutamat ile temel inhibitör nörotransmitteri GABA arasındaki dengenin eksitatuvar yöne kaymasının en azından bazı otizm olguları için duygusal, sensoryal ve sosyal sistemlerdeki anormalliklerin altında yatan sebeplerden birisi olarak gösterilebileceği bilinmektedir(51). Bu artmış glutamaterjik transmisyonu destekler biçimde postmortem çalışmalarda da, eksitator aminoasit taşıyıcısı 1 ve alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropiyonik asit, tip 1 glutamat reseptörü gibi glutamaterjik yollarla ilgili genlerin ekspresyon miktarlarındaki artış gösterilmiştir(51,52).

Otizimde biyokimyasal değişiklikler yalnızca nörokimyasal düzeyde gerçekleşmez. Artmış oksidatif strese karşılık azalmış antioksidan sistem yanıtları da farklı çalışmalarda bildirilmektedir. OSB'li bireylerde serum süperoksit dismutaz, transferrin ve seruloplazmin düzeylerinde düşüklükler ve eritrosit glutatyon peroksidaz seviyesinde düşüklükler gösterilmiştir. Bu artan oksidatif incinebilirliğin, beyindeki nöroanatomik değişikliklerin bir kısmından, özellikle Purkinje hücre kaybından sorumlu tutulabileceği öne sürülmüştür(53–55).

2.1.4.5 Nörofizyolojik Etmenler

Otizimli bireylerde epilepsi sıklığı normal popülasyona kıyasla (%1) oldukça artmış olup %22 civarındadır. Dahası klinik olarak epileptik nöbetleri olmayan ancak elektroensefalografi'de (EEG) anormal epileptik deşarjlar saptandığı olgular da dahil edildiğinde epileptik anormalliklerin oranı %50'ye ulaşmaktadır(56). Başlangıcı çocukluk ve erken ergenlik döneminde bifazik olan epileptik anomalilerin otistik regresyon ile ilişkili olabileceğine dair hipotezler öne sürülmüştür. Ağır ve çok ağır derecede zihinsel yetersizliği olan olgularda EEG

anormallikleri ve ilişkili epileptik nöbet daha sık görülmekte ve daha kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir(57,58)

2.1.4.6 İmmünolojik Etmenler

Otizmin etiyolojisinde immünolojik faktörler fetal hayatta maternal immüendisregülasyon aracılığıyla rol oynayabileceği gibi nöronal gelişimin düzenlenmesini etkileyebilen humoral ya da hücrel immün sistemlerin uygun olmayan aktivasyonları da bu ilişki içerisinde dahil edilebilir. Mevcut immün disregülasyon çevresel etkenlere anormal bir cevap olarak ortaya çıkabileceği gibi, bozulmuş immün aktivasyon nedeniyle organizma çevresel etkenlerin olumsuz etkilerine daha hassas hale de gelerek otizmde rol oynuyor olabilir. Yine otizmlili bireylerde serum immün markerlarını inceleyen çalışmalarda total lenfosit, total T hücresi, total CD4+ T hücresi sayılarında azalmayla birlikte B hücre ve Th CD4+ ile innate immün sistemde önemli rol oynayan NK hücrelerin sayılarında bu azalmanın olmadığı gösterilmiştir.

2.1.4.7 Epigenetik Etmenler

Epigenetik disregülasyonun otizmin patogeneğinde oynadığı rolü açıklamayı hedefleyen çalışmalar literatürde görece yeni ve sık olarak incelenen bir alandır. Otizmle ilişkilendirilen sendromlardan bazılarında hastalık sebebi olan genler epigenetik düzenlemeyi ilgilendirmektedir. Örneğin otistik belirtilerin gözlemlendiği Rett Sendromunda metile DNA'yı bağlayan ve hedef genlerin ekspresyonunu azaltan metil-CpG-bağlayıcı protein 2'yi (*MeCP2*) kodlayan gen mutasyon görülür. Epigenetik düzenleme ile ilgili işlevleri olan bir gen bölgesi olan 15q11q13 bölgesindeki mikrolelesyonlar ve mikroduplikasyonlar otizmlili bireylerde görece sık olarak saptanır. Turner Sendromunda bireydeki X kromozomunun paternal orijini ile ilişkili olarak otistik özellikler gözlenir. Son olarak otizmlili bireylerden elde edilen lenfoblastoid hücrelerde DNA metilasyon profillerinde doğrudan değişiklikler (retionik asit-ilşkili orfan reseptör alfa geni (*RORA*) ve B-hücreli lenfoma 2 geni (*BCL-2*) ekspresyonlarında azalma) gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen epigenetik etkilerin genetik altyapı ile ilişkileri daha ön planda olsa da, çevresel etmenler aracılığıyla epigenetik değişikliklerin düzenlenmesinin otizm ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar giderek artmaktadır. Örneğin yardımcı üreme tekniklerinin kullanımı anormal metilasyon ve susturulan genlerin anormal düzenlenmesi ile ilişkilidir. Bu bağlamda gerçekleşen değişikliklerin, yardımcı üreme tekniklerinin kullanıldığı bireylerde artmış otizm sıklığını açıklamakta faydalı olabileceği düşünülmektedir.

2.2 OTİZM ve GENETİK

2.2.1 Otizmde Genetik Mimari

Epidemiyolojik ve genetik çalışmalardan gelen veriler, otizmin etiyolojisinde genetik etmenlerin karmaşık, heterojen ve çevresel etmenlerle karşılıklı etkileşimlerle rol aldığına işaret etmektedir. OSB ile ilişkili olduğu öne sürülen 1000'den fazla gen yüksek derecede lokus heterojenitesi göstermektedir ve çoğu yüksek derecede pleiotropi gösterir. Otizmin kalıtılabilirliğinden sorumlu olan başlıca kısmın genel popülasyonda gözlenen yaygın varyantlar olduğu, nadir varyantların ise minör bir rol oynadığı düşünülür. Yaygın varyantlar toplumda %1'den fazla görülen genetik değişikliklerdir. Bu varyantlar hastalıklar için düşük/orta riske sahiptir ve birden çok yaygın varyantın kombinasyonu ile ilgili hastalığa genetik altyapıyı hazırladığı düşünülmektedir. Yaygın varyantlar etkilenmemiş aile bireylerinde de görülebilir, otizmlili bireylerin otistik özellikleri olan çocukları olmasına ve otistik özelliklerin kalıtılmasına neden olarak subklinik psikiyatrik fenotipler ile ilişkilendirilebilir. Değişken ekspresivite ve penetrans gösterebilirler. Günümüzde otizmle ilgili tanımlanan 1000'den fazla yaygın varyant mevcuttur, ancak bunlar çok düşük risk ile ilişkili olup, yalnız başlarına otizme yol açmazlar. Dahası, tanımlanan yaygın CNV'lerden her biri en iyi ihtimalle otizmlili bireylerin %1'inde ancak mevcuttur. GWAS çalışmalarında tanımlanan Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) de risk oranı düşük olan değişikliklerdir. Yine de simpleks ailelerin %40'ında, multipleks ailelerin %60'ında bu SNP'lerden birkaçı bir arada gözlemlenebilir ve bir araya geldiklerinde otizm için ek bir genetik risk oluşturabilirler.

Nadir varyantlar ise toplumda görülme sıklığı %1'in altında olan değişimler olup yaygın varyantlardan daha yüksek hastalık riski ile ilişkilidir. Otizm ile ilişkilendirilmiş nadir CNV'lere örnek olarak 1q21.1(dup), 15q11.2(del), 16p12.1(del), 17q12(dup); ve tek gen mutasyonlarına örnek olarak *CNTN6*, *SHANK1*, *SHANK2*, *NRXN1* genlerindeki mutasyonlar verilebilir.

Bunların yanı sıra, germlinal mozaisizm gibi çok nadir durumlar dışında son zamanlarda daha da ilgi odağı olan *de novo* mutasyonlar da otizmin etiyolojisinde rol oynar. Bu *de novo* değişiklikler, germline hücrelerinde mikrodelsiyon ya da mikroduplicasyon biçiminde CNV değişiklikleri ve yanlış anlamalı, kırılma bölgesi ya da çerçeve kayması biçiminde etkileri olan tek nükleotid değişiklikleri olabilir ve özellikle simpleks ailelerde OSB için nedensellikten sorumlu olabilir.

Yaygın varyantlar, nadir varyantlar ve de novo değişikliklerin bir arada da görülebileceği unutulmamalıdır. Bu değişkenler arasındaki genetik etkileşim, otizmlı bireyin fenotipik çeşitliliğini de şekillendirebilir. Bazı olgularda alttaki yaygın varyantlar nadir mutasyonların etkilerini kompanse ederek otizmin fenotipik bulgularının ortaya çıkmasını engelleyebileceği gibi, genetik altyapısında otizmle ilişkilendirilen yaygın varyantlardan birkaçının bulunması durumunda sonraki değişikliklerde otizm fenotipinin gözlenmesine de neden olabilir.

2.2.2 Otizmde Kullanılan Genetik Yöntemler

OSB'nin etiolojisinde genetik faktörlerin rolü uzun zamandır bilinmekle birlikte, sitogenetik ve moleküler genetik alanındaki gelişmelerden önce bu ilişkiyi doğrulayan araştırma verileri genellikle ikiz ve aile çalışmalarından gelmekteydi. Günümüze kadar yapılan ikiz çalışmalarında monozigot ikizlerde kondordans oranı %60-90 arasında iken dizigotik ikizlerde bu oran %0-24 arasındadır. Aile çalışmalarından elde edilen verilere göre otizmlı bir kardeşi olan bireylerde otizm sıklığı popülasyona kıyasla artmış olup %2-6 arasındadır. Güncel veriler otizmin kalıtlılabirliğinin %90 civarında olduğunu öngörmektedir.

Işık mikroskopisinin kullanılmasıyla kromozomal yapılarıdaki büyük değişikliklerin gösterilmeye başlanması, moleküler genetikte mikroarray tabanlı testlerin kullanılması ile kopya sayısı farklılıklarının analiz edilmesi ve moleküler genetikteki gelişmeleri takiben Mendelian kalıtılan hastalıklara sebep olan yeni genlerin keşfedilmesinin ardından, genlerin fenotip üzerine etkileri aydınlatılmaya başlandı ve kompleks nöropsikiyatrik hastalıkların etiolojisinde rol oynayan genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimine dair bilgilerimiz arttı. Moleküler genetik çalışmalar ile otizmlı bireylerin %10-25 kadarında 100'den fazla OSB riski ile ilişkili nadir ve penetran genleri tanımlanabilmektedir. Otizmin genetik altyapısı oldukça heterojen olup bireyler arasında büyük farklılıklar göstermektedir ve yaygın ve nadir varyantların karmaşık etkileşimleri tarafından oluşturulur. Yatkınlık oluşturduğu bilinen bu genlerin dikkat çekici bir biçimde belirli biyolojik yollarda etkili olduğu gösterilmiştir (kromatin yeniden modellenmesi, protein translasyonu, aktin dinamikleri ve sinaptogenez ve postsinaptik yoğunluk).

Otizm ile ilgili araştırmalarda kullanılan başlıca genetik yöntemler şu şekildedir:

2.2.1.1. Sitogenetik Analizler

Sitogenetik analizler ile kromozomal anomaliler belirlenebilmektedir. Yüksek çözünürlüklü yöntemlerle 500-1200 bant incelemeleri ile daha küçük değişikliklerin saptanabilmesi mümkün olsa da spesifik bir gen ile ilişkilendirmek için yeterli değildir. OSB'li hastaların yaklaşık %4'ünde bu yöntemle kromozomal anomaliler gösterilebilir. Kromozomal anöplodi saptanabilen hastalarda otizme eşlik eden dismorfik bulgular daha sık olarak görülür. Otizmlilerde neredeyse tüm kromozomlarda sitogenetik anomaliler gösterilmiş olmakla birlikte, tamamının otizm ile ilişkiselliği aydınlatılamamıştır. Otizmlilerde %1-3'lük bir oran ile, en sık gözlenen anomalilerden birisi Prader Willi/Angelman Sendromu ile ilişkili 15q11-q13.1 bölgesinde maternal kaynaklı duplikasyondur. 2q37, 18q, 22q13.3, Xp22.3 delesyonları ve 47,XXX, 47,XXY, 45,X gibi cinsiyet kromozomu anöploidileri literatürle otizm ile ilişkili olarak bildirilmiş diğer anomalilerdir.

2.2.1.2 Bağlantı (Linkage) Analizleri

Sendromik olmayan otizmlilerde altta yatan genetik değişiklikleri incelemeyi hedefleyen ilk büyük kapsamlı çalışmalardandır. Genetik bağlantı birbirine yakın konumlanan genlerin ve içerdikleri varyantların birlikte (bağlantılı) olarak kalıtılmasını tanımlar, bağlantı analizi ise, genomda belirli bir bölgenin kalıtımı ile, belirli bir hastalığın görüldüğü ailelerdeki hastalığın kalıtımı arasındaki istatistiksel ilişkiyi tanımlar. Söz konusu bölgenin rastgele dağıtılmamasının anlamı şudur: bilinen bir genetik varyant ve hastalığa neden olduğu düşünülen mutasyon birbirlerine yakın konumlanıyorsa o mutasyonun olduğu bölgenin lokasyonu yaklaşık olarak tayin edilebilir. Metodolojik olarak kompleks genetik değişkenlerin ve heterojenitenin olduğu sendromik olmayan otizm gibi bozukluklarda optimal düzeyde sonuçlar vermese de, otizmde altta yatan genetik değişkenleri anlamaya dair ufuk açıcı veriler edinilmiştir. Tüm genom bağlantı analizlerinden oluşan 14 çalışmanın gözden geçirmesinde 94 lokusun bağlantılılığı için anlamlı ya da destekleyici bulgular gösterilmiştir. Belirlenen bu 94 lokustan yalnızca 8'i 3.3 LOD değerinin üzerinde olarak anlamlı bulunmuştur (1p21.1, 2q91.1, 3q25-27, 5p15.3, 7q22.1, 7q32.2, 8q24.13 ve 13q21.32). 7. Kromozomun uzun kolundaki bölgeler, birbirinden bağımsız çalışmalarda en çok tespit edilen alanlar olduğu için, aday genlerin en çok araştırıldığı bölgelerden birisidir. Nitekim bu bölgelerin detaylı haritalamaları sonucunda otizm için yatkınlık oluşturan *CNTAP2*, *EN2*, *MET*, *RELN* gibi gen ve lokuslar belirlenmiştir.

2.2.1.3 Kopya Sayısı Değişiklikleri (CNV)

CNV'ler insan diploid genomundaki bir kilobazdan sitogenetik olarak gözlenebilir boyutlara kadar büyüklükteki DNA segmentlerinin kaybı ya da kazanılması yoluyla gerçekleşen yeniden düzenlemelerdir. Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH) ve Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) array teknolojilerinin geliştirilmesini takiben bu değişikliklerle ilgili yapılan çalışmaların sayısı hızla artmıştır. aCGH çalışmalarında test DNA'sı ve referans DNA array üzerinde hibridize edilir ve test DNA kopya sayısı referans DNA ile karşılaştırılarak artış ve azalışlar hesaplanabilir. Bu yöntemde kullanılan platformlar bilinen delesyon/duplikasyonların subtelomerik bölgeler de dahil olmak üzere bütün genomun değerlendirilmesine olanak sağlar, ancak dengeli inversiyon ve translokasyonları saptayamayabilir. SNP arraylerde ise yalnızca test DNA'sı arraye hibridize edilir ve referans verileri diğer çalışmalardan yola çıkarak belirlenir. Bu çalışmalarda *de novo* CNV'ler %4-7 otizmlili olguda saptanabilmektedir (sağlıklı kardeş ya da kontrol grubunda %1-2). Otizme eşlik eden dismorfik bulguların olduğu ve gözlenebilir yapısal kromozomal anomalisi olmayan grupta bu oran %27,5'lere yükselmektedir. Otizmlili bireylerde sağlıklı kontrollere kıyasla büyük CNV'lerde artmış mutasyon yükü tespit edilmiştir. Bunun yanında bilinen Zihinsel Yetersizlik (ZY) ve OSB ile ilişkili genlerle ve daha ziyade beyinde eksprese olan genlerle (özellikle postsinaptik yoğunluk, kromozon yeniden düzenlenmesi ve transkripsiyon düzenleyici) örtüşen CNV'ler saptanmıştır.

OSB için yatkınlık oluşturma olası genlerin bir kısmında nadir, tekrarlayıcı *de novo* ekzonik CNV'ler tespit edilmiştir. Bunlar: *NRXN1*, *PTCHD1*, *NLGN1*, *SHANK1* ve *SHANK3* genleridir. OSB'li hastalarda 16p11.2, 15q11-13, 22q11 gibi bazı spesifik lokuslardaki delesyon ya da duplikasyonlar da gösterilmiştir. Bu gen ve lokuslar OSB ile ilişkisi en çok aydınlatılan kısımlar olup, literatürdeki ilişkili olabilecek CNV kazanımları ya da kayıplarının olduğu başka bölgelerin tanımlamaları da gün geçtikçe artmaktadır.

2.2.1.4 Tüm Genom/Exom Dizileme

Tüm Genom Dizileme (WGS) yöntemi genetik değişiklikler ile ilgili en kapsamlı bilgiyi sunan yöntem olup tek nükleotid değişiklikleri, translokasyonlar, inversiyonlar, CNV'ler ve insersiyon-delesyon değişikliklerini genom boyunca tarar. Ancak bu değişiklikleri tespit edebilme gücü lokal genomik kompozisyona göre değişiklik gösterir. Yüksek maliyetli olması ve kodlamayan bölgelerdeki değişikliklerin yorumlanmasındaki zorluk bu yöntemin güçlükler oluşturan kısımlarıdır. Exom, insan genomunun yaklaşık % 1-2'sini oluşturur ve hastalığa

neden olduğu bilinen tek gen mutasyonlarının %85'ini içerir. Bu nedenle Tüm Ekzom Dizileme (WES) yöntemi hastalıklarla ilişkili genleri tanımlamak için fiyat olarak makul bir alternatif oluşturur

Jiang ve arkadaşlarının OSB'li 32 ailede yaptıkları bir WGS çalışmasında, bu 32 probandin yaklaşık yarısının (n=14; %47) en az bir tane *de novo* mutasyona sahip oldukları ve *de novo* mutasyonların paternal yaş ile anlamlı derecede ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Günümüze kadar sporadik OSB olgularını inceleyen 18'den fazla WES çalışması yapılmıştır. Bu çalışmaların çoğunda araştırmacılar *de novo* SNP'lerin OSB'ye katkısını incelemeye odaklanmışlardır. Tüm çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, her birey için ortalama *de novo* SNP sayısının kadın hastalar için 0,86, erkek hastalar için 0,73, etkilenmemiş kadın ve erkek kardeşler için 0,60 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmalardan çıkan dikkat çekici başka bir sonuç da *de novo* SNP'lerin paternal kromozom üzerinde bulunma olasılığının maternal kromozomda bulunma olasılığına göre yaklaşık 3 kat artmış ihtimalde olmasıdır. Bu çalışmalara dayanarak yapılan analizlerde OSB'li olguların %3,6-8,8'inin nedensel olarak ilişkili bir *de novo* mutasyon taşıdıkları, etkilenmemiş kardeşleri ile karşılaştırıldıklarında iki kat fazla mutasyona sahip oldukları saptanmıştır. Iossifov ve arkadaşlarının yaptığı bir meta-analiz çalışmasına 2500'den fazla aile dahil edilmiş ve gen işlevinin bozulması daha olası olan *de novo* çerçeve kayması, anlamsız ve splice alanlarındaki mutasyonların otizmlili bireylerde etkilenmemiş kardeşlerine kıyasla artmış sıklığı belirlenmiştir ($P=5 \times 10^{-7}$). Bu gen işlevinin bozulmasının daha olası olduğu *de novo* mutasyonların verbal olmayan IQ'ya sahip bireylerde görülmesi daha sık tespit edilmiş ve kromatin modellemesinde rol alan genler ve *FMRP* kompleksi tarafından düzenlenen genlerde de görülme sıklığı artmıştı. Bu çalışmaların ardından, O'roak ve arkadaşları tarafından, bu çalışmalarda en çok ilişkili belirlenen aday genlerin hedeflenmiş yeniden sekanslama çalışması ile araştırıldı. Bu çalışmada nihai olarak OSB ile ilişkilenendirilen ve *de novo* mutasyon taşıyan on gen belirlendi: *CHD8*, *DYRK1A*, *GRIN2B*, *KATNAL2*, *RIMS1*, *SCN2A*, *POGZ*, *ADNP*, *ARID1B* ve *TBR1*.

2014 yılında De Rubeis ve arkadaşları tarafından yapılan ve günümüze kadar en geniş örnekleme sahip bir çalışmada, 3871 otizmlili vaka ve 9937 etnik olarak eşleştirilmiş ya da paternal kontrol grubu için WES gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada OSB ile ilişkili olduğu tespit edilen 33 gen belirlenmiş olup, bunların 15'inin bilinen OSB risk genleridir. 11 gen ise daha önce otizmlili olgularda mutasyonların gösterildiği genlerdir (*SUV420H1*, *ADNP*, *BCL11A*, *CACNA2D3*, *CTTNBP2*, *GABRB3*, *CDC42BPB*, *APH1A*, *NR3C2*, *SETD5* ve *TRIO*).

Kalan 7 gen ise tamamıyla yeni olarak ilişkilendirilmiş genler olup *ASH1L*, *MLL3*, *ETFB*, *NAA15*, *MYO9B*, *ETFB*, *MIB1*'yi kapsar.

2.1.1.5 Ekspresyon Analizleri

Otizm ile ilişkili olduğu belirlenen genom yapısındaki değişikliklerin daha önce de bahsedildiği üzere yalnızca bir kısmı münferit olarak ilişkili fenotipin ortaya çıkmasını açıklayabilmektedir. Bunun dışında kalan ve çoğunluğu oluşturan olgulardaki genetik varyantlar genellikle inkomplet penetrans ve değişken fenotipik ekspresyon gösterirler. Dahası, epigenetik etkiler aracılığı ile bu genom yapısındaki değişikliklerin transkripsiyonel düzeyde kontrolü söz konusudur. Bu nedenle, genetik altyapı ve olası genetik değişikliklerden bağımız olarak gen ekspresyonunu belirleyen biyomarkerların kullanımı otistik fenotipi açıklamaya yardımcı olabilir. Nitekim otizmlili bireylerde gen ekspresyonlarına dair yapılan çalışmalarda farklı hücresel yollarla (hücresel solunum, veziküler transport, nöronal projeksiyon, sinaptik işlevler) ilişkili birbirleri ile örtüşen ekspresyon verileri belirlenmiştir. Ayrıca gen ekspresyonu verileri kullanılarak otizmin alt gruplarını belirleyemeye yönelik çalışmalar da yapılmıştır. Birbirinden bağımsız yürütülen bu çalışmaların bir kısmında, bazı değişkenler için birbirini destekler nitelikte veriler elde edilmesine karşın bu örtüşmenin ne düzeyde olduğunu öngörebilmek mümkün değildir. Çalışmalarda gösterilen etkilenen farklı yollar ve farklı ekspresyon düzeylerinin nedenleri olarak otizmin klinik heterojenitesinin yanı sıra; analiz edilen doku ya da hücre tipi, araştırma popülasyonu, çalışma dizaynındaki metodolojik farklılıklar ve verilerin farklı yorumlanmaları gibi farklılıklar gösterilebilir.

