

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI



**Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Hastalarda ACGH ve Yeni Nesil Dizileme
Analizi Yöntemlerinin Retrospektif Olarak Karşılaştırılması**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Nihan Ecmel TURAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. FATMA SILAN

ÇANAKKALE/2024

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Hastalarda ACGH ve Yeni Nesil Dizileme
Analizi Yöntemlerinin Retrospektif Olarak Karşılaştırılması**

UZMANLIK TEZİ

Dr. NİHAN ECMEL TURAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. FATMA SILAN

ÇANAKKALE/2024

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın hazırlanmasında emeği ve desteği bulunan değerli kişi ve kurumlara teşekkürlerimi sunmak istiyorum. İlk olarak en büyük teşekkürümü tüm asistanlık sürecinde her zaman destekleriyle ve tecrübeleriyle yanımda olan, tezimde rehberlik yapan ve bana yol gösteren kıymetli hocam Prof. Dr. Fatma Sılan'a etmek istiyorum, kendisine minnettarım.

Tıp fakültesinde öğrencilik yaptığım dönemlerden beri yanımda olan, hayatımın her alanında bana destek olan, bu zorlu süreçte bana sonsuz sevgi, sabır ve destek sunan eşim Mertcan Turan'a teşekkür ederim. Onun desteği, bu sürecin her aşamasında bana güç verdi.

Varlıklarıyla hayatıma anlam katan biricik yavrularım Hilal Meyra ve İsmail Aybars'a, sabırları ve anlayışları için teşekkür ederim. Sizlerin varlığı, bu süreçteki en değerli motivasyon kaynağım oldu.

Beni bu günlere getiren tüm aileme ama özellikle de tez sürecimde deneyimlerini benimle paylaşan ve bana yol gösteren çok kıymetli ablam Op.Dr. Emine Betül Özyürek'e, bana her konuda gösterdiği ilgi, yardımlar ve moral desteği için teşekkür ederim.

Son olarak da asistanlığa başladığım ilk günden beri beni büyük bir sıcaklık ve samimiyetle karşılayan kendimi evimde gibi hissettiren Tıbbi Genetik Laboratuvarındaki tüm ekip arkadaşlarıma çok teşekkür ederim iyiki varsınız hepimizin yolu açık olsun.

Dr. Nihan Ecmel Turan

Çanakkale, 2024

Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Hastalarda ACGH ve Yeni Nesil Dizileme Analizi Yöntemlerinin Retrospektif Olarak Karşılaştırılması

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Otizm Spektrum Bozukluğu, yaşamın erken dönemlerinde başlayan sosyal iletişimde bozulma, tekrarlayan duyuşsal ve motor davranışlar, ilgi alanlarında kısıtlılık, dil ve konuşma bozuklukları ve duyuşsal davranışların gelişiminde gerilik ile seyreden nörogelişimsel bir bozukluktur. OSB'nin yaygınlığı giderek artmakla birlikte dünya genelinde %1 olarak tahmin edilmektedir. Yapılan tüm çalışmalara rağmen otizmlı bireylerin sadece %15-20'sinde etyolojik bir faktör tespit edilebiliyor olup bu faktörler arasında; genetik, epigenetik, nöroanatomik yapısal ve çevresel faktörler en bilinenleridir. Otizmlı bireylerin yaklaşık %40'ında otizm fenotipiyle ilişkili genetik anomaliler saptanmıştır. Çalışmamızda daha önceden OSB tanısıyla aCGH ve Yeni Nesil Dizileme analizi yapılmış hastaların verilerin retrospektif olarak incelenmesi ve bu testlerin otizmin genetik tanısında rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Çalışmamızda Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine, 01.01.2024 tarihine kadar otizm spektrum bozukluğu tanısıyla başvuran ve Yeni Nesil Dizileme Analizi ve aCGH analizi yapılmış 79 hastanın verilerinin retrospektif olarak analizinin yapılması hedeflenmiştir. Yeni Nesil Dizileme Analizi yöntemlerinden tüm ekzom dizi analizi (WES) ve klinik ekzom dizi analizi (CES) kullanılmıştır. Saptanan varyantlardan patojenik/muhtemel patojenik ve VUS olan varyantlar çalışmaya dahil edilmiştir.

BULGULAR: Çalışmamıza 64'ü erkek 15'i kadın olmak üzere toplam 79 OSB tanısı almış hasta alınmıştır. Hastalara yapılan aCGH analizi sonucunda %46,8'inde, NGS analizi sonucunda %84,8'inde klinikle ilişkili VUS,patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmışken, hastaların %38'inde hem aCGH hem NGS analizinde klinik ile ilişkili VUS,patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmıştır. Hastaların %44,3'ünde sadece WES/CES ile, %8,9'unda sadece aCGH ile varyant saptanabilmişken %6,3'ünde iki yöntem ile de klinikle ilişkili varyant saptanamamıştır. Çalışmamız sonucunda OSB

hastalarında Acgh'in tanısal verimi %20,2, NGS'nin tanısal verimi %30,4 olarak belirlenmiş olup bu iki testin beraber kullanıldığında tanısal verimin %48,1'e yükseldiği tespit etmiş bulunmaktayız.

SONUÇ: OSB multifaktöriyel poligenik bir hastalık olmakla birlikte hastaların yaklaşık olarak %40'ı genetik tanı alabilmektedir. OSB ile ilişkilendirilen birçok farklı genetik varyant bulunması nedeniyle her ne kadar literatürde ilk tercih test olarak aCGH önerilse de, çalışmamızda primer tanı yöntemi olarak NGS'nin kullanılmasının hem tanısal verim açısından daha etkin olduğunu tespit etmiş olmakla birlikte OSB'nin genetik tanısında en ideal olanın Acgh ve NGS yöntemlerinin beraber kullanılması olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: otizm spektrum bozukluğu, aCGH, Yeni Nesil Dizileme, tüm ekzom dizileme, klinik ekzom dizileme

Retrospective Comparison of ACGH and Next-Generation Sequencing Methods in Patients Diagnosed with Autism Spectrum Disorder

ABSTRACT

INTRODUCTION and AIM: Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder that begins in the early stages of life and is characterized by impairments in social communication, repetitive sensory and motor behaviors, restricted interests, speech and language disorders, and delays in sensory development. The prevalence of ASD is increasing, with an estimated global rate of 1%. Despite numerous studies, an etiological factor can only be identified in 15-20% of individuals with autism. Among these factors, the most commonly known include genetic, epigenetic, neuroanatomical structural factors, and environmental influences. Genetic anomalies related to the autism phenotype have been detected in approximately 40% of individuals with autism. The aim of our study is to retrospectively analyze the data of patients who have previously undergone aCGH and Next Generation Sequencing analysis with an ASD diagnosis, and to evaluate the role of these tests in the genetic diagnosis of autism.

METHODS: In our study, we aim to retrospectively analyze the data of 79 patients who were diagnosed with Autism Spectrum Disorder (ASD) and underwent Next Generation Sequencing (NGS) and aCGH analysis at the Medical Genetics Clinic of Çanakkale Onsekiz Mart University Research Hospital, up to January 1, 2024. The Next Generation Sequencing methods used include whole exome sequencing (WES) and clinical exome sequencing (CES). Variants identified as pathogenic, likely pathogenic, or variants of uncertain significance (VUS) were included in the study.

RESULTS: A total of 79 patients diagnosed with Autism Spectrum Disorder (ASD) were included in our study, consisting of 64 males and 15 females. As a result of the aCGH analysis performed on the patients, 46.8% showed clinically relevant variants of uncertain significance (VUS), pathogenic, or likely pathogenic variants. In the NGS analysis, 84.8% of patients showed clinically relevant VUS, pathogenic, or likely pathogenic variants. Additionally, 38% of the patients had

clinically relevant VUS, pathogenic, or likely pathogenic variants detected in both the aCGH and NGS analyses. Variants were identified in 44.3% of the patients using only WES/CES, and in 8.9% using only aCGH. No clinically relevant variants were detected in 6.3% of patients with both methods. As a result of our study, the diagnostic yield of aCGH in ASD patients was determined to be 20.2%, the diagnostic yield of NGS was 30.4%, and when both tests were used together, the diagnostic yield increased to 48.1%.

CONCLUSION: Although Autism Spectrum Disorder (ASD) is a multifactorial polygenic condition, approximately 40% of patients can receive a genetic diagnosis. Due to the presence of many different genetic variants associated with ASD, although aCGH is recommended as the first-line test in the literature, our study has determined that using Next Generation Sequencing (NGS) as the primary diagnostic method is more effective in terms of diagnostic yield. We believe that the most ideal approach for the genetic diagnosis of ASD is the combined use of both aCGH and NGS methods.

Keywords: Autism Spectrum Disorder, ACGH, Next-Generation Sequencing, Whole Exome Sequencing, Clinical Exome Sequencing

İÇİNDEKİLER

İçindekiler

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	iii
TABLolar	vi
ŞEKİLLER	iii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	6
2.GENEL BİLGİLER	11
2.1 Genetik Hastalıkların Sınıflandırılması	11
2.2 Otizm Spektrum Bozukluğunun Tarihçesi	16
2.3 Otizm Spektrum Bozukluğunun Epidemiyolojisi	22
2.4 Otizm Spektrum Bozukluğunun Klinik Özellikleri.....	23
2.5 Otizm Spektrum Bozukluğunda Tarama ve Tanı Araçları	25
2.5.1 Otizm Spektrum Bozukluğu Tarama Araçları.....	25
2.5.2 Otizm Spektrum Bozukluğu Tanı Araçları.....	27
2.5.3 Otizm Spektrum Bozukluğuna Eşlik Eden Tanılar ve Komorbidite ...	33
2.6. Otizm Spektrum Bozukluğunun Etiyolojisi ve Olası Risk Faktörleri.....	35
2.6.1 Otizm Spektrum Bozukluğunda Nöroanatomik/Nörobiyolojik ve Ekstraserebral Faktörler	36
2.6.2 Otizm Spektrum Bozukluğunda Çevresel Faktörler	38
2.6.3 Otizm Spektrum Bozukluğunda Epigenetik Faktörler	39
2.6.4. Otizm Spektrum Bozukluğunda Genetik Faktörler	40
2.7. Otizm Spektrum Bozukluğunda Tedavi ve Prognoz.....	57
3.GEREÇ ve YÖNTEM	60
3.1 Hasta Grubu Seçimi	60
3.2 Materyal ve Metod	61
3.2.1 Yeni Nesil Dizileme(Next Generation Sequencing-NGS).....	61
3.2.2 Mikroarray.....	68
4.BULGULAR	75
4.1 Hastaların Demografik Bulguları	75

4.2 Hastaların Klinik Bulguları	84
4.3 Hastaların Genetik Verileri	89
4.3.1.aCGH Analiz Bulguları	91
4.3.2 Yeni Nesil Dizileme Analizi Bulguları	103
5.TARTIŞMA.....	120
5.1.aCGH Verilerinin Değerlendirilmesi	121
5.2.Yeni Nesil Dizileme Analizi Verilerinin Değerlendirilmesi	129
6.SONUÇ	150
7.KAYNAKLAR	153
8. EKLER.....	176
8.1 EK 1. Etik kurul onayı.....	176

KISALTMALAR

ABA: applied behavior analysis
ABC: Autism Behavior Checklist
ABD: Amerika Birleşik Devletleri
aCGH: Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics
ADDM: Autism and Developmental Disabilities
ADI-R: Autism Diagnostic Interview – Revised
ADOS – G: Autism Diagnostic Observation Schedule – Generic
APA: American Psychological Association
AS: Asperger Sendromu
ASA: Autism Society of America
ATG: alt temporal girus
BAM: binary alignment map
CARD: Center for Autism and Related Disorders
CARS: Childhood Autism Rating Scale
CDC: center for disease control and prevention
CES: klinik ekzom dizi sekanslama
CMA: Kromozomal mikroarray
CNV: Copy Number Variation
DEHB: dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu
DGV: Database of Genomic Variants
DMR: differentially methylated regions
DNA: Deoksiribo Nükleik Asit
DSM: Diagnostic and statistical manual of mental disorders
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
EEG: Elektroensefalografi
FASTQ: Fast Adaptive Shrinkage Thresholding Algorithm and Quality

FG: fuziform girus
FISH: floresan in situ hibridizasyon
fMRG: fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme
GABA: gama aminobütirik asit
GARS: Gilliam Autism Rating Scale
GDM: gestasyonel diabetes mellitus
GİS: gastrointestinal sistem
GWAS: genome-wide association meta-analysis
ICD: International Classification of Diseases
IGV: Integrative Genomics Viewer
ISCA: The International Standards of Cytogenomics Arrays
Kb: kilobaz
LOF: Loss of Function
Mb: megabaz
MLPA: multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu
MMR: Motor mental retardasyon
MODY: Maturity onset diabetes of young
MR:Mental retardasyon
MRG:Manyetik rezonans grafi
mRNA:Messenger Ribonükleik asid
NCCN: National Comprehensive Cancer Network
NGS: Next Generation Sequencing
NICE: National Institute for Health and Care Excellence
NSVD: normal spontan vajinal doğum
OD:Otozomal Dominant
ODÖ: Otizm Dismorfoloji Ölçeği
OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man
OR: odds ratio
OR:Otozomal resesif

OSB: Otizm spektrum bozukluğu
PET: pozitron emisyon tomografisi
QCI: QIAGEN Clinical Insight
qPCR: kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
SFARI: Simons Foundation Autism Research Initiative
SİB: sosyal iletişim bozukluğu
SNP: Tek Nükletid Polimorfizm
SNV: Single Nucleotide Variations
TSC: Tuberosklerozis
ÜTS: üst temporal sulkus
VCF: variant call format
VUS: Variant of Uncertain Significance
VUS: variant of uncertain significance
WES: Whole Exome Sequencing
WGS: Whole Genome Sequencing
XLD:X'e bağlı dominant
XLR:X'e bağlı resesif
YGB: Yaygın gelişimsel bozukluk
YGB-BTA: Yaygın Gelişimsel Bozukluk-Başka Türü Adlandırılmayan

TABLolar

Tablo 2.1 Genetik hastalıkların sınıflandırılması ve toplumda görülme sıklıkları(29).....	11
Tablo 2.2 Sık görülen multifaktöriyel hastalıklarda kardeşler için hesaplanan rölatif risk oranları.....	14
Tablo 2.3 Bishop ve Arkadaşları Tarafından 2008 Yılında Bildirilen OSB Tarama Araçları(57)	26
Tablo 2.4 Major Otizm Lokusu Bulunan Kromozomlar ve İçerdikleri Genler(92)	42
Tablo2.5 CNV Tespitinde Kullanılan Konvansiyonel Sitogenetik, ACGH ve SNP Array Yöntemlerin Karşılaştırılması(99)	45
Tablo 2.6. WES ve WGS Yöntemlerinin Karşılaştırılması(117).....	51
Tablo2.7 OSB'li bireylerde sıklıkla saptanan genler bulundukları lokuslar ve fonksiyonları(122).....	54
Tablo3.1 CNV'lerin patojenitesinin değerlendirilmesinde dikkate alınması gereken kriterler(143).....	74
Tablo 4.1Çalışmaya alınan hastaların kendi yaşının, tanı yaşının, başvuru yaşının ve anne-baba yaşının ortalamasının cinsiyete göre dağılımı.....	76
Tablo 4.2. Çalışmaya alınan hastaların ailelerinde bulunan nöropsikiyatrik hastalıklar.....	83
Tablo 4.3. Çalışmaya alınan hastaların ilk başvuru şikayetinin cinsiyete göre dağılımı	84
Tablo 4.4 Çalışmaya alınan hastalardaki ek klinik bulguların cinsiyete göre dağılımı	86
Tablo 4.5 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan ek klinik bulgular.....	87
Tablo 4.6 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan dismorfik bulgular	88
Tablo 4.7 Çalışmaya alınan hastaların aCGH ve NGS analizinde varyant saptanma veya saptanmama oranları	91
Tablo 4.8 Çalışmaya alınan hastalarda Acgh ile saptanan VUS CNV'ler	95

Tablo 4.9 Çalışmaya alınan hastalarda aCGH ile saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'ler	99
Tablo 4.10 Patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanan hastalarda bulunan ek klinik bulgular ve dismorfik bulgular.....	103
Tablo 4.11 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS SNV'ler.....	106
Tablo 4.12 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik SNV'ler.....	111
Tablo 4.13 Patojenik/muhtemel patojenik SNV saptanan hastalarda bulunan ek klinik bulgular ve dismorfik bulgular.....	114
Tablo 4.14 NGS ile tanı alabilen hastalarda saptanan genler ve bu genlerin OMIM'de ilişkilendirildiği hastalıklar.....	116
Tablo 4.15 Çalışmaya alınan hastalarda NGS ile saptanan novel varyantlar.	118
Tablo 5.1 OSB'li bireylerde en sık saptanan genler ve bunların fonksiyonları(196).....	134

ŞEKİLLER

Şekil 2.1 OSB'li bireylerin akrabalarında hesaplanan rölatif risk oranları	14
Şekil 2.2 Otizm spektrum bozukluğu tanısında genetiğin rolünün yıllar içerisindeki gelişimi (39)	18
Şekil 2.3 Otizm spektrum bozukluğunun tanımına ve mekanizmasına ilişkin bulguların tarihsel sıralaması(45)	21
Şekil 2.4 Otizm spektrum bozukluğutanılı hastada izlenmesi gereken temel genetik yaklaşım(61)	28
Şekil 2.5 Otizm Spektrum Bozukluğuna Eşlik Eden Tanılar(72).....	34
Şekil 2.6 OSB etyolojisinde rol oynayan faktörler ve bunların birbiriyle olan etkileşimleri(72)	36
Şekil 2.7 Otizm Spektrum Bozukluğu Oluşum Mekanizmasında Çevresel, Epigenetik ve Genetik Faktörlerin Kombine Etkisi(86)	40
Şekil 2.8 CARD verilerine dayanarak OSB ile ilişkili saptanan CNV'lerin kromozomlar üzerine dağılımı(100).....	46
Şekil 2.9 WES ve WGS Yöntemlerinin Karşılaştırılması(117)	51
Şekil 2.10 Bugüne kadar OSB ile ilişkilendirilen genler ve bulundukları kromozomlar(122)	53
Şekil 2.11 OSB'li bireylere yapılacak genetik değerlendirmede uygulanması gereken algoritma(127)	56
Şekil 4.1. Çalışmaya alınan hastaların cinsiyet dağılımı	75
Şekil 4.2 Çalışmaya alınan hastaların kendi yaşının, tanı yaşının, başvuru yaşının ve anne-baba yaşının ortalamasının cinsiyete göre dağılım grafiği	77
Şekil 4.3 Hastaların başvuru şeklinin dağılım grafiği	77
Şekil 4.4 Çalışmaya alınan hastaların anne-baba yaş ortalaması grafiği	78
Şekil 4.5 Çalışmaya alınan hastaların ebeveynlerinin eğitim durumunun dağılımı	79
Şekil 4.6 Çalışmaya alınan hastaların doğum şeklinin dağılımı grafiği	79
Şekil 4.7 Çalışmaya alınan hastaların doğum zamanı dağılım grafiği	80
Şekil 4.8 Çalışmaya alınan hastaların prenatal dönemdeki özelliklerinin dağılım grafiği	81

Şekil 4.9 Çalışmaya alınan hastaların natal dönemdeki özelliklerinin dağılım grafiği	81
Şekil 4.10 Çalışmaya alınan hastaların anne-babası arasındaki akrabalık oranı grafiği	82
Şekil 4.11 Çalışmaya alınan hastaların ailelerindeki nöropsikiyatrik hastalıkların dağılım grafiği.....	83
Şekil 4.12.Çalışmaya alınan hastaların ilk başvuru şikayetinin cinsiyete göre dağılımı grafiği.....	85
Şekil 4.13 Çalışmaya alınan hastalardaki ek klinik bulguların dağılım grafiği...	86
Şekil 4.14 aCGH'de varyant saptanan ve saptanmayan hastaların dağılımı....	89
Şekil 4.15 NGS'de varyant saptanan ve saptanmayan hastaların dağılımı.....	90
Şekil 4.16 Çalışmaya alınan hastaların aCGH ve NGS analizinde varyant saptanma veya saptanmama oranlarının dağılımı	91
Şekil 4.17 Çalışmaya alınan hastaların aCGH analizinde saptanan patojenik/muhtemel patojenik ve VUS varyantların dağılımı	92
Şekil 4.18 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik ve VUS CNV'lerin oranı.....	92
Şekil 4.19 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS CNV'lerdeki delesyon duplikasyon oranı	93
Şekil 4.20 Çalışmaya alınan hastalardaki VUS CNV'lerin kromozom numarasına göre dağılımı grafiği	94
Şekil 4.21 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerdeki delesyon duplikasyon oranı.....	97
Şekil 4.22 Çalışmaya alınan hastalardaki patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerin kromozom numarasına göre dağılımı grafiği.....	98
Şekil 4.23 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan SNV'lerin dağılımı.....	104
Şekil 4.24 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik ve VUS SNV'lerin oranı	104
Şekil 4.25 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS SNV'lerin tiplerine göre dağılımı	105
Şekil 4.26 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik SNV'lerin tiplerine göre dağılımı	110

Şekil 5.1 H42'de saptanan 15q11.1-q13.3 bölgesinde yer alan 12,2 Mb'lık heterozigot duplikasyonun aCGH görüntüsü	126
Şekil 5.2 H50'de saptanan 8q21.2-q22.1 bölgesinde yer alan 9,4 Mb'lık heterozigot delesyonun aCGH görüntüsü	127
Şekil 5.3 H71'de saptanan 5,4 Mb'lık 22q13.31-q13.33 heterozigot delesyonunun aCGH görüntüsü	128
Şekil 5.4 H13 ve H13-K da saptanan SLC6A8 c.1222_1224delTTC; p.F408del varyantının IGV görüntüsü	136
Şekil 5.5 H43'te saptanan CC2D1A c.2065C>A; p.P689T varyantının IGV görüntüsü	137
Şekil 5.6 H20'de saptanan NRXN1 c.772+1128_772+1129delGA varyantının IGV görüntüsü	138
Şekil 5.7 H60'da saptanan HFE c.187C>G; p.H63D varyantının IGV görüntüsü	139
Şekil 5.8. H26'da saptanan CADM1 c.752A>C; p.Y251S varyantının IGV görüntüsü	141
Şekil 5.9 H40'da saptanan ATP13A5 c.2848+2T>C varyantının IGV görüntüsü	142
Şekil 5.10 H47 ve H49'da saptanan BTBD c.1270G>C; p.D424H varyantının IGV görüntüsü	143
Şekil 5.11 H14'te saptanan PAH c.1139C>T; p.T380M varyantının IGV görüntüsü	145
Şekil 5.12 H62'de saptanan MECP2 c.785G>A; p.R262H varyantının IGV görüntüsü	148

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Otizm spektrum bozukluğu, yaşamın erken dönemlerinde başlayan sosyal iletişimde bozulma, tekrarlayan duyuşal ve motor davranışlar, ilgi alanlarında kısıtlılık, dil ve konuşma bozuklukları ve duyuşal davranışların gelişiminde gerilik ile seyreden nörogelişimsel bir bozukluktur(1). En son 2013'te yayınlanan Amerikan Psikiyatri Birliği'nin Zihinsel Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı'nın beşinci (DSM-5) baskısına kadar otizm yaygın gelişimsel bozukluk (YGB) olarak adlandırılmakta ve Çocukluk Otizmi, Asperger Sendromu (AS), Yaygın Gelişimsel Bozukluk-Başka Türlü Adlandırılmayan (YGB-BTA), Rett Bozukluğu ve Çocuk Çağı Dezintegratif Bozukluğu şeklinde sınıflandırılmaktaydı(2). YGB içinde belirti şiddetinde görülen geniş farklılıklar, bir bozukluğu diğerinden etkili şekilde ayırt etme yeteneğini zorlaştırmakta olduğu için DSM-5'te Yaygın Gelişimsel Bozukluk tanımı yerine Otizm Spektrum Bozukluğu terimi kullanılmış, Rett Sendromu bu kategoriden çıkarılarak diğer alt gruplar bu tanımda birleştirilmiştir(3). Ayrıca DSM-5'te tanı kriterleri üç çekirdek alan yerine iki alana indirilmiştir. Bunlar; sosyal iletişim ile etkileşim ve tekrarlayan davranışlardır. DSM-5'e göre bir hastaya OSB tanısı sosyal iletişim alanında en az üç belirti ve sınırlı ilgi/tekrarlayan davranışlarda en az iki belirti gösterdiği zaman konabilmektedir(4).

OSB yaşamın çok erken dönemlerinde bulgu vermeye başlamakla birlikte olguların yaklaşık ¼'ünde 18-24 ay arasında dil ve sosyal becerilerde gerileme görülmeye başlanmaktadır(5). Bu gerileme olguların %82'sinde dil alanında başlanmaktayken %54'ünde sosyal alanda başlanmaktadır(6). Bulguların başlangıcı ve ilerleme hızı eşlik eden komorbid bir hastalığa ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişmekle beraber olguların yaklaşık %30'u ilk 2 yaş içerisinde semptom göstermeye başlar ve %80'i 3 yaşından önce tanı alırlar(7). Otizm tanısı almış bireylerin yaklaşık %45'inde ek olarak entelektüel yetersizlik, %28'inde epilepsi gibi başka komorbid hastalıklar; ayrıca dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu(DEHB), anksiyete bozuklukları, kendine zarar verme gibi farklı davranış anomalileri de görülebilmektedir(7).

OSB'nin yaygınlığı giderek artmakla birlikte dünya genelinde %1 olarak tahmin edilmekte olup Otizm ve Gelişimsel Gerilikler İzleme Ağı'nın(Autism and Developmental Disabilities Monitoring-ADDM) verilerine göre ABD'de 8 yaşındaki çocuklar arasında otizmin tahmini prevalansı 2008'de yaklaşık %1,1'den 2018'de %2,3'e yükselmiştir(8). CDC'nin 2023 yılının mart ayında yayınlanan son raporunda otizm yaygınlığı Amerika Birleşik Devletleri'nde 36'da 1 olarak bildirilmekteyken CDC'nin 2021 yılında yayınlanan bir önceki raporunda ise otizmin Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yaygınlığı 44'de 1 olarak bildirilmiştir(9). Otizm görülme sıklığının artışında otizm farkındalığı ve tanınmasındaki iyileşme, sağlık hizmetlerine kolay ulaşım, coğrafi farklılıklar, zihinsel yetersizliğin eşlik etmediği hafif düzey olguların tanıya dâhil edilmesi ve daha erken yaşlarda tanı konulması gibi faktörler rol oynamaktadır(10). Ayrıca otizm erkeklerde kadınlardan yaklaşık 4 kat daha fazla görülmekte olup ADDM'nin en son verilerine göre otizm erkeklerde %3,7 kızlarda ise %0,9 oranında tespit edilmiştir(8). Bunun nedenleri arasında kadınların çevresel gereksinimlerinin daha fazla olması ve mevcut tanı prosedürlerinin kadınlar arasındaki OSB vakalarına tanı koymada daha az duyarlı olması, erkeklerdeki testosteron hormonunun tekrarlayan davranışları arttırması sayılmaktadır(11). Otizm tanılı kardeşi olan bireylerde otizm görülme sıklığı artmış olup OSB'li 664 çocuğun katıldığı bir çalışmada hastaların kardeşleri doğumdan itibaren prospektif olarak takip edilmiştir ve bu bireylerin kardeşlerinin %19'unun 36 aydan önce OSB tanısı aldığı tespit edilmiş olup yine aynı çalışmada otizmin kardeşler arasındaki tekrarlama riskinin %3-10 arasında olduğu belirtilmiştir(12).

Yapılan tüm çalışmalara rağmen otizimli bireylerin sadece %15-20'sinde bir etyolojik faktör tespit edilebiliyor olsa da en çok kabul gören nedensellik hipotezidir ve bu kavram birden çok faktörün karşılıklı etkileşimini ifade etmektedir(13). Otizme neden olduğu iddia edilen faktörler arasında; genetik, epigenetik, nöroanatomik yapısal faktörler, nörolojik faktörler, metabolik faktörler, psikososyal faktörler, prenatal/postnatal etkenler, mitokondrial disfonksiyon, hücrel stres, çevresel ve immünolojik-inflamatuvar faktörler ile bu faktörlerin birbirleriyle olan etkileşimleri gösterilmektedir(13). Bu faktörlerin nörotransmitter dengesizliğine, işlevsiz nöronal yollara, anormal sinaptogeneze ve nöronal bağlantıya yol açtığı düşünülmektedir (14). Otizm tanısına sahip bireylerde belirgin bir beyin patolojisi saptanamamış olsa da

postmortem yapılan nörogörüntüleme ve elektrofizyolojik çalışmalarda ince anatomik ve fonksiyonel farklılıklar gözlenmiştir(14). 22.156 otizmlı bireyi içeren nüfus temelli bir çalışmada OSB'nin kalıtılabilirliği %81 olarak tespit edilmiş olup yine aynı çalışmada çevresel faktörlerin OSB oluşumuna katkısı %14-22 arasında belirtilmiştir ve bu çevresel faktörler arasında en sık bilinenleri; anne/baba yaşı, hamilelik sırasındaki stres faktörleri, gebelikte maruz kalınan kimyasallar ve ilaçlar, gebelikte geçirilen çeşitli enfeksiyonlar, maternal diyabet, annenin kilo alımı ve hipertansiyon, gebelik sırasında D vitamini eksikliği, doğum öncesi folat takviyesinin düşük olması veya yüksek doz folat, gebelikte beslenme, prematüre doğum, düşük doğum ağırlığı(<1500 gr), yenidoğanda antibiyotik kullanımı olarak belirtilmiştir(15).

Epigenetik terimi, genomda değişiklik olmaksızın gen aktivitesini ve ekspresyonunu etkileyen değişimleri ifade eder ve otizme neden olduğu bilinen en sık epigenetik değişim DNA metilasyonudur(16) Epigenetiğin otizme katkısını anlamak için, dorsolateral prefrontal korteks, temporal korteks ve serebellum dahil olmak üzere üç beyin bölgesinde otizmlı bireylerin ölüm sonrası beyin dokularında DNA metilasyonu incelenmiş ve genom çapında önemli diferansiyel olarak metillenmiş bölgeler tespit edilmiştir (17,18).

Otizm ile genetik arasındaki bağlantıyı daha net anlayabilmek için birçok ikiz ve aile çalışmaları yapılmış olup geniş örneklemelerde yapılan ikiz çalışmalarında OSB'nin konkordansı monozigotik ikizlerde %60-90, dizigotik ikizlerde ise %0-10 olarak bildirilmiştir(19). Otizm tanılı bireylerin çeşitli farklı fenotipik özellikler göstermeleri bu bireylerde farklı gen ve/veya gen kombinasyonlarına ait mutasyonların var olduğunu düşündürmekte olup yapılan çalışmalarda otizme neden olabilecek 150'den fazla gen tespit edilmiştir ve daha binlerce genin otizm riskini arttırdığı düşünülmektedir(20). Otizm klinik olarak sendromik(eşlik eden komorbiditeleri olan ve belirli genetik nedeni bulunan kompleks vakalar) ve non sendromik(ek klinik bulgusu olmayan esansiyel vakalar) olarak ikiye ayrılmaktadır(21). Sendromik OSB vakaları genellikle iyi tanımlanmış monogenik nörogelişimsel bozuklukları içermekte olup Fragile X, tuberoskleroz, Angelman sendromu, Phelan-McDermid sendromu ve *MECP2* duplikasyon sendromu gibi bozuklukları kapsamaktadır; ancak bu vakalar tüm OSB

vakalarının sadece %5-10'unu oluşturmaktadır.(22). Bu nedenle otizme neden olabilecek mutasyonları daha net ortaya koyabilmek amacıyla birçok araştırmacı otizm tanılı çocuk örneklemelerinde genomda geniş çapta araştırma yaparak otizmin tanımlanmış kalıtsal genetik sendromlardan ziyade daha nadir görülebilen ve de novo da olabilecek Kopya Sayısı Değişiklikleri(Copy Number Variation-CNV) ve Tek Nükleotid Değişikliklerinden(Single Nucleotide Variations-SNV) kaynaklanabileceğini ortaya koymuşlardır (23).

CNV'ler bir ve/veya birkaç geni içeren veya hiç gen içermeyen delesyon ve duplikasyonları tanımlamakta olup bir bireyin genomunun yaklaşık %10'unu oluşturur ancak bu değişimler genellikle bireyin sağlığı üzerinde herhangi bir etki yapmaz (24). CNV'lerin OSB vakalarının yaklaşık %10-20'sine katkıda bulunduğu; sendromik OSB vakalarında daha belirgin olmak üzere esasen de novo meydana geldiği tahmin edilmektedir(24). CNV tespitinde; kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR), floresan in situ hibridizasyon (FISH), multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) ve mikroarray gibi yöntemler kullanılabilmekteyken karyotip analizi ve FISH yöntemleri ile saptanamayacak düzeydeki submikroskopik CNV'leri tespit edebilmesi, mozaikliği saptayabilmesi, aynı anda tüm genomdaki CNV'leri gösterebilmesi nedeni ile mikroarray yöntemi CNV tespitinde diğer yöntemlerden daha fazla tercih edilmektedir ve yapılan geniş çaplı çalışmalarda aCGH'nin OSB vakalarındaki tanısal verimi %15-20 olarak belirtilmiştir(24).

SNV'ler genetik materyal uzunluğunda değişime neden olmaksızın bir gen dizisi içinde kodlanan proteinin aminoasit dizisinin değişmesi ile o proteinde fonksiyon değişikliğine neden olan mutasyonları tanımlamakta olup otizm tanılı bireylerin yaklaşık %30'unda de novo SNV saptanmaktadır(25). SNV tespitinde son yıllarda aynı anda milyonlarca fragmanın dizilenmesini mümkün kılan Yeni Nesil Dizileme(Next Generation Sequencing-NGS) yöntemleri tercih edilmekte olup NGS yöntemlerinden biri olan Tüm Exom Dizileme(Whole Exome Sequencing-WES) yüksek çıktılı bir teknolojidir ve insan genomunda bilinen 20.000'den fazla genin kodlama bölgelerini eşzamanlı analiz etme olanağı tanır (26). Günümüzde WES, insan genomunun protein kodlayan kısmını incelemek için en yaygın kullanılan teknolojik yaklaşım olup son

Çalışmalarda WES'in OSB tanısındaki verimliliği %30-43 olarak belirtilmiştir(27). WES insan genomunun sadece %2'sini kapsamakla birlikte, bu kk genom kısmı bile herhangi bir hastalığa neden olduğu bilinen mutasyonların yaklaşık %85'ini barındırmaktadır(28).

Otizm sıklığı giderek artmakta olan ve yaşamın erken dnemlerinde bulgu vermeye başlayan, genetik ve çevresel birçok faktörün bir araya gelmesiyle ortaya çıkan nrogeleşimsel bir gerilik hali olup birçok farklı hastalık ve semptomla birliktelik gösterebilmektedir. Otizmin tanısını erken koymak ve altında yatan nedeni tespit etmek hem bireylerin erkenden özel eğitim desteği almasını hem de eşlik edebilecek komorbid durumların önceden tespit edilmesini sağlayacaktır. Otizmin genetik etyolojisi birçok farklı mekanizmayı barındırdığı için otizimli bir bireyin genetik değerlendirmesinde farklı tanı yöntemlerinin kullanılması bireylerin tanı şansını arttıracaktır.

Çalışmamızda Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine başvuran ve Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon(aCGH) ile Yeni Nesil Dizileme analizleri yapılmış hastaların verileri retrospektif olarak yeniden analiz edilmiş olup çalışmaya klinik önemi bilinmeyen(Variant of Uncertain Significance-VUS) ve patojenik/muhtemel patojenik veriler dahil edilmiştir. Elde edilen veriler literatür verileriyle karşılaştırılarak hem literatüre katkıda bulunmayı hem de bu iki farklı genetik tanı yöntemini birlikte kullanarak elde edilen verilerin otizmin genetik tanısal verimi üzerine etkilerini ortaya koymayı hedeflemekteyiz.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Genetik Hastalıkların Sınıflandırılması

Pratikte hemen hemen her hastalık, genlerin ve çevrenin birleşik etkisinin sonucudur, ancak genetik bileşenin görece etkisi büyük veya küçük olabilir(29). Genetik faktörlerin tamamen veya kısmen neden olduğu hastalıklar klasik olarak üç ana gruba ayrılmaktadır(29). Bunlar:

- Kromozom Hastalıkları
- Tek Gen Hastalıkları
- Multifaktöriyel Hastalıklar olup bu hastalıkların görülme sıklıkları tablo 2.1’de belirtilmiştir(29).

Tablo 2.1 Genetik hastalıkların sınıflandırılması ve toplumda görülme sıklıkları(29)

TİP	YENİDOĞAN (1000’de)	YETİŞKİN (1000’de)	TOPLAM (1000’de)
KROMOZOMAL HASTALIKLAR	6	1,8	3,8
TEK GEN HASTALIKLARI	10	3,6	20
MULTİFAKTÖRİYEL HASTALIKLAR	≈50	≈50	≈600

Kromozom hastalıklarında defekt tek bir genetik bölgedeki değişiklikten değil, tüm kromozomlar veya kromozom segmentleri üzerindeki genlerin dozajındaki değişiklikten kaynaklanır(29). Örneğin, 21. kromozomun trizomisi Down sendromuna yol açmaktadır ancak bu kromozom üzerindeki bireysel genlerden hiçbirinde anormallik bulunmamaktadır(29). Kromozomların daha küçük segmentlerinin kopya sayısı değişiklikleri(CNV'ler); submikroskopik boyutlardan kromozom uzunluğunun birkaç yüzdesine kadar değişen boyutlarda olabilen ve çoğu zaman 22q11.2 delesyon sendromu gibi karmaşık doğumsal kusurlara veya belirgin fiziksel anormallikler olmaksızın otizm gibi izole fenotiplere neden olabilmektedirler(29).

Kromozom hastalıkları, canlı doğan bebeklerin %3'ünde görülmekte olup hamileliğin ilk trimesterinde gerçekleşen tüm spontan kayıpların yaklaşık yarısını oluşturmaktadırlar(29).

Tek gen hastalıkları ilgili genlerdeki patojenik mutasyonlardan kaynaklanmaktadır(29). Sonuçta oluşan varyantlar, bir çift kromozomun her ikisinde (birinin babadan, diğerinin anneden kaynaklandığı) veya sadece bir kromozomda (o kromozomun diğer kopyasında normal bir gen kopyası ile eşleşerek) bulunabilir(29). Tek gen hastalıkları, aynı zamanda mendelian kalıtmıli hastalıklar olarak da adlandırılmakta olup genellikle klasik kalıtım paternlerinden (otozomal resesif, otozomal dominant veya X ile bağlantılı) birini izleyen hastalıklara neden olurlar(29). Bazı durumlarda, mutasyon nükleer genomda değil, mitokondrial genomda meydana gelmektedir. (örn:Leber'in Hereditör Optik Nöropatisi, Leigh Sendromu,...) Her durumda, hastalık tek bir gende meydana gelen patojenik mutasyondan kaynaklanmaktadır(29). Tek gen hastalıklarının sıklığı 1/500-1/1000'e kadar yükselebilmekle beraber genellikle çok daha düşük oranlarda görülmektedirler(29). Bireysel olarak görülme sıklıkları nadir olsa da hastalık ve ölümlerin önemli bir kısmından sorumludurlar(29). Total olarak pediatrik popülasyonda tek gen hastalıklarının insidansı yaklaşık olarak 300 canlı doğumda 1 olarak tahmin edilmekte olup tüm yaşam boyunca bu bozuklukların prevalansı ise 50'de 1'dir(29).

Multifaktöriyel hastalıklar karmaşık kalıtım paternine sahip olmakla beraber genetik etkinin bulunduğu birçok hastalığı kapsamaktadırlar(29). Bu grup hastalıklar, etkilenen bireylerin tek yumurta ikizlerinde veya diğer yakın akrabalarında hastalığın insidansının genel nüfusa oranla artmasıyla karakterizedir; ancak aile öyküsü, tek gen hastalıklarının tipik kalıtım paternine uymamaktadır(29). Multifaktöriyel hastalıklar, Hirschsprung hastalığı,yarık dudak-damak, konjenital kalp defektler, otizm spektrum bozukluğu gibi çocukluk çağı anomalilerini içermenin yanı sıra, meme ve yumurtalık kanseri, diyabet ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi yetişkin yaşamındaki birçok yaygın bozukluğu da içermektedir(29). Bu durumların birçoğunda tek bir patojenik genetik varyantın bulunmadığı görülmektedir(29). Hastalık, birçok

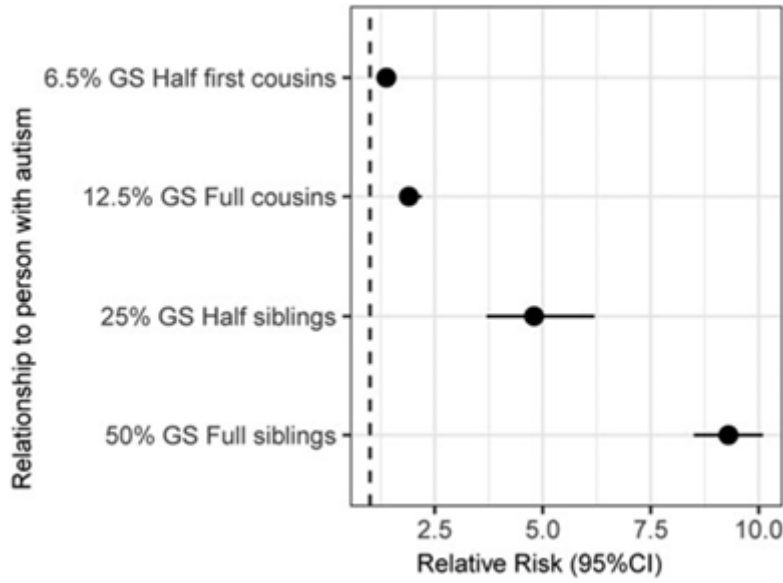
farklı genin varyantlarının kombine etkisi sonucunda ortaya çıkmakta olup her bir varyant, ciddi bir defekte neden olabilir, koruyabilir veya yatkınlık oluşturabilir ve genellikle çevresel faktörlerle birlikte bulunur veya bu faktörler tarafından tetiklenir(29). Multifaktöriyel hastalıkların sıklığı pediatrik popülasyonda %5' ten, tüm nüfusta ise %60'a kadar değişmektedir(29). Multifaktöriyel hastalıklar mendeliyen kalıtım paternine uymadığı için bu hastalıkların aktarımı ile ilgili aşağıdaki şu hususlar dikkate alınmalıdır(29):

- Mevcut bozukluğun insidansı bu bozukluğu en ağır şekilde gösteren hastanın akrabalarında daha fazladır.
- Risk uzak akrabalara gittikçe azalır.
- Bir ailede birden fazla etkilenmiş birey varsa risk artar.
- Belirli bir cinste daha sık görülen bir hastalık varsa daha az sıklıkta görülen cinsten hasta bireyin akrabalarında hastalık görülme olasılığı daha fazla olur.

Multifaktöriyel bir hastalığın ailevi kalıtılabilirliğini ölçmenin bir yolu, etkilenen bir probandin akrabalarındaki hastalığın sıklığını, genel popülasyondaki hastalık sıklığı (prevalansı) ile karşılaştırarak bir rölatif risk hesaplamaktır(29). Bu durumda rölatif risk: Etkilenen bir kişinin akrabalarında hastalığın prevalansı/Genel popülasyondaki hastalığın prevalansı formülüyle hesaplanmaktadır(29). Bu hesaplama genellikle belirli bir yakın akraba türü için yapılmakta olup rölatif risk arttıkça hastalığın kalıtılabilirliği de artmaktadır. Sık görülen bazı hastalıklarda hesaplanan rölatif riskler tablo2.2'de belirtilmiş olup OSB'li bireylerin akrabalarında, akrabalık derecesine göre beklenen rölatif risk şekil2.1'de gösterilmiştir(29,30).