Günümüze kadar otizm ile ilişkili farklı beyin bölgelerinden alınan örneklerde gen ekspresyon analizlerinin yapıldığı az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar oldukça küçük örneklem popülasyonlarına sahip olmakla birlikte OSB ve kontrol gruplarında değişken ekspresyonu olan çok sayıda gen belirlemişlerdir. Chow ve arkadaşları, yaşa bağımlı beyin gen ekspresyonunu incelemek için 16 genç post-mortem erkek vaka (9 OSB, 7 kontrol) ile 17 yetişkin post-mortem erkek vakadan (6 OSB, 11 kontrol) elde edilen dorsolateral prefrontal korteks örneklerini incelemiş ve otizmlili olgular ile kontrol grubu arasında farklılık gösteren gençler için 102, yetişkinler için 736 gen saptamışlardır. Ginsberg ve arkadaşları 18 vakada (9 OSB, 9 kontrol) post-mortem serebellar ve Brodmann Alanı 19'u incelemişler ve otistik ve sağlıklı beyinde birbirinden farklı eksprese edilen 876 gen tanımlamışlardır. Spesifik olarak belirli biyolojik yollarındaki farklılıkları inceleyen çalışmalardan birisi olarak Anitha ve arkadaşları tarafından 18 vakadan alınan (8 OSB, 9 kontrol) beyin örneklerinde elektron

transport sistemi ile ilgili 84 gen taranmış ve farklı komplekslerle ilişkili 24 farklı genin azalmış ekspresyonunu gösterilmiştir.

Otizm ile ilişkili olarak yapılan ilk ekspresyon çalışmalarından birisi Hu ve arkadaşları tarafından lenfoblastoid hücre kültürleri kullanılarak yapılmıştır. Klinik tanıları olan OSB açısından diskordant 3 çift monozigotik ikizin ekspresyon verileri incelenmiş ve %26'lık bir yanlışlık oranı ile 250 gen belirlenmiştir ve 25 genin daha ağır olarak etkilenen kardeşte en az 1,5 kat daha fazla eksprese olduğu; 19 genin ise en az 1,5 kat daha az eksprese olduğu belirlenmiştir ve bu gen ekspreson farklılıkları iletişimsel yetersizliğin şiddeti ile ilişkilendirilmiştir. Lenfoblastoid hücre kültürleri kullanılarak yürütülen bir başka çalışmada otizmli çocukların sağlıklı gelişen kontroller ile kıyaslandığında dopamin ve serotonin sistemleri ile ilişkili genlerde farklı ekspresyon paternlerine sahip oldukları gösterilmiştir. 2012 yılına kadar otizmde gen ekspresyon çalışmalarına dair bir gözden geçirme çalışması Voineagu ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaya iki farklı örnekten (lenfoblastik hücre ve post-mortem beyin dokusu) 10 majör mRNA çalışmasını dahil eden araştırmacılar, kontrol grubu ile OSB vakaları arasındaki farklılıkları tanımlamak için transkriptom analizlerinin DNA çalışmalarından daha etkin olduğu sonucuna varmışlardır. 2016 yılında ise, Ansel ve arkadaşları, Voineagu ve arkadaşlarının çalışmasından sonra yürütülen 27 farklı gen ekspresyon çalışmasını kapsayan bir gözden geçirme yazısı yayınladılar. Bu çalışmada örneklemin yapıldığı doku (beyin, periferel dokular), benzer biyolojik yollarda görev alan genler, daha önceden OSB ile ilişkilendirilmiş genler gibi spesifik boyutlardaki ilişkileri değerlendirdiler. Örneğin alındığı doku türünden bağımsız olarak birden fazla çalışmada 100'den fazla gen tanımlandığı ve ilginç olarak, ilgili genin ekspresyonunun artıp azalmasının örneğin alındığı dokudan bağımsız olduğunu ve hatta aynı dokudan alınan farklı bağımsız çalışmalarda farklılık gösterebileceğini belirtti. Örneğin, *NDUFB5* gen ekspresyonunu lenfoblastoid hücre kültürlerinde artmış olarak, post-mortem beyin örneklerinde azalmış olarak belirlenmişti. *NEURL3* gen ekspresyonu periferel kanda bir çalışmada artmış olarak belirlenmişken bir diğerinde azalmış olarak tespit edilmişti. Araştırmacılar bununla birlikte, birçok genin ekspresyonunun farklı çalışmalarda benzer paternlerde yukarıya ya da aşağıya doğru düzenlendiğini sonucuna varmışlardır. Bu gözden geçirilen 27 çalışmada en çok ilişkilen biyolojik yollar ise hücre siklusu, hücre ölümü, gastrointestinal hastalıklar, immün fonksiyonlar ve nörogenez ile ilişkiliydi.

2.2.3 *TMLHE*

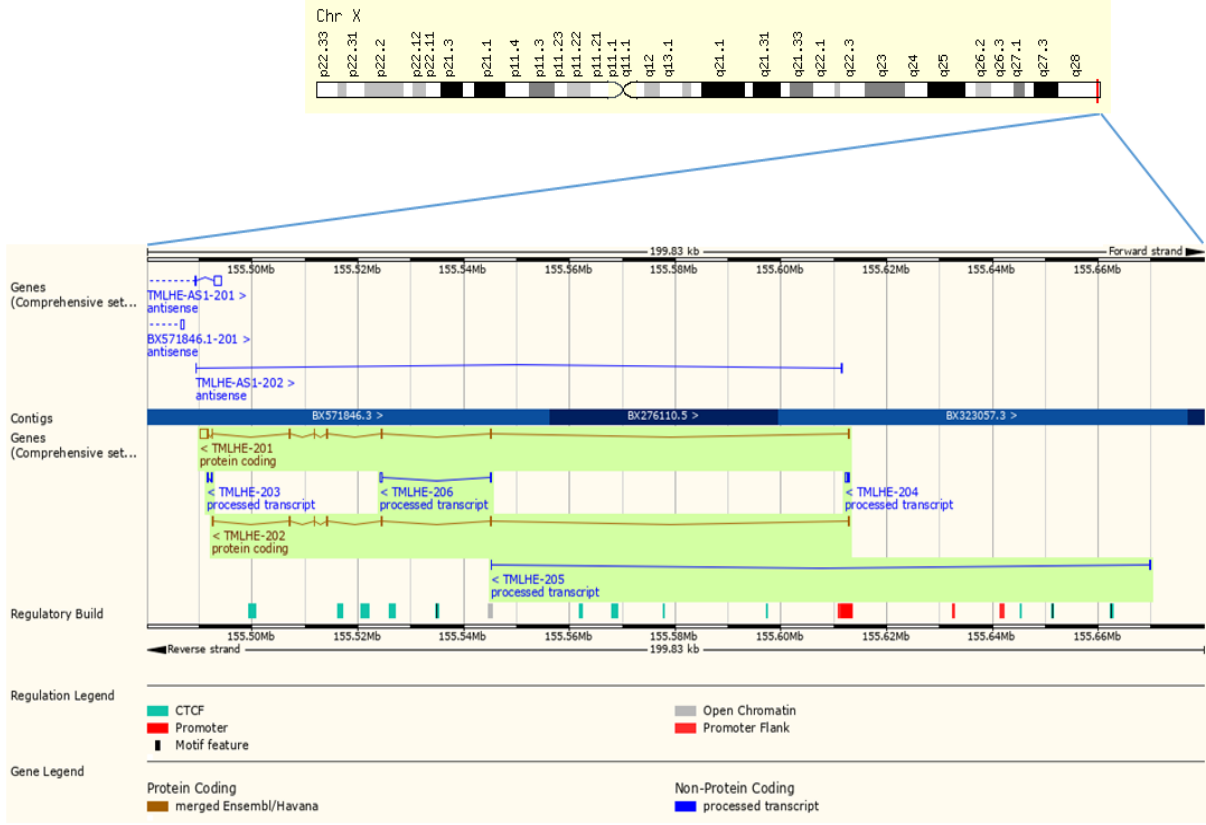
TMLHE; (Trimetillizin Hidroksilaz, Epsilon; diğer isimleriyle, TMLD, Gamma-Butirotetain Hidroksilaz, AUTSX6, XAP130, FLJ10727) protein kodlayan bir genidir. Karnitin biyosentez yolağının ilk basamağındaki trimetillizin dioksijenaz enzimini kodlar.(1,2) Karnitin, uzun zincirli yağ asitlerini b-oksidasyonda kullanılmak üzere iç mitokondri zarından matrikse taşıyarak yağ asidi katabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Vaz ve ark., veri tabanı analizi ile *TMLHE* geninin sitogenetik lokasyonunu Xq28 olarak belirtmişlerdir(1). Genomik koordinatları (*GRCh38*): X:155,489,010-155,612,960' dır. *TMLHE* geninin, X kromozomunda bir psödogeni bulunmaktadır; BBOX2.

Monfregola ve ark., *TMLHE* geninin 250 kb'lik 8 ekzon bölgesi içerdiğini belirtmiştir(59). Alternatif splicing ile multipl transkript varyasyonları oluşmaktadır. Monfregola ve ark., *TMLHE* genomik dizisini tanımlamak için 5- ve 3-prime PCR kullanmıştır (59). 3-prime ekzon 7a/8a'nın alternatif splicing'inden kaynaklanan TMLHa ve TMLHa-s olarak adlandırdıkları ve ekzon 7b/8b'nin alternatif splicing'inden kaynaklanan TMLHb ve TMLHb-s olarak adlandırdıkları 4 splice varyant belirlemişlerdir. TMLHa, 421-aminoasitlik 49,5 kD moleküler kütleli, TMLHb 399-aminoasitlik protein kodlar(1). Ekzon 6b, 7c ve 7d'den kaynaklanan, TMLHc, TMLHd ve TMLHe splice varyantları, sırasıyla 332, 376 ve 383 aminaasitlik protein kodlar. Ek olarak, 5-prime ekzon 1a ve 1b'den kaynaklanan TMLHf ve TMLHg olarak adlandırdıkları 2 splice varyant belirlemişlerdir.

İnsan dokularının RT-PCR analizi; testis, iskelet kası, yetişkin beyni, karaciğer, kalp, böbrek ve midede ekzon 1a varyantını tespit ederken, ekzon 1b varyantı yalnızca iskelet kası ve kalpte tespit edilmiştir. 3-prime splice varyantlarının tümü ise, incelenen tüm yetişkin ve fetal dokularda tespit edilmiştir. (59)

Monfregola ve ark., TMLHa ve TMLHb izoformlarının, insan dokularında her zaman ortak olarak eksprese edildiğini (koekspresyon) ve TMLHb'nin varlığının, TMLHa enzimatik aktivitesi üzerinde negatif bir düzenleme etkisine sahip olabileceğini göstermiştir(59). Lusiferaz raportör deneyi, 3-prime UTR splice varyantları olan TMLHa-s, TMLHb-s, TMLHc, TMLHd ve TMLHe'nin neredeyse saptanamayan bir aktiviteye sahip olduğunu, bununla beraber TMLHb'nin TMLHa'ya kıyasla 3 kat daha düşük aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.



Şekil 1. Şematize edilmiş *TMLHE* Geni

Bu protein yapısındaki enzim, TMLD, karnitin biyosentez yolağının ilk enzimidir ve mitokondriye lokalizedir. TML'yi hidrosimetillizine dönüştürür, birkaç kofaktör bağlanma yerine sahiptir: Fe^{2+} (Her subunit, 1 Fe^{2+} iyonunu bağlar), L-askorbat.

TMLHE mutasyonları (2,4), karnitin biyosentezindeki bozukluklar ve yağ asidi b-oksidasyon defektleri (60–63) ile otizm gibi nörogelişimsel bozuklukları arasında klinik ilişki kurulmuştur. Ancak, bu ilişkinin altında yatan mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir.

Otizmi olan bir hastada Celestino-Soper ve ark., *TMLHE* geninin ekzon 2'de delesyon tanımlamıştır(5). Nava ve ark. ise yaptığı çalışmada *TMLHE*'de otizm spektrum bozukluğu ile ilişkili 3 mutasyon saptamıştır(2). Otizmi olan 501 erkek hastanın *TMLHE* geni taramasında, 2 hemizigot yanlış anlamlı (missense) mutasyon ($\text{c.730G}>\text{C/p.Asp244His}$ ve $\text{c.1107G}>\text{T/p.Glu369Asp}$), 2 erkek kardeşte de, *TMLHE* geninde hemizigot kırılma/anlamsız mutasyon tanımlamıştır ($\text{c.229C}>\text{T/p.Arg77X}$). Bunun dışında, Ziats ve ark., otizmli 4 yaşındaki erkek bir hastada *TMLHE* geninin ekzon 6'da hemizigot bir 2-bp delesyon (c.961_962delAT) tanımlamıştır(6).

Tablo 1. *TMLHE* Geni Allelik Varyantları

Mutasyon	Kod	Kodun Etkisi	Lokasyon	Protein Pozisyonu	Fenotip	Varyant Tipi	Varyant Uzunluğu
<i>TMLHE</i> , ARG77TER	c.229C>T	Anlamsız	8 ekzonun 3.sü	422'nin 77.'si	AUTSX6	Tek nükleotit varyantı	1 baz çifti
<i>TMLHE</i> , ASP244HIS	c.730G>C	Yanlış anlamlı	8 ekzonun 5.si	422'nin 244.'sü	AUTSX6	Tek nükleotit varyantı	1 baz çifti
<i>TMLHE</i> , GLU369ASP	c.1107G>C	Yanlış anlamlı	8 ekzonun 7.si	422'nin 369.'su	AUTSX6	Tek nükleotit varyantı	1 baz çifti
<i>TMLHE</i> , 2-BP DEL, NT961.	c.961_962delAT	Çerçeve kayması	8 ekzonun 6.sı	422'nin 321.'si	AUTSX6	Delesyon	2 baz çifti
<i>TMLHE</i> , EX2DEL	g.(5171_72686)_ (72866_93329)del	-	8 ekzonun 2.si	-	AUTSX6	Delesyon	181 baz çifti

Yağ asidi b-oksidasyon (FAO) defektleri ile otizm gibi nörogelişimsel bozuklukları arasında bir ilişki olduğunu gösteren kanıtlar da vardır. Otizmlili çocukların dolaşımındaki karnitin veya açıl-karnitin düzeyleri bozulmuştur – bu, uzun zincirli FAO defektine işaret eden fenotipik bir değişikliktir. (60–62). Karşılıklı olarak, genetik tarama ile FAO-defekti tanımlanan çocuklar sıklıkla gelişimsel gecikme gibi otizmin önde gelen özelliklerini gösterirler (63).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 23.06.2017 tarihi 12 sayılı toplantıda görüşülerek etik olarak uygun görülmüş olup, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2017-26606 proje kodu ile 11.09.2017 tarihli 30 sayılı toplantıda değerlendirilmiş ve desteklenmiştir.

Çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği tarafından takipli DSM-5 tanı sistemine göre Otizm Spektrum Bozukluğu teşhisi almış 2-18 yaş arası 100 çocuk ve ergen ile yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş 100 kontrol grubu ile yürütülmesi planlandı. Sendromik otizmliliği dışlamak için tanımlanmış bir metabolik/genetik ya da ilerleyici nörolojik hastalığı olan bireyler; OSB tanı güvenilirliğini arttırmak ve sendromik otizm için artmış riske sahip olmaları nedeniyle ağır ve çok ağır zihinsel yetersizliği olan olgular çalışmaya dahil edilmedi.

Katılmak isteyen hasta grubu için;

- Hastanın temel sosyodemografik verileri kaydedildi.
- 3 kuşak soyağacı bilgisi alınıp (anne ve baba arasında akrabalık olup olmadığı, nereli oldukları, en az 3 kuşağa kadar olan akrabalarda bilinen zekâ ve gelişim gerilikleri ile otizm tanıları sorgulanarak) soyağacı çizildi.
- Çocukluk Çağı Otizm Değerlendirme Ölçeği (ÇODÖ) ile hastalığın şiddeti değerlendirildi.
- Sorun Davranış Kontrol Listesi (SDKL) ile eşlik eden problemli davranışlar derecelendirildi.
- Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-IV'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeği 1. Bölümü ile Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu tarandı.
- Kan alma işlemi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında görevli, pediatrik hastalarda kan alımında eğitimli hemşireler tarafından gerçekleştirildi. Periferik damardan 5-8 cc kan EDTA'lı tüplere alındı. RNA degradasyonunu minimuma indirmek için alınan kanlar +4 Celcius sıcaklıkta saklandı ve 24 saat içerisinde çalışılmak üzere laboratuvara ulaştırıldı.

- Total RNA'nın izolasyonu spin kolon formatında kit kullanılarak gerçekleştirildi. Kalite ve kantitesi agaroz jelde ve Qubit kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen RNA'dan cDNA sentezlendi ve elde edilen cDNA'nın kalitatif ve kantitatif değerlendirilmesi yine Qubit cihazında ölçüldü. Ekspresyon analizi Real-time PCR ile üç farklı kontrol gen kullanılarak gerçekleştirildi.

Katılmak isteyen kontrol grubu için;

- Hastanın temel sosyodemografik verileri kaydedildi.
- Sorun Davranış Kontrol Listesi (SDKL) ile eşlik eden problemli davranışlar (aşırı hareketlilik, atalet, yinelenen davranışlar, zarar veren davranışlar, diğer davranışlar) derecelendirildi.
- Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-V'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeği 1.Bölüm ile Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu tarandı.
- Kan alma ve alınan örneklerin çalışılma süreci hasta grubunda özetlenen şekilde gerçekleştirildi.

3.1 Örneklem Seçimi

Örneklem büyüklüğü şu şekilde hesaplandı: Kontrol ve hasta grupları arasındaki minimum %30'luk bir ekspresyon farkının %95 güvenilirlik ve %90'lık test gücü ile anlamlı bulunabilmesi için her grupta gerekli minimum denek sayısı 82 olarak belirlendikten sonra 100 hasta grubu ve 100 kontrol grubu katılımcının dahil edilmesi planlandı.

Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalı olarak belirlenmiştir ve aday katılımcılar ve aileleri çalışma hakkında bilgilendirilerek Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu okunmuş ve yazılı olarak kabul edip etmediklerini beyan etmeleri istenmiştir. Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu için hasta grubunda ailenin yazılı onayı ve imzası alınmış, kontrol grubunda 12 yaşından küçük katılımcılar için ailelerinin yazılı onayları ve imzaları alınmış, 12 yaş ve üzerindeki katılımcıların hem kendilerinden hem de ailelerinden yazılı onayları ve imzaları alınmıştır.

3.1.1 Hasta Grubunun Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- 1) DSM-V tanı sistemine göre Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı almış olmak
- 2) 2-18 yaş grubunda olmak
- 3) Çocuğun anne veya babasının çalışmaya katılmayı onaylaması

3.1.2 Hasta Grubunun Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- 1) Çocuğun anne veya babasının çalışmaya katılmayı onaylamaması
- 2) Tanımlanmış bir metabolik, genetik veya ilerleyici bir nörolojik hastalığı olmak
- 3) DSM-V tanı sistemine göre ağır ya da çok ağır zihinsel yetersizlik tanısı almış olmak
- 4) Tanımlanmış bir görme/işitme engelinin olması

3.1.3 Kontrol Grubunun Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- 1) DSM-V tanı sistemine göre Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı almıyor olmak
- 2) 2-18 yaş grubunda olmak
- 3) Çocuğun anne veya babasının çalışmaya katılmayı onaylaması

3.1.4 Kontrol Grubunun Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- 1) Çocuğun anne veya babasının çalışmaya katılmayı onaylamaması
- 2) Tanımlanmış bir metabolik, genetik veya ilerleyici bir nörolojik hastalığı olmak
- 3) DSM-V tanı sistemine göre zihinsel yetersizlik tanısı almış olmak
- 4) Tanımlanmış bir görme/işitme engelinin olması

3.2 Gereç ve Yöntemler

3.2.1 Araştırmada Kullanılan Veri Toplama Formları

3.2.1.1 Sosyodemografik Veri Formu

Bu çalışma için araştırmacılar tarafından geliştirilen sosyodemografik veri formunda çalışmaya alınan olguların ad-soyadları, doğum tarihi ve yeri, yaşı, protokol numarası, adres ve telefon bilgileri, cinsiyeti, kardeş sayısı, okul durumu, temel gelişimsel basamakları, anne

ve babanın yaşları ve bilinen tıbbi ve psikiyatrik hastalıkları, anne baba arasında akrabalık olup olmadığı, birinci derece akrabalar da bilinen zekâ ve gelişim gerilikleri sorgulandı.

3.2.1.2 Çocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ)

Çocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği Schopler ve arkadaşları tarafından otizmi olan çocukların diğer gelişimsel bozukluğu olan çocuklardan ayırt etmek amacı ile geliştirilmiş olup, 2 yaş ve üzeri olgularda uygulanabilen bir ölçektir. Bu ölçek, aileden ve çocuğu tanıyan diğer kişilerle görüşme yapılması ve çocuğun gözlemlenmesi ile elde edilen bilgiler temel alınarak doldurulur. ÇODÖ'de yer alan maddeler kişilerle ilişki, taklit, duygusal tepkiler, vücudun kullanımı, değişikliklere tepki, görsel tepkiler, dinleme tepkileri, tat koku ve dokunmanın kullanımı, korku-sinirlilik, sözel ve sözel olmayan iletişim, zihinsel etkinlikler ile çocuğa ilişkin genel izlenimler başlıkları altında toplanmaktadır. Toplamda 15 maddeden oluşan ölçek, her madde için 1 puanı normal, 4 puanı çok anormal derecede şiddeti belirtmekle birlikte yarımsar puanlık bir derecelendirme imkânı sunar. 30 puan ve üzerindeki puanlar OSB'li çocukları tanımlar ve 30-37,5 puan aralığı hafif-orta şiddet, 38-60 puan aralığı ise ağır şiddetteki otizmlili olguları niteler. Ölçeğin Türkçe geçerlik ve güvenirlik çalışması İncekaş ve arkadaşları tarafından yapılmıştır.

3.2.1.3 Sorunlu Davranışlar Kontrol Listesi (SDKL)

Sorunlu Davranışlar Kontrol Listesi farklı yaş ve gruplardaki çocukların davranışlarını belirli gruplar halinde değerlendiren ve orijinal dili olan İngilizce'de 58 maddeden oluşan bir ölçektir. Ölçeğin Türkçe geçerlik ve güvenirlik çalışması Sucuoğlu tarafından yapılmıştır. Türkçe formunda toplamda 46 madde bulunmakta ve her madde için dördümlük likert puanlama sistemi mevcuttur. Ölçeğin, aşırı hareketlilik (1-15. maddeler), atalet (16-33. maddeler), yinelenen davranışlar (34-39), zarar veren davranışlar (40-42. maddeler) ve diğer davranışlar (43-46. maddeler) olmak üzere toplamda beş alt boyutu bulunmaktadır.

3.2.1.4 Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-IV'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeği

Bu ölçek, 1995 yılında Turgay tarafından geliştirilmiş olup, geçerlilik ve güvenirlik çalışmaları 2003 yılında Ercan ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Toplamda 41 maddeden oluşan ve karşıt olma karşı gelme ve davranım bozukluğu belirtilerinin de tarandığı bu ölçeğin birinci bölümü bu çalışmada kullanılmıştır. Ölçeğin 1. Bölümünde dikkatsizlik

(1A) ve aşırı hareketlilik ve dürtüsellik (1B) için 9'ar madde dörtlü likert biçimde derecelendirilmiştir (0 sorun yok, 3 çok fazla). Dikkatsizlik ve aşırı hareketlilik/dürtüsellik alanlarının her biri için 9 maddeden 6'sının varlığı anlamlı olarak yorumlanmaktadır.

3.2.2 Araştırmada Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri

3.2.2.1 Total RNA İzolasyonu

Total RNA'nın izolasyonu spin kolon formatında çalışan GeneAll® marka kitle (Güney Kore, Katolog No:315-150) önerilen prosedür takip edilerek yapıldı. Kalite ve kantitesi agaroz jelde ve Qubit kullanılarak değerlendirildi.

Bu protokole göre işlemler şu şekilde gerçekleştirildi:

1. 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpünde 750 µL RiboEx LS hazırlandı.
2. 250 µL kan tüpün içerisine eklendi ve vortex işlemi yapıldı.
3. Mikrosantrifüj tüp oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.
4. 0.2 ml kloroform eklendi. 15 sn çalkalandı ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
5. 4 °C'de 15 dakika 12,000 X g'de santrifüj edildi. Elde edilen bu karışım alt tabaka, orta tabaka ve renksiz üst sıvı tabaka olmak üzere 3 faza ayrıldı. Üstteki sıvı tabakanın hacmi yaklaşık olarak 450 µL'dir.
6. Sıvı faz (yaklaşık 450 µL) EzPure Filtre'ye (sarı) aktarıldı.
7. 10,000 X g veya daha büyük hızda 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj edildi.
8. RBI Buffer'ın 2 hacmi (genellikle 900 µL) biriken tüp kısmına eklendi ve pipetajla iyice karıştırıldı. Bu adımda santrifüj yapılmamaktadır.
9. Karışımın 700 µL'ye kadar olan kısmı mini spin column'a transfer edildi. (Type W, Blue Ring)
10. 10,000 X g veya daha büyük hızda 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj edildi.
11. Altta biriken kısım atıldı ve mini spin column'u tekrar aynı tüpe takıldı.
12. Geri kalan örnekle 9. ve 10. Adım tekrar edildi.
13. 500 µL RBW Buffer mini spin column'a aktarıldı.
14. 10,000 X g veya daha büyük hızda 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj edildi.
15. Altta biriken kısım atıldı ve mini spin column'u tekrar aynı tüpe takıldı.
16. 500 µL RNW Bufferı mini spin column'a aktarıldı.
17. 10,000 X g veya daha büyük hızda 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj edildi.
18. Altta biriken kısım atıldı ve mini spin column'ı tekrar aynı tüpe takıldı.

19. 1 dakika ek olarak 10,000 X g veya daha büyük hızla oda sıcaklığında Wash Buffer'ın kalıntılarını uzaklaştırmak için santrifüj edildi. Mini spin column'u 1.5 ml'lik yeni mikrosantrifüj tüpe transfer edildi.
20. Mini spin columnunda membran merkezine 50 µL RNase-free water eklendi.
21. RNA konsantrasyonunu arttırmak için elüsyon hacmini en az 30 µL azaltıldı.
22. 10,000 X g veya daha büyük hızda 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi.

3.2.2.2 cDNA Sentezi

Elde edilen RNA'dan cDNA sentezi İpsogen® RT Kiti (Katolog No:679923) kullanım kılavuzu takip edilerek yapıldı. cDNA yine Qubit cihazında ölçüldü.

Bu protokole göre işlemler şu şekilde gerçekleştirildi:

1. Test edilecek (10 µl) her bir RNA örneğinin 1 µg'ı 65°C'de 5 dakika süreyle inkübe edildi.
2. Ardından 5 dakika buzda bekletildi.
3. Tüpün altındaki sıvıyı toplamak için kısa süreli santrifüj edildi. (10.000 rpm'de 10 saniye). Buzda tutuldu.
4. Ters transkripsiyon ön karışımı buzda hazırlandı ve buzda tutuldu (bkz. Tablo 2).

Tablo 2. Ters Transkripsiyon Ön Karışımının Hazırlanması

Ön Karışım Bileşeni	Örnek Başına Hacim (µl)*	Son Konsantrasyon
5x RT Tamponu	5,0	1x
dNTP (Her bir 10 mM)	2,0	0,8 mM
Rastgele Nanomer	5,25	21 µM
RNaz İnhibitörü	0,5	0,8 U/µl
Ters Transkriptaz	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
Örnek başına RT ön karışım hacmi	15	

5. Dikkatlice karıştırıldı (vorteksle karıştırmayın), kısa süreli santrifüj edildi ve her bir RNA örneği için (40 ng/μl için) ve su kontrolü (NTC) için ön karışımdan 15 μl eklendi.

6. Her bir tüp dikkatlice karıştırıldı (vorteksle karıştırmayın) ve kısa süreli santrifüj edildi.

7. Isıl döngüleyicideki ters transkripsiyon programı çalıştırıldı (bkz. Tablo 3).

Tablo 3. Ters Transkripsiyon İçin Isı Döngüleyici Ayarları

Ters Transkripsiyon 1	10 dk.	25 °C
Ters Transkripsiyon 2	60 dk.	50 °C
İnaktivasyon	5 dk.	85 °C
Soğutma	5 dk.	4 °C

8. Tüpün altındaki cDNA'yı toplamak için kısa süreli santrifüj edildi (10.000 rpm'de 10 saniye).

9. qPCR'ı gerçekleştirene kadar buzda bekletildi veya -20°C'de saklandı.

3.2.2.3 Real Time PCR ile gen ekspresyonunun tayini

Real Time PCR işlemi her cDNA örneği için hedef gen *TMLHE* ve 3 house keeping gen (*CUL1*, *ABL1*, *ZNF207*, Genmark, Türkiye) bölgelerine spesifik Primer Blast Software ile dizayn edilip üretilmiş primer setleri kullanılarak hedef bölgeler aşağıdaki sıcaklık koşullarında ve pcr kurulumu ile Biorad CFX96 (ABD) cihazında çalışıldı. Eğrilerin spesifikliğı melting curve (Erime Eğrisi) analizi ile kontrol edildi.

TMLHE geni ekspresyon analizi için kullanılan primerler:

TMLHE forward primer= 5'-CTCTAAGACTCACCAGCGCA-3'
reverse primer = 5'-TCTACCGATGGAACTTGGGC-3'

PCR Kurulumu:

Ön Karışım Bileşeni	Örnek Başına Hacim (µl)
DNA	5ul
10X Realtime PCR Master Mix with EVAGREEN (Genmark-Türkiye)	10ul
Primer forward (10pmol)	1ul
Primer reverse (10pmol)	1ul
ddH ₂ O	3ul
Toplam PCR hacmi	20ul

PCR Isı koşulları:**95C° 15dk**

95C° 15sn

60C° 60sn (Okuma-EvaGreen/FAM)

75C°→95C° (Melting Curve)

50 döngü

Gen İfadesi Hesaplaması:

Analiz işlemi için Göreceli CT Metodu (Comparative CT Method, $\Delta\Delta C_T$) kullanılmıştır. Her bir örnek için hedef genlerin ifade düzeyleri hesaplanmıştır.

Örneklerin CT değerlerinden $\Delta\Delta C_T$ değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\Delta\Delta C_T = (C_{T_{Target}} - C_{T_{Reference}})_{Sample} - (C_{T_{Target}} - C_{T_{Reference}})_{Reference Sample}$$

$C_{T_{Target}}$: Hedef genin CT değeri

$C_{T_{Reference}}$: 3 referans genin geometrik ortalaması

Her örnek (Sample) için hedef genin CT değerinden 3 referans genin (Referans 1 (ABL-1), Referans 2 (CUL1) ve Referans 3 (ZNF207)) geometrik ortalaması çıkarılarak ΔC_T değerleri hesaplanmıştır. Her örneğin ΔC_T değerinden referans örneğin ΔC_T değeri çıkartılarak $\Delta\Delta C_T$ değeri hesaplanmıştır.

2^{ΔΔCT} metodu ile fold change (FC) hesaplandı, istatistik testleri için bu değerler kullanıldı (64).

3.3 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel incelemeler R ve Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paket Programı (Statistical Program for Social Sciences- SPSS for Windows, 21.0) programları kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı veriler ortalama ve standart sapma (SD) olarak verildi. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare/Fisher Exact testi, sürekli verilerin karşılaştırılmasında ise dağılım özelliklerine göre Mann-Whitney U testi ya da bağımsız t testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmaları Man-Whitney U testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için p-değeri 0,05 olarak kabul edildi. Bu eşik değerin altında p-değeri elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Parametreler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde; normal dağılan değişkenler için Pearson, dağılmayanlar için ise Spearman korelasyon analizleri uygulandı. Korelasyon puanının (r) '+' ya da '-' olması ilişkinin yönünü bildirir: '+' ilişkide parametrelerden biri artarken diğeri de artar; azalırken diğeri de azalır. '-' ilişkide ise ters ilişki mevcuttur: bir parametrenin puanı arttıkça diğerininki azalır. İlişkinin mutlak büyüklüğü (r) ise 0 ile 1 arasında yer alır ve 1'e yaklaştıkça ilişkinin kuvveti artar. Cohen korelasyon katsayısı 'r' 0.1-0.29 arası ise zayıf, 0.30-0.49 arasında ise orta düzeyde ve 0.50'nin üzerinde ise kuvvetli korelasyon olduğunu bildirmektedir(65).

Gen ekspresyon verilerinin analizinde $-\Delta\Delta CT$ değerleri t-test ile karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği tarafından takipli DSM-5 tanı sistemine göre Otizm Spektrum Bozukluğu teşhisi almış 2-18 yaş arası 100 katılımcı araştırmanın hasta grubunu oluştururken; aynı yaş grubundan oluşan ve Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı almayan 100 katılımcı kontrol grubunu oluşturmaktaydı (n=200).

4.1 Sosyodemografik Verilerden Elde Edilen Bulgular

4.1.1 Hasta Grubuna İlişkin Bulgular

Araştırmada hasta grubunda yer alan katılımcıların %87'si erkek, %13'ü kadın olup, ay cinsinden yaş ortalaması $111,33 \pm 43,53$ olarak belirlenmiştir. Olguların %88'i özel eğitim desteği alırken, okul öncesi dahil herhangi bir örgün öğretime devam eden olgular grubun %84'ünü oluşturmaktaydı. Temel gelişimsel basamakların kazanılması ile ilgili olarak katılımcıların yürümeye başladıkları yaş ortalamaları $16,17 \pm 7,79$ ay, ilk kelime çıkarmaya başladıkları yaşları ortalamaları $26,39 \pm 20,34$ ay, iki kelimeli basit cümleler kurmaya başladıkları yaş ortalamaları $51,91 \pm 27,08$ ay, gün içerisinde tuvalet eğitimi kazandıkları yaş ortalamaları $46,25 \pm 18,47$ ay olarak belirlenmiştir. Katılımcıların %36'sında daha önceden kazandıkları dil ve motor becerilerinde regresyon öyküsü mevcuttur.

Olguların anne ve babalarına ilişkin veriler incelendiğinde, anne yaşı ortalamasının $37,55 \pm 6,62$ yıl, baba yaşı ortalamasının ise $41,26 \pm 6,77$ yıl olduğu; %26'sının anne ve babaları arasında akraba evliliği olduğu saptanmıştır. Annelerin, söz konusu olgu için anne olma yaşları ortalaması $28,34 \pm 6,38$ (17-48 yaş aralığı) yıl, babaların baba olma yaş ortalaması $32,06 \pm 6,46$ (19-47 yaş aralığı) Hasta grubunu oluşturan katılımcıların sosyodemografik özellikleri Tablo 4.'te özetlenmiştir.

Tablo 4. Hasta Grubunun Sosyodemografik Özellikleri

Değişkenler	Gruplar	f	%
Cinsiyet	Erkek Kadın	87 13	87 13
Eğitim Durumu	Gitmiyor Okul Öncesi 1.Sınıf 2.Sınıf 3. Sınıf 4. Sınıf 5. Sınıf 6. Sınıf 7. Sınıf 8. Sınıf 9. Sınıf 10. Sınıf 11. Sınıf	16 22 6 11 7 6 10 4 7 4 2 3 2	16 22 6 11 7 6 10 4 7 4 2 3 2
Özel Eğitim Durumu	Alıyor Almıyor	88 12	88 12
Regresyon Öyküsü	Yok Var	64 36	64 36
Annede Bilinen Tıbbi Psikiyatrik Hastalık*	Yok Tıbbi Hastalık Psikiyatrik Hastalık Tıbbi ve Psikiyatrik Hastalık	67 27 4 2	67 27 4 2
Babada Bilinen Tıbbi Psikiyatrik Hastalık**	Yok Tıbbi Hastalık Psikiyatrik Hastalık Tıbbi ve Psikiyatrik Hastalık Bilinmiyor	77 18 3 1 1	77 18 3 1 1
Birinci Derecede Akrabalarda Bilinen Zihinsel Yetersizlik ya da Otizm***	Yok Otizm Zihinsel Yetersizlik Otizm ve Zihinsel Yetersizlik Bilinmeyen	86 5 7 1 1	86 5 7 1 1
Akraba Evliliği	Var Yok	26 74	26 74
Değişkenler	Min	Max	Ort ± SD
Yaş (ay)	33	203	111,33 ± 43,53
Kardeş Sayısı	0	6	2,01 ± 1,48
Yürüme (ay)	9	60	16,17 ± 7,79
İlk Kelime (ay) ¹	6	84	26,39 ± 20,34
İlk Cümle (ay) ²	12	174	51,91 ± 27,08
Tuvalet Eğitimi (ay) ³	12	108	46,25 ± 18,47
Anne Yaşı ⁴	22	56	37,55 ± 6,62
Baba Yaşı ⁴	27	60	41,26 ± 6,77

*Olguların annelerinde en sık görülen tıbbi rahatsızlıklar kardiyovasküler sistem bozuklukları ve jinekolojik sorunlarla ilgiliydi. Psikiyatrik bozukluklar toplamda 6 olgunun annesinde (4 Depresif Bozukluk, 1 Anksiyete Bozukluğu, 1 Psikotik Bozukluk) mevcuttu.

** Olguların babalarında en sık görülen tıbbi rahatsızlıklar kardiyovasküler sistem bozuklukları ve gastrointestinal sistem bozukluklarıyla ilgiliydi. Psikiyatrik bozukluklar toplamda 4 olgunun babasında (2 Otizm Spektrum Bozukluğu, 1 Duygudurum Bozukluğu, 1 Psikotik Bozukluk) mevcuttu. 1 olgunun biyolojik babası ile ilgili tıbbi ve psikiyatrik rahatsızlık verilerine ulaşılamadı.

*** 6 olgunun birinci derece akrabalarında otizm mevcut olup (4 olgunun kardeşlerinde ve 2 olgunun babalarında), bir olgunun hem ikiz kardeşi hem de ablası otizm tanısı almıştı. 1 olgunun birinci derece akrabalarında otizm ve zekâ/gelişim gerilikleri bilgilerine ulaşılamadı.

¹87 olgu üzerinden değerlendirilmiş olup 13 olgu konuşamamaktadır.

²69 olgu üzerinden değerlendirilmiş olup 31 olgu cümle kuramamaktadır.

³80 olgu üzerinden değerlendirilmiş olup 20 olgu gün içerisinde tuvalet eğitimi kazanamamıştır.

⁴99 olgu üzerinden değerlendirilmiş olup, 1 olgunun biyolojik anne babasına ilişkin yaş verilerine ulaşılamamıştır.

4.1.2 Kontrol Grubuna İlişkin Bulgular

Araştırmada kontrol grubunda yer alan katılımcıların %85'si erkek, %15'ü kadın olup, ay cinsinden yaş ortalaması $110,56 \pm 42,85$ olarak belirlenmiştir. Temel gelişimsel basamakların kazanılması ile ilgili olarak katılımcıların yürümeye başladıkları yaş ortalamaları $12,70 \pm 2,73$ ay, ilk kelime çıkarmaya başladıkları yaş ortalamaları $12,89 \pm 2,73$ ay, iki kelimeli basit cümleler kurmaya başladıkları yaş ortalamaları $26,02 \pm 5,70$ ay, gün içerisinde tuvalet eğitimi kazandıkları yaş ortalamaları $30,94 \pm 6,12$ ay olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunu oluşturan olguların anne ve babalarına ilişkin veriler incelendiğinde, anne yaşı ortalamasının $36,79 \pm 6,17$ yıl, baba yaşı ortalamasının ise $39,78 \pm 6,69$ yıl olduğu; %13'sünün anne ve babaları arasında akraba evliliği olduğu saptanmıştır. Annelerin, söz konusu olgu için anne olma yaşları ortalaması $27,57 \pm 5,08$ yıl (16-46 yaş aralığı), babaların baba olma yaşları ortalaması $30,56 \pm 5,51$ yıl (20-50 yaş aralığı) olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunu oluşturan katılımcıların sosyodemografik özellikleri Tablo 5.'te özetlenmiştir.

Tablo 5. Kontrol Grubunun Sosyodemografik Özellikleri

Değişkenler	Gruplar	f	%
Cinsiyet	Erkek Kadın	85 15	85 15
Eğitim Durumu	Gitmiyor Okul Öncesi 1.Sınıf 2.Sınıf 3. Sınıf 4. Sınıf 5. Sınıf 6. Sınıf 7. Sınıf 8. Sınıf 9. Sınıf 10. Sınıf 11. Sınıf	19 8 12 9 7 8 9 10 6 2 6 0 4	19 8 12 9 7 8 9 10 6 2 6 0 4
Annede Bilinen Tıbbi Psikiyatrik Hastalık*	Yok Tıbbi Hastalık Psikiyatrik Hastalık Tıbbi ve Psikiyatrik Hastalık	87 9 4 0	87 9 4 0
Babada Bilinen Tıbbi Psikiyatrik Hastalık**	Yok Tıbbi Hastalık Psikiyatrik Hastalık Tıbbi ve Psikiyatrik Hastalık	82 11 6 1	82 11 6 1
Birinci Derecede Akrabalarda Bilinen Zihinsel Yetersizlik ya da Otizm	Yok Otizm Zihinsel Yetersizlik Otizm ve Zihinsel Yetersizlik	93 2 5 0	93 2 5 0
Değişkenler	Min	Max	Ort ± SD
Yaş (Ay)	40	209	110,56 ± 42,85
Kardeş Sayısı	0	5	1,34 ± 0,966
Yürüme (Ay)	9	24	12,70 ± 2,73
İlk Kelime (Ay)	8	24	12,89 ± 3,18
İlk Cümle (Ay)	15	48	26,02 ± 5,70
Tuvalet Eğitimi (Ay) ¹	18	48	30,94 ± 6,12
Anne Yaşı	24	56	36,79 ± 6,17
Baba Yaşı	26	60	39,78 ± 6,69

*Olguların annelerinde en sık görülen tıbbi rahatsızlıklar endokrinolojik ve alerjik bozukluklarla ilgiliydi. Psikiyatrik bozukluklar toplamda 4 olgunun annesinde (2 Depresif Bozukluk, 2 Anksiyete Bozukluğu) mevcuttu.

** Olguların babalarında en sık görülen tıbbi rahatsızlıklar kardiyovasküler sistem bozuklukları ve endokrinolojik sistem bozukluklarıyla ilgiliydi. Psikiyatrik bozukluklar toplamda 7 olgunun babasında (4 Anksiyete Bozukluğu, 2 Antisosyal Kişilik Bozukluğu, 1 Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu) mevcuttu.

¹97 olgu üzerinden değerlendirilmiş olup 3 olgu gün içerisinde tuvalet eğitimini kazanamamıştır.

4.1.3 Hasta ve Kontrol Gruplarının Sosyodemografik Verilerinin Karşılaştırılması

Hasta ve kontrol gruplarının anne ve babaların çocukların doğumu esnasındaki yaşları açısından karşılaştırıldıklarında her iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Annenin gebelik esnasındaki yaşı için $t=0,918$, $p=0,349$; Babanın gebelik esnasındaki yaşı için $t=1,754$, $p=0,081$).

Hasta ve kontrol grupları temel gelişimsel basamakları edinme yaşları açısından karşılaştırıldığında hasta grubu kontrol grubuna göre yürüme, ilk kelimelerini söyleme, iki kelimeden oluşan basit cümleler kurma ve gün içerisinde tuvalet eğitimini kazanma becerilerini daha geç kazanmışlardır. Bu bulgular istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıdır ($p<0,001$). Bu bulgular Tablo 6’da özetlenmiştir.

Tablo 6. Hasta ve Kontrol Gruplarının Temel Gelişimsel Basamakları Kazanma Açısından Karşılaştırılması

		N	Ort ± SD	Ort Fark	t	p
Yürüme (Ay)	Hasta	100	16,17 ± 7,79	3,47	4,202	<0,001
	Kontrol	100	12,70 ± 2,73			
İlk Kelime (Ay)	Hasta	87	26 ± 20,34	13,50	6,125	<0,001
	Kontrol	100	12,89 ± 3,18			
Cümle (Ay)	Hasta	69	51,91 ± 27,07	25,89	7,825	<0,001
	Kontrol	100	26,02 ± 5,70			
Tuvalet (Ay)	Hasta	80	46,25 ± 18,47	15,31	7,100	<0,001
	Kontrol	97	30,94 ± 6,12			
Bağımsız gruplar için t-test						

4.2 Kullanılan Ölçek ve Değerlendirme Araçlarından Elde Edilen Bulgular

Otizmli olguların ÇODÖ toplam puan ortalamaları $42,19 \pm 4,51$ olarak belirlenmiştir. ÇODÖ puanlarına göre olguların %12’si ölçeğin derecelendirme skorlamasına (30-37,5: hafif-orta şiddette otizm belirtileri, 37,5-60 ağır derecede otizm belirtileri) göre hafif-orta şiddette, %88’i ağır şiddette otizm belirtileri göstermektedir. SDKL ölçeği alt boyutlarında Aşırı Hareketlilik alt boyutu için ortalama değer $20,50 \pm 9,05$, Atalet alt boyutu için ortalama değer $21,12 \pm 9,89$, Yineleyen Davranışlar alt boyutu için $6,49 \pm 4,82$, Zarar Veren Davranışlar alt boyutu için $1,59 \pm 2,30$, Diğer Davranışlar alt boyutu için $6,15 \pm 3,05$ olarak saptanmıştır (Tablo 7). Olguların ÇODÖ puanları ile SDKL alt boyutlarının her biri için anlamlı derecede ilişki gösterilmiştir (Tablo 8).

Tablo 7. Olguların ÇODÖ ve SDKL Puanları

	Min	Max	Ortalama ± SD
ÇODÖ Toplam	33	55	42,19 ± 4,50
SDKL-Yinelenen Davranışlar	0	18	6,49 ± 4,82
SDKL-Zarar Veren Davranışlar	0	9	1,59 ± 2,30
SDKL-Diğer Davranışlar	0	12	6,15 ± 3,05
SDKL-Atalet	0	51	21,12 ± 9,89
SDKL-Aşırı hareketlilik	4	45	20,50 ± 9,05

Tablo 8. ÇODÖ ve SDKL Alt Boyutları Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

		SDKL-Aşırı hareketlilik	SDKL-Atalet	SDKL-Yinelenen Davranışlar	SDKL-Zarar Veren Davranışlar	SDKL-Diğer Davranışlar
ÇODÖ Toplam	R	,507**	,339**	,391**	,442**	,261**
	p	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	0,009
	N	100	100	100	100	100
Pearson testi						

Otizimli olguların Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-V'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeğinde DEHB belirti şiddetleri değerlendirildiğinde Dikkat Eksikliği alt ölçeği için puan ortalaması 14,02 ± 6,696, Hareketlilik/Dürtüsellik alt ölçeği için puan ortalaması 12,21 ± 5,715 olarak belirlendi. Her iki boyuttaki DEHB belirti şiddeti, ÇODÖ ve SDKL puanları ile istatistiksel olarak anlamlı olarak pozitif ilişki içerisindeydi.

Tablo 9. Turgay Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-V'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeğinde Belirti Şiddetinin ÇODÖ ve SDKL Toplam Puanları İle İlişkisi

		ÇODÖ	SDKL
Dikkat Eksikliği	R	0,334**	0,587**
	p	0,001	<0,001
	N	100	100
Hiperaktivite/Dürtüsellik	R	0,271**	0,640**
	p	0,006	<0,001
	N	100	100
Pearson testi			

Hasta grubundaki katılımcıların anne ve babalarının çocukların doğumu esnasındaki yaşları ve ÇODÖ ve SDKL toplam puanları açısından karşılaştırıldığında baba yaşının SDKL total puanı ile anlamlı düzeyde negatif ilişkili mevcut olup, anne yaşı ile bu ilişki anlamlı düzeyde mevcut değildir. ÇODÖ toplam puanları her iki ebeveynin yaşları ile de anlamlı olarak ilişkili değildir (Tablo 10).