Tablo 2.2 Sık görülen multifaktöriyel hastalıklarda kardeşler için hesaplanan rölatif risk oranları

HASTALIK	AKRABALIK İLİŞKİSİ	RÖLATİF RİSK
ŞİZOFRENİ	Kardeş	12
OTİZM	Kardeş	150
BİPOLAR BOZUKLUK	Kardeş	7
TİP1 DİYABETES MELLİTUS	Kardeş	35
CROHN HASTALIĞI	Kardeş	25
MULTİPLE SKLEROZİS	Kardeş	24



Şekil 2.1 OSB'li bireylerin akrabalarında hesaplanan rölatif risk oranları

Yapılan yeni çalışmalarda genetik hastalıkların kromozomal, tek gen ve multifaktöriyel hastalıklar olarak sınıflandırılmasının bir bütün olarak etiyolojiyi yansıtmadan olası veya bilinen genetik nedenleri yüzeysel olarak gösterdiği kanısına varılmıştır(31). Genetik etiyolojinin, bir hastalığın nasıl sınıflandırılabilirliğini, tanımlanabilirliğini ve keşfedilebilirliğini çok taraflı ifade

etmesi gerektiğinden, genetik hastalıkların mevcut sınıflandırmasına bir güncelleme getirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır(31). Bu değerlendirmeler sonucunda genetik hastalıklar aşağıdaki gruplar altında incelenmektedir(31):

- Monogenik-Monogrifik Hastalıklar: Tek bir gen mutasyonunun neden olduğu ve tek bir yolaktaki bir değişiklikle ilişkili bir fenotip oluşturan hastalıklardır. Örneğin; monogenik metabolik hastalıklar(fenilketonüri,...)
- Monogenik-Poligrifik Hastalıklar: Tek bir gen mutasyonunun neden olduğu ve birçok yolakta değişikliklere yol açan patojenik bir kaskad ile sonuçlanan hastalıklardır. Örneğin; Rett Sendromu, Ataksi-Telenjipektazi, Ailesel Alzheimer Hastalığı
- Kromozomal-Oligogrifik: Birçok yolakta değişikliklere neden olan kromozomal anormalliklerdir.Örneğin; Williams sendromu (birkaç yolakta etkili 20-30 genin dengesizliğine yol açan 7q11.23'teki mikrodelsiyonların neden olduğu kromozomal sendrom)
- Kromozomal-Digrifik Hastalıklar: Bir kromozomal lokusta, bu lokustaki birkaç geni içeren bir yeniden düzenlemeyle sonuçlanan ve bu genlerden ikisinin sendrom belirtilerine özgü iki yolakta değişiklik yaptığı bir kromozomal hastalıklardır.Örneğin; 3p22.1p21.31'de iki yolağı etkileyen mikrodelsiyondan kaynaklanan CCK gen delesiyonu sonucu meydana gelen kronik pankreatit ve Asperger Sendromu
- Monogenik-Homeogrifik Hastalıklar: Farklı genlerdeki mutasyonlar tarafından ve aynı yolakta yer alan mutasyonlarla tetiklenen komorbid hastalıklardır.
- Poligenik/Multifaktöriyel-Poligrifik Hastalıklar: Genetik ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık etkileşim nedeniyle ortak yollarda meydana gelen değişikliklerdir. Örneğin; Sporadik Alzheimer Hastalığı, Otizm Spektrum Bozukluğu
- Poligenik/Multifaktöriyel-Monogrifik Hastalıklar: Belirli bir yolaktaki değişiklikler nedeniyle oluşan ve çeşitli tek gen mutasyonları, kromozomal anormallikler ve genetik-çevresel etkileşimler sonucunda ortaya çıkabilen karmaşık hastalıklardır.

2.2 Otizm Spektrum Bozukluğunun Tarihçesi

Otizm spektrum bozukluğu(OSB) sosyal iletişimde bozulma, tekrarlayan duyuşsal ve motor davranışlar, ilgi alanlarında kısıtlılık, dil ve konuşma bozuklukları ve duyuşsal davranışların gelişiminde gerilik gibi çeşitli özellikleri içeren heterojen bir hastalık grubudur.

Otizm kelimesi Yunanca'da öz/kendi anlamına gelen autos sözcüğünden türemiştir. Otizm ifadesi ilk defa 1908 yılında İsviçre'li bir psikiyatrist olan Paul Eugen Bleuler tarafından şizofreni tanılı hastalardaki sosyal içeri çekilmeyi tanımlamak için kullanılmış olup klinikte otizm ifadesini ise ilk defa 1943 yılında Amerikalı bir psikiyatrist olan Leo Kanner herhangi bir psikiyatrik tanısı olmayan çocuklardaki farklı klinik bulguları tanımlamak için kullanmıştır(32). Kanner tarafından tanımlanan bu çocuklar yetenekli ve başarılı olmalarına rağmen başkalarıyla iletişim kurmakta güçlük çeken, tekrar eden davranışlar gösteren, ciddi öğrenme güçlükleri yaşayan, konuşma bozuklukları olan ve sosyal olarak içe kapanık çocuklar olup Kanner incelediği 11 çocukta herhangi bir psikiyatrik hastalık olmamasına rağmen ortaya çıkan bu bilişsel ve iletişimsel gerilik halini infantil otizm, bebeklik otizmi ve erken çocukluk otizmi şeklinde isimlendirmiştir(32).

1944 yılında Avusturyalı bir çocuk doktoru olan Hans Asperger ergenlik çağında olan 4 erkek çocuğunu incelemiş ve onların çeşitli klinik özelliklerine yoğunlaşmıştır. Bu özellikler; tek yönlü iletişim kurma ve iletişim kurarken karşı tarafın duygularını önemsememe, empati kuramama, motor ve sosyal becerilerde gerilik, bir konu üzerinde yoğunlaşma ve sınırlı ilgi alanlarına sahip olmaları olup bu özelliklere rağmen bu çocukların konuşmaları normal, zeka seviyeleri normal hatta sözel olmayan zeka seviyeleri yüksek bile olabilmektedir(33).

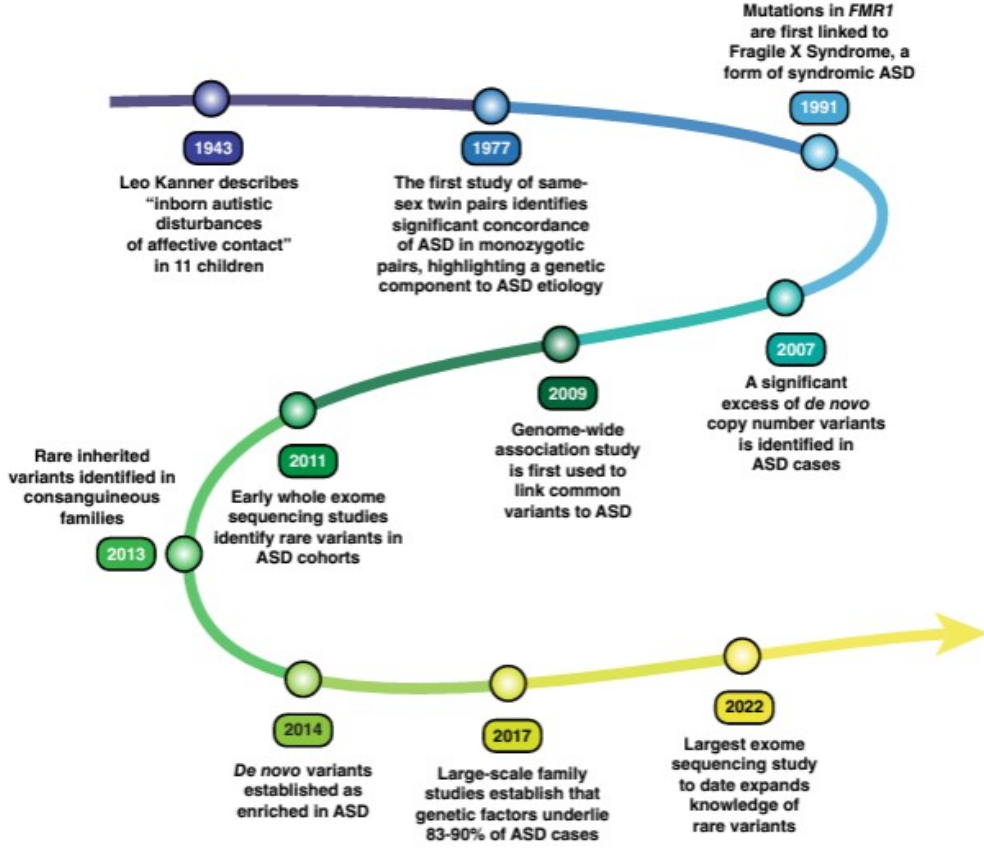
1950'li yıllara gelindiğinde Kanner, Freud'un psikoanaliz yaklaşımından etkilenecek otizmlı çocukların annelerinin davranış özelliklerini incelemeye başlamış ve bu annelerin genellikle çocuklarının duyuşsal gereksinimine karşılık vermeyen, ilgisiz,

mükemmelliyetçi ve donuk karakterde bireyler olduğunu gözlemlemiştir. Bu karakterdeki anneleri tanımlamak için buzdolabı anne(refrigerator mother) terimini kullanmıştır. 1967 yılında Viyanalı bir psikoanalist olan Bruno Bettelheim Kanner'ın otizmlı çocukların anneleri üzerinde yaptığı bu çalışmayı daha geniş kitlelere üzerinde uygulayarak Kanner'ı destekleyen sonuçlara varmış hatta otistik özelliklerin tümüyle patolojik annelerden kaynaklandığı görüşünü ortaya koymuştur (34). Ancak kendi de otizmlı bir erkek çocuk sahibi olan Amerikalı Bernard Rimland, Bettelheim'in bu yaklaşımın reddederek 1964 yılında otizm spektrum bozukluğu üzerine bir kitap yazmış olup bu kitapta otizmin nörobiyolojik kökenli olduğunu savunmuştur (35). Rimland'ın yazdığı bu kitap ilerleyen yıllarda otizmin beyin temelli olduğuna dair biyolojik çalışmalar yapan birçok bilim insanına öncülük etmiş olup otizmlı çocuk sahibi olan birçok ailenin dikkatini çekmiştir(36). Rimland 1965 yılında bu aileler ile bir araya gelerek Amerika Otizm Cemiyeti'nin(ASA-Autism Society of America) kurulmasına öncülük etmiştir (37).

Rimland'ın yaptığı bu çalışmalardan etkilenen İngiliz bir psikiyatrist olan Micheal Rutter 1968 yılında otizmlı çocuk sahibi olan aileler arasında geniş kapsamlı deneysel bir çalışma yürütmüş ve bu ailelerin çocuklarını diğer çocuklardan farklı bir şekilde yetiştirmediklerini tespit etmiş olup ilerleyen yıllarda başka bilim adamları da ergenlik dönemindeki otizmlı çocuklar üzerinde aynı deneysel çalışmayı tekrarlamış olup otizmin anne-baba davranışı ile ilgili olmadığına karar vermişlerdir(37). Rutter ayrıca 1977 yılında Susan Folstein ile birlikte 21 ikizin dahil edildiği bir çalışma yaparak otizmin genetik olabileceğine dair o zamana kadar ki en büyük kanıtı ortaya koymuş olup bu çalışma otizmin biyolojik yönünün araştırmacılar arasında popülerlik kazanmasını sağlamıştır (38). Bu kanıt otizmin genetik yolculuğunu başlatan ilk buluş olup yıllar içerisinde otizmin genetik tanısındaki gelişimin tarihsel sıralaması şekil 2.2'de gösterilmektedir(39). Rutter ayrıca 1978 yılında otizm tanımına 4 temel özellik kazandırmış olup bunlar; dil bozuklukları, sosyal gerilik ve stereotipik hareketler ve bu davranış özelliklerinin 30 aydan önce başlamasıdır (40).

Tüm bu çalışmalardan bağımsız olarak 1966 yılında Avusturyalı bir nörolog olan Andreas Rett gelişim basamakları başlangıçta normal olarak seyreden ancak bir süre

sonra mental ve motor retardasyon görülmeye başlayan kız çocuklarını incelediği bir çalışmasını makalesinde yayımlayarak Rett Sendromu'nu tanımlamış olup bu sendrom yakın zamana kadar yaygın gelişimsel bozukluklar sınıfında yer almaktaydı(40).



Şekil 2.2 Otizm spektrum bozukluğu tanısında genetiğin rolünün yıllar içerisindeki gelişimi (39)

Günümüzde otizmin klinik tanısında Ruhsal Bozukluklar için Tanısal ve İstatiksel El Kitabının 5. Baskısı (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-DSM 5) ve Hastalıklar ve İlgili Sorunların Uluslararası Sınıflandırmasının 11.Baskısı (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems) kullanılmaktadır(41).

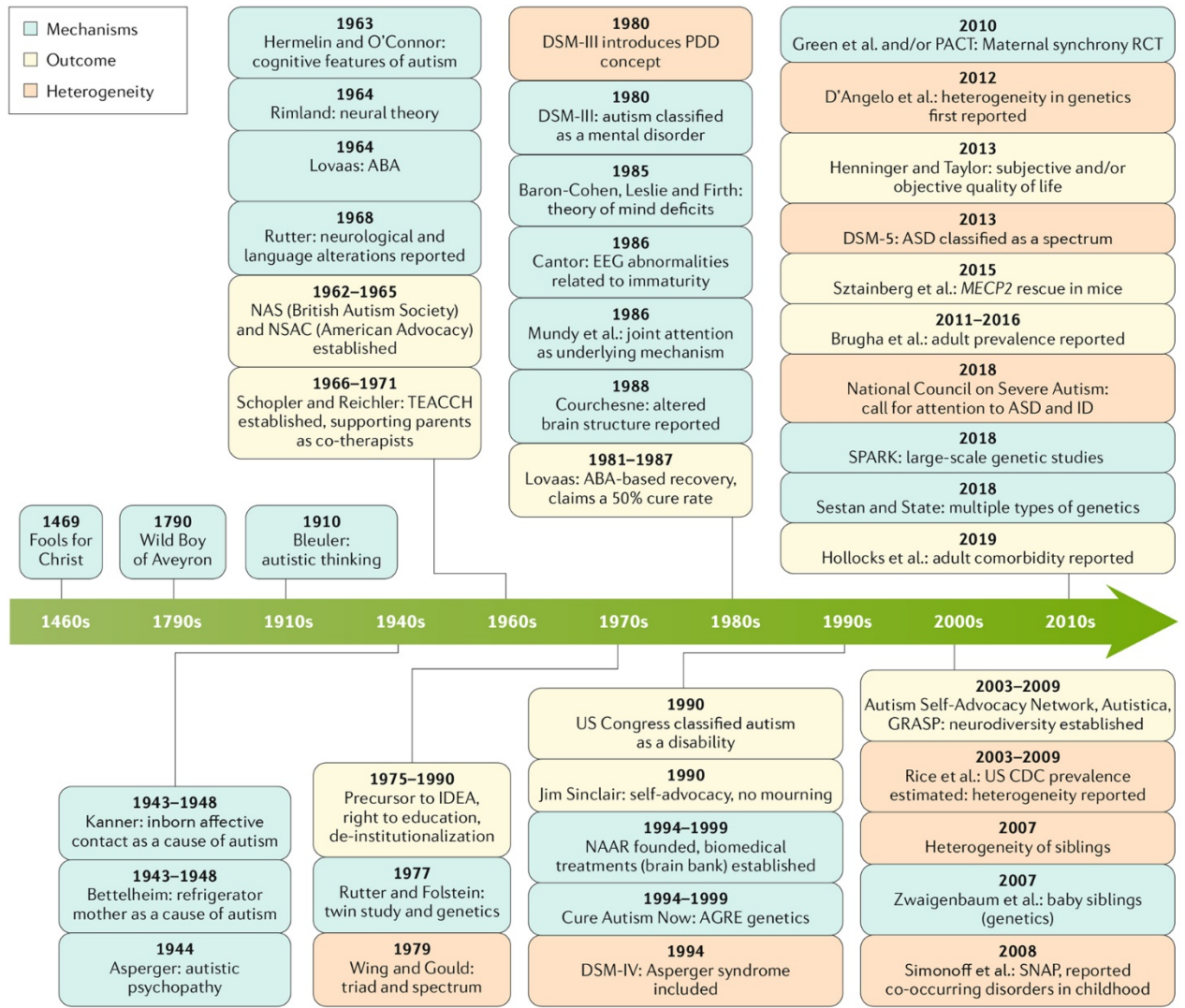
DSM'nin birinci baskısı 1952 yılında Amerikan Psikiyatri Birliği (American Psychiatric Association-APA) tarafından 1952 yılında yayınlanmış olup Kanner'ın 1943 yılında otizmi tanımlamış olmasına rağmen otizme bu baskıda yer verilmemiştir (41). 1968 yılında yayınlanan DSM-2 de otizm yine ayrı bir antite olarak değerlendirilmemiş

olup bu basıkda birinci baskıya ek olarak çocukluk ve ergenlik döneminin davranış bozuklukları tanımlanmıştır(42). Ancak bu iki baskıda da otizm ayrı olarak tanımlanmamış olup çocukluk çağı şizofrenisinin alt grubu olarak tanımlanmıştır(43). Otizmin DSM sistemine ilk girişı 1980 yılında DSM-3 ile olmuş olup DSM-3'te "İnfantil Otizm", "Çocukluk Çağı Başlangıçlı Yaygın Gelişimsel Bozukluk" ve "Atipik Yaygın Gelişimsel Bozukluk" şeklinde sınıflandırılarak "Yaygın Gelişimsel Bozukluklar(YGB)" adı altında birleştirilmiştir(43). Bu sınıflamada infatil otizm ile çocukluk çağı başlangıçlı yaygın gelişimsel bozukluk birbirinden bulguların 30 aydan önce başlayıp başlamamasıyla ayırt edilmektedir(43). 1994 yılında yayınlanan DSM-4 2000 yılında APA tarafından tekrar değerlendirilerek DSM-4-TR olarak tekrar kullanıma girmiştir ve DSM-4'te DSM-3'ten farklı olarak daha önceden atipik yaygın gelişimsel bozukluk altında değerlendirilen Asperger Sendromu,Rett Bozukluğu ve Çocukluk Çağı Dezintegratif bozukluğu ayrı başlıklar olarak sınıflandırılmıştır(43). DSM-4'te otizm yine yaygın gelişimsel bozukluk olarak adlandırılmış olup; Çocukluk Otizmi, Asperger Sendromu(AS), Yaygın Gelişimsel Bozukluk-Başka Türölü Adlandırılmayan (YGB-BTA), Rett Bozukluğu ve Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu şeklinde sınıflandırılmıştır. Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu olarak Bilinen Heller Sendromu ilk kez Avusturyalı bir eğitimci olan Theodore Heller tarafından 1908 yılında tanımlanmıştır ve Heller bu durumu infatil demans olarak ifade etmiştir (43). DSM'nin en son 2013 yılında yayınlamış olduğu 5. Baskısında, daha önceki DSM baskılarında yer alan yaygın gelişimsel bozukluk terimi otizm spektrum bozukluğu(OSB) terimiyle değiştirilmiş olup daha önceden Asperger Bozukluğu, Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu,YGB-BTA olarak sınıflandırılan YGB'nin hepsi OSB adı altında birleştirilmiştir(43). Ayrıca DSM-5'te OSB bulgusu gözlenen ancak OSB tanısı alamayan bireylerin Sosyal İletişim Bozukluğu(SİB) açısından değerlendirilmeleri önerilmiş olup DSM-5'te Rett Bozukluğu OSB kategorisinden çıkarılmıştır(43).

Hastalıklar ve İlgili Sorunların Uluslararası Sınıflandırılması (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems-ICD) olarak bilinen ICD ilk defa 1891 yılında Jacques Bertillon başkanlığında Uluslararası İstatistik Enstitüsü tarafından Ölüm Nedenlerinin Uluslararası Sınıflandırması adıyla yayınlanmış olup bu sınıflama her on yılda bir revize edilmiştir(44). On yılda bir yapılan revizyonların altıncısını yapma görevi Dünya Sağlık Örgütü'ne(DSÖ) verilmiş olup 1948 yılında yapılan konferansta bu sınıflama gözden geçirilerek adı Uluslararası

Hastalık, Yaralanma ve Ölüm Nedenleri Sınıflandırması Elkitabı (Manual of the International Classification of Diseases, Injuries, and Causes of Death- ICD) olarak değiştirilmiştir(44) Bu konferansta ayrıca ilk defa “Ruhsal, Psikonevrotik ve Kişilik Bozuklukları” ilk defa ICD sınıflamasının içerisine alınmıştır (44). 1978 yılında yayınlanan ICD-9’a kadar otizm tanısı ICD kodlarının içinde yer almamış olup ICD-9 da infantil otizm çocukluk çağında başlayan psikozlar tanısının alt başlığı olarak yer almıştır(44). 1992’de yayınlanan ICD-10 da otizm yaygın gelişim bozuklukları tanısı altında yerini almıştır (44). En son 2007 yılında yayınlanan ICD-11 de otizm spektrum bozukluğu 6A02 koduyla zihinsel, davranışsal ve nörogelişimsel bozukluk başlığının altında yer almış olup entelektüel gelişimsel yetersizlik ve/veya dil bozukluklarının eşlik edip etmemesine göre 5 gruba ve atipik özellik gösterip göstermemesine göre de 2 alt gruba ayrılmıştır(44). DSM-5’te olduğu gibi ICD-11’de de Rett Sendromu OSB altında değerlendirilmeyip LD90.4 koduyla gelişimsel anomaliler başlığı altında değerlendirilmiştir (44).

Otizm spektrum bozukluğunun tanımına ve gelişim mekanizmasına ilişkin tarihsel verilerin sınıflaması Şekil 2.3’de ayrıntılı olarak gösterilmiştir (45).