Tablo 10. Anne ve Babanın Çocuğun Doğumundaki Yaşları ile ÇODÖ ve SDKL Toplam Puanları Arasındaki İlişki

	N		ÇODÖ	SDKL
Anne Yaşı	99	R	-0,126	-0,103
		p	0,215	0,309
Baba Yaşı	99	R	-0,168	-0,234
		p	0,096	0,020
Spearman testi				

Hasta grubunu oluşturan katılımcıların cinsiyetine göre ÇODÖ ve SDKL toplam puanları arasındaki ilişki incelendiğinde erkek olgular her iki ölçekte de kadın olgulara göre daha yüksek puanlar almaktaydı; ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi (Tablo 11). SDKL alt boyutları ile cinsiyet ilişkisi incelendiğinde de anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Tablo 11. Olguların Cinsiyetlerine Göre ÇODÖ ve SDKL Puanlarının Karşılaştırılması

		N	Ort ± SD	Ort Fark	t	p
ÇODÖ	Erkek	87	42,51 ± 4,50	2,47	1,869	0,065
	Kadın	13	40,03 ± 4,02			
SDKL	Erkek	87	56,43 ± 23,55	4,51	0,646	0,520
	Kadın	13	51,93 ± 23,01			
Bağımsız gruplar için t-test						

Araştırma esnasında kontrol grubundaki katılımcıların %40'ı bir veya birden fazla psikiyatrik tanı ile takip edilmekteydi. En sık aldıkları tanılar Dikkat Eksikliği ve

Hiperaktivite Bozukluğu (%30), Anksiyete Bozuklukları (%4) ve Obsesif Kompulsif Bozukluk (%2). 60 olguda görüşme öncesinde bilinen mevcut psikiyatrik tanı bulunmamaktaydı. Kontrol grubundaki psikiyatrik tanılarının dağılımına dair bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

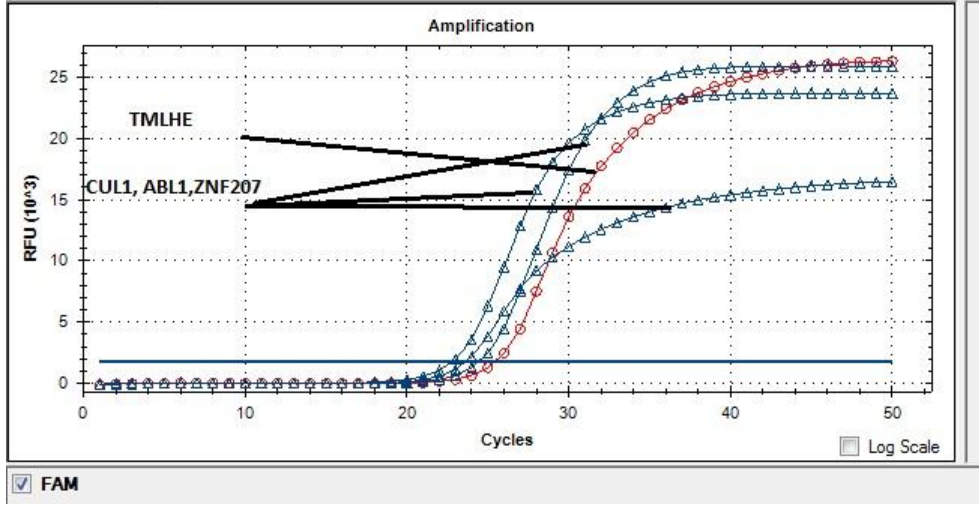
Tablo 12. Kontrol Grubundaki Katılımcıların Psikiyatrik Tanı Frekansları

Psikiyatrik Tanı		f	%
Var*	DEHB	30	30
	Anksiyete Bozukluğu	4	4
	OKB	2	2
	Depresyon	2	2
	ÖÖB	1	1
	Tourette Bozukluğu	1	1
	Konuşma Bozukluğu	1	1
	Bipolar Bozukluk	1	1
Yok		60	60

*5 Katılımcı birden fazla psikiyatrik tanı ile takiplidir.

4.3 Gen Ekspresyon Verilerine İlişkin Bulgular

Çalışmanın hasta ve kontrol grubunu oluşturan katılımcıların tümünde *TMLHE* gen ekspresyonunun değişken miktarlarda mevcut olduğu belirlendi. Housekeeping genler olarak belirlenen üç gen (ABL-1, CUL2, ZNF207) ekspresyonları tüm olgularda mevcuttu. (Şekil 2)

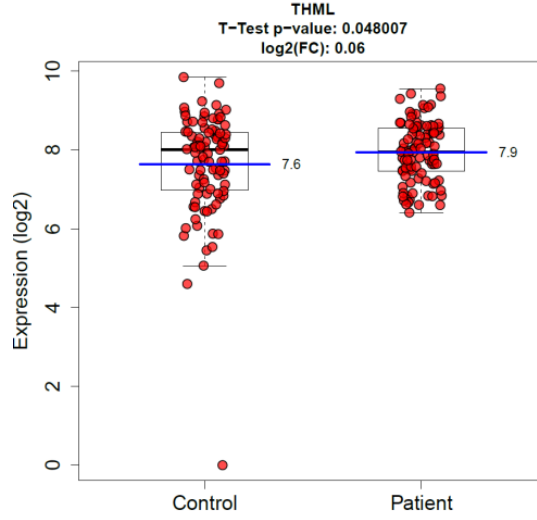


Şekil 2. Housekeeping Genler ve *TMLHE* Ekspresyon Profili

Gen ekspresyon verilerinin analizinde t-test ile yapılan karşılaştırma sonuçları Tablo-13'te görülmektedir. Bu sonuçlara göre *TMLHE* gen ekspresyonu hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak sınırda anlamlı şekilde daha yüksektir ($p=0.048$). *TMLHE* gen ekspresyonunun gruplar arasındaki ilişkisine dair boxplot grafik Şekil 3'te sunulmuştur.

Tablo 13. *TMLHE* Gen Ekspresyonunun Hasta Ve Kontrol Grubu Ortalamaları ve FC Oranlarının T-Test Yöntemi İle İncelenmesi

	Kontrol Ort.	Hasta Ort.	FC ($\log_2(H/K)$)	p
<i>TMLHE</i>	7,6	7,9	0,06	0,048
t-testi				



Şekil 3. *TMLHE* Ekspresyon Verilerinin Kontrol ve Hasta Örnekleri Arasındaki İlişkiyi Gösteren Boxplot Grafikleri

Hasta grubunda DEHB belirti şiddeti Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-IV'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeği ile değerlendirilmiş olup, Dikkat Eksikliği ve Aşırı Hareketlilik/Dürtüsellik alt boyutlarının her ikisi için de belirti şiddeti *TMLHE* ekspresyonu ile ilişkili bulunmamıştır (Tablo 14).

Tablo 14. DEHB Belirti Şiddeti ile *TMLHE* Ekspresyonu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

		Dikkat Eksikliği	Aşırı Hareketlilik/Dürtüsellik
<i>TMLHE</i>	R	0,004	-0,110
	p	0,968	0,275
Spearman testi			

Hasta grubunda otizme eşlik eden problemleri davranışların belirti şiddeti SDKL ile değerlendirilmiş olup, aşırı hareketlilik, atalet, yinelenen davranışlar, zarar veren davranışlar ve diğer davranışlar alt boyutlarının hiçbirisi *TMLHE* ekspresyonu ile ilişkili bulunmamıştır (Tablo 15).

Tablo 15. Problemlı Davranışların Belirti şiddeti ile TMLHE Ekspresyonu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

		Aşırı Hareketlilik	Atalet	Yinelenen Davranışlar	Zarar Veren Davranışlar	Diğer Davranışlar
<i>TMLHE</i>	R	-0,073	-0,021	0,095	0,178	0,046
	p	0,472	0,833	0,349	0,076	0,647
Spearman testi						

Hasta grubunda otizmin şiddeti ÇODÖ ile değerlendirilmiş olup, nesne kullanımı ($p=0,043$) ve dinleme tepkisi ($p=0,038$) alt boyutlarıyla *TMLHE* ekspresyonu ilişkili bulunmuş, diğer alt boyutlar (insanlarla ilişki, taklit, duygusal tepki, vücutun kullanımı, değişikliklere uyum sağlama, görsel tepki, tat koku ve dokunma tepkileri ve kullanımı, korku ve ürkeklik, sözel iletişim, sözel olmayan iletişim, etkinlik düzeyi, entellektüel yanıtın düzeyi ve uygunluğu ve genel izlenimler) ve total otizm şiddeti *TMLHE* ekspresyonu ile ilişkili bulunmamıştır (Tablo 16).

Tablo 16. Nesne Kullanımı, Dinleme Tepkisi, Otizm şiddeti ile TMLHE Ekspresyonu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

		Nesne Kullanımı	Dinleme tepkisi	Otizm şiddeti
<i>TMLHE</i>	R	0,203	0,207	0,027
	p	0,043	0,038	0,788
Spearman testi				

5. TARTIŞMA

Otizm, belirtileri erken gelişimsel dönemde ortaya çıkan, görülme sıklığı yıllar içerisinde artma eğilimi gösteren ve toplumsal sosyoekonomik maliyeti yüksek olan bir bozukluktur. Otizm ile birlikte zihinsel yetersizlik, konuşma bozuklukları gibi diğer çocukluk çağı başlangıçlı hastalıklara dair kavrayışımız yıllar içerisinde arttıkça nörogelişimsel bozukluklar kategorisi belirilmiş ve otizmlili olgular bu kategori içerisinde spektral bir boyut kazanmıştır. Hastalığın etyopatogenezine dair yürütölen çalışmalarda, genetik faktörlerin belirgin katkılarının olduğu, ve büyük olasılıkla poligenik ve epistatik olduğu (işlev ve yapı olarak birbirleri ile etkileşim halinde), altta yatan genetik mekanizmaların olgular arasında geniş heterojenite gösterdiği ve bu karmaşık genetik etki yüküne ek olarak da çevresel etmenlerin de bu genetik etmenlerle etkileşim göstererek hastalanma yükünü artırdığı artık bilinmektedir. Bu genetik etmenler arasında tek gen hastalıkları gibi sendromik otizm tablolarına neden olan özgül değışiklikler ancak olguların %8'inden az bir kısmında gösterilebilmektedir (7, 66–72). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda otizmle ilişkili olduğu gösterilen 100'den fazla genetik değışiklik gösterilmiştir. Bu değışikliklerin birçoğunun inkomplet penetrans göstermesi ve değışken fenotipik görüntüye sebep olmasını açıklamaya yardımcı olabilecek yöntemlerden birisi, genetik değışikliğin meydana geldiği genin transkripsiyonel aktivitesini değerlendirmek olabilir. Önceki çalışmalarda *TMLHE* genindeki bazı değışikliklerin otizm ile ilişkili olduğunu bilmekteyiz. Araştırmacıların bilgisi dahilinde bu araştırmanın yürütöldüğü tarihe kadar bu ilişkiyi Türk popölasyonunda inceleyen bir literatür verisi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, daha önceki çalışmalarda otizm ile ilişkili değışikliklerin gösterildiği *TMLHE* geninin otizmlili olgulardaki ekspresyon profilini incelemeyi amaçladık.

5.1 Olguların Sosyodemografik ve Klinik Özellikleri

Araştırmada hasta grubunda yer alan katılımcıların %87'si erkek, %13'ü kadın olup, ay cinsinden yaş ortalaması $111,33 \pm 43,53$ ay iken, kontrol grubunda yer alan katılımcıların %85'si erkek, %15'ü kadın olup, ay cinsinden yaş ortalaması $110,56 \pm 42,85$ aydı. Gruplar arasında cinsiyet ve yaş açısından anlamlı bir farklılık yoktu. Daha sonra detaylı olarak bahsedileceği üzere literatürde *TMLHE* geninin yaş ve cinsiyete göre farklı dokularda ekspresyon düzeyini belirten normatif bir aralığı belirlenmiş olmaması göz önünde bulundurulduğunda grupların yaş ve cinsiyet açısından benzer olması bu faktörlerin karıştırıcı etkilerini azaltmakta yardımcı olmuştur. Otizmin erkek ve kız cinsiyetlerde görülme oranları

ile ilgili epidemiyolojik çalışmalarda erkek/kız oranları 1,9 ile 5,75 arasında değişmektedir (73). Hastalığın şiddeti ve tanımı, eşlik eden zihinsel yetersizliklerin dahil edilip edilmemesi ve verilerin klinik ya da toplum temelli araştırma sahalarından elde edilmesi gibi çalışma dizayn ve metodolojileri ile ilgili farklılıklar bu aralığın genişliğinden sorumlu tutulabilir. Bizim çalışmamızda erkek/kız oranı 6,69 idi. Otizmlili kızlarda eşlik eden epilepsi gibi nörolojik bozuklukların ve ağır zihinsel yetersizliğin erkek olgulara göre daha sık olarak görüldüğü bilinmektedir(21). Bu özelliklerin çalışmamızda dışlama kriterleri olmaları nedeniyle çalışmamızın hasta grubundaki cinsiyet dağılımlarını açıklamakta anlamlı olabilir.

Çalışmaya dahil edilen gruplar temel gelişimsel basamakları kazanma yaşları açısından karşılaştırıldığında kontrol grubundaki katılımcılar 3,47 ay daha erken yürümeye başlamış, 13,50 ay daha erken ilk kelimelerini söylemiş, 25,89 ay daha erken iki kelimelik basit cümleler kurmaya başlamış ve 15,31 ay daha erken gün içerisinde tuvalet eğitimlerini kazanmışlardı. Bu basamakların tamamı için farklılıklar literatürle uyumluydu ve ileri derecede belirgin ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$).

İleri ebeveyn yaşının otizm riskini arttırdığı literatürde tutarlı olarak gösterilmiştir. Bu artmış riskin altında yatan patogenetik süreçler aydınlatılamamış olsa da özellikle artmış paternal yaşın germline mutasyonlar ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir(74,75). Bizim çalışmamızda hasta grubundaki olguların ebeveynlerinin anne olma yaşları ortalamaları $28,34 \pm 6,38$; baba olma yaşları ortalamaları $32,06 \pm 6,46$ iken kontrol grubundaki olguların ebeveynlerinin anne olma yaşları ortalamaları $27,57 \pm 5,08$; baba olma yaşları ortalamaları $30,56 \pm 5,51$ yıl olarak belirlenmiştir. Her iki grup ebeveyn yaşları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Çalışmaya dahil edilen otizmlili olguların ÇODÖ toplam puan ortalamaları ve SDKL ölçeği hem toplam puanı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu, dahası bu ilişkinin SDKL ölçeğinin alt boyutlarının tamamı için de istatistiksel olarak anlamlılığını koruduğu saptanmıştır. İlişkinin en belirgin olduğu alanlar Aşırı Hareketlilik ve Zarar Veren Davranışlar boyutları idi. Davranışsal ve duygusal problemlerin değerlendirilmesinde SDKL literatürde sık kullanılan bir ölçek olmakla birlikte, literatürde farklı araştırmacılar tarafından eşlik eden duygusal ve davranışsal problemlerin SDKL kullanılarak tarandığı çalışmalarda otizm belirti şiddetinin daha yüksek SDKL puanları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(76–78). Bizim çalışmamızda da elde edilen bu bulgular da literatürle uyumlu olarak yorumlandı.

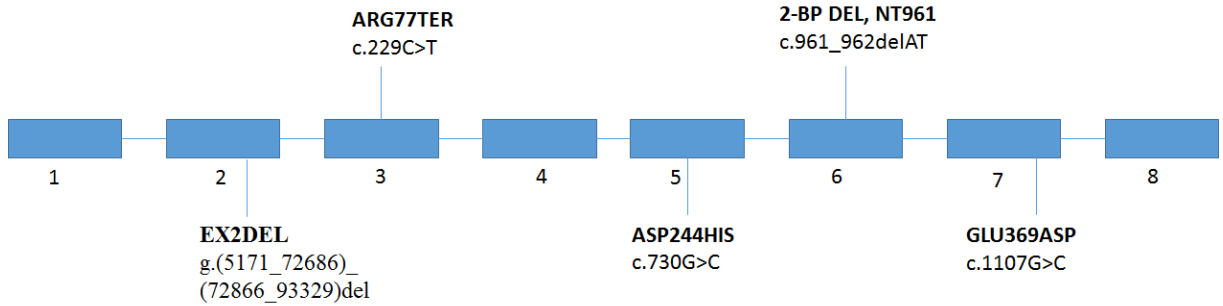
5.2 *TMLHE* Gen Ekspresyonu

5.2.1 *TMLHE* Geninin Otizm ile İlişkisi

Literatürde *TMLHE* geni ile otizmin ilişkisini inceleyen çalışmalara bakacak olursak, ilk olarak, otizmi olan bir hastada (5), *TMLHE* geninin ekzon 2'de delesyon tanımlamıştır. Bu delesyonun enzim eksikliğine yol açtığını ve bunun plazma ve idrarda artmış substrat konsantrasyonu (TML) ve ürün düzeyinde azalmayla (HTML ve γ BB) sonuçlandığını göstermiştir. (4) Aynı çalışmada, *TMLHE* eksikliği kontrol grubu erkekleri arasında yaygın olarak görülmüş (366'da 1) ve simpleks otizm ailelerindeki probandlarda frekansın anlamlı düzeyde fazla olmadığı bulunmuştur (323'te 1). Bununla birlikte, erkek-erkek multipleks otizm ailelerindeki probandlarda, kontrollerle karşılaştırıldığında (130'da 1; $P = 0.023$), 2.82 kat daha sık olduğu saptanmıştır. Buna ek olarak, erkek-erkek multipleks ailelerdeki probandların 7 otistik erkek kardeşlerinden 6'sının delesyonu bulundurması, *TMLHE* eksikliğinin düşük penetranslı (% 2-4) olmasına rağmen otizm için bir risk faktörü olduğunu düşündürür. (metaanalysis Z-score = 2.90 and $P = 0.0037$) Bunlar ve diğer veriler Celestino-Soper ve ark.'nın (4) non-dismorfik veya "idiopatik" otizmde karnitin metabolizması bozukluğunun önemli olabileceği, karnitin alımı, kaybı, taşınması veya sentezindeki anormalliklerin non-dismorfik otizm vakalarının daha büyük bir bölümünde önemli olabileceği ve karnitin yolağının, otizmin tedavisinde veya önlenmesinde yeni bir hedef olabileceği sonucuna varırmıştır.

Nava ve ark. (2012) (2) yaptığı çalışmada *TMLHE*'de otizm spektrum bozukluğu ile ilişkili 3 mutasyon saptamıştır. AUTSX6'lı 2 erkek kardeşte, *TMLHE* geninde hemizigot kırılma/ anlamsız mutasyon tanımlamıştır (c.229C4T/p.Arg77X). Mutasyon, her birinde en az 2 otizimli erkek olan, 12 akrabalık ilişkisi olmayan ailenin X-kromozomu ekzom dizilemesi ile tespit edilmiştir. Otizmi olan 501 erkek hastanın *TMLHE* geni taramasında, 2 hemizigot yanlış anlamlı (missense) mutasyon tanımlanmıştır (c.730G4C/p.Asp244His ve c.1107G4T/p.Glu369Asp). 3 ailenin hepsinde, mutasyon etkilenmemiş heterozigot anneden kalıtılmıştı. Kardeşler ve diğer hastaların birinde, TML prekürsörünün plazma seviyelerinde artma ve karnitin seviyelerinde normal ya da hafif azalma gözlenmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlar, *TMLHE* eksikliğinin muhtemelen diğer genetik veya genetik olmayan anomalilerle birlikte OSB'ye katkıda bulunduğunu, penetrasyon ve X kromozomundaki nadir varyantların OSB etiyojisinde rol aldığı ve bu bozuklukların cinsiyet-oran dengesizliğine katkıda bulunduğu hipotezini desteklemektedir.

Otizmi olan ve iki nörogelişimsel regresyon epizodu olan 4 yaşındaki erkek bir hastada (79), *TMLHE* geninin ekzon 6'da hemizigot bir 2-bp delesyon (c.961_962del) tanımlamıştır. Tüm ekzom dizileme ile saptanan ve Sanger dizileme ile doğrulanan mutasyon, etkilenmemiş heterozigot anneden kalıtılmıştı. Hastanın nörogelişimsel defisitleri oral karnitin takviyesine olumlu cevap verdiği, hastanın regresyonunun sona erdiği ve gelişimsel basamakları kazanmaya başladığı, bu gelişmeden sonra, aynı mutasyonun, gelişimi o zamana kadar normal olan 13 aylık, anne tarafından erkek kuzeninde de bulunduğu ve önleyici karnitin takviyesi başlandığı belirtilmiştir. Bu olgu sunumundan, karnitin biyosentezindeki defisitlerin, OSB'li bireylerdeki bazı regresyon durumlarından sorumlu olabileceği ve ilgili biyokimyasal yolak için testlerin yapılması gerekebileceği; karnitin desteğinin, karnitin eksikliği olan hastalardaki regresyon epizotlarının tedavisinde ve potansiyel olarak önlenmesinde yararlı olabileceği sonuçları çıkarılmıştır. Plazma serbest karnitin konsantrasyonunun diyet alımıyla önemli ölçüde etkilenmesi sebebiyle, TML / gBB oranının izole TML veya gBB seviyeleri yerine TMLD eksikliği için daha üstün bir tanı belirteci olabileceği belirtilmiştir.



Şekil 4. Literatürde Otizmle İlişkili Olduğu Gösterilen *TMLHE* Geni Mutasyonlarının Şematik Gösterimi.