Şekil 2.3 Otizm spektrum bozukluğunun tanımına ve mekanizmasına ilişkin bulguların tarihsel sıralaması(45)

2.3 Otizm Spektrum Bozukluğunun Epidemiyolojisi

1966 yılından bu yana OSB'nin prevalansı ile ilgili birçok epidemiyolojik çalışmalar yapılmış olup yapılan ilk epidemiyolojik çalışmalarda otizm sıklığı 10.000'de 4 olarak bildirilmiş olup otizm nadir bir hastalık olarak değerlendirilmiştir. 1966-1998 yılları arasında yapılan geniş çaplı bir epidemiyolojik çalışmada 23 çalışmanın verileri taranmış ve otizm prevalansı bu yıllar arasında 10.000'de 14,3 olarak bulunmuştur (46).

2000-2002 yılları arasında otizmin dünya çapındaki yaygınlığını tespit edebilmek için Amerika Birleşik Devletleri'nde(ABD) Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi(Centers for Disease Control and Prevention-CDC) tarafından Otizm ve Gelişimsel Yetersizlik İzleme Ağı (Autism and Developmental Disabilities Monitoring-ADMM) oluşturulmuş olup 8 yaşındaki çocuklar arasında yapılan bir çalışmada otizm prevalansını 1000'de 6,6 olarak bildirilmiştir(47).

2012 yılına gelindiğinde Elsabbagh ve arkadaşları tarafından ICD-10 tanı kriterleri dikkate alınarak yapılan geniş çaplı bir çalışmada otistik bozukluk prevalansı 1/1000 olarak bildirilmişken YGB prevalansı 6,16/1000 olarak bildirilmiştir (51). 2014 yılında Tsai, Elsabbagh ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmayı revize ederek otistik bozukluk prevalansını 1,39/1000 YGB prevalansını ise 6,19/1000 olarak bildirmiştir (48).

ABD'de 2000 yılında Amerika'daki OSB'li çocukların sayısını ve özelliklerini tespit etmek amacıyla CDC tarafından kurulan ADMM ağı çok bölgesel ve kaynaklı kayıt tabanlı bir gözetim sistemi olup 2000 yılından bu yana iki senede bir prevalans tahminlerinde bulunmaktadır. ADMM'nin 2000 yılında yayınladıkları ilk raporunda OSB prevalansı 6.6/1000 olarak bildirilmişken 2023 yılının Mart ayında yayınlanan son raporunda OSB sıklığı 1/36 olarak bildirilmiştir (49). Bu verilere dayanarak OSB sıklığının son 20 yılda neredeyse 5 kat arttığı ve bu durumun bazı araştırmacılarca otizm epidemisi olarak adlandırıldığını gözlemlenmektedir.(50). OSB görülme

sıklığındaki bu denli artışta risk faktörlerindeki artış etkili olsa da; OSB farkındalığının ve tanı imkanlarının artması, sağlık hizmetlerine kolay ulaşım ve bu sayede erken tanı alma, coğrafi farklılıklar ve entelektüel yetersizliğin eşlik etmediği OSB olgularının da tanıya dahil edilmesinin bu artışla daha ilgili olduğu düşünülmektedir(50).

Türkiye’de OSB prevalansı kapsamlı bir tarama programı olmadığı için net olarak bilinmemekle birlikte bu oranın dünya geneline yakın olduğu tahmin edilmektedir(51). Ülkemizde OSB sıklığını tespit etmek açısından en geniş kapsamlı çalışma 2008 yılında Türkiye Otizm Vakfı tarafından 2008 yılında yapılmış olup bu çalışmaya; Adana, Bursa, Gaziantep, İzmir ve Kocaeli illeri dahil edilmiştir. Bu çalışma sonucunda yaşları 18-36 ay arasında olan yaklaşık 45.000 çocuk OSB açısından riskli bulunmuştur(51).

2.4 Otizm Spektrum Bozukluğunun Klinik Özellikleri

OSB’nin klinik özellikleri çocukların gelişimsel dönemlerine göre farklılık göstermekle birlikte her dönemde en sık görülmesi beklenen klinik bulgular; sosyal iletişimde bozulma, tekrarlayan duyuşal ve motor davranışlar, ilgi alanlarında kısıtlılık, dil ve konuşma bozuklukları ve duyuşal davranışların gelişiminde gerilik olarak sayılabilir(52). Bu klinik belirtiler çoğu zaman 3 yaşından önce ortaya çıkmakta olup OSB’nin erken farkedilmesi için 24. Aydan önce ortaya çıkan erken belirtilerin bilinmesi ve dikkatle takip edilmesi gerekmektedir(51). Bu erken belirtiler aşağıdakiler gibidir(52):

1. 6. Ayda sosyal gülümsemenin olmaması
2. 9. Ayda çevredeki ses, gülümseme ve yüz ifadelerine tepki vermemek
3. 12. Ayda hala agulamamak ve parmakla herhangi bir nesneyi veya kişiyi işaret etmememek, güle güle gibi jestleri yapmamak
4. 16. Ayda tek bir kelime söylememek
5. 24. Ayda hala iki sözcüklü temel cümleleri kuramamaktır.

OSB'li bebeklerde yukarıda sayılan belirtilerin dışında; motor hareketleri taklit etmede yetersizlik, uzun süreli ve ortak dikkat eksikliği, bir nesneye sabitlenme ve sürekli onunla ilgilenme, 12. Aydan itibaren anlamasız ve tekrarlayan sesler çıkarma, donuk bir yüz ifadesine sahip olma, başka kimseye ihtiyacı yokmuş gibi davranma ve katı gıdaları reddetme gibi farklı erken belirtiler de gözlemlenmektedir (53).

OSB'nin gelişim sürecinin prenatal dönemde başladığı öngörülse de, bu bireylerin tanı alması çoğunlukla doğum sonrası ilk 2,5-3 yıl arasında yani dil gelişim gecikmesinin belirgin olduğu dönemde olmaktadır. Bu nedenle bu bebeklerdeki erken belirtilerin tespit edilebilmesi için 18. Ve 24. Ayda iki kez tarama yapılması önerilmektedir (53). Bebekler doğumdan sonra sağlıklı görünürler ancak; gülme, ağlama, yüz ifadelerini taklit etme, göz teması kurma gibi sosyal etkileşim özelliklerinin başladığı ilk 2 yılda ilk belirtilerini göstermeye başlarlar(53). Bebeğin sessiz ve sakin olması, sık ağlamaması, kucağa alınmaya herhangi bir tepki vermemesi, göz teması kuramaması, adına seslenince tepsi vermemesi ve konuşmada gecikme dikkat edilmesi gereken ilk belirtilerdir(53). OSB'li bebekler genel olarak sosyal iletişim etkileşim ve konuşmada yaşıtlarından geri kalırlar(53).

OSB nin başlangıcı çoğu bireyde kademe kademe olmakla birlikte yaklaşık %25-30 olguda gerileyici başlangıca sahiptir(55). Bu bireylerin dil ve sosyal becerileri başlangıçta normal seyrederken kısa bir zaman içinde bu olguların konuşması bozulmaya, göz kontağı kurma, ismine dönme gibi sosyal becerilerde gerilik görülmeye başlar(55).

Semptomların başlangıç yaşı, ilerleme sıralaması, özellikleri ve ağırlığı her OSB'li bireyde farklılık göstermekle birlikte OSB nin temel klinik özellikleri genel olarak 3 başlık altında toplanmakta olup bunlar(55):

- Sosyal etkileşimde yetersizlik
- Dil ve iletişim becerisinde yetersizlik
- Stereotipik ve takıntılı davranış özellikleridir.

Otizmin daha nadir görülen klinik özellikleri aşağıdakilerdir(55):

- Öfke nöbetleri
- Kendine ve başkalarına zarar verme
- Kalabalığa, yeni bir çevreye ve yabancı insanlara uyum sağlamaya karşı aşırı kaygı duyma ve saldırgan davranışlar sergileme
- Komutlara uymama
- Elektrik süpürgesi, çamaşır makinesi, ambulans, zil sesi gibi bazı işitsel uyaranlara aşırı tepki verme
- Yüksek ışıklı ve parlak nesnelerden kaçınma veya onlara aşırı ilgi gösterme
- Ağrıya duyarsızlık
- Sıcak ve soğuk algısında farklılık
- Koku duyusunda aşırı hassasiyet
- Kaba motor becerilerinde yetersizlik ve buna bağlı olarak sık düşme ve sakarlık
- İnce motor becerilerinde gerilik ve buna bağlı olarak makas kullanma, ipe boncuk dizme gibi becerilerde yetersizlik
- Uyku ve yeme problemleri sayılabilir.

2.5 Otizm Spektrum Bozukluğunda Tarama ve Tanı Araçları

OSB organik ve organik olmayan birçok faktörün bir araya gelmesi ile meydana gelen heterojen bir nöro gelişimsel bozukluktur. Bu nedenle OSB'nin taranmasında ve tanısında tek bir etyolojik faktör üzerine yoğunlaşan testler yeterli olmayacak olup hem çevresel hem de genetik faktörleri kapsayacak çok yönlü tanı ve tarama araçlarının kullanılması gerekmektedir.

2.5.1 Otizm Spektrum Bozukluğu Tarama Araçları

OSB'li bireylerin yaklaşık %30'u 2 yaşından önce semptom göstermeye başlamakla birlikte yaklaşık %25'inin 18-24 ay arası gibi erken dönemde semptom göstermeye başladığı bilinmektedir(56). OSB'nin erken tanısında ilk görev her ne kadar aileye düşüyor olsa da ailelerin çocuklarında farkettileri bu gelişme geriliğini kabullenememe tutumu nedeniyle tanı gecikebilmektedir(56). Bu nedenle OSB'nin taranması için rutin tarama programlarının oluşturulması ve büyük ihtimalle bu

çocukları ilk görecek olan pediatristlerin bu konuda bilgi sahibi olmaları erken tanıda hayati önem taşımaktadır(56).

Tarama araçları tanı testi olmayıp, tarama testlerinin amacı bir bireyin daha ayrıntılı ve derin bir değerlendirme için yeteri kadar risk etmenine sahip olup olmadığını belirlemektir (56). OSB'nin taranmasında otizm tanısı koyabilecek belirgin tetkikler olmadığı için bu tarama testlerinde bireylerin davranış özellikleri değerlendirilir ve otizm belirtisi olan davranışların varlığı ve normal gelişim sürecini takiben olması gereken davranışların yokluğu araştırılır (56).

OSB tarama testleri birinci düzey ve ikinci düzey tarama testleri olarak ikiye ayrılır(57). Birinci düzey taramada herhangi bir OSB belirtisi görülme bile doğan her bireyin gelişiminin otizm açısından takibi yapılmaktadır(57). İkinci düzey taramada ise gelişimsel gerilik olduğu şüphelenilen bireyler taranmaktadır(57). OSB tarama araçları Bishop ve arkadaşları tarafından Tablo 2.3'teki şekilde sınıflandırılmıştır(57).

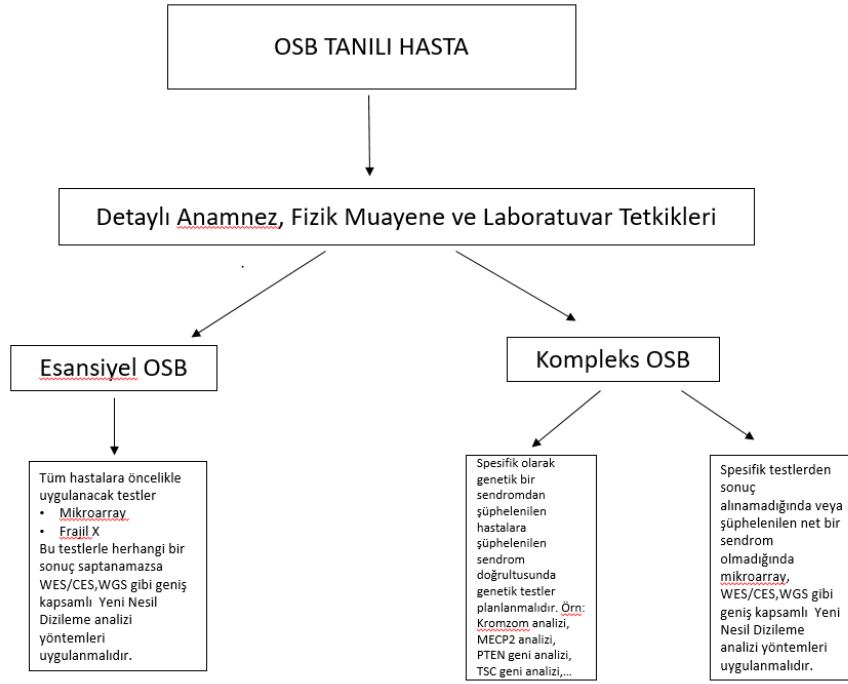
Tablo 2.3 Bishop ve Arkadaşları Tarafından 2008 Yılında Bildirilen OSB Tarama Araçları(57)

Birinci Düzey Tarama Araçları	Erken Çocukluk Dönemi Otizm Tarama Ölçeği (Checklist for Autism in Toddlers - CHAT) Değiştirilmiş Erken Çocukluk Dönemi Otizm Tarama Ölçeği (Modified Checklist for Autism in Toddlers - M - CHAT) Otistik Özellikleri Erken Tarama Soru Listesi (The Early Screening of Autistic Traits Questionnaire - ESAT) İletişim ve Sembolik Davranış Ölçekleri - Gelişimsel Profili (The Communication and Symbolic Behavior Scales-Developmental Profile - CSBS Checklist) Yaygın Gelişimsel Bozukluklar Tarama Testi - I (Pervasive Developmental Disorders Screening Test I - PDDST I) Erken Gelişim Evreleri Ölçeği (Ages and Stages Questionnaires - ASQ)
İkinci Düzey Tarama Araçları	İletişim ve Sembolik Davranış Ölçekleri Davranış Örneği (The Communication and Symbolic Behavior Scales-Behavior Sample - CSBS Behavior Sample /SOF) Yaygın Gelişimsel Bozukluklar Tarama Testi - II (Pervasive Developmental Disorders Screening Test II - PDDST II) Sosyal İletişim Soru Listesi - (Önceden Otizm Tarama Soru Listesi olarak bilinirdi) (Social Communication Questionnaire - Autism Screening Questionnaire - SCQ) İki Yaş Otizmi Tarama Testi - (Screening Tool for Autism in Two-Year-Olds - STAT)

Yukarıda sayılan tarama araçlarına ek olarak Türkiye’de en sık kullanılan tarama araçlarından biri de Denver Gelişimsel Tarama Testi II (Denver Developmental Screening Test II - DDST-II); 0-6 yaş arası çocuklardaki gelişimsel yetersizlikleri tespit etmek için kullanılmakta olup bu testin Türkiye’deki OSB şüpheli bireyler üzerinde güvenilir bir tarama testi olduğu kabul edilmiştir(58). Bu testte bireyler ince ve kaba motor hareketler, bireysel ve sosyal davranışlar ve dil olmak üzere farklı gelişim basamaklarında değerlendirilirler (58).

2.5.2 Otizm Spektrum Bozukluğu Tanı Araçları

Bir önceki bölümde bahsedilen birinci ve ikinci düzey tarama testlerinde OSB açısından risk barındırdığı tespit edilen bireyler bu aşamadan sonra artık nöroloji uzmanı ve psikiyatrist tarafından değerlendirilmeli, öncelikle tıbbi ve nörolojik muayenelerinin yapılması gerekmektedir(59). OSB semptomlarından olan adına dönmeme ve sosyal iletişimde yetersizlik işitme kaybından kaynaklı da olabileceği için bireyler işitme fonksiyonlarının kontrolü açısından KBB uzmanınca değerlendirilmelidir(59). OSB’li bireylerde görülen gelişimsel gerilik bulguları geçirilmiş epileptik nöbetlerden veya beynin yapısal anomalilerinden de kaynaklanabileceği için bu bireylere detaylı nörolojik muayene yapıp elektroensefalografi(EEG), manyetik rezonans(MR) ve bilgisayarlı tomografi(BT) ile değerlendirme yapılması gerekmektedir(60). OSB’li bireylerde hormonal ve metabolik nedenleri ortaya koyabilmek ve toksik madde maruziyeti olup olmadığını anlamak için detaylı kan ve idrar tahlilleri uygulanması önerilmektedir(60). Tüm yapılan klinik araştırmalar sonucunda otizme eşlik eden herhangi bir bulgusu olmayan vakalar esansiyel olan vakalar ise kompleks otizm olarak adlandırılmakta olup OSB multifaktöriyel poligenik hastalıklardan biri olduğu için hastalar genetik hastalıklar açısından detaylı bir şekilde muayene edilmeli ve uygun genetik testler planlanmalıdır(61). OSB tanılı bir hastada izlenmesi gereken temel genetik yaklaşım şekil 2.4’te gösterilmiştir(61).



Şekil 2.4 Otizm spektrum bozukluğu tanılı hastada izlenmesi gereken temel genetik yaklaşım(61)

Detaylı tıbbi ve nörolojik muayenesi yapılan ve bunların sonucunda herhangi bir organik bozukluk tespit edilemeyen OSB şüpheli bireylere tanıyı netleştirebilmek amacıyla bir çocuk psikiyatri uzmanı tarafından OSB tanılama araçları uygulanmaya başlanmaktadır. OSB tanılama araçları şunlardır(62).

- Otizm Tanılayıcı Görüşme - Revize Edilmiş (Autism Diagnostic Interview - Revised (ADI-R):
- Otizm Tanılayıcı Gözlem Planı - Genel (Autism Diagnostic Observation Schedule - Generic / ADOS – G)
- Çocukluk Otizmi Dereceleme Ölçeği (Childhood Autism Rating Scale - CARS)
- Gilliam Otizmi Dereceleme Ölçeği (Gilliam Autism Rating Scale - GARS):
- Sosyal Tepkisellik Ölçeği (Social Responsiveness Scale – SRS)
- Otizm Davranış Kontrol Listesi (Autism Behavior Checklist: ABC)

Yukarıda bahsedilen tanı araçlarına ek olarak klinikte OSB tanısı koymada ve OSB'yi sınıflandırmada en sık kullanılan tanı ve sınıflama araçları Ruhsal

Bozuklukların Tanımsal ve Sayısal El Kitabı (Diagnostic and Statistical Manual DSM) ve Hastalıkların Uluslararası Sınıflandırılması (International Classification of Diseases - ICD) dır(63).

2.5.2.1 Ruhsal Bozuklukların Tanımsal ve Sayısal El Kitabı (Diagnostic and Statistical Manual DSM):

DSM; APA tarafından yayımlanan OSB'nin tanısında ve sınıflandırılmasında kullanılan temel bir kaynak olup 1952 yılından bu zamana kadar 5 farklı versiyonu mevcuttur(64).

DSM'nin 2013'te yayınlanan son baskısı olan DSM-5'te OSB Nörogelişimsel Bozukluklar kısmında yer almakta olup otistik bozukluk, Asperger Bozukluğu, YGB-BTA ve ÇDB ayrı ayrı başlıklar altında değerlendirilmeyip hepsi otizm spektrum bozukluğu altında değerlendirilmiş olup Rett bozukluğu bu sınıflandırmadan kaldırılmıştır(64). DSM-5'te, DSM-4'ten farklı olarak, tanı koymanın yanında bireyin ihtiyaç duyduğu desteğin miktarına göre bir klinik ağırlık derecelendirilmesi yapılmış olup DSM-5'te OSB tanı kriterlerini karşılamayan OSB şüpheli bireylerin sosyal iletişim bozukluğu(SİB) açısından değerlendirilmesi önerilmiştir(64).

DSM-5 tanı kriterleri aşağıda belirtilmiştir (64):

A.Bireyin başvurduğu sırada veya daha önceden alınan bilgilere (örneklerle açıklayacak şekilde) göre aşağıdaki durumlarla belirti veren, değişik şekillerde toplumsal iletişim ve etkileşimde ilerleyen eksiklikler:

A1. Sözelimi, sıradışı toplumsal yaklaşım ve diyalog kuramamadan ilgilerini, duygularını veya düşüncelerini ifade edememeye, toplumsal iletişimi başlatamamaya ya da toplumsal iletişime girememeye kadar değişen aralıkta toplumsal ve duygusal karşılıklık yetersizliği.

A2. Sözelimi, sözel ve sözel olmayan iletişim eksikliğinden, göz teması kurma ve beden dilinde sıradışılıklarla veya el-kol hareketlerini algılama ve taklit etme yetersizliklerine, yüz ifadesinin ve sözel olmayan

iletişimin hiç olmamasına kadar değişen aralıkta, toplumsal etkileşim için kullanılan sözel olmayan iletişim davranışlarında yetersizlikler.

A3. Sözelimi, farklı toplumsal ortamlara göre davranışlarını ayarlama zorluklarından, oyun kurma veya arkadaşlık ilişkisi kurma zorluklarına, akranlarına ilgi duymamaya kadar değişen aralıkta, ilişkiler kurma, ilişkilerini sürdürme ve ilişkileri anlama yetersizlikleri.

Klinik ağırlık seviyesi, toplumsal iletişim yetersizliklerine ve sınırlı, tekrarlayıcı davranış hareketlerine göre değişir.

B. Bireyin başvurduğu sırada veya daha önceden alınan bilgilere (örneklerle açıklayacak şekilde) göre, aşağıdaki durumlardan en az ikisi ile belirti veren, kısıtlı, tekrarlayan davranış hareketleri, ilgiler ya da aktiviteler:

B1. Basmakalıp veya tekrarlayıcı motor hareketler, nesne kullanımları veya konuşma [örn. Sade motor tekrarlayıcı davranış örnekleri, oyuncakları veya hareketli nesneleri sıraya koyma, tekrarlayan ve anlamsız sözcükler kullanma (ekolali), kendine has ifadeler].

B2. Aynılık konusunda ısrarcılık, rutin dışına tolerasyon gösterememe veya aşırı yüksek düzeyde sözel ya da sözel olmayan davranışlar (örn. Küçük değişimler karşısında fazla sıkıntı duyma, değişikliklerde zorluklar yaşama, katı düşünce durumları, kendine özgü ve aşırılık içeren selamlama davranışları, hep aynı yoldan gitmek ve aynı yemeği yemek isteği).

B3. Yoğunluğu ve odağı sıradışı olan, aşırı derecede sınırlı, farklılık göstermeyen ilgi alanları (örn. alışılmadık nesnelere aşırı bağlanma veya bunlarla sürekli ilgilenme, aşırı derecede kısıtlı ya da takıntılı ilgi alanları).