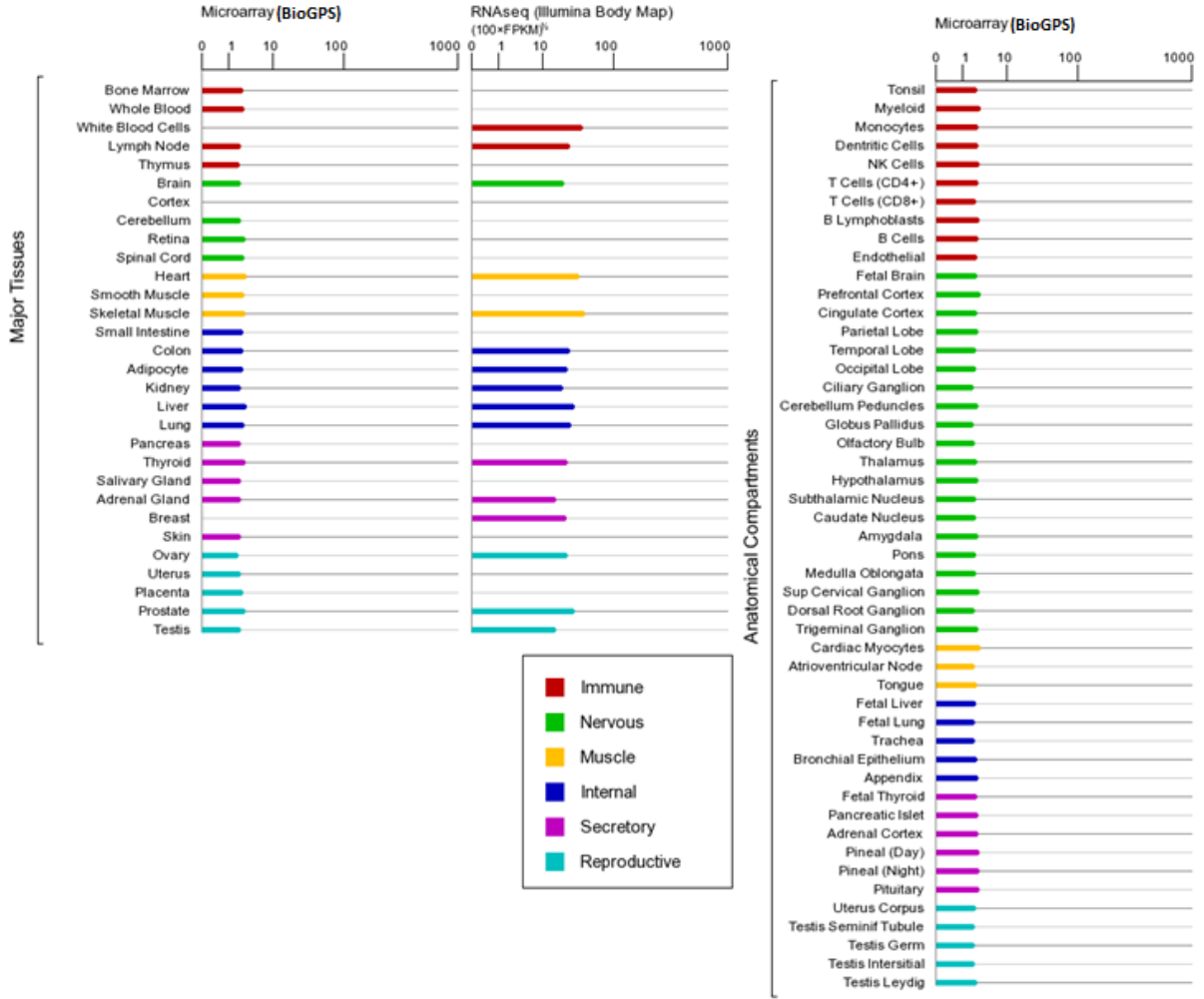
5.2.2 Genom Düzeyindeki İlişkiden İşleve

Yukarıda özetlenen çalışmalarda *TMLHE* ile ilgili genomik düzeydeki değişikliklerin otizm ile ilişkisi incelenmiştir. Ancak farklı araştırmacılar tarafından yürütülen bu çalışmalarda birbirlerini replike edemeyen bulgular saptanmasının yanı sıra, istatistiksel olarak güçlü bir ilişki her zaman hastalık ile söz konusu genetik değişikliğin nedensel ilişkisine işaret etmeyebilir; ayrıca gen ekspresyonu, epigenetik değişiklikler de dahil olmak üzere pek çok

değişkenden etkilenebilir. Bu ilişkinin aydınlatılabilmesi ve genotip-fenotip bağlantısının incelebilmesi için transkripsiyonel düzeyde incelemeler faydalı olacaktır.

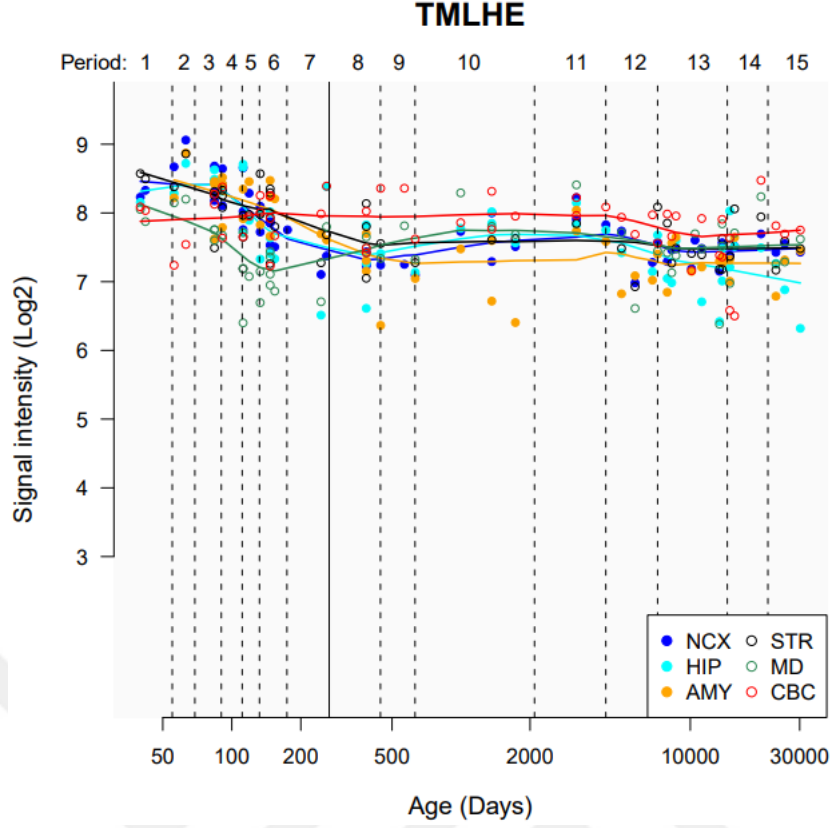
İnsan genomundaki genlerin ekspresyon profillerine dair bilgiler çevirim içi olarak ulaşılabilen veritabanlarında bulunmaktadır (Illumina Body Map, ensemble.org, BioGPS). Bu veritabanları incelendiğinde *TMLHE* gen ekspresyonunun farklı dokularda farklı oranlarda mevcut olduğu görülmektedir (Şekil 5). En yüksek ekspresyon düzeylerinin iskelet kasında gösterildiği bu profillerde farklı dokular (örn. böbrek, beyin, plasenta, testis, kan, akciğer) için farklı ekspresyon düzeyleri belirtilmektedir. Bu verilerin deneysel olarak geçerlenmediği göz önünde bulundurulduğunda, *TMLHE* geninin uzlaşmış bir ekspresyon profili henüz literatürde mevcut değildir.

Bir gen ürününün, belirli bir hastalıkla ilişkili olarak, o hastalığın doğrudan etkilediği dokudaki düzeylerinin incelenmesi hastalık ve varyant arasındaki nedensellik ilişkisi kurmada yardımcı olur. Otizm bağlamında değerlendirecek olursak, riski arttırdığı öne sürülen genin ürünlerinin fetal yaşamda ve erken gelişimsel dönemde eksprese ediliyor olması gerekir. *TMLHE* geni, yetişkin ve fetal beyinde, serebrum ve serebellumda yaygın olarak eksprese edilmektedir. (Şekil 6: *TMLHE* geninin fetal ve erişkin dönemdeki transkripsiyonel durumu. Ref: (80)).



Şekil 4. Farklı Veritabanlarından Elde Edilen *TMLHE* Ekspresyon Profilleri

Otizmde beyin dokusundan alınan örnekler ile ilgili yapılan çalışmalar özgül genlerin ve gen ürünlerinin, doğrudan otizmde etkilenmiş beyin bölgelerindeki ekspresyon seviyeleri hakkında eşsiz bilgiler sunsa da bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Otizmdeki genetik heterojenitenin çeşitliliği göz önünde bulundurulduğunda, örneklem sayıları görece küçüktür. Bununla birlikte post-mortem yapılan çalışmalarda ölüm sebebi ve ilişkili parametreler de bu gen ekspresyonunu etkiliyor olabilir. Dahası post-mortem dokulardan elde edilen RNA kalitesi düşük olabilir ve araştırma sonuçlarını etkileyebilir.



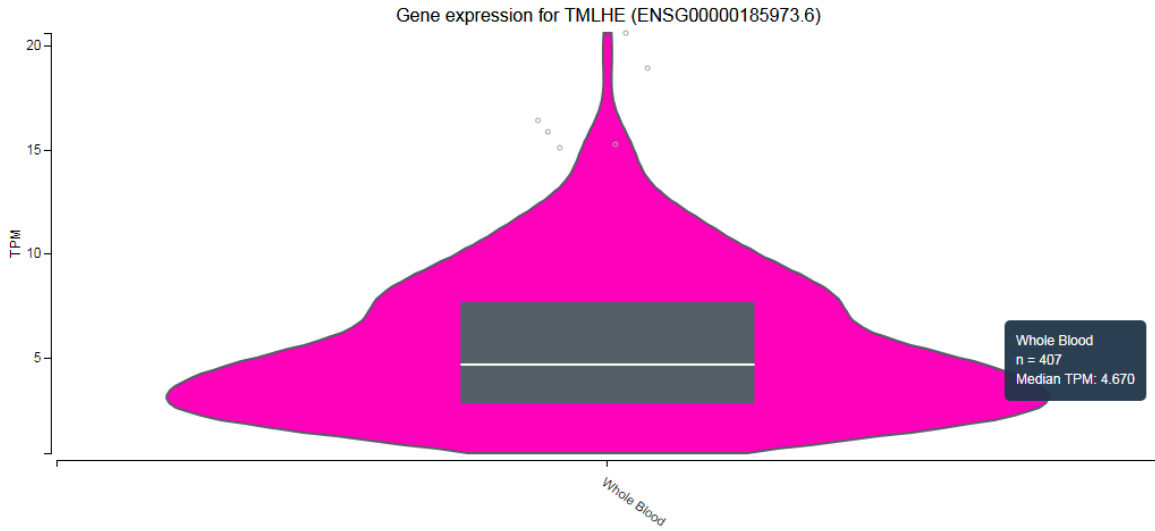
Şekil 5. TMLHE Geninin Fetal ve Yetişkin Dönemdeki Transkripsiyonel Durumu

Periferal dokulardan alınan örnekler ile yürütülen gen ekspresyon çalışmaları, yukarıdaki zorlukların üstesinden gelmek için bir olanak sağlayabilir (80). Sağlıklı yetişkinlerde yapılan birkaç çalışmada çoğu genin ekspresyon paterninin zaman içerisinde stabil olduğu, ancak %1-2 oranında genin ekspresyon paterninin en az bir aylık periyotlarda belirgin değişiklikler gösterdiği belirtilmiştir. Ek olarak, OSB'li bireylerde bilişsel, davranışsal ve duygusal semptomları inceleyen çalışmalarda, bu semptomların genellikle zaman içerisinde kalıcılık gösterdikleri bilinmektedir. Bu nedenle uzun süre boyunca var olmaya devam eden bu fenotiplerin altında yatan ekspresyon paternleri semptomların oluşmaya başladığı yaşlardan sonra da mevcut olmaya devam edebilir. Beyin ve periferal kan hücreleri arasındaki transkriptomik profillerin arasındaki ilişki net olarak aydınlatılamamış olsa da, literatürde giderek artan sayıda çalışmada doğrudan etkilenmemiş dokulardaki ölçümlerin hastalığın biyobelirteçleri ya da işaretleri hakkında bilgi verebileceğini göstermektedir. Periferal dokulardan edinilen örneklerin değerlendirilmesi, nöral transkriptomun dolaylı ve yaklaşık bir temsilini yakalama imkânı sunabilir. Nitekim bazı

nöropsikiyatrik hastalıklarda (Tourette Bozukluğu, multipl sklerozis, migren) karakteristik periferik kan ekspresyon paternleri belirlenmiştir (81).

2012 yılına kadar otizmde gen ekspresyon çalışmalarına dair bir gözden geçirme çalışması Voineagu ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaya iki farklı örnekten 10 majör mRNA çalışmasını dahil eden araştırmacılar, kontrol grubu ile OSB vakaları arasındaki farklılıkları tanımlamak için transkriptom analizlerinin DNA çalışmalarından daha etkin olduğu sonucuna varmışlardır (82). Örneğin alındığı doku türünden bağımsız olarak birden fazla çalışmada 100'den fazla gen tanımlandığı ve ilginç olarak, ilgili genin ekspresyonunun artıp azalmasının örneğin alındığı dokudan bağımsız olduğunu ve hatta aynı dokudan alınan farklı bağımsız çalışmalarda farklılık gösterebileceği belirtilmiştir.

TMLHE geninin daha önce de özetlendiği üzere insan dokularında geçirilmiş ve üzerinde uzlaşmış bir ekspresyon profili bulunmamaktadır. GTEx Analysis Release V7 veritabanından elde edilen periferik kan ekspresyon düzeyleri Şekil 7'de sunulmuştur (83).



Şekil 6. *TMLHE* Kan Ekspresyon Düzeyi

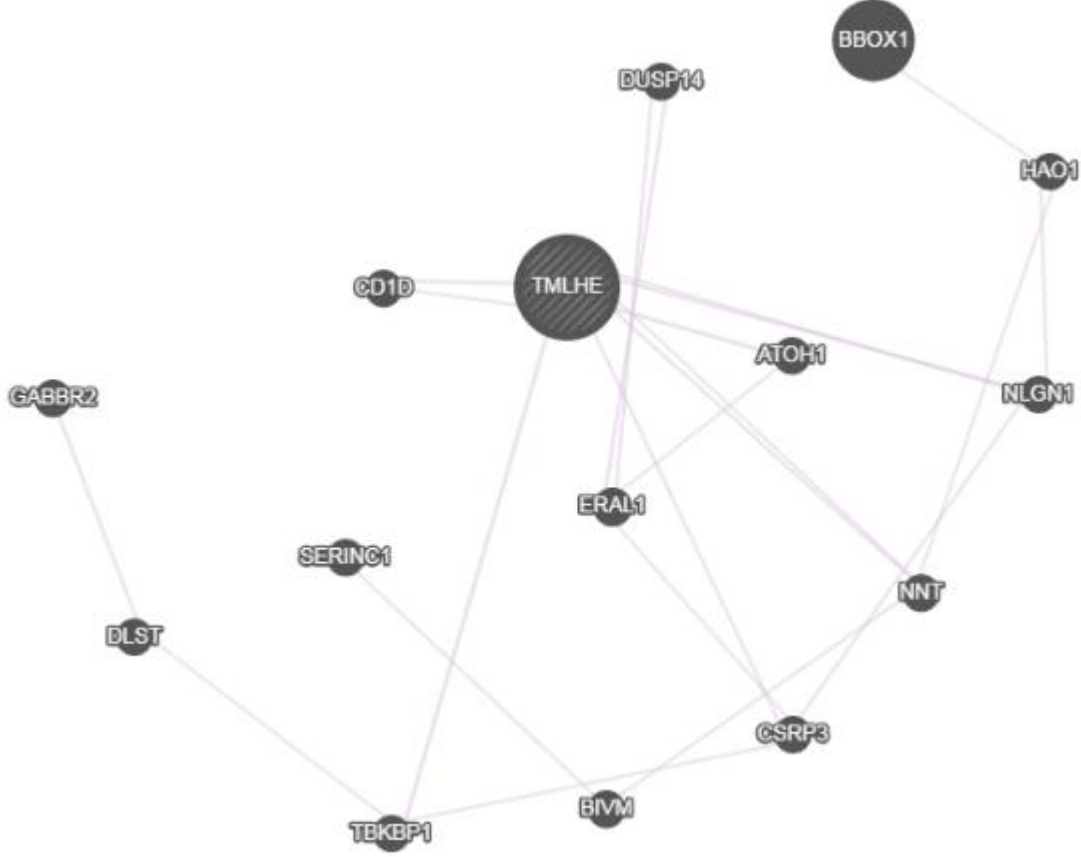
Çalışmamızda gen ekspresyon düzeylerini belirlerken, normalizasyon için referans genler kullanıldı. Bu yöntemin avantajı başlangıçtaki kantiteyi bilme gerekliliğini ortadan

kaldırmasıdır. Gen ekspresyon analizi gibi başlangıç materyalinin genellikle sınırlı olduğu durumlarda absöüt kantifikasyon yerine bu yöntem sıklıkla kullanılmaktadır. Literatürde birden fazla referans gen kullanımının kantifikasyon doğruluğunu arttırdığı bilindiği ve önerildiği üzere üç farklı referans gen kullanıldı (*ABL-1*, *CUL2*, *ZNF207*). Kontrol grubunu oluşturan örnekler kalibratör olarak kullanılarak hasta grubundaki *TMLHE* ekspresyonları kontrol grubundaki ekspresyona oranla artış ya da azalmış ekspresyonları tayin edildi. İki grup arasındaki kat değişimi (fold change) belirlenirken Livak metodu kullanıldı. Elde edilen sonuçlara göre *TMLHE* gen ekspresyonunun hasta örneklerinde kontrol örneklerine göre istatistiksel olarak sınırda anlamlı şekilde daha yüksek olduğu gösterildi ($p=0.048$). (hasta ort=7,9, kontrol ort=7,6, fold change=0,06). Hipotetik olarak hasta grubunda düşük gen ekspresyonu olabileceğini varsayarak başladığımız çalışmadaki bu sonuç, düşük protein (*TMLH* enzimi) ekspresyonunun ve olası diğer posttranslasyonel değişikliklerin kompanseuar bir sonucu olarak yorumlanabilir. Hasta grubunda eğer var ise ekspresyon düzeyini etkilemeyen yanlış anlamlı mutasyonların çoğunlukta olma ihtimali, çalışma popülasyonunun küçük olması, kontrol grubundaki olguların bir kısmına eşlik eden DEHB (%30) gibi otizm dışı nörogelişimsel bozuklukların bulunması da bu durumun açıklanmasında katkısı olabilir.

Çalışma dizaynı ve popülasyonu ile ilgili nedenlerden bağımsız olarak *TMLHE* periferik gen ekspresyonunun söz konusu genin nöral ekspresyonunu öngörmüyor olabilir. Otizmde beyin dokusundaki değişikliklerin fetal dönemde ve yaşamın ilk yıllarında gerçekleştiği göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızın yaş aralığı olan 2-18 yaş aralığındaki gen ekspresyon düzeyleri, bu dönemleri yansıtmıyor olabilir. Ancak, bu kısıtlılıklar çalışmaya özgü olmaktan ziyade, ekspresyon çalışmaları için genel bir kısıtlılık oluşturmaktadır (82).

Otizmin etiyolojisinde rol oynayan genetik etmenlerin kompleks ve heterojen bir biçimde ve bireyler arasında geniş farklılıklar gösterdiği göz önünde bulundurulduğunda; çalışmamıza dahil edilen olguların *TMLHE* gen ekspresyonları, bu genin komşuluğunda yer alan, koeksprese edilen ve karnitin metabolizmasında sorumlu diğer diğer genlerin genomik ve transkripsiyonel değişiklikleri, epigenetik değişiklikler de dahil olmak üzere çok sayıda faktörden etkilenmiş olabilir. Genemania veritabanından elde edilen, *TMLHE* ile koekspresyona uğrayan genler Şekil 8'de gösterilmiştir. Yine aynı veritabanında, *TMLHE* geninin fiziksel interaksyonda bulunduğu, nörodejenarasyonun önlenmesinde rol oynayan

SDHAF4 (Succinate Dehydrogenase Complex Assembly Factor 4) geninin ekspresyon düzeyindeki değişiklikler de sonuçları etkilemiş olabilir (84).



Şekil 8. *TMLHE* Geniyle Koeksprese Edilen Genler

Hasta grubunda otizmin şiddeti ÇODÖ ile değerlendirilmiş olup, nesne kullanımı ($p=0,043$) ve dinleme tepkisi ($p=0,038$) alt boyutlarıyla *TMLHE* ekspresyonu ilişkili bulunmuştur. Buna göre, hasta grubunda bu iki alt boyutta daha yüksek puan alanların, belirti şiddeti daha yüksek olanların, gen ekspresyon düzeyi daha fazladır. OSB’de anormal “nesne kullanımı”, “dinleme tepkisi” şeklinde tezahür eden bazı semptomlar bozulmuş uzamsal öğrenmeyle (spatial learning) ilişkili olabilir (85). Kronik asetil-L-karnitin dozlarının sıçanların uzamsal hafızalarını arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur(86,87). Aradaki bu ilişki; bozulmuş uzamsal öğrenmeyle sonuçlanan düşük substrat (karnitin) üretiminin kompensatuar olarak artışa neden olan gen ekspresyon düzeyiyle açıklanabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada *TMLHE* gen ekspresyonunun otizmlili olgularda yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş kontrol grubuna göre istatistiksel olarak sınırda anlamlı şekilde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç, düşük protein (TMLD enzimi) ekspresyonunun ve olası diğer posttranslasyonel değişikliklerin kompensatuar bir sonucu olarak yorumlanabilir. Ayrıca olgularda ekspresyonu etkilemeyen yanlış anlamlı mutasyonların çoğunlukta olabilmesi bu durumu açıklayabilir. Ek olarak, literatürde *TMLHE* geni ile ilgili değişiklikler en tutarlı bir biçimde OSB ile ilişkilendirilmiş olsa da, kontrol grubundaki olguların bir kısmına eşlik eden DEHB (%30) gibi otizm dışı nörogelişimsel bozuklukların bulunması ve çalışma popülasyonunun küçük olması çalışmanın sonuçlarını etkilemiş olabilir. Aynı zamanda, otizmin etiyolojisinde rol oynayan genetik etmenlerin kompleks ve heterojen bir biçimde ve bireyler arasında geniş farklılıklar gösterdiği göz önünde bulundurulduğunda; çalışmamıza dahil edilen olguların *TMLHE* gen ekspresyonları, bu genin komşuluğunda yer alan, koeksprese edilen ve karnitin metabolizmasında sorumlu diğer diğer genlerin genomik ve transkripsiyonel değişiklikleri, epigenetik değişiklikler de dahil olmak üzere çok sayıda ekspresyon düzeyini değiştirebilecek faktörden etkilenmiş olabilir.

Literatürde *TMLHE* geninin farklı dokular ve yaşlara özgü ekspresyon profilinin henüz tam olarak aydınlatılmamış olduğu göz önünde bulundurulduğunda bu çalışma, bu alanda sonraki çalışmalar için bir temel oluşturabilir. Otizmde *TMLHE* genindeki ekspresyon değişikliklerini Türk popülasyonunda inceleyen ilk çalışmadır. Otizm ile ilişkili olarak; *TMLHE* geninde gösterilen bu değişiklikler ve çalışmamızda saptanan ekspresyon düzeylerinin sonraki çalışmalarda daha büyük popülasyon ve farklı ırklarda, eşlik eden olası genetik değişikliklerle ilişkisellik bağlamında ve *TMLHE* geni komşuluğunda yer alan, koeksprese edilen diğer genlerin genomik ve transkripsiyonel değişikliklerinin, diğer kan dışındaki dokulardaki -özellikle nöral- ekspresyon düzeylerinin, ürünlerin (TMLD enzimi, karnitin düzeyleri) biyokimyasal analizlerinin de dahil edilerek araştırılması otizmin etiyolojisine dair genetik etmenlere dair kavrayışımızı arttıracaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Vaz FM, Ofman R, Westinga K, Back JW, Wanders RJA. Molecular and Biochemical Characterization of Rat ϵ -N-Trimethyllysine Hydroxylase, the First Enzyme of Carnitine Biosynthesis. J Biol Chem [Internet]. 2001 Sep 7 [cited 2018 Oct 4];276(36):33512–7. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M105929200>
2. Nava C, Lamari F, Héron D, Mignot C, Rastetter A, Keren B, et al. Analysis of the chromosome X exome in patients with autism spectrum disorders identified novel candidate genes, including TMLHE. Transl Psychiatry [Internet]. 2012 Oct 23 [cited 2018 Oct 1];2(10):e179–e179. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23092983>
3. Xie Z, Jones A, Deeney JT, Hur SK, Bankaitis VA. Inborn Errors of Long-Chain Fatty Acid β -Oxidation Link Neural Stem Cell Self-Renewal to Autism. Cell Rep [Internet]. 2016 Feb 9 [cited 2018 Oct 1];14(5):991–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26832401>
4. Celestino-Soper PBS, Violante S, Crawford EL, Luo R, Lionel AC, Delaby E, et al. A common X-linked inborn error of carnitine biosynthesis may be a risk factor for nondysmorphic autism. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2012 May 22 [cited 2018 Oct 1];109(21):7974–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22566635>
5. Celestino-Soper PBS, Shaw CA, Sanders SJ, Li J, Murtha MT, Ercan-Sencicek AG, et al. Use of array CGH to detect exonic copy number variants throughout the genome in autism families detects a novel deletion in TMLHE. Hum Mol Genet [Internet]. 2011 Nov 15 [cited 2019 Jan 17];20(22):4360–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21865298>
6. Ziats MN, Comeaux MS, Yang Y, Scaglia F, Elsea SH, Sun Q, et al. Improvement of regressive autism symptoms in a child with TMLHE deficiency following carnitine supplementation. Am J Med Genet Part A. 2015;167(9):2162–7.
7. Ning Z, McLellan AS, Ball M, Wynne F, O'Neill C, Mills W, et al. Regulation of *SPRY3* by X chromosome and PAR2-linked promoters in an autism susceptibility region. Hum Mol Genet [Internet]. 2015 Sep 15 [cited 2018 Oct 4];24(18):5126–41. Available from: <https://academic.oup.com/hmg/article-lookup/doi/10.1093/hmg/ddv231>

8. Beaudet AL. Brain carnitine deficiency causes nonsyndromic autism with an extreme male bias: A hypothesis. *BioEssays* [Internet]. 2017 Aug [cited 2019 Jan 17];39(8):1700012. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28703319>
9. Rutter M. Diagnosis and definition of childhood autism. *J Autism Child Schizophr* [Internet]. 1978 Jun [cited 2019 Feb 11];8(2):139–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/670129>
10. HELLER, T. Uber dementia infantilis (in Germany). *Z Erforsch Behandl Jugndl Schwachsinn* [Internet]. 1908 [cited 2019 Feb 11];2:17–28. Available from: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10011591313/>
11. Potter HW. SCHIZOPHRENIA IN CHILDREN. *Am J Psychiatry* [Internet]. 1933 May [cited 2019 Feb 11];89(6):1253–70. Available from: <http://psychiatryonline.org/doi/abs/10.1176/ajp.89.6.1253>
12. BLEULER E, WHITE WA. THE THEORY OF SCHIZOPHRENIC NEGATIVISM. *J Nerv Ment Dis* [Internet]. 1912 Jan [cited 2019 Feb 11];39(1):50–7. Available from: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00005053-191201000-00009>
13. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Acta Paedopsychiatr* [Internet]. 1968 [cited 2019 Feb 11];35(4):100–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4880460>
14. Asperger H. Die „Autistischen Psychopathen“ im Kindesalter. *Arch Psychiatr Nervenkr* [Internet]. 1944 Jun [cited 2019 Feb 11];117(1):76–136. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF01837709>
15. childhood BR-E problems of early, 1955 undefined. Intensive study and treatment of preschool children who show marked personality deviations, or “atypical development,” and their parents. Basic Books, New York [Internet]. [cited 2019 Feb 11]; Available from: [https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Intensive study and treatment of pre-school children who show marked personality deviations%2C or atypical development and their parents&author=B. Rank&pages=491-501&publication_year=1955](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Intensive+study+and+treatment+of+pre-school+children+who+show+marked+personality+deviations%2C+or+atypical+development+and+their+parents&author=B.+Rank&pages=491-501&publication_year=1955)
16. Wing L, Gould J. Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: epidemiology and classification. *J Autism Dev Disord* [Internet]. 1979 Mar [cited 2019 Feb 11];9(1):11–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/155684>

17. Association AP. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 5th ed. Washington, DC2013.
18. Ritvo ER, Freeman BJ, Pingree C, Mason-Brothers A, Jorde L, Jenson WR, et al. The UCLA-University of Utah epidemiologic survey of autism: prevalence. *Am J Psychiatry*. 1989 Feb;146(2):194–9.
19. Fombonne E. The epidemiology of autism: a review. *Psychol Med*. 1999 Jul;29(4):769–86.
20. Baio J. Prevalence of Autism Spectrum Disorders: Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 14 Sites, United States, 2008. Morbidity and Mortality Weekly Report. Surveillance Summaries. Volume 61, Number 3. Centers for Disease Control and P.
21. Autism, Investigators DDMNSYP. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. Morbidity and Mortality Weekly Report: Surveillance Summaries. 2014;
22. Duchan E, Patel DR. Epidemiology of autism spectrum disorders. *Pediatr Clin North Am*. 2012 Feb;59(1):27–43, ix–x.
23. Gurney JG, Fritz MS, Ness KK, Sievers P, Newschaffer CJ, Shapiro EG. Analysis of prevalence trends of autism spectrum disorder in Minnesota. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 2003;157(7):622-7.
24. Werner E, Dawson G. Validation of the phenomenon of autistic regression using home videotapes. *Archives of general psychiatry*. 2005;62(8):889-95.
25. Motavallı MN. Otizm Spektrum Bozuklukları. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2013.
26. Landa R, Garrett-Mayer E. Development in infants with autism spectrum disorders: a prospective study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2006;47(6):629-38.
27. Volkmar FR, Paul R, Klin A, Cohen DJ. Handbook of autism and pervasive developmental disorders, diagnosis, development, neurobiology, and behavior: John Wiley & Sons; 2005.
28. Simonoff E, Pickles A, Charman T, Chandler S, Loucas T, Baird G. Psychiatric disorders in children with autism spectrum disorders: prevalence, comorbidity, and associated factors in a population-derived sample. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2008 Aug;47(8):921–9.

29. Lai M-C, Lombardo M, Baron-Cohen S. Autism. Vol. 383, Lancet. 2013.
30. Mattila M-L, Hurtig T, Haapsamo H, Jussila K, Kuusikko-Gauffin S, Kielinen M, et al. Comorbid psychiatric disorders associated with Asperger syndrome/high-functioning autism: a community- and clinic-based study. *J Autism Dev Disord*. 2010 Sep;40(9):1080–93.
31. 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 Nov;68(11):1095–102.
32. Muhle R, Trentacoste S V, Rapin I. The genetics of autism. *Pediatrics*. 2004 May;113(5):e472-86.
33. Veenstra-VanderWeele J, Cook EHJ. Molecular genetics of autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry*. 2004 Sep;9(9):819–32.
34. Abrahams BS, Geschwind DH. Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nat Rev Genet*. 2008 May;9(5):341–55.
35. Lauritsen MB, Pedersen CB, Mortensen PB. Effects of familial risk factors and place of birth on the risk of autism: a nationwide register-based study. *J Child Psychol Psychiatry*. 2005 Sep;46(9):963–71.
36. Miles JH. Autism spectrum disorders--a genetics review. *Genet Med*. 2011 Apr;13(4):278–94.
37. Kemper TL, Bauman M. Neuropathology of infantile autism. *Journal of neuropathology and experimental neurology*. 1998;57(7):645.
38. Bailey A, Luthert P, Dean A, Harding B, Janota I, Montgomery M, et al. A clinicopathological study of autism. *Brain: a journal of neurology*. 1998;121(5):889-905.
39. Piven J, Elison JT, Zylka MJ. Toward a conceptual framework for early brain and behavior development in autism. *Molecular Psychiatry*. 2017;23:165.
40. Vogt D, Cho KKA, Lee AT, Sohal VS, Rubenstein JLR. The parvalbumin/somatostatin ratio is increased in Pten mutant mice and by human PTEN ASD alleles. *Cell reports*. 2015;11(6):944-56.

41. Marchetto MC, Belinson H, Tian Y, Freitas BC, Fu C, Vadodaria K, et al. Altered proliferation and networks in neural cells derived from idiopathic autistic individuals. *Mol Psychiatry*. 2017;22(6):820-35.
42. Wang P, Lin M, Pedrosa E, Hrabovsky A, Zhang Z, Guo W, et al. CRISPR/Cas9-mediated heterozygous knockout of the autism gene CHD8 and characterization of its transcriptional networks in neurodevelopment. *Mol Autism*. 2015;6:55.
43. Casanova MF, van Kooten IAJ, Switala AE, van Engeland H, Heinsen H, Steinbusch HWM, et al. Minicolumnar abnormalities in autism. *Acta Neuropathol*. 2006 Sep;112(3):287–303.
44. Schultz RT. Developmental deficits in social perception in autism: the role of the amygdala and fusiform face area. *Int J Dev Neurosci*. 2005;23(2–3):125–41.
45. Flinkkila E, Keski-Rahkonen A, Marttunen M, Raevuori A. Prenatal Inflammation, Infections and Mental Disorders. *Psychopathology*. 2016;49(5):317–33.
46. Kocovska E, Fernell E, Billstedt E, Minnis H, Gillberg C. Vitamin D and autism: clinical review. *Res Dev Disabil*. 2012;33(5):1541–50.
47. Ergaz Z, Weinstein-Fudim L, Ornoy A. Genetic and non-genetic animal models for autism spectrum disorders (ASD). *Reprod Toxicol*. 2016 Sep;64:116–40.
48. Manning SE, Davin CA, Barfield WD, Kotelchuck M, Clements K, Diop H, et al. Early diagnoses of autism spectrum disorders in Massachusetts birth cohorts, 2001-2005. *Pediatrics*. 2011 Jun;127(6):1043–51.
49. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis. *Pediatrics*. 2011 Aug;128(2):344–55.
50. Volkmar FR, Lord C, Bailey A, Schultz RT, Klin A. Autism and pervasive developmental disorders. *J Child Psychol Psychiatry*. 2004 Jan;45(1):135–70.
51. Rubenstein JLR, Merzenich MM. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. *Genes Brain Behav*. 2003 Oct;2(5):255–67.
52. Purcell AE, Jeon OH, Zimmerman AW, Blue ME, Pevsner J. Postmortem brain abnormalities of the glutamate neurotransmitter system in autism. *Neurology*. 2001 Nov;57(9):1618–28.

53. Yorbik O, Sayal A, Akay C, Akbiyik DI, Sohmen T. Investigation of antioxidant enzymes in children with autistic disorder. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2002 Nov;67(5):341–3.
54. Chauhan A, Chauhan V. Oxidative stress in autism. *Pathophysiol Off J Int Soc Pathophysiol*. 2006 Aug;13(3):171–81.
55. James SJ, Rose S, Melnyk S, Jernigan S, Blossom S, Pavliv O, et al. Cellular and mitochondrial glutathione redox imbalance in lymphoblastoid cells derived from children with autism. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2009 Aug;23(8):2374–83.
56. Berg AT, Plioplys S, Tuchman R. Risk and correlates of autism spectrum disorder in children with epilepsy: a community-based study. *J Child Neurol*. 2011 May;26(5):540–7.
57. Yasuhara A. Correlation between EEG abnormalities and symptoms of autism spectrum disorder (ASD). *Brain Dev*. 2010 Nov;32(10):791–8.
58. Boutros NN, Lajiness-O'Neill R, Zillgitt A, Richard AE, Bowyer SM. EEG changes associated with autistic spectrum disorders. *Neuropsychiatric Electrophysiology*. 2015;1(1):3.
59. Monfregola J, Napolitano G, Conte I, Cevenini A, Migliaccio C, D'Urso M, et al. Functional characterization of the TMLH gene: promoter analysis, in situ hybridization, identification and mapping of alternative splicing variants. *Gene* [Internet]. 2007 Jun 15 [cited 2019 Jan 30];395(1–2):86–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17408883>
60. Clark-Taylor T, Clark-Taylor BE. Is autism a disorder of fatty acid metabolism? Possible dysfunction of mitochondrial beta-oxidation by long chain acyl-CoA dehydrogenase. *Med Hypotheses*. 2004; 62:970–975. [PubMed: 15142659].
61. Filipek PA, Juranek J, Nguyen MT, Cummings C, Gargus JJ. Relative carnitine deficiency in autism. *J Autism Dev Disord*. 2004; 34:615–623. [PubMed: 15679182].
62. Rossignol DA, Frye RE. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2011; 17:290–314. [PubMed: 21263444].

63. Waisbren SE, Landau Y, Wilson J, Vockley J. Neuropsychological outcomes in fatty acid oxidation disorders: 85 cases detected by newborn screening. *Dev Disabil Res Rev.* 2013; 17:260–268. [PubMed: 23798014].
64. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ Method. *Methods* [Internet]. 2001 Dec [cited 2019 Feb 11];25(4):402–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11846609>
65. Cohen, J. (1988). Statistical power analysis for the behavioral sciences. 2nd. In: Hillsdale, NJ: erlbaum.
66. Anney R, Klei L, Pinto D, Regan R, Conroy J, Magalhaes TR, et al. A genome-wide scan for common alleles affecting risk for autism. *Hum Mol Genet.* 2010 Oct;19(20):4072–82.
67. Curran S, Bolton P, Rozsnyai K, Chiocchetti A, Klauck SM, Duketis E, et al. No association between a common single nucleotide polymorphism, rs4141463, in the MACROD2 gene and autism spectrum disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2011 Sep;156B(6):633–9.
68. Jones RM, Cadby G, Blangero J, Abraham LJ, Whitehouse AJO, Moses EK. MACROD2 gene associated with autistic-like traits in a general population sample. *Psychiatr Genet.* 2014 Dec;24(6):241–8.
69. Namjou B, Marsolo K, Carroll RJ, Denny JC, Ritchie MD, Verma SS, et al. Phenome-wide association study (PheWAS) in EMR-linked pediatric cohorts, genetically links PLCL1 to speech language development and IL5-IL13 to Eosinophilic Esophagitis. *Front Genet.* 2014;5:401.
70. Prandini P, Pasquali A, Malerba G, Marostica A, Zusi C, Xumerle L, et al. The association of rs4307059 and rs35678 markers with autism spectrum disorders is replicated in Italian families. *Psychiatr Genet.* 2012 Aug;22(4):177–81.
71. Torrico B, Chiocchetti AG, Bacchelli E, Trabetti E, Hervas A, Franke B, et al. Lack of replication of previous autism spectrum disorder GWAS hits in European populations. *Autism Res.* 2017 Feb;10(2):202–11.
72. Fombonne E. Epidemiology of autistic disorder and other pervasive developmental disorders. *J Clin Psychiatry.* 2005;66 Suppl 1:3–8.

73. Hultman CM, Sandin S, Levine SZ, Lichtenstein P, Reichenberg A. Advancing paternal age and risk of autism: new evidence from a population-based study and a meta-analysis of epidemiological studies. *Mol Psychiatry*. 2011 Dec;16(12):1203–12.
74. Sandin S, Hultman CM, Klevzon A, Gross R, MacCabe JH, Reichenberg A. Advancing maternal age is associated with increasing risk for autism: a review and meta-analysis. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2012 May;51(5):477–486.e1.
75. Kanne SM, Christ SE, Reiersen AM. Psychiatric symptoms and psychosocial difficulties in young adults with autistic traits. *J Autism Dev Disord*. 2009 Jun;39(6):827–33.
76. Kotte, A., Joshi, G., Fried, R., Uchida, M., Spencer, A., Woodworth, K. Y., . . . Biederman, J. (2013). Autistic Traits in Children With and Without ADHD. *Pediatrics*, 132(3), e612-e622. doi:10.1542/peds.2012-3947.
77. Rosenberg RE, Kaufmann WE, Law JK, Law PA. Parent report of community psychiatric comorbid diagnoses in autism spectrum disorders. *Autism Res Treat*. 2011;2011:405849.
78. Ziats MN, Comeaux MS, Yang Y, Scaglia F, Elsea SH, Sun Q, et al. Improvement of regressive autism symptoms in a child with *TMLHE* deficiency following carnitine supplementation. *Am J Med Genet Part A [Internet]*. 2015 Sep [cited 2018 Oct 1];167(9):2162–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25943046>
79. Kang HJ, Kawasawa YI, Cheng F, Zhu Y, Xu X, Li M, et al. Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature*. 2011 Oct;478(7370):483–9.
80. Chien W-H, Gau SS-F, Chen C-H, Tsai W-C, Wu Y-Y, Chen P-H, et al. Increased gene expression of FOXP1 in patients with autism spectrum disorders. *Mol Autism*. 2013 Jul;4(1):23.
81. Gregg JP, Lit L, Baron CA, Hertz-Picciotto I, Walker W, Davis RA, et al. Gene expression changes in children with autism. *Genomics*. 2008 Jan;91(1):22–9.
82. Voineagu I. Gene expression studies in autism: moving from the genome to the transcriptome and beyond. *Neurobiol Dis*. 2012 Jan;45(1):69–75.
83. <https://gtexportal.org/home/gene/TMLHE>.

84. Van Vranken JG, Bricker DK, Dephoure N, Gygi SP, Cox JE, Thummel CS, Rutter J. SDHAF4 promotes mitochondrial succinate dehydrogenase activity and prevents neurodegeneration. *Cell Metab.* 2014 Aug 5;20(2):241-52. doi: 10.1016/j.cmet.2014.05.012. Epub 2014 J.
85. Kim YJ, Park JK, Kang WS, Kim SK, Park HJ, Nam M et al. LAMB1 polymorphism is associated with autism symptom severity in Korean autism spectrum disorder patients *Nord J Psychiatry.* 2015;69(8):594-8. doi: 10.3109/08039488.2015.1022597. Epub 2015 Mar 16.
86. Caprioli A, Markowska AL, Olton DS. Acetyl-L-Carnitine: chronic treatment improves spatial acquisition in a new environment in aged rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995 Jul;50(4):B232-36.
87. Taglialatela G, Caprioli A, Giuliani A, Ghirardi O. Spatial memory and NGF levels in aged rats: natural variability and effects of acetyl-L-carnitine treatment. *Exp Gerontol.* 1996 Sep-Oct;31(5):577-87.

8. EKLER

Ek-1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

HASTA GRUBU İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU **BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU**

ARAŞTIRMANIN ADI: “Otizm Spektrum Bozukluğu Hastalarında Hedef Gen MACROD2 Ekspresyon Profiline İncelenmesi”

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce verebilmeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyun.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR? Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB), sözel ve sözel olmayan iletişim becerilerinde yetersizlikler, sosyal ilişki kurmakla ilgili güçlükler ve tekrarlayıcı hareketler/kısıtlı ilgi alanları gibi belirtileri olan ve erken çocuklukta başlayan gelişimsel bir hastalıktır. Dünya çapında OSB'nin görülme sıklığı son yıllarda oldukça artmış olup, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki güncel bilgilere göre her 68 çocuktan 1'ini etkilemektedir. Otizmin nedenleri henüz tamamen açıklanabilmiş değildir. Yapılan çalışmalarda kalıtsal faktörlerin büyük rol oynadığı, otizmlili bireylerin bulunduğu ailelerde başka bir otizmlili birey görülme sıklığının arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle otizme neden olabilecek olası kalıtsal faktörlerin incelenmesi; hastalığı önleme, hastalığın gidişatını öngörebilme ve yeni tedavi seçenekleri geliştirebilmek için oldukça önem teşkil etmektedir. Çalışmamızın amacı, polikliniğimizde takip edilen OSB hastalığı olan çocuk ve ergenlerden kan örnekleri alarak, bu örneklerin genetik incelemelerini yaparak ve çocuğunuzun genleri ile sağlıklı gelişen diğer çocukların genleri arasında farklılıklar olup olmadığını, varsa bu farklılıkların hastalık gelişimi ile ilgili olup olmadığını belirlemektir.

KATILMA KOŞULLARI NELERDİR? Bu çalışmaya Otizm Spektrum Bozukluğu teşhisi almış, 2-18 yaş arasındaki çocuk ve ergenler katılabilir. Katılımcıların bilinen bir genetik, metabolik, ilerleyici nörolojik bir hastalık ve ağır/çok ağır zihinsel yetersizlik teşhisi almamış olması gerekmektedir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR? İTF Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Polikliniği'nde sizi takip eden doktorunuz, birtakım değerlendirmeler yaptıktan sonra klinik hemşiresi tarafından çocuğunuzdan 5 - 8 cc kan alınacak, özel bir tüpün içine alındıktan sonra incelemeyi yapacak laboratuvara gönderilecektir. Bu çalışma esnasında daha önceden kullandığınız ilaçlarınızı kullanmaya devam edebilirsiniz, çalışma ile ilgili size başka bir ilaç verilmeyecektir.

SORUMLULUKLARIM NELERDİR? Araştırma için yapılacak görüşmeye ve kan vermeye kendi imkanlarınızla gelmeniz istenecektir. Araştırmaya katıldığınız için rutin tedavi masraflarınız dışında bir parasal sorumluluk altına girmeyeceksiniz.

KATILIMCI SAYISI NEDİR? Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı en az 200'dür.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEK? Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre görüşme başına yaklaşık yarım saat kadardır. Birden fazla görüşme planlanmamaktadır. Çalışmanın 5 ay gibi bir sürede sonuçlanması amaçlanmaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARARLAR NELERDİR? Bu araştırma ile Otizm Spektrum Bozukluğu olan çocuklarda genetik farklılıklar olup olmadığını görerek hastalığın kalıtsal nedenlerini daha iyi anlamak amaçlanmaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NELERDİR? Bu araştırma için sizden kan alınacaktır. Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında kan alınan bölgede ağrı ve morarma ile nadiren işlem sırasında bayılma olabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük kan pıhtısı oluşabilir. Bu tür sorunlarla karşılaşma riskini minimuma indirmek için gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASI SAKINCA İLAÇLAR VEYA BESİNLER NELERDİR? Eğer herhangi bir nedenle kan sulandırıcı ilaç kullanıyorsanız gerekli önlemlerin alınabilmesi için bunu kan alma işleminden önce söylemelisiniz. Kan alımı esnasında aç kalmanız gerekli değildir. Çalışma esnasında tarafımızdan size herhangi bir ilaç uygulaması söz konusu olmayacağından çeşitli nedenlerle kullandığınız başka ilaçlarınız varsa bunları doktorlarınızın uygun gördüğü şekilde almaya devam ediniz.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM? Çalışma kriterlerine uymamanız veya çalışma sürecinde araştırdığımız değerlerin değişmesine neden olabilecek herhangi bir durum gelişmesi halinde çalışma dışı bırakılabilirsiniz. Bu durum çocuğunuzun tedavisini etkilemeyecektir, poliklinik hekimi takibine devam edecektir.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ARAMAM GEREKİRSE SİZE NASIL ULAŞABİLİRİM? Hastalığınızla ilgili araştırmayı ilgilendirebileceğini düşündüğünüz herhangi bir konuda, araştırma hakkında bilgi almak için ya da diğer sorularınız için 0-212-414200 dan 12885'ten Dr. İpek Kuşçu Özücer'e ulaşabilir, ya da 12832'den klinik sekreteri Sema Tınmaz'a mesaj bırakabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR? Bu araştırma ile ilgili hiçbir tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları sizden veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi veya özel kurum veya kuruluşlardan talep edilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR? Bu çalışmayı destekleyen kurum İstanbul Üniversitesi'dir.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE ŞAHSIMA HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR? Bu çalışma gönüllülük esasına dayalı olup size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR? Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz veya herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Araştırmanın sonuçları yukarıda belirtilen bilimsel amaçla kullanılacaktır. Alınan kan örnekleri, daha sonra başka kalıtsal faktörleri incelemek amacı ile de kullanılabilir. Araştırmaya katılmayı kabul etmemeniz veya araştırmadan ayrılmanız çocuğunuzun polikliniğimizdeki tedavi sürecini etkilemeyecektir.

ARAŞTIRMA ESNASINDA VERDİĞİM BİLGİLERİN GİZLİLİĞİ SAĞLANABİLECEK MİDİR? Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir. Tıbbi bilgilerinize sadece araştırmada yer alan kişilerle araştırmanın güvenilirliğini denetleyen kurum ve kuruluşlar ulaşabilirler.