B4. Duyusal ifadelere karşı çok yüksek veya düşük düzeyde tepki verme veya çevrenin duyusal taraflarına sıradışı bir ilgi gösterme (örn. ağrı/sıcağa karşı tepkisizlik, bazı seslere veya dokulara karşı ters tepki verme, nesneleri fazla koklama veya nesnelere fazla dokunma, ışıklardan veya parlak nesnelerden fazla etkilenme).

Klinik ağırlık seviyesi, toplumsal iletişim yetersizliklerine ve sınırlı, tekrarlayıcı davranış hareketlerine göre değişir.

C. Semptomlar gelişimin erken safhasında ortaya çıkmış olmalıdır (sosyal yetenekler kısıtlı bir düzeyin üzerine çıkana kadar belirti vermeyebilir veya ilerleyen yıllarda, öğrenilen yöntemlerle gizlenebilir).

D. Semptomlar, toplumsal, işle alakalı alanlarda veya önemli başka fonksiyonel alanlarda klinik olarak belirgin bir gerilemeye sebep olur. E. Bu yetersizlikler, anlık gelişimsel yetersizlik veya genel gelişimsel yetersizlikler ile ifade edilemez. Anlık gelişimsel yetersizlik ve otizm spektrum bozukluğu genellikle beraber ortaya çıkar. Otizm spektrum bozukluğu ve anlık gelişimsel yetersizlik ortak tanısı koyabilmek için, sosyal iletişim, genel gelişim seviyesine göre beklenenin altında olmalıdır.

Not: DSM-IV tanı kriterlerine göre çocukluk otizmi, Asperger bozukluğu ya da YGB-BTA kesin tanısı konmuş olan bireylere otizm spektrum bozukluğu tanısı konmalıdır. Sosyal iletişimde belirgin yetersizlikleri olan ancak semptomları otizm spektrum bozukluğu için diğer tanı kriterlerini karşılamayan bireyler, Sosyal İletişim Bozukluğu açısından değerlendirilmelidirler.

Sosyal İletişim Bozukluğu DSM-5 Tanı Kriterleri:

1. Aşağıdaki maddelerin tümü ile belirti veren sözel ve/veya sözel olmayan sosyal iletişimde devam eden güçlükler:
 - A1. Sosyal alanda uygunsuz olacak şekilde selamlaşma, karşılıklı konuşma gibi sosyal iletişimlerde yetersizlik.
 - A2. Okulda, oyun ortamında normalden farklı konuşma, yaşlılarıyla ve kendinden büyüklerle normalden farklı konuşma ve ifade edici cümleler kurmaktan kaçınma gibi, o anki durumla veya diyalog kurduğu kişinin ihtiyaçlarına karşılık verecek şekilde iletişim kurma yeteneğinde yetersizlik.
 - A3. Sohbet esnasında sırasını bekleme, söylediği bir şey yanlış anlaşıldığında tekrar söyleme veya bu durumu düzeltmek için kullanması gereken ifadeleri bilmeme
2. Bu yetersizlikler sosyal iletişim ve ilişkilerde, okul veya iş hayatında hepsinde veya sadece birinde fonksiyonel yetersizliğe neden olur.
3. Semptomlar gelişimin erken safhasında ortaya çıkmış olmalıdır (sosyal yetenekler kısıtlı bir düzeyin üzerine çıkana kadar belirti vermeyebilir veya ilerleyen yıllarda, öğrenilen yöntemlerle gizlenebilir).
4. Bu semptomlar nörolojik veya başka bir organik bozukluk ile açıklanamaz, dilbilgisi alanındaki yetersizliğe bağlanamaz ve OSB, anlık gelişimsel yetersizlik veya genel gelişimsel yetersizlik gibi başka bir ruhsal bozukluk olarak tanımlanamaz.

Bir bireyin DSM-5 kriterlerine göre OSB tanısı alabilmesi için A grubundaki üç maddenin hepsini, B grubundaki 4 maddenin en az 2'sini karşılaması gerekmektedir(64).

2.5.2.2 Hastalıkların Uluslararası Sınıflandırılması (International Classification of Diseases - ICD):

İlk olarak Uluslararası İstatistik Enstitüsü tarafından 1891 yılında hazırlanan ve 10 yılda bir revize edilen bu sınıflandırmanın 6.sını hazırlama görevi 1948 yılında DSÖ'ye verilmiş olup otizm ifadesi ilk defa infantil otizm şeklinde 1978'de hazırlanan ICD-9'da yer almıştır.(65). En son 2007 yılında yayınlanan ICD-11 de otizm spektrum bozukluğu 6A02 koduyla zihinsel, davranışsal ve nörogelişimsel bozukluk başlığının altında yer almış olup entelektüel gelişimsel yetersizlik ve/veya dil bozukluklarının eşlik edip etmemesine göre 5 gruba ve atipik özellik gösterip göstermemesine göre de 2 alt gruba ayrılmıştır(62). Bu sınıflandırmada yer alan maddeler şu şekildedir (65):

1. Entelektüel gelişimsel yetersizlik eşlik etmeyen ve fonksiyonel dilde hafif bozulma olan veya hiç bozulma olmayan otizm spektrum bozukluğu
2. Entelektüel gelişimsel yetersizlik eşlik eden ve fonksiyonel dilde hafif bozulma olan veya hiç bozulma olmayan otizm spektrum bozukluğu
3. Entelektüel gelişimsel yetersizlik eşlik etmeyen ve fonksiyonel dil bozukluğu olan otizm spektrum bozukluğu
4. Entelektüel gelişimsel yetersizlik ve fonksiyonel dil bozukluğu eşlik eden otizm spektrum bozukluğu
5. Entelektüel gelişimsel yetersizlik ve fonksiyonel dil yokluğunun eşlik ettiği otizm spektrum bozukluğu
6. Otizm spektrum bozukluğu, diğer tanımlanmış
7. Otizm spektrum bozukluğu, tanımlanmamış

ICD-11'de DSM-5' te olduğu gibi Rett Sendromu OSB altında değerlendirilmeyip LD90.4 koduyla gelişimsel anomaliler başlığı altında değerlendirilmiştir(65).

En son yayınlanan DSM-5 ve ICD-11 kriterleri otizm spektrum bozukluğu tanısı koymada ve sınıflandırmada güncel kullanılan temel kaynaklar olup ikisininde daha önceki yayınlardan en büyük farkı otizm spektrum bozukluğu semptomlarını üç çekirdek alan yerine iki çekirdek alan altında değerlendirmesi olup bu alanlar; “sosyal iletişim ve etkileşim yetersizlikleri” ile “kısıtlı ve tekrarlayıcı hareket ve davranış bozuklukları”dır(66).

2.6 Otizm Spektrum Bozukluğuna Eşlik Eden Tanılar ve Komorbidite

OSB birçok farklı hastalıkla birlikte seyredebilmekle birlikte bunların en sık görülenleri arasında; entelektüel yetersizlik, konuşma bozuklukları, epilepsi, Frajil X sendromu, Tuberoskleroz, gastrointestinal sistem hastalıkları, uyku bozuklukları ve diğer bazı psikiyatrik bozukluklar sayılabilmektedir(67). OSB’li çocuklarda komorbiditeye en çok neden olan gelişimsel bozukluk konuşma bozuklukları olup OSB’li bireylerin yaklaşık %65’inde görülmektedir(67).

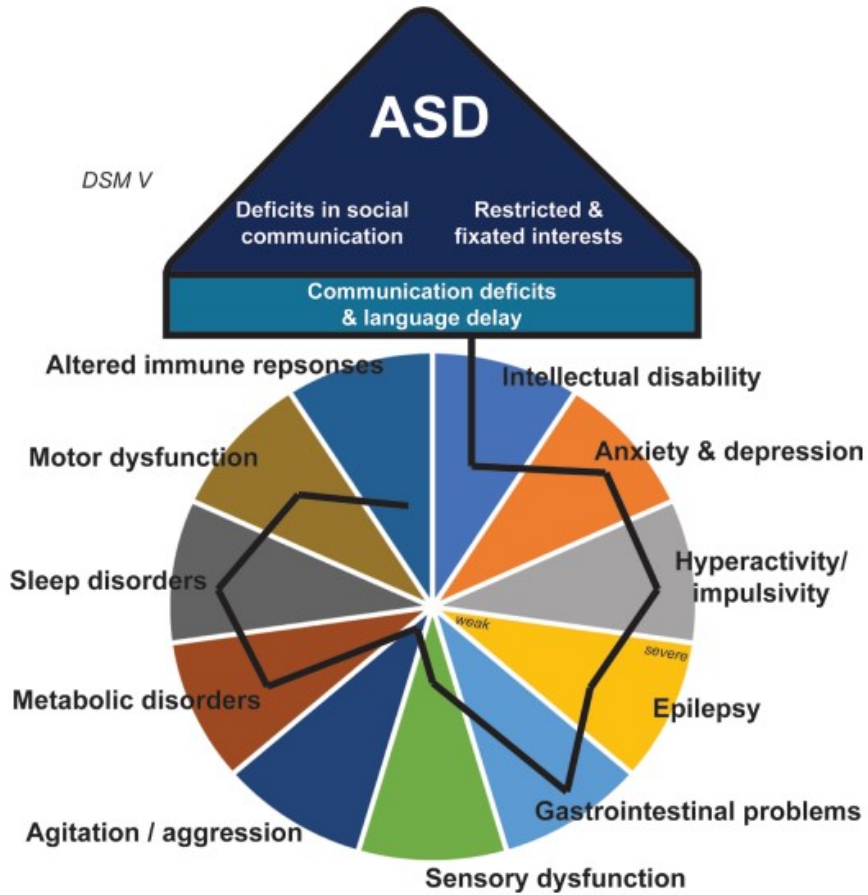
OSB tanılı bireylerin yaklaşık %45’ine entelektüel yetersizlik ve %30’una epilepsi eşlik etmektedir(67). Entelektüel yetersizlik OSB’li bireylerde komorbiditenin önemli nedenlerinden biri olup bu bireylerin %70’inin IQ’su 70’in altında tespit edilmektedir(67). Entelektüel yetersizliğin eşlik ettiği OSB vakalarında epilepsi görülme oranı %20 iken, normal zeka seviyesine sahip bireylerde bu oran %8 olup epilepsi OSB hastalarında komorbiditeye en çok neden olan nörolojik bozukluktur (68).

Tuberoskleroz tanılı bireylerin yaklaşık %26-50’sinde, Frajil X tanılı bireylerin ise yaklaşık %30-50’sinde OSB tanısı bulunmaktadır (68).

Yapılan çalışmalarda OSB tanılı bireylerin yaklaşık %10-25’inde gastrointestinal sistem hastalıklarının görüldüğü tespit edilmiş olup bu semptomların bireylerin davranış bozukluğunu arttırdığı bildirilmektedir (69).

OSB'li bireylerin yaklaşık %55'inde uyku bozukluklarının görüldüğü tespit edilmiş olup bu sorunlar genellikle uykuya dalma ve devam ettirmede zorluk ve non-REM uyku evrelerinde bozukluklardır (70).

OSB tanılı bireylerin yaklaşık %50'sinde dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu(DEHB) eşlik etmekteyken, %40-50'sinde anksiyete bozukluğu görülmektedir(71). OSB ile sık birliktelik gösterebilen diğer bazı psikiyatrik bozukluklar arasında; depresif bozukluk, sosyal fobi, bipolar bozukluk, yeme bozuklukları ve şizofreni sayılabilir ve bu psikiyatrik bozukluklar OSB hastalarının yaklaşık olarak %40-70'inde görülebilmektedir (71). Otizm spektrum bozukluğuna eşlik eden tanılar şekil 2.5'te belirtilmiştir (72).

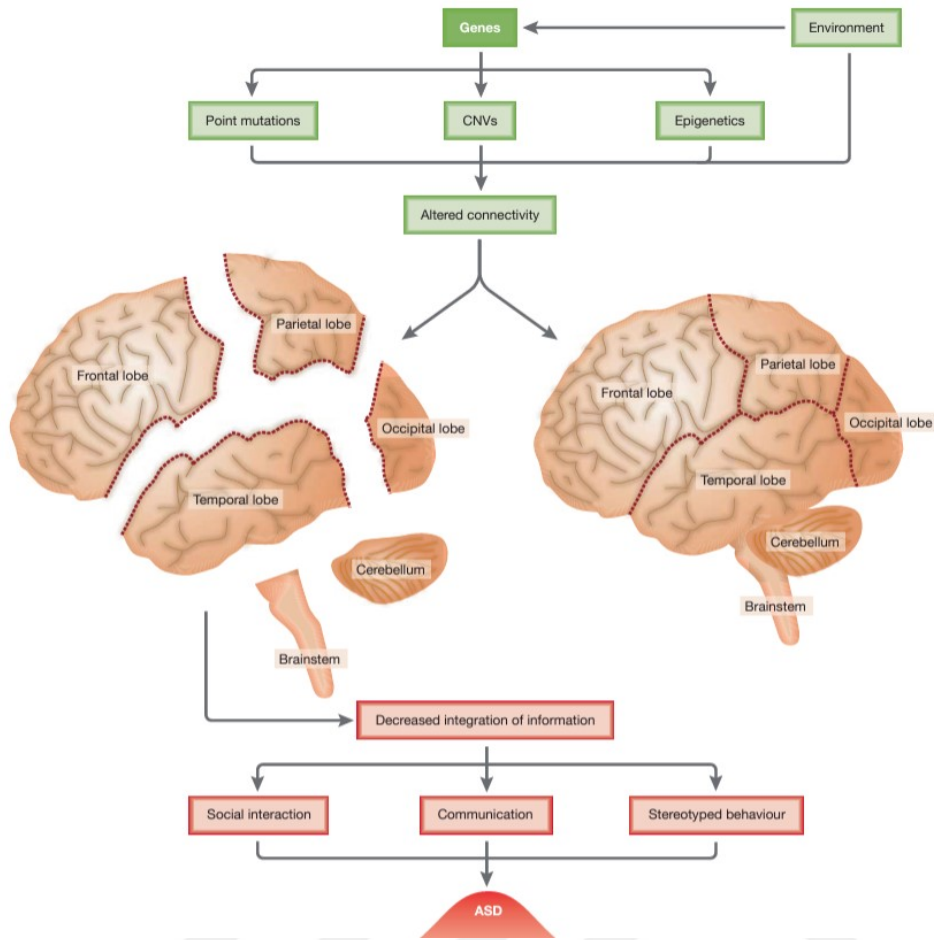


Şekil 2.5 Otizm Spektrum Bozukluğuna Eşlik Eden Tanılar(72)

OSB'ye ek klinik bulguların eşlik edip etmemesine göre kompleks ve esansiyel OSB olarak 2'ye ayrılmaktadır(72). OSB'li hastaların yaklaşık %15-20'sinde dismorfik bulgular gözlenirken %5-15'inde mikrosefali görülmektedir(72). OSB'ye ek klinik bulguların eşlik ettiği durumlar kompleks OSB olarak adlandırılır ve OSB'li bireylerin yaklaşık olarak %20-30'unda kompleks OSB bulunurken %70-80'inde esansiyel OSB bulunmaktadır.(72). Kompleks OSB çoğunlukla kötü prognozla ilişkili olup kadınlarda daha sık görülmektedir(72). Ayrıca kompleks OSB'li bireylerin yaklaşı %30'una genetik hastalık tanısı konmakla beraber kompleks OSB'nin kardeşler arasında tekrarlama riski esansiyel OSB 'den daha azdır(73). OSB'li bireylerdeki dismorfik bulguların tespitinde yardımcı olması açısından bir Otizm Dismorfoloji Ölçeği(ODÖ) oluşturulmuş olup bu ölçekte 12 dismorfik bulgu değerlendirilmektedir(73). Bunlar; Ayak ve tırnaklar, el ve parmak yapısı, boy, saç yapısı, kulak yapısı, burun yapısı, yüz büyüklüğü ve yapısı, ağız-dudak ve diş yapısıdır(73).

2.7. Otizm Spektrum Bozukluğunun Etyolojisi ve Olası Risk Faktörleri

Bu zamana kadar OSB etyolojisini saptamaya yönelik yapılan tüm çalışmalara rağmen OSB olgularının sadece %10-25'inde etyolojik faktör ortaya konabilmiş olup en çok kabul gören düşünce OSB'nin birçok etyolojik faktörün bir araya gelmesi ile oluştuğunu savunan nedensellik hipotezidir(72). OSB'ye neden olan faktörler arasında; genetik, epigenetik, nöroanatomik yapısal faktörler, nörolojik faktörler, metabolik faktörler, psikososyal faktörler, prenatal/postnatal etkenler, hücrel stres, çevresel ve immünolojik-inflamatuar faktörler ile bu faktörlerin birbirleriyle olan etkileşimleri sayılabilir(72). OSB etyolojisinde rol oynayan faktörler ve bunların birbiriyle olan etkileşimleri şekil 2.6'da gösterilmiştir (72).



Şekil 2.6 OSB etyolojisinde rol oynayan faktörler ve bunların birbiriyle olan etkileşimleri(72)

2.7.1 Otizm Spektrum Bozukluğunda Nöroanatomik/Nörobiyolojik ve Ekstraserebral Faktörler

OSB'li bireylerin beyin hacminin ilk doğduklarında normal olup 2 yaşına kadar büyümenin normal olarak gözlendiği fakat 2 ile 12 yaşları arasında büyümenin hızlandığı ve serebral hacimlerinin normalden yaklaşık 150 gram daha fazla olduğu serebellum hacimlerinin ise daha az olduğu tespit edilmiştir(74). Ayrıca bu bireylerin serebral korteks ve girus yapılarının normalden daha kalın olması ve kafa çevrelerinin genel olarak normalden daha büyük olarak saptanması OSB'de nöroanatomik yapısal ve fonksiyonel faktörlerle ilişkili olabileceğini göstermiştir(74).

OSB tanısı olan ve olmayan bireylerin serebral yapılarının karşılaştırıldığı çalışmaların neticesinde; frontal ve temporal lob, limbüs(amigdala ve hipokampus) ve serebellumda tespit edilen değişikliklerin OSB tanılı bireylerde saptanan klinik semptomlara neden olabileceği düşünülmektedir(74).

OSB'li bireylerde beyindeki fonksiyonel aktiviteyi göstermek için yapılan araştırmalardan biri olan EEG çalışmalarında bu bireylerin yaklaşık %50'sinde uyku EEG'sinde anormallik tespit edilmiş olup bu anormalliklerin en sık görülenleri; epileptik dalga formasyonu ve anormal paroksizmal aktivitedir(75). Anormal EEG bulguları ile OSB sıklıkla birliktelik göstermesine rağmen bu anormalliklerle OSB bulguları arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir (75). Yapılan diğer bir fonksiyonel çalışmada OSB tanılı olan ve olmayan bireylerdeki pozitron emisyon tomografisi(PET) ve fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme(fMRG) sonuçları karşılaştırılmış olup OSB tanısı olmayan bireylerde yüz tanımlamanın ventral görme korteksi, fuziform girus (FG), üst temporal sulkus (ÜTS), amigdala ve insula nöron ağında yapıldığı ve bilindik yüzler karşısında FG'nin, nesne tanımlama esnasında ise alt temporal girusun (ATG) daha fazla aktive olduğu görülmüş olup OSB'li bireylerde yüz tanımlama ile ilgili yapılan ilk fMRG araştırmalarında yüz tanımlama esnasında frontal girus daha az aktive olurken alt temporal girusun daha fazla aktive olduğu tespit edilmiştir ve OSB'li bireylerin yüzü de nesne gibi algıladıkları düşünülmüştür (75). Yine aynı çalışmalarda OSB'li hastaların %55'inde normal %45'inde ise anormal MRG bulguları elde edilmiş olup anormal MRG bulguları %94 oranında araknoid kist, mega sisterna magna ve gliotik farklılıklar gibi benign bulgular olduğu için MRG her ne kadar OSB etyopatolojiyi kavramaya yardımcı bir görüntüleme yöntemi olsa da tanı koymada yeterli bir yöntem değildir(75).

OSB'li bireylerde yapılan nörotransmitter aktivitesi çalışmalarında özellikle glutamat, serotonin ve gama aminobütirik asit(GABA) nörotransmitterlerinin aktivitelerinde bozukluklar tespit edilmiş olup bu bozuklukların sinaptik yollardaki inhibe edici ve aktive edici fonksiyonlar arasında dengesizliklere neden olduğu tespit edilmiştir (76).

Otizm etyolojisine yönelik son yıllarda yapılan çalışmalar OSB oluşumunda diğer organ sistemlerinin de rolü olabileceği üzerine yoğunlaşmış olup OSB'li bireylerin

yaklaşık %20-68'inde gastrointestinal sistem(GİS) yakınmalarının olması OSB etyolojisinde GİS patolojilerinin de rol oynayabileceğini düşündürmüştür (77).

2.7.2 Otizm Spektrum Bozukluğunda Çevresel Faktörler

Çevresel faktörlerin prenatal dönemden itibaren etki etmeye başlayarak bireyde endokrin, metabolik, GİS, immün ve sinir sisteminin fonksiyonlarını veya gen ekspresyonunun aktivitesini etkileyerek bireyin kendisinde veya ileriki nesillerde OSB oluşumunda rol oynayabileceği iddia edilmektedir(78).

Gebelik dönemindeki annenin maruz kaldığı birçok faktörün OSB'yi tetikleyebileceği iddia edilmekte olup bu faktörler arasında şunlar sayılabilir(78):

- Gebelikte beslenme yetersizlikleri ve hiperemezis
- Gebelikte yetersiz D vitamini, folik asit, çinko, demir ve omega-3 takviyesi kullanımı sonucunda meydana gelen vitamin ve mineral eksiklikleri
- Gebelikte geçirilen enfeksiyonlar
- Gebeliğin ilk trimesterında kullanılan ilaçlar
- Gebelikte annenin maruz kaldığı fiziksel, emosyonel ve oksidatif stres.
- Gebelikte hipertansiyon, diyabetes mellitus ve obezite bulunması

Doğum esnasında bebeğin maruz kaldığı stres faktörlerinin(hipoksi, uzamış doğum eylemi), düşük doğum ağırlığına sahip olmanın(<2500 gr) ve prematüritenin(özellikle 33 haftadan önce doğarlarda) artmış OSB riski ile ilişkili olduğu iddia edilmekte olup prematur doğan bireylerde yaklaşık %5-20 oranında OSB gözlenmektedir (79).