Katılımcının Velisinin/Vasisinin Beyanı

Sayın Dr. İpek Kuşçu Özücer tarafından İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırmaya ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim.) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. İpek Kuşçu Özücer'e 212-4142000' dan 12885 ve 12832 no'lu telefondan ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fak. Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Süleymaniye Mahallesi Takvimhane Cad. No:19 adresinden arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında çocuğumdan alınan biyolojik örneklerin sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum
- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında çocuğumdan alınan biyolojik örneklerin ileride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında çocuğumdan alınan biyolojik örneklerin hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

İmzalı bu formun bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Velisinin/Vasisinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının

Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih

Gerekliyse olur işlemine tanık olan kişinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Yasal temsilcinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

SAĞLIKLI GÖNÜLLÜLER İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

ARAŞTIRMANIN ADI: “Otizm Spektrum Bozukluğu Hastalarında Hedef Gen MACROD2 Ekspresyon Profiline İncelenmesi”

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce verebilmeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyun.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR? Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB), sözel ve sözel olmayan iletişim becerilerinde yetersizlikler, sosyal ilişki kurmakla ilgili güçlükler ve tekrarlayıcı hareketler/kısıtlı ilgi alanları gibi belirtileri olan ve erken çocuklukta başlayan gelişimsel bir hastalıktır. Dünya çapında OSB'nin görülme sıklığı son yıllarda oldukça artmış olup, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki güncel bilgilere göre her 68 çocuktan 1'ini etkilemektedir. Otizmin nedenleri henüz tamamen açıklanabilmiş değildir. Yapılan çalışmalarda kalıtsal faktörlerin büyük rol oynadığı, otizmlili bireylerin bulunduğu ailelerde başka bir otizmlili birey görülme sıklığının arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle otizme neden olabilecek olası kalıtsal faktörlerin incelenmesi; hastalığı önleme, hastalığın gidişatını öngörebilme ve yeni tedavi seçenekleri geliştirebilmek için oldukça önem teşkil etmektedir. Çalışmamızın amacı, çocuğunuzdan kan örnekleri alarak, bu örneklerin genetik incelemelerini yaparak ve çocuğunuzun genleri ile otizmlili diğer çocukların genleri arasında farklılıklar olup olmadığını, varsa bu farklılıkların hastalık gelişimi ile ilgili olup olmadığını belirlemektir.

KATILMA KOŞULLARI NELERDİR? Bu çalışmaya Otizm Spektrum Bozukluğu teşhisi olmayan, 2-18 yaş arasındaki çocuk ve ergenler katılabilecektir. Katılımcıların bilinen bir genetik, metabolik, ilerleyici nörolojik bir hastalık ve ağır/çok ağır zihinsel yetersizlik teşhisi almamış olması gerekmektedir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR? İTF Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Polikliniği'nde, araştırmayı yürüten doktor birtakım değerlendirmeler yaptıktan sonra klinik hemşiresi tarafından çocuğunuzdan 5 - 8 cc kan alınacak, özel bir tüpün içine alındıktan sonra incelemeyi yapacak laboratuvara gönderilecektir. Bu çalışma esnasında daha önceden kullandığınız ilaçlarınızı kullanmaya devam edebilirsiniz, çalışma ile ilgili size başka bir ilaç verilmeyecektir.

SORUMLULUKLARIM NELERDİR? Araştırma için yapılacak görüşmeye ve kan vermeye kendi imkanlarınızla gelmeniz istenecektir. Araştırmaya katıldığınız için rutin tedavi masraflarınız dışında bir parasal sorumluluk altına girmeyeceksiniz.

KATILIMCI SAYISI NEDİR? Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı en az 200'dür.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEK? Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre görüşme başına yaklaşık yarım saat kadardır. Birden fazla görüşme planlanmamaktadır. Çalışmanın 5 ay gibi bir sürede sonuçlanması amaçlanmaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARARLAR NELERDİR? Bu araştırma ile Otizm Spektrum Bozukluğu olan çocuklar ile sağlıklı çocuklar arasında genetik farklılıklar olup olmadığını görerek hastalığın kalıtsal nedenlerini daha iyi anlamak amaçlanmaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NELERDİR? Bu araştırma için sizden kan alınacaktır. Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında kan alınan bölgede ağrı ve morarma ile nadiren işlem sırasında bayılma olabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da

küçük kan pıhtısı oluşabilir. Bu tür sorunlarla karşılaşma riskini minimuma indirmek için gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASI SAKINCA LI İLAÇLAR VEYA BESİNLER NELERDİR? Eğer herhangi bir nedenle kan sulandırıcı ilaç kullanıyorsanız gerekli önlemlerin alınabilmesi için bunu kan alma işleminden önce söylemelisiniz. Kan alınımı esnasında aç kalmanız gerekli değildir. Çalışma esnasında tarafımızdan size herhangi bir ilaç uygulaması söz konusu olmayacağından çeşitli nedenlerle kullandığınız başka ilaçlarınız varsa bunları doktorlarınızın uygun gördüğü şekilde almaya devam ediniz.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM? Çalışma kriterlerine uymamanız veya çalışma sürecinde araştırdığımız değerlerin değişmesine neden olabilecek herhangi bir durum gelişmesi halinde çalışma dışı bırakılabiliyorsunuz. Bu durum çocuğunuzun tedavisini etkilemeyecektir, poliklinik hekimi takibine devam edecektir.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ARAMAM GEREKİRSE SİZE NASIL ULAŞABİLİRİM? Hastalığınızla ilgili araştırmayı ilgilendirebileceğini düşündüğünüz herhangi bir konuda, araştırma hakkında bilgi almak için ya da diğer sorularınız için 0-212-414200 dan 12885'ten Dr. İpek Kuşçu Özücer'e ulaşabilir, ya da 12832'den klinik sekreteri Sema Tınmaz'a mesaj bırakabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR? Bu araştırma ile ilgili hiçbir tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları sizden veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi veya özel kurum veya kuruluşlardan talep edilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR? Bu çalışmayı destekleyen kurum İstanbul Üniversitesi'dir.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE ŞAHSIMA HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR? Bu çalışma gönüllülük esasına dayalı olup size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR? Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz veya herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Araştırmanın sonuçları yukarıda belirtilen bilimsel amaçla kullanılacaktır. Alınan kan örnekleri, daha sonra başka kalıtsal faktörleri incelemek amacı ile de kullanılabilir. Araştırmaya katılmayı kabul etmemeniz veya araştırmadan ayrılmanız çocuğunuzun polikliniğimizdeki tedavi sürecini etkilemeyecektir.

ARAŞTIRMA ESNASINDA VERDİĞİM BİLGİLERİN GİZLİLİĞİ SAĞLANABİLECEK MİDİR? Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir. Tıbbi bilgilerinize sadece araştırmada yer alan kişilerle araştırmanın güvenilirliğini denetleyen kurum ve kuruluşlar ulaşabilirler.

Katılımcının Velisinin/Vasisinin Beyanı

Sayın Dr. İpek Kuşçu Özücer tarafından İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırmaya ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim.) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. İpek Kuşçu Özücer'e 212-4142000' dan 12885 ve 12832 no'lu telefondan ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fak. Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Süleymaniye Mahallesi Takvimhane Cad. No:19 adresinden arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında çocuğumdan alınan biyolojik örneklerin sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum
- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında çocuğumdan alınan biyolojik örneklerin ileride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında çocuğumdan alınan biyolojik örneklerin hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

İmzalı bu formun bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Velisinin/Vasisinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının

Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih

Gerekliyse olur işlemine tanık olan kişinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Yasal temsilcinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

12-18 YAŞ GÖNÜLLÜLER İÇİN UYARLANMIŞ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

ARAŞTIRMANIN ADI: “Otizm Spektrum Bozukluğu Hastalarında Hedef Gen MACROD2 Ekspresyon Profiline İncelenmesi”

Merhaba!

BU FORMU LÜTFEN DİKKATLİCE OKU. ANLAMADIĞIN BİR KISIM OLURSA DOKTORUNA DANIŞABİLİRSİN.

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasın. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlayan ve kararını bu bilgilendirme sonrası özgürce verebilmen gerekmektedir. Sana özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice oku.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR? Otizm, konuşma ve arkadaşlık kurmakla ilgili güçlükler ve yineleyen hareketler yapma gibi belirtileri olan ve bebeklikte başlayan bir hastalıktır. Dünyada otizmin giderek daha çok görülmektedir ve Amerika’daki bilgilere göre her 68 çocuktan biri otizmlidir. Otizmin nedenleri henüz tamamen açıklanamamış değildir. Yapılan çalışmalarda kalıtsal (anne-babadan gelen) problemlerin önemli olduğu, otizmlili çocukların bulunduğu ailelerde başka bir otizmlili çocuk görülme sıklığının arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle otizme neden olabilecek olası kalıtsal nedenlerin incelenmesi; hastalığı önleme, hastalığın ilerleyişini tahmin etme ve yeni tedaviler geliştirmek için oldukça önemlidir. Çalışmamızın amacı, sizden kan alarak, bu örnekleri incelemek ve genleriniz ile otizmlili diğer çocukların genleri arasında farklılıklar olup olmadığını, varsa bu farklılıkların hastalık gelişimi ile ilgili olup olmadığını belirlemektir.

KATILMA KOŞULLARI NELERDİR? Bu çalışmaya Otizm Spektrum Bozukluğu teşhisi olmayan, 2-18 yaş arasındaki çocuk ve ergenler katılabilecektir. Katılımcıların bilinen bir genetik, metabolik, ilerleyici nörolojik bir hastalık ve ağır/çok ağır zihinsel yetersizlik teşhisi almamış olması gerekmektedir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR? İTF Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Polikliniği’ndeki doktorun seninle görüştüktan sonra klinik hemşiresi tarafından senden kan alınacak, özel bir tüpün içine alındıktan sonra laboratuvarında incelenecektir.

SORUMLULUKLARIM NELERDİR? Araştırma için yapılacak görüşmeye ve kan vermeye ailen ile gelmen istenecektir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR? Araştırmada yer alacak çocukların sayısı en az 200’dir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEK? Bu araştırma için doktorunla yarım saat görüşmen ve kan vermen gerekecektir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARARLAR NELERDİR? Bu araştırma ile otizmlili çocuklar ile diğer çocuklar arasındaki farklar daha iyi anlaşılacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NELERDİR? Bu araştırma için senden kan alınacaktır. Kan alınırken ve sonrasında biraz canın acıyabilir. Acımaması için elimizden geleni yapacağız.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASI SAKINCA İLAÇLAR VEYA BESİNLER NELERDİR? Kan alınırken aç olman gerekli değil. Kan almadan önce ve sonra istediklerini yiyebilirsin. Kullanmakta olduğun bir ilaç varsa, aynı şekilde içmeye devam edebilirsin.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM? Çalışma için uygun olmaman veya çalışma sürecinde araştırdığımız nedenlerde değişiklikler olursa çalışmadan çıkarılabilirsin. Bu durum poliklinik tedavini etkilemeyecektir.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ARAMAM GEREKİRSE SİZE NASIL ULAŞABİLİRİM? Araştırmayı ilgilendirebileceğini düşündüğün herhangi bir konuda, araştırma hakkında bilgi almak için ya da diğer soruların için 0-212-414200 dan 12885'ten Dr. İpek Kuşçu Özücer'e ulaşabilirsin.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR? Bu araştırma için senden ya da aileden hiçbir ücret istenmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR? Bu çalışmayı destekleyen kurum İstanbul Üniversitesi'dir.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE ŞAHSIMA HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR? Bu çalışma gönüllülük esasına dayalı olup sana herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR? Bu araştırmada yer almak tamamen senin isteğine bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsin veya istediğin zaman araştırmadan ayrılabilirsin. Araştırmanın sonuçları yukarıda belirtilen bilimsel amaçla kullanılacaktır. Alınan kan örnekleri, daha sonra başka kalıtsal faktörleri incelemek amacı ile de kullanılabilir. Araştırmaya katılmayı kabul etmemen veya araştırmadan ayrılman tedavi sürecini etkilemeyecektir.

ARAŞTIRMA ESNASINDA VERDİĞİM BİLGİLERİN GİZLİLİĞİ SAĞLANABİLECEK MİDİR? Sana ait tüm bilgiler gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgilerin verilmeyecektir. Tıbbi bilgilerine sadece araştırmada yer alan kişilerle araştırmanın güvenilirliğini denetleyen kurum ve kuruluşlar ulaşabilirler.

Katılımcının Beyanı

Sayın Dr. İpek Kuşçu Özücer tarafından İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırmaya ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim.) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. İpek Kuşçu Özücer'e 212-4142000' dan 12885 ve 12832 no'lu telefonda ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fak. Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Süleymaniye Mahallesi Takvimhane Cad. No:19 adresinden arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum
- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin ileride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ "Otizm Spektrum Bozukluğunda Hedef Gen MACROD2 Gen Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

İmzalı bu formun bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının

Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih

Gerekliyse olur işlemine tanık olan kişinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Yasal temsilcinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Ek-2: Sosyodemografik Veri Formu**Sosyodemografik Veri Formu**

Adı Soyadı:

TC Kimlik:

Dosya no:

Doğum Tarihi:

Yaşı:

Cinsiyeti:

Eğitim:

Özel eğitim:

Kardeş sayısı/yaşı:

Telefon:

Soyağacı:

IQ/QD (varsa):

Regresyon öyküsü:

Gelişim öyküsü:

Yürüme:

İlk kelime:

Cümle kurma:

Tuvalet eğitimi:

Annenin yaşı:

Annede bilinen hastalık (tıbbi/psikiyatrik):

Babanın yaşı:

Babada bilinen hastalık (tıbbi/psikiyatrik):

Akraba evliliği:

Birinci derece akrabalarda bilinen zeka ve gelişim gerilikleri, otizm spektrum bozukluğu:

Ölçekler:

- ÇODÖ:
- Sorun Davranış Kontrol Listesi
 - Aşırı hareketlilik:
 - Atalet:
 - Yinelenen davranışlar:
 - Zarar veren davranışlar:
 - Diğer davranışlar:
- Turgay Yıkıcı Davranış Bozuklukları Tarama Anketi- DEHB için alt ölçekler
 - Dikkat eksikliği:
 - Hiperaktivite ve Dürtüsellik:

Ek-3: Çocukluk Çağı Otizm Derecelendirme Ölçeği

ÇOCUKLUK OTİZMİ PUANLAMA ÖLÇEĞİ

Yönergeler: ölçeğin her bir maddesi ile ilişkili davranışları puanlayın. 15 puan ekleyin ve sondaki ölçeği kullanın.

I. İNSANLARLA İLİŞKİ

1 İnsanlarla ilişkisinde güçlük veya anormallik kanıtı tok-Çocuğun davranışları yaşına uygun. Yapacağı şeyler anlatıldığında biraz utanma, mızımlık veya sıkıntı gözlenebilir, fakat atipik derecede değildir.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal ilişkiler-çocuk yetişkinin gözüne bakmaktan kaçınabilir, ilişkiye zorlandığında yetişkinden kaçınabilir veya mızımlık yapabilir, aşırı utangaç olabilir, tipik olarak yetişkine yanıt vermeyebilir veya aynı yaştaki çocuklardan biraz daha fazla olarak anne babaya yapışkanlık gösterebilir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal ilişkiler-çocuk çoğu zaman soğuk (uzak)(yetişkinin farkında değilmiş gibi gözükür) tur. Çoğu zaman çocuğun dikkatini çekmek için ısrarcı ve zorlu çabalar gerekir. Az derecede ilişki çocukla yapılabilir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Aşırı derecede anormal ilişkiler-Çocuk belirgin derecede uzak ve soğuktur veya yetişkinin yaptıkları şeylerin farkında değildir. Hemen hemen hiç yetişkine yanıt vermez veya ilişki başlatmaz. Çok ısrarcı çabalarla bile çocuğun dikkati hiçbir şekilde çekilemez.

II. TAKLİT

1 Uygun taklit-Çocuk beceri düzeyine uygun olan sesleri, kelimeleri ve hareketleri taklit edebilir.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal taklit-Çoğu zaman çocuk alkış veya tek cümlelik basit davranışları taklit edebilir; nadiren zorlama veya özendirme sonrası veya gecikmeli olarak taklit eder.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal taklit-Çocuk yalnızca yetişkinin büyük ısrarı ve yardımı olduğu zamanlarda taklit eder; sıklıkla yalnızca bir gecikme sonrası taklit eder.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Aşırı derecede anormal taklit-Yetişkinin özendirme, zorlama ve yardımı olsa bile, ses, kelime veya hareketleri nadiren veya hiç taklit etmezler.

III. DUYGUSAL TEPKİ

1 Yaş ve duruma uygun duygusal tepkiler- Çocuk, yüz ifadesi, duruş ve tarzında bir değişikliğin görüldüğü, uygun tip ve derecede duygusal tepki gösterir.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal duygusal tepkiler-çocuk nadiren biraz uygunsuz tip ve derecede duygusal tepkiler gösterir. Tepkiler bazen çevresindeki nesne veya olaylarla ilişkisizdir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal duygusal tepkiler-çocuk belirgin şekilde uygunsuz tip ve/veya derecede duygusal tepki gösterirler. Tepkiler oldukça kaçınan veya aşırı ve durumla ilişkisiz olabilir; grimas, gülme olabilir veya belirgin duygusal tepki oluşturan nesne veya olaylar olmasa bile katı olabilir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Aşırı derecede anormal duygusal tepkiler-tepkiler nadiren duruma uygundur. Çocuk belirli duygu duruma geldiğinde, duygu durumunu değiştirmek çok zordur. Ters olarak hiçbir değişiklik olmadığı zaman çok farklı duygulanımlar gösterebilir.

IV. VÜCUT KULLANIMI

1 Yaşa uygun vücut kullanımı-çocuk aynı yaştaki normal çocuklarla aynı kolaylık, çeviklik ve koordinasyonla hareket eder.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal vücut kullanımı- bazı minör tuhafliklar olabilir, örneğin sakarlık, tekrarlayıcı davranışlar, zayıf koordinasyon veya nadiren daha olağandışı davranışların gözlenmesi.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal vücut kullanımı-Bu yaş çocuğu için açıkça tuhaf veya olağandışı davranışlar şunlar olabilir: garip parmak hareketleri, acayip parmak veya vücut postürü, vücudu dikleştirme veya toplama, kendine yönelik saldırganlık, sallanma, kendi etrafında dönme, parmak oynatma veya parmak uçlarında yürüme.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Orta derecede anormal vücut kullanımı-yukarıda sayılan davranışları yoğun veya sık göstermesi. Bu davranışlar engellemeye çalışma veya diğer etkinliklere çocuğu katılmasına rağmen devam edebilir.

V. NESNE KULLANIMI

1 Oyuncak ve diğer nesneleri ilgilenme ve uygun kullanma-beceri düzeylerine uygun oyuncak ve diğer nesnelere uygun ilgi gösterme ve bu oyuncakları uygun tarzda kullanma.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Oyuncak ve diğer nesnelere ilgi ve kullanmada hafif derece uygunsuzluk-çocuk bir oyuncağa atipik ilgi gösterebilir veya uygunsuz çocuksu tarzda oynayabilir (örneğin, oyuncağı etrafa çarpma veya emme)

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Oyuncak ve diğer nesnelere ilgi ve kullanmada orta derece uygunsuzluk-çocuk oyuncak ve diğer nesnelere az ilgi gösterebilir veya bazı tuhaf şekilde bir oyuncak veya nesne kullanarak zaman geçirir. Oyuncağın önemsiz bir parçasına odaklanabilir, ışık saçan nesnelere hayranlık duyabilir, nesnenin bir kısmın tekrarlayıcı bir tarzda hareket ettirebilir, veya bir obje ile sürekli oynayabilir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Oyuncak ve diğer nesnelere ilgi ve kullanmada aşırı derece uygunsuzluk-çocuk yukarıda bahsedilen davranışları yoğunluk ve sıklık olarak daha fazla gösterir. Çocuğu bu uygunsuz etkinliklerden ayırmak güçtür.

VI. DEĞİŞİKLİKLERE UYUM SAĞLAMA

1 Değişikliklere yaşına uygun tepki- günlük sıradanlıktan değişiklik gösterdiği zaman, çocuk büyük bir sıkıntı göstermeksizin, bu değişiklikleri kabul eder.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Değişikliklere uyumda hafif derecede anormallik-yetişkin görevleri değiştirmeye çalıştığında, çocuk aynı aktivitesine devam edebilir veya aynı materyali kullanabilir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Değişikliklere uyumda orta derecede anormallik-çocuk rutinden olan değişikliklere aktif olarak direnç gösterir veya eski etkinliğine devam etmeye çalışır. Ve onu bu etkinlikten uzaklaştırmak güçtür. Rutini değiştirildiği zaman kızgın veya mutsuz olabilir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Değişikliklere uyumda aşırı derecede anormallik-çocuk değişikliklere aşırı tepki gösterir. Değişiklik için zorlandığında, aşırı kızgın veya bozulmuş işbirlikçi olur ve öfke nöbetleri gösterir.

VII. GÖRSEL TEPKİ

1 yaşına uygun görsel tepki-çocuğun görsel davranışı normaldir ve yaşına uygundur. görme, yeni bir nesneyi araştırma şekli olarak diğer duyularla birlikte kullanılır.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal görsel tepki- çocuk nesnelere bakmayı çok daha nadiren hatırlar. Çocuk arkadaşlarından çok aynalara veya ışıklara bakmakla daha ilgili olabilir. Nadiren boşluğa bakıp durabilir veya insanların gözüne bakmaktan da kaçınabilir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal görsel tepki-yaptığı şeye büyük olasılıkla bakmaktadır. Boşluğa bakıp durabilmektedir, insanların gözlerine bakmaktan kaçınmaktadır, nesnelere olağandışı açıdan bakmaktadır veya neneleri tutmak için gözlerini çok yaklaştırmaktadır.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Aşırı derecede anormal görsel tepki-çocuk belirgin derecede insanlara ve belirli nesnelere bakmaktan kaçınır ve yukarıda sayılan diğer görsel tuhaflikların ileri şekilleri gözlenebilir.

VIII. DİNLEME TEPKİSİ

1 Yaşına uygun dinleme tepkisi-çocuğun dinleme davranışı normaldir ve yaşına uygundur. dinleme diğer duyularla birlikte kullanılır.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal dinleme tepkisi-tepkide kısmi eksiklikler olabilir veya belli seslere hafif aşırı tepkiler olabilir. Seslere tepkiler gecikmiş olabilir ve çocuğun dikkatini çekmek için sesleri tekrarlamak gerekebilir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal dinleme tepkisi-çocuğun seslere tepkisi çeşitlidir; sıklıkla ilk bir kaç kez duyduğu seslere karşı umursamazdır; her gün duyduğu sesleri işittiğinde irkilebilir veya kulaklarını kapayabilir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 İleri derecede anormal dinleme tepkisi-çocuk seslere karşı, sesin tipine bakmaksızın, aşırı tepki gösterir ve/veya hiç tepki göstermez.

IX. TAD, KOKU VE DOKUNMA TEPKİLERİ VE KULLANIMI

1 Tat, koku ve dokunmayı normal kullanma ve normal tepki-çocuk yeni nesneleri yaşına uygun bir tarzda araştırır, genellikle hissederek ve bakarak. Uygun olduğunda tat ve koku kullanılabilir. Az bir ağrıya reaksiyon olduğunda çocuk rahatsızlığını ifade eder fakat aşırı tepki göstermez.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Tat, koku ve dokunmayı hafif derecede anormal kullanma ve tepki-çocuk nesneleri ağzına götürmekte ısrarcı olabilir; yenmeyen nesneleri koklayabilir veya tadabilir; hafif bir acıya normal çocuğun gösterdiği huzursuzluğu göstermeyebilir veya aşırı gösterebilir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Tat, koku ve dokunmayı orta derecede anormal kullanma ve tepki-çocuk nesne ve insanlara dokunma, koklama veya tatma ile orta derecede meşgul olur. Acıya ya çok tepki veya çok çok az tepki gösterir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Tat, koku ve dokunmayı ileri derecede anormal kullanma ve tepki- çocuk nesne ve insanlara dokunma, koklama veya tatma ile aşırı derecede meşgul olur. Acıya ya aşırı tepki veya hiç tepki göstermez.