Gelişimin ilk evrelerinde yaşanan travma veya stres, ebeveyn ve çocuk arasındaki iletişim bozuklukları, anne veya babada bulunan anormal kişilik özellikleri ve psikiyatrik hastalıklar da OSB gelişimine katkı sağlamaktadır(79). İleri anne yaşında bazı genetik sendromların görülme sıklığının artması nedeniyle OSB riskinde artışa neden olduğu bilinmekte olup son yıllarda yapılan çalışmalar OSB'de ileri baba yaşının da etkili

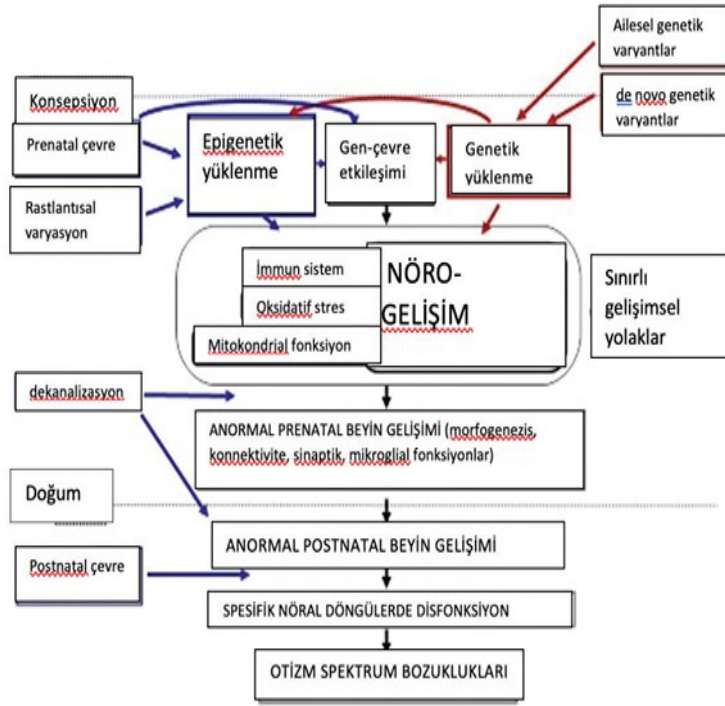
olduğunu göstermiş olup 35 yaş üzeri erkeklerin OSB'li çocuk sahibi olma riski 30 yaş altı erkeklere göre 6 kat daha fazla bulunmuştur (80).

2.7.3 Otizm Spektrum Bozukluğunda Epigenetik Faktörler

Epigenetik terimi, DNA'nın birincil dizisinde değişime neden olmadan gen ifadesi ve fonksiyonunda değişikliklere neden olan; DNA'nın düzenleyici bölgelerinde kompleksler oluşturan faktörleri ifade eder. Epigenetik modifikasyonların en önemli özelliği DNA sekansını değiştirmeden genlerin promoter bölgelerini etkileyerek genin transkripsiyonunda değişikliklere sebep olmasıdır. Bir epigenetik modifikasyon sonrasında genin fonksiyonu azalabilir veya artabilir(81).

Epigenetik modifikasyonların en çok bilinenleri arasında; histon modifikasyonları, spesifik mRNA kalıtımı, DNA metilasyonu, pasif DNA demetilasyonu, şaparon aktivitesinin artırılması ve kromatin remodeling yer almaktadır(82).

Epigenetik modifikasyonların genel olarak dokuya özgü ve geçici olarak meydana gelmesi epigenetik belirteçlerin gözlemlenmesini zorlaştırır da, çevresel faktörlerin çoğunlukla epigenetik mekanizmalar yoluyla etki ettiği düşünülmekte olup OSB etyolojisinde epigenetik modifikasyonların rolüne dair güçlü çalışmalar bulunmaktadır(83). OSB'li bireylerde postmortem yapılan bir çalışmada beyin serebellum, temporal korteks, dorsolateral prefrontal kompleks bölgelerinde DNA metilasyonu incelenmiş olup genom bazında diferansiyel metillenmiş yerler (differentially methylated regions-DMR) tespit edilmiştir(84). Yine aynı çalışmada temporal kortekste 6. Ve 11. Kromozomlarda bazı lokuslarda hipometile ve hipermetile alanlar tespit edilmiştir(85). 257 serebral biyopsi örneğinin incelendiği başka bir çalışmada OSB'li bireylerin yaklaşık %65'inde temporal ve prefrontal kortekste ortak bir asetilasyon imzası tespit edilmiştir(84). Epigenetik, genetik ve çevresel faktörlerin OSB oluşum mekanizmasına kombine etkisi şekil 2.7'de özetlenmiştir (86).



Şekil 2.7 Otizm Spektrum Bozukluğu Oluşum Mekanizmasında Çevresel,Epigenetik ve Genetik Faktörlerin Kombine Etkisi(86)

2.7.4. Otizm Spektrum Bozukluğunda Genetik Faktörler

OSB'li bireylerin yaklaşık %40'inde fenotipi açıklayabilecek genetik faktör saptanabilmekte olup OSB'nin genetik temelini anlamaya yönelik ilk çalışma 1977 yılında Folstein ve Rutter tarafından 21 ikiz kardeş(11 monozigotik,10 dizigotik) üzerinde yapılmış olup OSB'nin konkordansında monozigotik ikizlerle dizigotik ikizler arasında ciddi farklar saptanmıştır(87). Bu çalışmayı baz alarak daha geniş örneklemeler üzerinde yapılan çalışmalarda OSB'nin konkordansı monozigotik ikizlerde %60-90, dizigotik ikizlerde ise %0-10 olarak bildirilmiş olup herhangi bir genetik nedene bağlanamayan OSB'li bir bireyin kardeşinin OSB olma riski ampirik olarak %10-20 olarak bildirilmiştir (88). Ayrıca OSB'li bireylerin aileleri detaylı bir şekilde incelendiğinde pek çoğunun aile bireylerinde bazı OSB semptomlarının (sosyal etkileşimde bozulma, dil ve iletişim bozuklukları gibi) gözlemlendiği belirtilmiş olup ailesinde birden fazla OSB tanılı birey bulunan bir bireyin OSB olma riski ampirik olarak %25-30 olarak bildirilmiştir(88).

OSB erkeklerde kadınlardan yaklaşık olarak 4 kat daha fazla görülmektedir. Bunun nedeni olarak; OSB'li bireylerde X kromozumunda çok çeşitli varyantlar saptanması, erkeklerin beynindeki otozomal transkriptlerin gen ekspresyonunun kadınlarınkinden bazı farklılıklar göstermesi, kadınların doğal yapısının daha dışa dönük olması ve inutero hayatta testesteronun beyin gelişimi üzerindeki etkileri sayılabilir (89).

Yukarıda saymış olduğumuz nedenler OSB'nin genetik temeline dair ortaya konan kanıtlardır. Ayrıca yapılan tüm ikiz ve aile çalışmalarının sonucunda OSB'nin yaklaşık %80-85 oranında kalıtılabilir bir hastalık olduğu bildirilmiş olsa da yapılan tüm genetik testlere rağmen OSB'li bireylerin en fazla %40'inde genetik etken tespit edilebilmektedir(90). OSB etyolojisinde yer alan genetik faktörler temel olarak 3 ana başlık altında toplanabilir:

1. Kromozomal Anomaliler
2. Kopya Sayısı Değişiklikleri(Copy Number Variations-CNV)
3. Tek Nükleotid Değişimleri(Single Nucleotide Variations-SNV)

2.7.4.1. Kromozomal Anomaliler

OSB'li bireylerin yaklaşık %5-7'sinde yüksek çözünürlüklü sitogenetik analizlerle %3-5'inde ise floresan in situ hibridizasyon(FISH) ile tespit edilebilen kromozom anomalileri mevcuttur(91). Down Sendromu entelektüel yetersizliğin en sık genetik nedenlerinden olup bu hastaların %42'sinde OSB görülmektedir. 45,X0(Turner Sendromu) olgularda da OSB görülme sıklığı popülasyon riskinden fazla olup maternal X kromozomuna sahip bireylerin sosyal bilişsel fonksiyonlarının paternal X kromozomuna sahip bireylerden daha kötü olduğu bildirilmektedir(92). 47,XYY(Jacob Sendromu) ve 47,XXY(Klinefelter Sendromu) gibi diğer gonozomal anomalilerde de OSB sıklığı artmış olarak bulunmaktadır ve Klinefelter Sendromu tanılı olguların yaklaşık %25'inde, Jacob Sendromu tanılı olguların %30'unda OSB görülmektedir(92).

OSB hastalarında yapılan sitogenetik çalışmalarda hemen hemen tüm kromozomlarda anomali saptanmış olmasına rağmen yalnızca birkaçında major otizm

lokusu denebilecek sıklıkta mutasyon saptanmış olup bu kromozomlar; 2,3,7,11,15,17,22. Kromozomlar ve X kromozomudur(92). Major otizm lokusu bulunan kromozomlar ve içerdikleri genler tablo 2.4'te gösterilmektedir(92).

Tablo 2.4 Major Otizm Lokusu Bulunan Kromozomlar ve İçerdikleri Genler(92)

KROMOZOM	BİLİNER GENLER
Kromozom 2	<i>NRXN1, SCN7A</i>
Kromozom 3	<i>GAT1, OXTR, CNTN3, SLC9A9, DIA1</i>
Kromozom 7	<i>FOXP2, WNT2, RELN, HOXA1, HOXB1, MET, EN2</i>
Kromozom 11	<i>HRAS</i>
Kromozom 15	<i>GABRB3, GABRA5, GABRG3, UBE3A, ATP10C</i>
Kromozom 17	<i>5-HTT</i>
Kromozom 22	<i>SHANK3</i>
Kromozom X	<i>MeCP2, NLGN3, NLGN4, SLC9A6, FMR1</i>

OSB'li bireylerde sık olarak bildirilen kromozom anomalileri; 18q, 2q37, 22q13.3, Xp22.3 delesyonları ve 15q duplikasyonudur(92).

OSB'li bireylerde en sık görülen kromozom anomalisi Prader-Wili/Angelman kritik bölgesinde yer alan maternal kaynaklı 15q duplikasyonu olup bunun otizmlili bireylerde görülme sıklığı%1-3'tür ve 15q duplikasyonlu olguların yaklaşık %80'inde OSB görülmektedir(93). Duplikasyon genellikle de novo olup izodisentrik 15q kromozomundan kaynaklanır. Ancak nadiren de olsa ebeveynlerdeki kromozomal translokasyonun segregasyonu veya maternal interstisyel 15q duplikasyonundan da kaynaklanabilmektedir (93).

2q37 delesyon sendromu Albright'ın herediter osteodistrofisi benzeri sendrom veya brakidaktili-entelektüel yetersizlik sendromu olarak bilinir ve bu sendroma sahip bireylerin %24-35'inde OSB görülmektedir. Bu bireylerde OSB 'ye ek olarak fasiyal dismorfizm, gelişme geriliği, brakidaktili, kısa boy, obezite ve hipotoni görülmektedir (94).

22q13.3 delesyon sendromu Phalen-Mcdermid Sendromu olarak bilinir ve bu sendroma sahip bireylerin %75'inden fazlasında OSB görülmektedir. Bu bireylerde OSB'ye ek olarak minör fasiyal dismorfizm, gelişme geriliği, ağır konuşma bozuklukları, ağrı duyusunda azalma ve entelektüel yetersizlik görülmektedir(95).

ASD Chromosome Rearrangement Database(ACRD) tarafından yapılan çalışmalarda OSB'li hastalarda yaklaşık 1500 kadar yapısal kromozom anomali tespit edilmiştir(121). Bu çalışmalar sonucunda OSB'den en çok sorumlu tutulan genler; X kromozomundaki NLGN3 ve NLGN4, 2p16'daki NRXN1 ve 22q13'teki SHANK3 genleri olmuştur. Ayrıca 3q25-q27, 17p13, 3p24-p21 bölgelerinde yer alan ASPG1, ASPG2, ASPG3 genleri ve X kromozomu üzerinde yer alan NLGN3 ve NLGN4 genleri Asperger Sendromu ile ilişkilendirilmiştir(96).

2.7.4.2. Kopya Sayısı Değişiklikleri(Copy Number Variation-CNV)

Referans insan genomuyla karşılaştırıldığında kromozom bölgelerinde 50 bç(baz çevresi)den fazla kazanıma veya kayıba neden olan değişimlere "kopya sayısı değişiklikleri" denmekte olup önceleri 1000 bç'den büyük değişimler CNV olarak adlandırılırken tespit yöntemlerinin gelişmesi ile saptanabilen alanlar 50 bç'ne kadar inmiştir(97). 2-50 bç'lik değişimler indel olarak adlandırılır. CNV kromozomal bölgelerdeki gen içerebilen veya içermeyen değişimleri ifade etmekte olup bireyde CNV varlığı her zaman hastalığa neden olmamaktadır. Bir CNV'nin hastalığa yol açabilmesi için önemli bir yolakta işlev gören gen/genleri etkilemesi gerekmektedir. Sağlıklı bireylerden oluşan yapılan toplum çalışmalarında; çalışmaya katılanları %5-10'unda 500 kb(kilobaz)dan büyük, %1-2'sinde 1 Mb(megabaz)dan büyük CNV'ler saptanmıştır(97). Yapılan son araştırmalarda insan genomunun yaklaşık 2/3'ünün tekrarlardan oluştuğunu ve insan genomunun %4.8-9.5'inin CNV içerdiği tespit edilmiştir (97). Ancak ortak bir görüş olarak 1 Mb'dan büyük olan CNV'lerin patojenik, 200 kb'dan küçük olan CNV 'lerin ise benign olma olasılığı yüksek olarak bildirilmektedir(98). Sağlıklı bir bireyde de 100'den fazla 50 bç'den büyük CNV tespit edilebiliyor olması bazen hasta bireylerde saptanan CNV'lerin mevcut kliniğe neden

olup olmadığını yorumlaştırmayı zorlaştırmakta olup bu CNV'lerin yorumlanabilmesi için hasta ve sağılıklı bireylerde tespit edilen CNV'lerin bildirildiğı veritabanları kullanılmaktadır ve bu veritabanlarından en sık kullanılanları; Database of Genomic Variants(DGV), Clingen ve Decipher'dır(98).

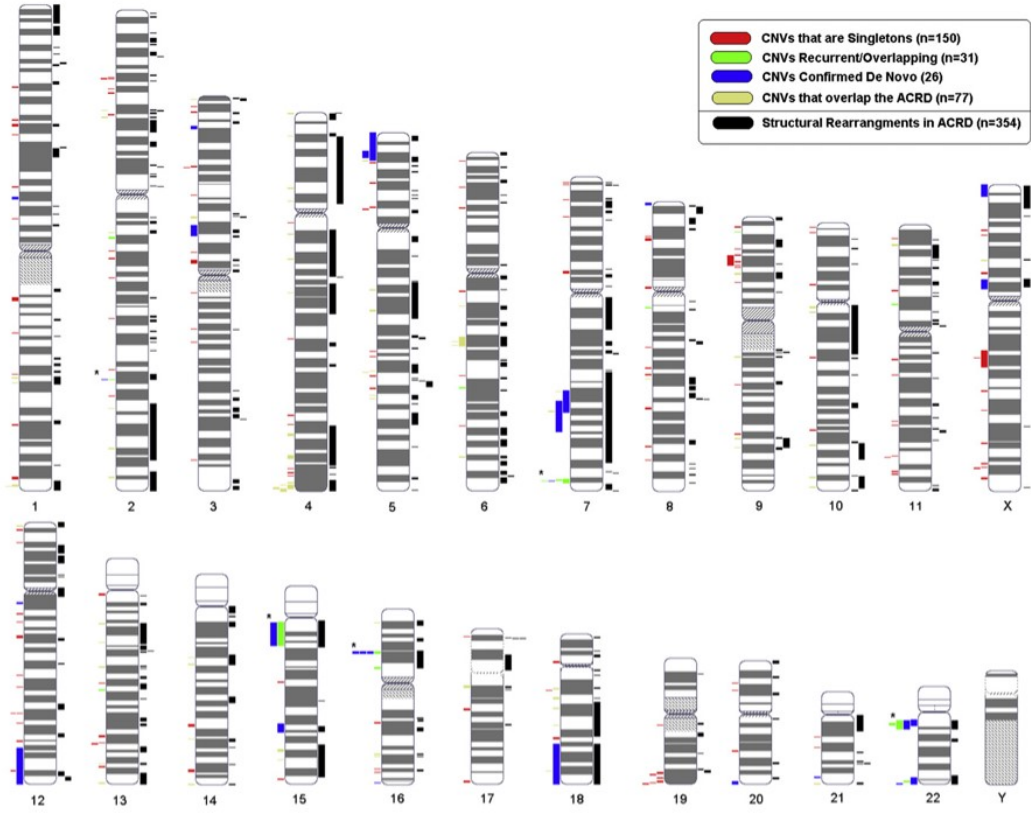
CNV tespitinde; konvansiyonel karyotip analizi, kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR), floresan in situ hibridizasyon (FISH), multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) ve kromozomal mikroarray(CMA) gibi yöntemler kullanılabilmekteyken karyotip analizi ve FISH yöntemleri ile saptanamayacak düzeydeki submikroskopik CNV'leri tespit edebilmesi, mozaikliği saptayabilmesi, aynı anda tüm genomdaki CNV'leri gösterebilmesi nedeni ile kromozomal mikroarray yöntemi CNV tespitinde diğere yöntemlerden daha fazla tercih edilmektedir. Konvansiyonel sitogenetik, aCGH ve SNP array yöntemlerinin karşılaştırılması tablo 2.5'te yapılmıştır(99). Günümüzde CNV'lerin tespitinde en sık kullanılan tanı yöntemi kromozomla mikroarray olup iki tür CMA yöntemi bulunmakta olup bunlar aşağıda anlatılmıştır(99):

1. **Array Temelli Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon(aCGH):** Bir test numunesinden izole edilen DNA ve bir referans numunesi, farklı floresan boyalarla etiketlenir, eşit miktarda karıştırılır ve diziye hibridize edilir. Kontrol numunesiyle karşılaştırıldığında, iki floresan boyanın oranındaki değişiklikler, test numunesindeki farklı DNA miktarlarını gösterir ve bu değişiklikler CNV'lerin yerlerine karşılık gelir.
2. **Tek Nükleotid Polimorfizm Tabanlı Mikroarray(SNP Mikroarray):** aCGH den farklı olarak bir referans örnek kullanılmaz; SNP arrayler, polimorfik nükleotidleri içeren problemleri kullanılır. SNP'ler genomda doğal olarak bulunur ve şu anda insan genomunda yaklaşık 85 milyon SNP tanımlanmıştır(99). Hesaplama algoritmaları ile sinyal yoğunluğu, numunede bulunan SNP genotiplerin yanı sıra kopya sayısına dönüştürülür ve CNV'lere ek olarak, SNP dizilerindeki genotip bilgileri uniparental dizomi, parental orjinin belirlenmesi ve maternal hücre kontaminasyonu gibi klinik olarak faydalı diğere bilgileri de tanımlayabilmektedir. Buna ek olarak, triploidi aCGH ile tespit edilemese de, SNP dizileri üzerindeki alel modellerini değerlendirilerek kolayca tespit edilebilmektedir.

Tablo 2.5 CNV Tespitinde Kullanılan Konvansiyonel Sitogenetik, aCGH ve SNP Array Yöntemlerin Karşılaştırılması(99)

	Konvansiyonel sitogenetik	aCGH	SNP Array
Anöploidi	+	+	+
Dengeli kromozomal değişiklikler	+	-	-
Triploidi	+	-	+
UPD/akrabalık	-	-	+
Maternal kontaminasyon	-	-	+
<5 Mb değişiklikler	-	+	+
<%30 mozaiklik	+	-	-
Kültür ile hücre çoğaltma ihtiyacı	+	-	-
Test sonuçlanma süresi	3 hafta	1 hafta	1 hafta
Saptanan dengesizlik bölgesinin yerleşimi	Subjektif	Objektif	Objektif

CMA yöntemi ile OSB'li hastalar üzerinde birçok çalışma yapılmış olup OSB etyolojisinde CNV'lerin önemini ispatlayacak önemli sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan geniş çaplı çalışmalarda aCGH'nin OSB hastalarındaki tanısal verimi %15-20 olarak belirtilmiş olup OSB'li hastalarda en sık 1q21, 2p16.3, 3p25-26, 7q36.2, 15q11-13, 16p11.2, 22q11.2 bölgelerinde CNV saptanmıştır ve bu CNV'ler OSB etyolojisinde rol oynadığı bilinen PCDH10, CNTNAP2, CNTN3, MAPK3, MAZ, DOC2A, SEZ6L2, NLGN1, NLGN3, NLGN4, DPP10, ASTN1, BZRAP1, NRXN1, CNTN4, DPP6, UBE3A, OR4M2, OR4N4, HIRIP3 ve SHANK3 genlerini barındırmaktadırlar(100). CARD verilerine dayanarak OSB ile ilişkili saptanan CNV'lerin kromozomlar üzerine dağılımı şekil 2.8'de gösterilmiştir (100).



Şekil 2.8 CARD verilerine dayanarak OSB ile ilişkili saptanan CNV'lerin kromozomlar üzerine dağılımı(100)

Kompleks OSB'li olup karyotip analizi normal saptanan bireylerin %28'inde klinikle ilişkili CNV saptanmıştır (101). Ailesinde OSB tanılı vaka olan bireylerin %12'sinde klinikle ilişkili de novo CNV'ler saptanmıştır (102). SNP array kullanılarak yapılan birbiriyle bağlantısız ailelerin bulunduğu geniş çaplı bir çalışmada kontrol grubunda saptanmayan %44 oranında klinikle ilişkili CNV saptanmıştır (102).

OSB ile ilişkilendirilen birçok CNV bulunmakla birlikte bunlardan en sık görülenleri 16p11.2 ve 15q13.3 delesyonları olup çoğu mikrolelesyon/mikroduplikasyon sendromunda entelektüel yetersizlik ve dismorfik bulgulara ek olarak OSB gözlemlenmektedir(103):

16p11.2 delesyon sendromu; OSB'nin, obezitenin ve nörogelişimsel bozuklukların en sık genetik nedenlerinden biri olup 3/10.000 sıklığında gözlenmektedir. Bu sendromda OSB'ye ek olarak entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, konuşma bozuklukları ve Arnold-Chiari gibi yapısal beyin anomalileri görülebilmektedir. OSB'li bireylerin %1'inde gelişim geriliği olan bireylerin ise %1.5'unda 16p11.2 bölgesine ait delesyon/duplikasyonlar saptanmıştır. 16p11.2 delesyonuna sahip bireylerin yaklaşık %20-25'inde OSB görülmektedir. Genellikle de novo olarak tespit edilmekte olup kalıtımı otozomal dominanttır (104).

Williams-Beuren Sendromu; 7q11.23 bölgesindeki delesyonlardan kaynaklanmakta olup sıklığı 1/7500'dir(105). Williams Sendromlu hastaların yaklaşık %19'unda OSB görülmekte olup bu hastalarda OSB'ye ek olarak; büyüme-gelişme geriliği, hipotoni, entelektüel disabilite, kardiyovasküler anomaliler (supravalvüler aortik stenoz), endokrin ve metabolik bozukluklar(hiperkalsemi, hiperkalsiüri, hipotiroidi) ve kraniofasiyal dismorfizm bulguları görülmektedir(105).

Prader-Wili/Angelman Sendromu; kromozom 15'te farklı ebeveynlerden kaynaklanan imprintinge uğrayan gen kümesinin delesyonlarına bağlı oluşur. 15q11.2-q13 bölgesindeki paternal kayıpta Prader-Wili sendromu meydana gelirken, maternal kayıpta ise Angelman Sendromu meydana gelmektedir. Sıklığı 1/10.000-30.000'dir. Prader-Wili Sendromlu hastaların yaklaşık %27'sinde OSB görülmekteyken buna ek olarak entellektüel yetersizlik, hipotoni, boy kısalığı, trunkal obezite ve hipogonadizm görülmektedir. Angelman Sendromlu hastaların yaklaşık %80'inde OSB'ninde bulunduğu davranış anomalileri görülürken buna ek olarak ağır entelektüel yetrsizlik, mikrosefali, konuşma bozuklukları, gelişme geriliği ve gülme atakları görülmektedir(106).

Phalen McDermid Sendromu; çoğunlukla(%97) 22q13.3 bölgesindeki delesyonlardan kaynaklanmakten nadiren de olsa(%3) bu bölgede bulunan SHANK3 genindeki SNV'lerden de kaynaklanabilmektedir. Sıklığı net olarak bilinmemekle birlikte şu ana kadar 1500 hasta bildirilmiş olup Phalen McDermid

Sendromuna sahip bireylerin %90'ında OSB saptanmıştır. Bu hastalarda OSB'ye ek olarak entelektüel yetersizlik, konuşma bozuklukları, gelişme geriliği, neonatal hipotoni ve dismorfik yüz özellikleri bulunabilmektedir(107).

15q13.3 delesyon sendromu; OSB'ye neden olan sık genetik nedenlerden bir diğeri olup 1/40.000 sıklığında gözlenmektedir. Bu sendromda OSB'ye ek olarak entelektüel yetersizlik, hipotoni epilepsi, konuşma bozuklukları ve diğör nöropsikiyatrik bozukluklar görülebilmektedir. 15q13.3 delesyonuna sahip bireylerin yaklaşık %10'unda OSB görülmektedir(108).

2.7.4.3. Tek Nükleotid Değişimleri(Single Nucleotide Variations-SNV)

SNV'ler genetik materyal uzunluğunda değişime neden olmaksızın bir gen dizisi içinde kodlanan proteinin aminoasit dizisinin değişmesi ile o proteinde fonksiyon değişikliğine neden olan veya olmayan mutasyonlardır. SNV'lerden kaynaklanan tek gen hastalıklarının önemli bir bölümünde OSB görülebilmekte olup sendromik OSB'li olguların yaklaşık %10'u tek gen hastalıklarından kaynaklanmaktadır(109).

Sendromik OSB ye neden olan tek gen hastalıkları arasında; Tuberosklerozis, Rett Sendromu, Makrosefali/Otizm Sendromu, Mobius Sendromu, Fenilketonüri, Sotos Sendromu, Smith-Lemli-Opitz Sendromu, Timothy Sendromu, Serebral Kreatin Eksikliği Sendromu sayılabilmektedir(109).

1. Tuberosklerozis: TSC1(Tuberoz Skleroz Kompleks 1) veya TSC2(Tuberoz Skleroz Kompleks 1) genindeki patojenik varyantlardan kaynaklanan otozomal dominant bir hastalıktır ve OSB olgularının yaklaşık %1.2'si tuberosklerozis tanısı almaktadır(110). Tuberosklerozis tanılı bireylerde %26-50 oranında OSB görülmekte olup OSB'ye ek olarak; anjiofibroma, kardiyak rabdomiyom, multiple kortikal tuberler, subependimal dev hüvrelı astrositoma, hipomelanositik makuller, renal anjiyomiyolipoma, Shagreen lekesi, entelektüel yetersizlik ve diğör nöropsikiyatrik bozukluklar görülebilmektedir(110). Tuberosklerozisli olgularda OSB belirtileri 9. Aydan önce ortaya çıkabildiği için hastalar yakından takip edilmelidir ve multipl kortikal tuberlerin ve/veya subependimal dev hücreli astrositomanın eşlik ettiğı vakalarda OSB görölme

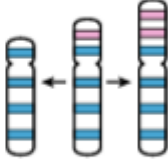
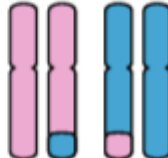
- sıklığı 2 kat daha fazla olup entelektüel yetersizliğin eşlik ettiği vakalarda OSB sıklığı %25-50'dir (110).
2. Rett Sendromu: Xq28 bölgesinde bulunan MECP2(Metil-CpG-Bağlayıcı-Protein 2) genindeki patojenik varyantlardan kaynaklanmakta olup OSB'li bireylerin %1'i Rett Sendromu tanısı almaktadır(111). Klasik Rett sendromu erkeklerde ağır neonatal ensefalopatiye neden olmakta olup hasta bireyler çoğunlukla 2 yaşına kadar kaybedilmektedir(111). Kadınlarda ise ilk 6-18 ayda normal seyreden psikomotor gelişmede sonradan meydana gelen hızlı bir gerileme, konuşma bozuklukları, epilepsi, apne, ataksi, kafa çevresinin büyümesinde duraksama ve OSB ile seyretmektedir ve Rett Sendromu tanısı alan 315 kadın katılımcı ile yapılan bir çalışmada hastaların %18'inde erken OSB tanısı konduğu bildirilmekle beraber Rett Sendromu tanılı bireylerin yaklaşık %60'ında OSB görülmektedir(111).
 3. Makrosefali/Otizm Sendromu: Daha önceden PTEN(Fosfataz ve Tensin Homolog) genindeki patojenik varyantların PTEN hamartoma tümör sendromu olarak bilinen ve Bannayan-Riley-Ruvalcaba Sendromu, Proteus Sendromu, Lhermitte-Ducros Sendromu ve Cowden Sendromunu içeren geniş bir hastalık grubuna neden olduğu bilinmekteydi(112). Ancak PTEN mutasyonlarının makrosefali, fasiyal dismorfizm, psikomotor gelişme geriliği, entelektüel yetersizlik ve OSB ile seyreden Makrosefali/Otizm sendromuna neden olduğu yakın zamanda yapılan çalışmalarca bildirilmiştir ve bu hastalarda tipik olarak baş çevresi ortalama 5.4 SD'den büyük olup %1 ile %17 arasında değişen sıklıklarda OSB görülmektedir (112).
 4. Fenilketonüri: PAH(Fenil Alanin Hidroksilaz) genindeki patojenik varyantlardan kaynaklanan otozomal resesif bir hastalıktır ve sıklığı Türkiye'de 1/2600 olup yenidoğan topuk kanı tarama programında yer alan hastalıklardan biridir(113). Bu hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada erken tanı ile teşhis edilip tedavisi başlanan hiçbir hastada OSB görülmemişken tedavi almayan hastaların yaklaşık %10'unda OSB tespit edilmiştir (113). Bu hastalarda ek olarak; mikrosefali, açık saç ve göz rengi, dirençli egzema, epilepsi, motor ve mental gelişme geriliği görülmektedir(113).
 5. Serebral Kreatin Eksikliği Sendromları:
GAMT(Guanidinoasetatmetiltransferaz), AGAT(L-arjinin:glisin amidotransferaz) veya SLC6A8(Çözünebilir taşıyıcı ailesi;nörotransmitter

taşıyıcı kreatin 6A8) genlerindeki patojenik varyantlardan kaynaklanan konjenital kreatin metabolizma bozukluklarıdır(114). Entelektüel yetersizlik ve epilepsi tüm serebral kreatin eksikliği sendromlarında görülmekteyken; GAMT defekti olan hastaların %75'inde, AGAT defekti olan hastaların %25'inde, SLC6A8 defekti olan hastaların %41'inde OSB tespit edilmiştir(114). Bu hastalarda bunlara ek olarak hipotoni ve hareket bozuklukları da görülebilmektedir(114).

SNV tespitinde aynı anda milyonlarca fragmanın dizilenmesini mümkün kılması nedeniyle en sık kullanılan yöntem Yeni Nesil Dizileme(Next Generation Sequencing-NGS) yöntemidir(115). NGS, birbirine paralel milyonlarca kısa DNA fragman dizisini saptama tekniğidir. NGS teknolojilerinin ortaya çıkışı, otizm genetiği çalışmalarında önemli bir ilerleme sağlamış olup WES/CES ve WGS yöntemleri aracılığıyla yaygın varyantların yanı sıra nadir varyantlar da tespit edilmeye başlamıştır(115). WES yüksek çıktılı bir teknoloji olup, insan genomunun protein kodlayan bölgelerinin(ekzonların) analizini sağlar ve bilinen 20.000'den fazla genin kodlama bölgelerini eşzamanlı analiz etme olanağı tanır(116). WES günümüzde insan genomunun protein kodlayan kısmını incelemek için en yaygın kullanılan teknolojik yaklaşımdır. WES insan genomunun sadece %2'sini kapsamakla birlikte, bu küçük genom kısmı bile herhangi bir hastalığa neden olduğu bilinen mutasyonların yaklaşık %85'ini içermektedir(116). Yapılan geniş çaplı çalışmalarda OSB vakalarında WES'in tanısal verimi %30-43 olarak belirtilmiştir(116). WGS insan genomunda protein kodlayan ve kodlamayan(ekzon ve intronların) bölgelerin analizine olanak tanımakta olup WES ile WGS yöntemlerinin karşılaştırılması tablo 2.6'da ve şekil 2.9'da gösterilmiştir(117).

Tablo 2.6. WES ve WGS Yöntemlerinin Karşılaştırılması(117)

Tüm Ekzom Dizileme	Tüm Genom Dizileme
DNA'nın sadece protein kodlayan kısmını diziler ve bu genomun yaklaşık %2'sini kapsamaktadır.	Tüm DNA'yı diziler
Daha hızlı ve uygun maliyetlidir.	Daha fazla maliyetlidir.
SNV'lerin veya tek baz çiftlerindeki değişikliklerin tespitinde en etkili yöntemdir.	SNV'lerin yanı sıra büyük kromozomal değişiklikleri de tespit eder ve hastalık oluşturan de novo varyantları tanımlamada daha etkilidir.

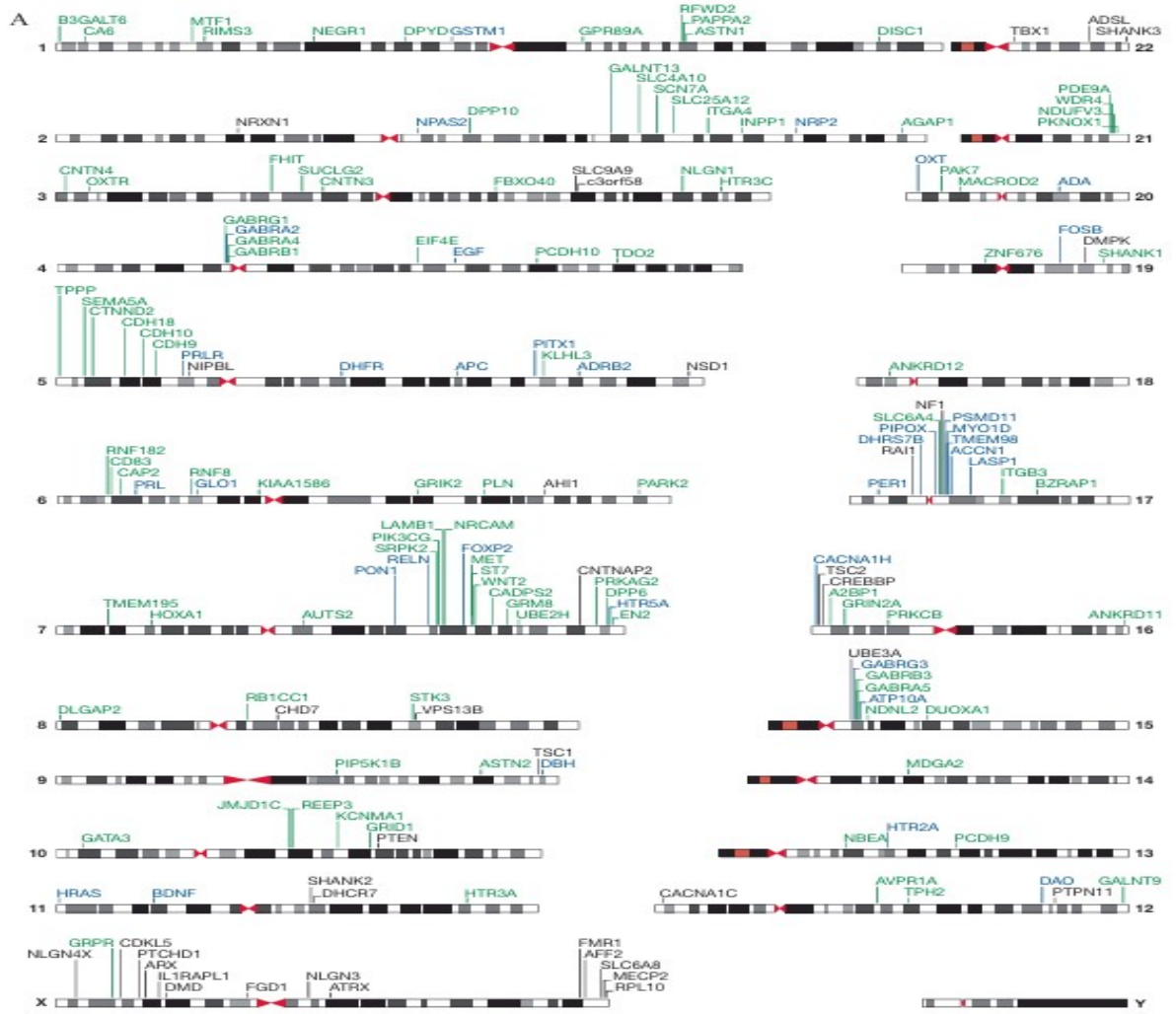
Whole Exome Sequencing		Whole Genome Sequencing	
Single Nucleotide Variants		Single Nucleotide Variants	
		Insertions	
		Deletions	
Insertions		Copy Number Variants Deletions Duplications	
Deletions			
		Chromosomal Translocations	

Şekil 2.9 WES ve WGS Yöntemlerinin Karşılaştırılması(117)

Genel olarak OSB tanılı bireylerin çocuk sahibi olma oranlarının düşük olması nedeniyle OSB ye neden olan genetik varyantların önemli bir kısmının de novo olduğu düşünülmektedir(118). OSB vakalarının yaklaşık %30'unun de novo SNV'lerden kaynaklandığı düşünülmektedir ve bu SNV'ler DNA'nın tek bir baz çiftini değiştirerek protein fonksiyonunu bozan birçok değişikliğe neden olmaktadır(119). Bu de novo SNV'lerin otizmlili bireylerin çocuk sahibi olma oranlarının düşük olması nedeniyle başka nesillere aktarılma oranının düşük olduğu düşünülmekle beraber bu

SNV'lerin evrimsel seçilimden geçmemiş olmaları nedeniyle kalıtsal olanlara göre genellikle daha ciddi etkileri olduğu düşünülmektedir(117). Yapılan geniş çaplı bir aile çalışmasında de novo SNV'lerin otizm oluşumuna katkısı %26, kalıtlabilir SNV'lerin otizme katkısı ise yaklaşık %5 olarak belirtilmiştir(125). 11.986 OSB'li birey ve 23.598 sağlıklı kontrol grubu üzerinde yapılan WES analizlerinde de novo varyantlar aracılığıyla 150'den fazla OSB risk geni tanımlanmış olup bu genlerdeki varyantların nörogelişimsel geriliğe değil OSB 'ye neden olduğu iddia edilmiştir(120). Bu çalışma kapsamında nedeni bilinmeyen OSB için yüksek risk barındıran genler arasında; SHANK2, SHANK3, NLGN3, NLGN4, NLGN4Y, NRXN1, NRXN2, LRRTM2, NLGN2, FOXP1, PCDH19, GRIP1 VE Glu2A bulunmaktadır ve OSB açısından risk barındıran genlerin sürekli artması nedeniyle bu genleri öğrenmeyi ve incelemeyi kolaylaştırmak amacıyla bir çok spesifik veri tabanı kurulmuş olup bunların en güncel olanları; VariCarta, SFARIgene, AutDB, Autism Genetic Database'dir(120).

62.237 OSB tanılı birey ve 91.605 nörogelişimsel gerilik yaşayan birey arasında yapılan geniş çaplı WES çalışmasında risk genlerinin genellikle bu iki hasta grubu arasında paylaşıldığını ancak OSB risk genlerinin beyin gelişiminin ileri aşamalarında, nörogelişimsel gerilik risk genlerinin ise beyin gelişiminin erken aşamalarında eksprese edilen genler olduğu belirlenmiştir(121). OSB ile sıklıkla ilişkilendirilen genler ve bulundukları kromozomlar şekil 2.10'da gösterilmiş olup saptanan bu genlerin neredeyse tümü nöronal hücrelerin büyüme-gelişme, olgunlaşma, adhezyon, farklılaşma ve akson büyümesinde fonksiyon göstererek sinaptik yolların oluşumunda etkili olmakta ve bu genler özellikle beynin daha öncede bahsettiğimiz OSB etyolojisinden sorumlu tutulan; serebral korteks, korpus kallozum, serebellum, hipokampus, bazal ganglionlar, amigdala ve beyin sapında eksprese olmaktadır(122).



Şekil 2.10 Bugüne kadar OSB ile ilişkilendirilen genler ve bulundukları kromozomlar(122)

OSB'li bireylerde sıklıkla saptanan genler bulundukları lokuslar ve fonksiyonları tablo 2.7'de özetlenmiştir (122).

Tablo 2.7 OSB’li bireylerde sıklıkla saptanan genler bulundukları lokuslar ve fonksiyonları(122)

<i>Chromosome</i>	<i>Candidate Gene</i>	<i>Network/Function</i>
2p16.3	NRXN1	Synapse formation
2q12.3-q14.2	DPP10	Neurotransmission
3p24-26	OXT _r	Neurotransmission
3p26-p25	CNTN4	Synapse formation
4p14-q21.1	GABRG/GABRA	GABA neurotransmission
7q31.1	ST7	Tumor suppression
7q35-q36	CNTNAP2	Synapse formation
8p23	DLGAP2	NMDA neurotransmission
15q11-q14	GABRA/GABRB/GABRG	GABA neurotransmission
15q13	APBA2	Neurotransmission
16p11.2	DOC2A	Neurotransmission
22q11	PRODH	Neuromodulation
22q13	SHANK3	Synapse formation
Xp22.3	NLGN4	Synapse formation
Xp11.4	TSPAN7	Neuronal growth and development
Xp22.1-p21.3	IL1RAPL1	Interleukin receptor

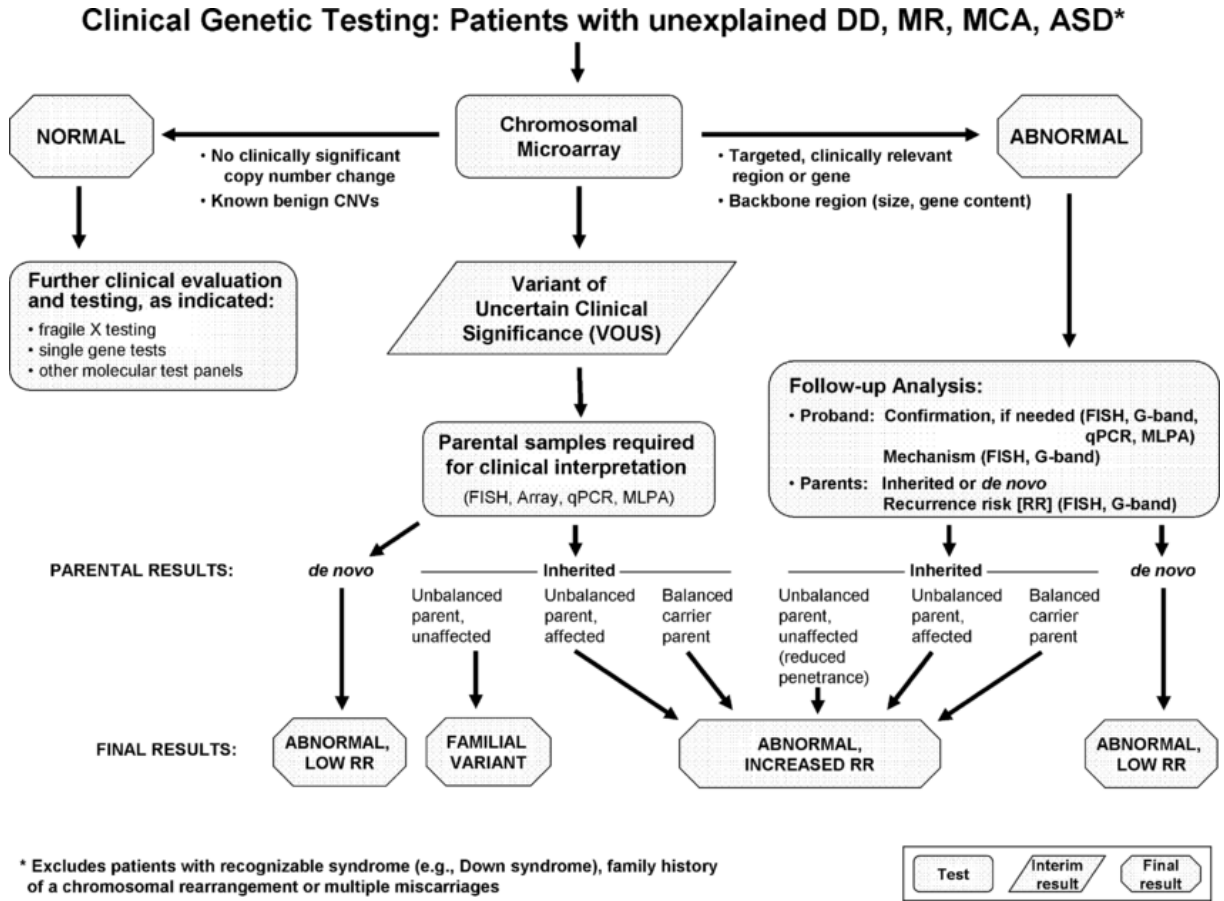
Ayrıca de novo SNV’ler ilgili olarak yapılan araştırmalarda etkilenen bireydeki de novo SNV sayısının artan paternal yaş ile pozitif korelasyon gösterdiği ve bu varyantların çoğunun paternal kökenli olduğu, yani paternal germ hücrelerinden kaynaklandığı tespit edilmiştir(123).