X. KORKU VEYA ÜRKEKLİK

1 Normal korku veya ürkeklik-çocuğun davranışı hem durum hem de yaşıyla uygundur.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal korku veya ürkeklik-aynı yaştaki bir çocuğun benzer ortamda gösterdiği tepkiyle karşılaştırıldığında, çocuk çok az korku ve ürkekliği sık gösterir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal korku veya ürkeklik- aynı yaştaki bir çocuğun benzer ortamda gösterdiği tepkiyle karşılaştırıldığında, çocuk oldukça çok az veya çok fazla korku ve ürkekliği sık gösterir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Aşırı derecede anormal korku veya ürkeklik- aynı yaştaki bir çocuğun benzer ortamda gösterdiği tepkiyle karşılaştırıldığında, çocuk oldukça çok az veya çok fazla korku ve ürkekliği sık gösterir.

XI. SÖZEL İLETİŞİM

1 Yaş ve duruma uygun normal sözel iletişim

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal sözel iletişim-konuşma bütünüyle geridir. Konuşmanın çoğu anlamlıdır; bazen ekolali veya zamiri ters kullanma olabilir. Nadiren bazı tuhaf kelimeler veya jargon kullanabilir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal sözel iletişim-konuşma olmayabilir. Var olduğunda, sözel iletişimde bazı anlamlı konuşma içinde jargon, ekolali veya zamirin ters kullanımı gibi tuhaf konuşması olabilir. Anlamlı konuşmadaki tuhafliklar aşırı soru sorma veya özel bir konu ile aşırı uğraşmayı da içerir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 İleri derecede anormal sözel iletişim-anlamlı konuşması olmaz. Çocuk bebeksi sesler, tuhaf veya hayvansı sesler, konuşmayı andıran karmaşık sesler çıkarabilir, veya bazı anlaşılabilir kelimelerin veya cümleciklerin ısrarlı bizar kullanımı olabilir.

XXII. SÖZEL OLMAYAN İLETİŞİM

1 Yaş ve duruma uygun normal sözel olmayan iletişim

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal sözel olmayan iletişim kullanma-sözel olmayan iletişimin immatur kullanımı çocuğun istediği şeye işaret eden jestlerde yalnızca belirsizlik olabilir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal sözel olmayan iletişim kullanma-çocuk gereksinim veya arzularını nonverbal olarak belirtememektedir, ve diğerlerinin sözel olmayan iletişimlerini anlayamamaktadır.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 İleri derecede anormal sözel olmayan iletişim kullanma-çocuk yalnızca açık anlamı olmayan bizar veya tuhaf jestler kullanır veya başkalarının jestlerinin veya yüz ifadeleri ile ilişkili anlamların farkında değilmiş gibi gözükür.

XIII. ETKİNLİK DÜZEYİ

1 Yaşam ve şartlara uygun normal etkinlik düzeyi-çocuk benzer durumdaki aynı yaş normal çocuğa göre çok veya az etkin değildir.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal etkinlik düzeyi-çocuk hafif derecede hareketli veya biraz tembel olabilir ve çoğu zaman yavaş hareket eder. Çocuğun etkinlik düzeyi onun performansının hafif derecede etkiler.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal etkinlik düzeyi-çocuk çok aktif ve kısıtlanması güç olabilir. Sınırsız bir enerjiye sahip olabilir ve gece kolayca uyumaya gitmeyebilir. Ters olarak çocuk oldukça uyuşuk olabilir ve onu hareket ettirmek için sürekli çaba gerekir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 İleri derecede anormal etkinlik düzeyi-çocuk aşırı aktivite ya da aşırı inaktivite gösterir ve bir uçtan diğer uca kaymalar gösterebilir.

XIV. ENTELEKTÜEL YANITIN DÜZEYİ VE UYGUNLUĞU

1 Normal ve pek çok alanda uygun tutarlılık gösteren zeka: Çocuk aynı yaştaki tipik çocuklar kadar zekidir ve olağandışı zihinsel becerileri ya da problemleri yoktur.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif derecede anormal zihinsel işlevsellik: Çocuk aynı yaştaki tipik bir çocuk kadar zeki değildir, yaklaşık tüm alanlarda beceriler aynı düzeyde gerilik gösterir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede anormal zihinsel işlevsellik: Çocuk genel olarak aynı yaştaki tipik bir çocuk kadar zeki değildir, ancak bir yada daha fazla alanda normale yakın işlevsellik gösterebilir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Ağır derecede anormal zihinsel işlevsellik: çocuk aynı yaştaki tipik bir çocuk kadar zeki değilken, zihinsel gelişimim bir ya da daha fazla alanında normal bir çocuktan bile daha iyi işlev gösterebilir.

XV. GENEL İZLENİMLER

1 Otizm yok: Çocuk otizme ait belirtilerin hiçbirini göstermez.

1.5 (Bu puanlar arasında ise)

2 Hafif otizm: çocuk yalnızca az sayıda yada yalnızca hafif derecede otizm belirtileri gösterir.

2.5 (Bu puanlar arasında ise)

3 Orta derecede otizm: çocuk belirli sayıda yada orta derecede otizm belirtileri gösterir.

3.5 (Bu puanlar arasında ise)

4 Ağır otizm: Çocuk otizm belirtilerinden çoğunu ya da ağır derecede otizm gösterir.

15-29 Otizm yok

30-37 Hafif-Orta Derecede Otistik

38-60 Aşırı Derecede Otistik



Ek-4: Sorunlu Davranışlar Kontrol Listesi

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK RUH SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
OTİZM BİRİMİ

Sorun Davranışlar Kontrol Listesi

Hastanın Adı ;
Dosya No ;

Doğum Tarihi ;
Tarih ;

Aşağıdaki soruları, çocuğunuzun son 1 aydır davranışları göz önünde bulundurarak doldurunuz.

- 0..... davranış problem oluşturmaz
1..... davranış hafif şiddette bir problem oluşturur.
2..... davranış orta derecede bir problem oluşturur.
3..... davranış şiddetli probleme yol açar.

1. Atılgandır (düşünmeden hareket eder.)	0	1	2	3
2. İtaatsizdir, kontrol etmek güçtür.	0	1	2	3
3. Sakin oturamaz.	0	1	2	3
4. Aşırı hareketli olmaya eğilimlidir.	0	1	2	3
5. Grup etkinliklerini bozar.	0	1	2	3
6. Odada sürekli olarak koşar ya da zıplar.	0	1	2	3
7. Aşırı derecede hareketlidir.	0	1	2	3
8. Diğerlerini rahatsız eder.	0	1	2	3
9. Taşkındır (uygun olmayan şekilde gürültülü, hoyrat)	0	1	2	3
10. Ders sırasında yerinde oturamaz.	0	1	2	3
11. Nesneleri bir yere vururken ayaklarını yere vurur ya da kapıları çarpar.	0	1	2	3
12. Diğer çocuklara ve yetişkinlere karşı saldırganır.	0	1	2	3
13. Garip, tuhaf davranışları vardır.	0	1	2	3
14. Yönergeleri kasıtlı olarak duymazlıktan gelir.	0	1	2	3
15. Huzursuz, sakın oturamaz.	0	1	2	3
16. Sınıf etkinliklerinde tepki vermez.	0	1	2	3
17. Diğerlerine çok az sosyal tepki verir.	0	1	2	3
18. Sözcükler ya da jestlerle iletişim kurmaya çalışmaz.	0	1	2	3
19. İlişki kurmak ya da ulaşmak güçtür.	0	1	2	3
20. Kendisi ile konuşulduğunda dikkatini vermez.	0	1	2	3
21. Sabit yüz ifadesi, duygusal tepkilerinde yetersizlik vardır.	0	1	2	3
22. Hiçbir şey yapmaz, oturup etrafı seyreder.	0	1	2	3
23. İşbirliği yapmaz.	0	1	2	3
24. Yönergelere dikkatini vermez.	0	1	2	3
25. Bir pozisyonda uzun zaman oturur ya da durur.	0	1	2	3
26. Yalnız kalmayı tercih eder.	0	1	2	3
27. İçeride kapanıktır, yalnız etkinlikleri tercih eder.	0	1	2	3
28. Kendisini diğerlerinden uzak tutar.	0	1	2	3
29. Dalgın, boşluğa bakar.	0	1	2	3
30. Kayıtsız, tembel /miskin, hareketsizdir.	0	1	2	3
31. Kolayca dikkati başka tarafa çekilir.	0	1	2	3
32. Sevgiye/ şefkate olumsuz tepki verir.	0	1	2	3
33. Hareketsizdir, asla kendiliğinden hareket etmez.	0	1	2	3
34. Anlamsız, tekrarlanan vücut hareketleri vardır.	0	1	2	3
35. Yinelenen el, baş ve vücut hareketleri vardır.	0	1	2	3
36. Öne arkaya sallanır.	0	1	2	3
37. Kollarını, bacaklarını sürekli olarak sallar.	0	1	2	3
38. Yinelenen, tekrar edilen hareketleri vardır.	0	1	2	3
39. Hareket eder ya da başını öne arkaya sallar.	0	1	2	3
40. Kasıtlı olarak kendini incitir.	0	1	2	3

41. Kendine fiziksel zarar verir.	0	1	2	3
42. Kendisine zarar verir.	0	1	2	3
43. İstekleri hemen yerine getirilmelidir.	0	1	2	3
44. Tekrarlanan konuşmaları vardır.	0	1	2	3
45. Duygu durumu çabuk değişir.	0	1	2	3
46. Diğerlerinden ayrı olmayı ister.	0	1	2	3

1. Aşırı bereketlilik (1-15) ;
 2. Atalet (16-33) ;
 3. Yinelenen davranışlar (34-39) ;
 4. Zarar veren davranışlar (40-42) ;
 5. Diğer davranışlar (43-46) ;
- TOPLAM PUAN ;
-

Ek-5: Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozuklukları için DSM-V'e Dayalı Tarama ve Değerlendirme Ölçeği

Davranış sorunları yada bozukluklarına çocukluk ve ergenlik döneminde oldukça çok rastlanmaktadır. Bu tarama ve değerlendirme ölçeği Amerikan Psikiyatri Birliği'nce ruhsal bozuklukların değerlendirilmesinde kullanılan en son tanı ölçütlerine ve Dr. Turgay'ın konuya ilişkin araştırma bulgularına dayanmaktadır.

Aşağıdaki sorular şu an değerlendirilmesini yaptığımız çocuğun/gencin sık rastlanan davranış sorunlarının bazılarını gözden geçirecek ve değerlendirecektir. Lütfen her bir soruda size en uygun gelen seçeneği işaretleyiniz.

SOYADI :

ADI :

YAŞ :

CİNSİYET :

BUGÜNÜN TARİHİ :

FORMU DOLDURAN KİŞİNİN ÇOCUĞA / GENCE OLAN YAKINLIĞI:

ÇOCUK VE ERGENLERDE DAVRANIM BOZUKLUKLARI İÇİN DSMV-IV'E DAYALI TARAMA VE DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ (Dr. Atilla Turgay, Eylül 1995)

1. BÖLÜM

A. DİKKATSİZLİK

Sorun	Sorunun Derecesi			
	Yok	Biraz	Fazla	Çok Fazla
1. Dikkatini ayrıntılara veremez yada okul ödevlerinde, işinde yada diğer etkinliklerde dikkatsizce hatalar yapar.	0	1	2	3
2. Üzerine aldığı görevlerde yada oynadığı oyunlarda dikkatini sürdürmede zorluk çeker.	0	1	2	3
3. Kendisine doğrudan hitap edildiğinde dinlemiyormuş gibi görünür.	0	1	2	3
4. Yönergeleri gerektiği gibi izlemez ve okul ödevlerini, ufak tefek işleri yada iş yerindeki görevlerini tamamlayamaz.	0	1	2	3
5. Görev ve etkinliklerini düzenlemekte güçlük çeker.	0	1	2	3
6. Uzun süreli dikkat gerektiren işlerden (okul ödevi, ev ödevi gibi) kaçınır, bunlardan hoşlanmaz ve bunlara karşı isteksizdir.	0	1	2	3
7. Üzerine aldığı görev yada etkinlikler için gerekli olan eşyaları (kalem, kitap, oyuncak, araç-gereç gibi) kaybeder.	0	1	2	3
8. Dikkati kolayca dağılır.	0	1	2	3
9. Günlük etkinliklerde unutkanır.	0	1	2	3

1A bölümünde karşılanan ölçüt sayısı:

..... /9

1A bölümünden alınan toplam puan:

...../27

Telif hakkı Integrative Therapy Institute'a aittir. Dr. Atilla Turgay'ın izni ile kullanılmaktadır.

Atilla Turgay M.D. Clinical Director, Scarborough General Hospital, Child and Adolescent Psychiatry and Mental Health Division.

1. BÖLÜM

B. AŞIRI HAREKETLİLİK- DÜRTÜSELLİK

AŞIRI HAREKETLİLİK

Sorun	Sorunun Derecesi			
	Yok	Biraz	Fazla	Çok Fazla
10. Elleri ayakları kıpır kıpırdır yada oturduğu yerde kıpırdanır.	0	1	2	3
11. Sınıfta yıl yada oturması gereken diğer durumlarda yerinde oturamaz.	0	1	2	3
12. Uygun olmayan durumlarda sağa sola koşturur yada tırmanır (gençlerde ya da erişkinlerde huzursuzluk ile sınırlı olabilir.)	0	1	2	3
13. Sokakta oyun oynamakta yada boş zaman etkinliklerine katılmakta güçlük çeker.	0	1	2	3
14. Hep hareket halindedir yada sanki motor takılmış gibi davranır.	0	1	2	3
15. Çok konuşur.	0	1	2	3

DÜRTÜSELLİK

16. Sorulan soru tamamlanmadan yanıt verir.	0	1	2	3
17. Sırasını beklemekte güçlük çeker.	0	1	2	3
18. Başkalarının sözünü keser yada yaptıklarının arasına girer (başkalarının konuşmaları yada oyunlarına burnunu sokar.)	0	1	2	3

1B bölümünde karşılanan ölçüt sayısı

...../9

1B bölümünden alınan toplam puan

...../27

1A ve 1B bölümlerinde karşılanan toplam ölçüt sayısı

...../18

Bölüm 1A ve 1B'nin toplam puanı

...../54

Ek-6: Etik Kurul Onayı



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 834
Konu: Doç. Dr. Murat COŞKUN hk.

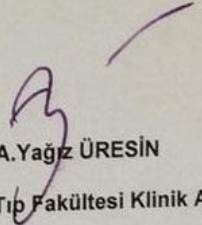
Tarih : 03.07.2017

Sayın Doç. Dr. Murat COŞKUN
 Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları

İlgi : Çocuk Ruh Sağlığı Anabilim Dalının 12/06/2017 gün ve 222079 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Dr. İpek Kuşçu ÖZÜCER' in yürüteceği 2017/750 dosya numaralı "Otizm Spektrum Bozukluğu Hastalarında Hedef Gen TMLHE Ekspresyon Profilinin İncelenmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 23/06/2017 gün ve 12 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof. Dr. A.Yağz ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
TELEFON	0 (212) 414 21 53
FAKS	0 (212) 414 21 53
E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Otizm Spektrum Bozukluğu Hastalarında Hedef Gen TMLHE Ekspresyon Profiline İncelenmesi"			
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Murat COŞKUN			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı			
DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
	Yüksek Doz Araştırması	☐		
	Diğer ise belirtiniz :			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU						
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		"Otizm Spektrum Bozukluğu Hastalarında Hedef Gen TMLHE Ekspresyon Profiline İncelenmesi"				
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐		
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	☐	Açıklama			
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐				
	SIGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:12	Tarih: 23/06/2017				
	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Murat COŞKUN ' un sorumluluğunda ve Dr. İpek Kuşçu ÖZÜCER' in yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU						
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN				
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İZİNLİ
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
* :Araştırma ile ilişki ** :Toplantıda Bulunma						
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır.						

Ek-7: Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi- Proje Özet Raporu

		T.C.İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ	
		Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi	
PROJE ÖZET RAPORU			
Proje Yürütücüsü	Doç.Dr. Murat COŞKUN		
Proje Kodu	TTU-2017-26606		
Proje Başlığı	Otizm Spektrum Bozukluğu Hastalarında Hedef Gen TMLHE Ekspresyon Profiline İncelenmesi		
Proje Türü	Tıpta Uzmanlık Tez		
Proje Grubu	Tıp Sağlık		
Süresi (Ay)	6		
Proje Durumu	Yürüyen Proje		
Başvuru Tarihi	21.8.2017	Muhtemel Bitiş Tarihi	22.03.2018
Başlangıç Tarihi	22.9.2017	Bitiş Tarihi	
Ek Süre 1 (Ay)	6	Ek Süre 2 (Ay)	12
Onaylanan Bütçesi	7.992,00 TL		
Ek Ödenek 1	0,00 TL		
Ek Ödenek 2	0,00 TL		
Ek Ödenek 3	0,00 TL		
Toplam Bütçe	7.992,00 TL	Gerçekleşen Harcama	7.560,00 TL

Proje Özeti

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), sosyal-iletişimsel alanda belirgin yetersizlikler ve sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar ve ilgi alanları ile seyreden nörolojik gelişimsel bozukluktur. OSB'nin tam sebepleri bilinmemekle birlikte, pek çok faktörün rolü olabileceği, bu faktörler içinde genetik faktörlerin özel önemi olduğu bilinmektedir.

Yağ asidi b-oksidasyon (FAO) defektleri ve karnitin biyosentezindeki bozukluklar ile otizm arasında ilişki olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Otizmlili çocukların dolaşımındaki karnitin veya açil-karnitin düzeyleri bozulmuştur – bu, uzun zincirli FAO defektine işaret eden fenotipik bir değişikliktir. Karşılıklı olarak, genetik tarama ile FAO-defektli tanımlanan çocuklar sıklıkla gelişimsel gecikme gibi otizmin önde gelen özelliklerini gösterirler.

TMLHE, trimetillizin dioksijenazı (TMLD) kodlar. TMLD, karnitin biyosentez yolağının ilk enzimidir. Artmış otizm riski ile TMLHE mutasyonları arasında klinik ilişki kurulmuştur. Ayrıca, otizmde karnitin takviyesinin klinik iyileşme sağladığını gösteren bir çalışma bulunmaktadır.

Yöntem: İTF Çocuk-Ergen Psikiyatrisi polikliniğinde OSB tanısı almış 100 kişilik vaka grubu ve yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş OSB tanısı olmayan 100 kişilik kontrol grubu oluşturulacaktır.

Vaka grubu ailelerinden sosyodemografik ve soyağacı bilgileri kaydedilecek, ÇODÖ ile otizmin şiddeti, SDKL ile eşlik eden problemler davranışlar derecelendirilecek, Turgay Yıkıcı Davranış Bozuklukları Tarama Anketi ile DEHB taranacaktır. Daha sonra hastalardan kan alınacak ve TMLHE gen ekspresyon analizi yapılacaktır.

Kontrol grubundan da kan alınarak aynı şekilde RNA ölçümü yapılacaktır.

İki grubun gen ekspresyon düzeyi karşılaştırılacak, ölçek puanlarıyla gen ekspresyon seviyeleri arasındaki korelasyon hesaplanacaktır.

Çalışma sonunda, TMLHE düşük gen ekspresyonunun sıklığı, Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan gen mutasyon sıklığından akraba evliliklerinin daha fazla olması ve epigenetik değişikliklerin gen ekspresyonunu etkileyebilmesi nedeniyle daha fazla olabilir.

Bu çalışma, TMLHE gen ekspresyonu ile otizm şiddeti ve sorun davranışlar arasındaki olası ilişkiyi belirleyerek gen ekspresyon profili ve fenotip ilişkisini incelemek, düşük gen ekspresyonu saptanan hastalar için hastalık oluşturu mekanizmaların aydınlatılması ve yeni tedavi imkanları sunması açısından

önem taşımaktadır.

Proje Ekibi

Doç.Dr. AHMET OKAY ÇAĞLAYAN, Dr. İPEK KUŞÇU ÖZÜCER

Araştırma Alanları

Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları

Anahtar Kelimeler

otizm, hedef gen, gen ekspresyonu, tmlhe, karnitin,

Rapor Takvimi (Projenin onaylanan rapor planı)

Sıra	Başlık	Beklenen Tarih	Ekleme Tarihi	Onay Tarihi
1	Ara Rapor	22.03.2018	18.07.0018	13.08.0018
2	Ara Rapor	24.09.2018	19.03.2019	
3	Ara Rapor	22.03.2019	19.03.2019	
4	Sonuç Raporu	23.09.2019		

Proje Bütçesi

Bütçe Türü	Tanımı / Adı	Miktar	K.Miktar	Birimi	Birim Fiyatı	KDV	Tutar (KDV'li)	Durumu
Hizmet Alımı	Ekspresyon analizi	100	0	Test	74,00 TL	8	7.992,00 TL	Onaylanan

Bütçe Özeti

Bütçe Türü	Tutar	Yüzde (%)
Hizmet Alımı	7.992,00 TL	100

Kullanılabilir Bütçe Özeti

	Toplam	Harcama	Avans	Sipariş	Kalan
Seyahat	0,00 TL	0,00 TL	0,00 TL		0,00 TL
Mal,Malzeme,Hizmet	7.992,00 TL	7.560,00 TL	0,00 TL	0,00 TL	432,00 TL

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı-soyadı: İpek Kuşçu Özücer

Doğum tarihi: 2 Ocak 1990

Adres: İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hast. Anabilim Dalı, Esnaf Hastanesi Ek hizmet binası, Beyazıt, Fatih, İstanbul.

Telefon: 05552443644

E-mail: ipekkuscuozucer@gmail.com

Eğitim:

1. 10.01.2014 – şimdi: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Psikiyatri ABD
2. 2007 – 2013: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İngilizce Program
3. 2004 - 2007: Ankara Özel Tevfik Fikret Lisesi

Kongreler ve Ulusal Toplantılar

1. .24. Ulusal Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kongresi, 9-12 Nisan 2015, Konya
2. 25. Ulusal Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kongresi, 1-4 Nisan 2015, İstanbul
3. AACAP's 62nd Annual Meeting, 26-31 Ekim 2015, San Antonio, Amerika
4. 8. Uluslararası Psikofarmakoloji Kongresi ve 4. Uluslararası Çocuk ve Ergen Psikofarmakolojisi Sempozyumu, 20-24 Nisan 2016, Antalya
5. AACAP's 63nd Annual Meeting, 24-29 Ekim 2016, New york, Amerika
6. Foundation Child 13th International Training Research Seminar in Child & Adolescent Psychiatry, A Research Training Course for Junior Investigators, 12-17 Mart 2017, Bertinoro, Italya

Sözlü Sunumlar:

1. “The FOLH1 Polymorphism: Association with Autism and Related Aberrant Behaviors,” İpek Kuşçu Özücer, Foundation Child 13th International Training Research Seminar in

Child & Adolescent Psychiatry, A Research Training Course for Junior Investigators,
Mart 2017, Bertinoro, Italya

Poster Sunumları:

1. “Childhood disintegrative disorder” Kuşçu Özücer İ, Üçok A., 8th International Congress on Psychopharmacology & 4th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology, 20-24 Nisan 2016, Antalya

Tıpta Uzmanlık Eğitimi Sırasındaki Ek Görevlendirmeler:

1. Yale Child Study Center’da misafir araştırma görevlisi olarak gözlemcilik, 31 Ekim 2016-27 Ocak 2017, New Haven, Amerika
2. UC Davis MIND Institute ve UC Davis- Early Psychosis Programs’ta misafir araştırma görevlisi olarak gözlemcilik, 15 Haziran-31 Temmuz 2015, Sacramento, Amerika