Yukarıda sayılan hastalıklara ek olarak otizme neden olduğu bilinen hastalıklardan biri de frajil X sendromu olup frajil X Sendromu: Xq27.3 bölgesinde bulunan FMR1(Frajil X Mesajcı Ribonükleoprotein 1) genindeki artmış CGG tekrar sayılarından kaynaklanmaktadır(124). 200’ün üzeri full mutasyon olarak adlandırılırken 55-200 arası premutasyon olarak adlandırılır. OSB olgularının yaklaşık %1-3 ‘ü Frajil X Sendromu tanısı almaktayken full mutasyon sahibi bireylerde %30-50 oranında OSB görülmekte olup OSB’ye ek olarak entelektüel yetersizlik, davranış anomalileri, gelişme geriliği, hipotoni, kraniofasiyal dismorfizm, kardiyak anomaliler, iskelet sistemi anomalileri görülebilmektedir ve premutasyon taşıyan olguların da önemli bir kısmında OSB görülebildiği bildirilmektedir(124).

2.7.4.4 Otizm Spektrum Bozukluğunda Genetik Danışma

OSB'li bir çocuğa sahip ailelerin neredeyse %60'ı OSB'nin sadece genetik faktörlerden kaynaklandığını ve yapılacak genetik çalışmaların bireye kesin tanı koyup tedavi şansını arttıracaklarını düşünmektedir(126). Ancak daha önceden bahsetmiş olduğumuz gibi OSB poligenik multifaktöriyel bir hastalık olup en ileri genetik testler yapıldığında dahi bireyin genetik kesin tanı alma oranı %35'tir. Bu nedenle OSB'li bir bireyin ailesine genetik testler planlanmadan önce bu testlerin sonuçlarının bütün sorularına cevap bulmalarını sağlayamayabileceği ve ayrıca bu sonuçların günümüzde tedavi planına bir katkı sağlayamayabileceği anlatılmalıdır.

OSB'li bir birey tıbbi genetik polikliniğine ilk başvurduğunda yapılması gereken ilk şey klinik genetik değerlendirme olup bu aşamada hastanın özgeçmişi, aile öyküsü alınmalı ve detaylı pedigre çizilmelidir. Ayrıca saptanabilecek dismorfik bulgular açısından ayrıntılı fizik muayene yapılmalıdır. Klinik değerlendirmede saptanan bulgulara göre genetik laboratuvar testleri planlanmalı ve en son olarak aileye bu sonuçlarla genetik danışma verilmelidir. OSB' li bireylere klinik değerlendirme sonrası uygulanması gereken genetik testler şekil 2.11'de özetlenmiştir(127).



Şekil 2.11 OSB' li bireylere yapılacak genetik değerlendirmede uygulanması gereken algoritma(127)

OSB tanılı çocuk sahibi olan bir ailenin en büyük kaygılarından ve öğrenmek istediklerinden biri de diğer çocuklarında OSB olup olmayacağı veya OSB'li başka bir çocuk sahibi olma risklerinin ne kadar olduğudur. Genetik etyoloji kesin olarak belirlenebildiğinde bu soruya cevap verebilmek daha mümkün olmakla birlikte bu durum her zaman mümkün olmamaktadır. Ozonoff ve arkadaşlarının yaptığı 664 aileyi içeren geniş çaplı bir çalışmada OSB'nin kardeşler arasındaki tekrarlama riski %18,7 olarak saptanmış olup bu oran OSB'li bireyin erkek kardeşlerinde kız kardeşlerine kıyasla neredeyse 3 kat daha fazladır(128). OSB'li bir bireyin erkek kardeşinde otizm görülme olasılığı %26,2 iken kız kardeşlerinde otizm görülme olasılığı %9 olarak belirlenmiştir(128). Ailede OSB tanılı birden fazla birey bulunması durumunda bu oran %25-30'a yükselmektedir(128).

OSB erkeklerde kızlara göre 4 kat daha fazla görülmekte olup OSB tanılı kızlarda daha düşük zeka puanı saptanırken stereotipik hareketlerin daha az saptandığı bildirilmiştir (129).

2.8. Otizm Spektrum Bozukluğunda Tedavi ve Prognoz

Yapılan tüm çalışmalara rağmen otizmin kesin tedavisi günümüzde mümkün olamamakla birlikte Ulusal Sağlık ve Bakım Hizmetleri Enstitüsü'nün (National Institute for Health and Care Excellence-NICE) 2013'te yayınladığı OSB tedavi kılavuzunda OSB tedavisinin temel hedefleri şu şekilde belirtilmiştir; temel semptomları hafifletmek, kişinin ulaşabileceği en yüksek potansiyele ulaşmasını sağlamak, ailenin ve/veya bireyin fonksiyonelliğini etkileyen diğer bedensel ve ruhsal bozuklukları tedavi etmek, bakım verenlere destek sağlamak, bu bireylere eğitim ve belli ispata dayalı tedavi yöntemlerini uygulamak(130).

OSB'li bireyler ve aileleri için kişiselleştirilmiş tedavi düzeni uygulanması gerekmektedir ve tedavi bireyin klinik bulgularının ağırlığına, yaşa ve eşlik eden bedensel veya ruhsal bozukluklara göre değişkenlik göstermeli ve multidisipliner olmalıdır(131). OSB'nin tedavisi ile ilgili birçok yaklaşım bulunmakla birlikte bunlardan temel semptomları hafifletmede en etkili olanları erken yaşta başlatılan gerekli zaman ve ağırlıkta eğitsel ve alışkanlık kazandıran tedavi yaklaşımları olmuştur(131).

OSB tedavi yaklaşımları temel olarak 4 alt başlıkta ele alınmakta olup bunlar aşağıdaki gibidir(132):

1)Erken Dönem Ebeveyn Aracılı Müdahale: Bu tedavide amaç bakım verenlerle birey arasında ortak uyum sağlamak, zorlayıcı bir yaklaşımdan uzaklaşmak, ortak dikkat için ortamlar hazırlamak, oyunlarda benmerkezci olmayıp bireyin öncelikli olmasına fırsat sunmak gibi sağlıklı bir ilişkiyi kurabilmek amaçlı bir sistem uygulanır.Bu tedavi sistemi uygulanabilir ve ucuz olmasının yanında diğer gelişimsel geriliklerin eşlik ettiği OSB vakalarında da oldukça başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır.

2)Davranışsal Yöntemler: Bu yöntemler arasında en sık kullanılanı uygulamalı davranış analizi(applied behavior analysis-ABA) olup bu programda bireyler haftada neredeyse 40 saat süren oldukça fazla ve bireysel bir eğitim programına alınırlar. Bu programda başta birbirinden ilişkisiz temel beceriler hedeflenir daha sonra ise iletişimi başlatmak için daha komplike adımlara geçilir. Bu terapi yöntemi özellikle uygunsuz davranışların düzeltilmesi ve fonksiyonel davranış kalıpları oluşturmakta faydalı olsa da; uyumsal yaşam, akademik hayatta, sosyal yeteneklerde ve iş hayatında da bireye olumlu faydaları olduğu kanıtlanmıştır.

3)Eğitsel Yöntemler: OSB'li bireyler için kişiselleştirilmiş bir eğitsel plan oluşturulmalı ve bu eğitsel planda; bireyin güçlü ve zayıf yönleri ele alınarak hazırlanmalı, tedavi amaçları belirlenmeli ve aktiviteler uygulanmalıdır. Erken Başlangıçlı Denver Modeli, Otizm ve İlişkili Engeli Olan Çocukların Tedavisi ve Eğitimi etkinliği ispatlanmış ve yapılandırılmış eğitsel yöntemlerdir olup bu eğitsel yöntemlerde ortak olarak; akademik yeteneklere, sosyal-motor ve davranışsal becerilere, sözel ve sözel olmayan dilin kullanılmasına yönelinmiştir.

4)Farmakoterapi: OSB'li bireylerin sadece ilaçla tedavisi mümkün olmamakla birlikte bu bireylerde ilaç kullanımı ile temel septomlar hafifletilebilmekte ve eşlik eden tanıların tedavisi sağlanabilmektedir. OSB'li bireylerde farmakoterapinin temel amacı; bireyin uyumsal işlevlerini arttırarak bireysel eğitim programlarına katılımını arttırmaktır. Yapılan birçok çalışmada birer atipik antipsikotik olan risperidon ve aripiprazolün sosyal aşırı uyarılma, self mutilasyon ve çevreye zarar verme, stereotipik davranışlarda iyileşmeye yol açtığı gösterilmiştir.Ancak bu ilaçların pekçok yan etkisi bulunduğu için bu ilaçlar muhakkak gözlem altında kullanılmalıdır. SSRI'ların da stereotipik davranışları azalttığına dair çalışmalar mevcuttur.

Yukarıdaki tedavi yöntemlerine ek olarak gen terapisi OSB tedavisi için umut vadeci olarak görülmektedir ve son zamanlarda monogenik OSB vakalarında gen replasmanı ve susturmayı içeren klinik öncesi çalışmalar bildirilmiştir(133). Bir başka gen tedavi yaklaşımı olarak CRISPR gen düzenleme stratejilerinin hem patofizyolojiyi daha iyi açıklamak hem de nörogelişimsel bozuklukları hafifletmek amacıyla OSB hastalarının tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir(134). Bunu desteklemek amacıyla yakın zamanda yapılan bir çalışmada Frajil X Sendromu tanılı farelere mGluR5 seviyeleri hedeflenerek bir nanopartikül iletim yöntemi olan CRISPR-Gold

kullanılmış olup bu farelerde mGluR5 seviyelerinde anlamlı bir azalma sağlanmıştır ve bu farelerdeki stereotipik hareketlerde gerileme gözlenmiştir(134).

OSB'li bireylerin prognozundaki en önemli faktör 5 yaşındaki dil becerileri ve zeka puanları olup erişkinlikte büyük kazanımları olan bireylerin bu kazanımlarının dil yeteneklerindeki gelişmeyle alakalı olduğu tespit edilmiş ve bu gelişmenin 5 yaşından itibaren olan dildeki farklılıklarla orantılı olduğu belirlenmiştir(135). Prognozla ilgili bir diğer önemli faktör ise tedaviye erken yaşta başlamış olmak olup birleşik eğitim programlarına gitmenin; yaşlılarıyla iletişim, daha kuvvetli uyumsal yetiler, daha fazla özerklik ve semptomların hafiflemesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(136).

OSB'li erişkinlerin %10-30'u iletişimde temel ifadelerden öteye gidememekte olup çoğunlukla sözel olan veya olmayan zeka puanlarında gerilik mevcuttur ve bu hastalar bir seviyeye kadar iletişim kurabilir, kendi gereksinimlerini karşılayabilir ve meslek hayatına girebilir ancak çoğunlukla bir desteğe ihtiyaç duymaktadırlar(136). OSB'li bireylerin sadece %25'inin tek başına yaşayabildiği, %34'ünün ise en az orta yaşa kadar aileleriyle birlikte yaşadığı gösterilmiştir(136). OSB tanısı olan ve normal ya da daha yüksek zeka puanına sahip bireylerin yaklaşık %30'unda erişkin döneme gelince OSB tanısı ortadan kalkmaktayken; düşük zeka puanına sahip bireylerde, konjenital veya nörolojik anomali bulunan bireylerde ve kadınlarda erken ölüm oranı artmaktadır(136). Erken ölüm oranları OSB'li bireylerde genel nüfusa göre yaklaşık 2 kat daha fazla olup, OSB'li bireylerdeki erken ölüm riski epilepsi gibi nörolojik bozuklukların ve mental/davranışsal anormalliklerin olması ile artmaktadır(136).

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Hasta Grubu Seçimi

Çalışmamızda Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine, 01.01.2024 tarihine kadar otizm spektrum bozukluğu tanısıyla başvuran ve WES/CES gibi geniş kapsamlı Yeni Nesil Dizileme analizi ve aCGH analizi yapılmış 79 hastanın verilerinin retrospektif olarak analizinin yapılması hedeflenmiştir. Yeni Nesil Dizileme Analizi yöntemlerinden tüm ekzom dizi analizi (WES) ve klinik ekzom dizi analizi (CES) kullanılmıştır. Çalışmanın etik açıdan değerlendirilmesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Etik Kurulu tarafından yapılmış olup; 21.03.2024 tarihli 04/41 sayılı kararı ile onaylanmıştır (Bkz. EK 1). Bu karar neticesinde çalışmaya dahil edilen 79 hasta poliklinikte değerlendirilerek bilgilendirilmiş onam alınmış; hastaların NGS ve aCGH analiz verileri retrospektif olarak incelenmiştir. Hastalara poliklinikte herhangi bir psikiyatrik muayene yapılmamış olup uyumlu olan hastaların ayrıntılı fizik muayneleri yapılmıştır ve ODÖ'ne göre dismorfik bulguları olup olmadığı incelenmiştir. Hastaların yaş, cinsiyet, klinik bulguları ve aile öyküleri Tıbbi Genetik polikliniğinde daha önceden kaydedilmiş olan hasta dosya arşivinden bulunmuştur. Veri toplama sürecinde hastaların yaşı, cinsiyeti, prenatal-natal-neonatal öyküleri, ailede otizmlili birey varlığı ve eşlik eden ek klinik bulgular (entellektüel yetersizlik, konuşma bozuklukları vs.) kayda alınmıştır.

Çalışmamızda, otizm spektrum bozukluğu tanısıyla NGS ve aCGH analizi yapılmış hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik, klinik önemi belirsiz varyantların saptanması; bunların literatür verileriyle karşılaştırılması ve bu testlerin otizm spektrum bozukluğundaki tanısal veriminin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamız retrospektif olarak planlandığı için hastalara ilave bir işlem yapılmamış olup hastalardan yapılan testler için gerekli olan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalar başlarına H harfi konularak kodlanmış olup hastalar H1, H2, H3,...,H79 şeklinde sıralanmıştır. Çalışmaya alınan bireyler arasında aynı aileye ait olanlar probanda yakınlık derecesine göre kodlanmış olup

probandın annesi için A, babası için B, kardeşi için K harfi kullanılmıştır. Örneğin 10 numaralı hastanın annesi için H10-A, babası için H10B, kardeşi için ise H10-K ifadesi kullanılmıştır.

3.2 Materyal ve Metod

Çalışmamızda Yeni Nesil Dizileme Analizi ve aCGH yöntemleri kullanılmış olup Yeni Nesil Dizileme Analizi yöntemi olarak tüm ekzom dizi analizi (WES) ve klinik ekzom dizi analizi(CES) kullanılmıştır.

3.2.1 Yeni Nesil Dizileme(Next Generation Sequencing-NGS)

Bugüne kadar insan genomunda 20.000'den fazla gen tespit edilmiş olup bu genlerin ekzon, intron, promoter, UTR ve düzenleyici bölgeleri bulunmaktadır. Çoğunlukla genlerdeki ekzonlar protein kodlarken diğer bölgeler bu kodlamada düzenleyici rol oynamaktadırlar(137). OMIM verilerine göre bilinen 6000'den fazla tek gen hastalığı bulunmaktadır ve bu tek gen hastalıklarının 2/3'ünün moleküler temeli bilinmezken bu hastalıklara yol açan patojenik varyantların yaklaşık %85'i ekzon veya ekzon-intron bileşkelerinde bulunmaktadır(137).

Yeni nesil dizileme birbirine paralel milyonlarca kısa DNA fragman dizisini tek bir yöntemle saptama tekniğidir. Yeni nesil dizileme yöntemlerinden olan tüm genom dizilemede (Whole Genom Sequencing-WGS) insan genomunun tamamını oluşturan 3.2 milyar baz çiftinin tamamının dizilenirken; tüm ekzom dizilemede (Whole Exome Sequencing-WES) genomun sadece protein kodlayan bölgeleri dizilenmektedir(138). WES ile insan genomunun yaklaşık %2'si dizilenmekte olup bu oran tek gen hastalıklarına neden olduğu bilinen patojenik varyantların neredeyse %85'ini kapsamaktadır(138). Maliyetinin düşük olması, daha hızlı sonuçlanması ve bilinen Mendelyan hastalıklara yüksek oranda tanı koyabilmesi nedeniyle tüm Dünya'da WES WGS'ye göre çok daha yaygın kullanılmaktadır(138). Ancak WES'te identifiye edilen 20.000 genin yaklaşık %60'ının herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiş

olması analiz safhasında sıkıntılara neden olmaktadır ve bu sebeple kodladığı proteini, bu proteinin vücuttaki işlevini ve mutasyonlarının hangi hastalıkla ilişkili olduğu bilinen genlerin dizilenmesi analiz safhasında büyük kolaylık sağlayıp zamandan ve maliyetten tasarruf edilmesini sağlamaktadır(138). Bu nedenle sadece ilişkili hastalıkların bilindiği genlerin sekanslandığı klinik ekzom dizileme (Clinic Exome Sequencing-CES) en sık kullanılan yeni nesil dizileme yöntemlerinden biridir(138). Çalışmamızda 20 hastaya WES 59 hastaya CES analizi yapılmıştır. Bizim çalışmamızda kullandığımız CES panelinde daha önceden herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmiş 10.659 gen bulunmakta olup WES ve CES yönteminin laboratuvar çalışma aşamaları wet-lab ve analiz aşaması olarak iki aşamada gerçekleşmektedir.

3.2.1.1 Tüm Ekzom Dizileme(WES) ve Klinik Ekzom Dizileme(CES) Wet-Lab Aşamaları

Wet-Lab aşamasında öncelikle hastadan 4 ml'lik EDTA'lı tüplere periferik kan örneği alınmıştır. Daha sonra sırasıyla DNA izolasyonu, ekzom kütüphanesinin oluşturulması, tüm ekzom dizileme için hedef bölgelerin çoğaltılması ve kontrol aşamaları uygulanmıştır. Tüm bu aşamalarda WES için Qiaseq Human Exome Kit, CES için ise QIAseq xHYB Actionable Exome Panel kiti kullanılmıştır.

1)DNA İzolasyonu: Alınan periferik kan örneklerinden Qiagen EZ1&2 DNA Blood 200 µl Kit ile Qiagen EZ1 Advanced XL otomatik purifikasyon cihazında izolasyon yapılmıştır. Yapılan DNA izolasyon değerleri nanofotometre cihazında değerlendirilmiş olup yeni nesil dizileme analizi için elde edilen DNA izolatlarının yoğunluğu en az 50 ng/µl, saflığı ise 1,8-2,0 aralığında olmalıdır. Elde edilen izolatların yoğunluk ve saflık değerlerinin bu aralıkta olmasına dikkat edilmiştir.

2)Ekzom Kütüphanesinin Oluşturulması: Kütüphanenin hazırlanması, belli büyüklük aralığına sahip olan ve her iki uçta adaptör sekansları barındıran DNA parçalarının gelişigüzel ortaya çıkarılması aşaması olup bu adaptörler uygulamaya özgü PCR'nin ve sekanslama primerlerinin tamamlayıcısıdır. Kütüphanenin PCR amplifikasyonu, sekanslamadan önce yapılmış olup bu amplifikasyon işlemi 4 basamakta gerçekleştirilmiştir. Bu basamaklar;

parçaların fragmentasyonu ve uçların tamiri, adaptör ligasyonu ve kesik uç tamiri, boyut seçimi, kütüphanenin hibridizasyonu ve kütüphanenin normalizasyonu ve kuantifikasyonu işlemleridir.

3)Tüm Ekzom Dizileme için Hedef Bölgelerin Çoğaltılması: WGS işlemi yapılmadığı için WES ve CES işlemlerinde ilgilenilen bölgeler sekanslama aşamasından önce tespit edilip çoğaltılmalıdır. Bu nedenle WES analizi için protein kodlayan tüm ekzonlar, CES analizi için ise herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmiş tüm genler amplifiye edilmiştir. İki tür amplifikasyon yöntemi bulunmaktadır; PCR tabanlı ve oligonükleotid tabanlı. Daha küçük bölgeler için PCR tabanlı amplifikasyon yöntemleri kullanılabiliyor olsa da WES/CES analizi gibi geniş çaplı analizlerde PCR tabanlı yöntemler yetersiz kalmaktadır; bu nedenle oligonükleotid tabanlı hibridizasyon yöntemi kullanılmış olup ilgili hedef bölgeler streptavidin boncukları ile yakalanmıştır.

4)Kontrol: Üç tip kontrol mekanizması mevcuttur. Bunlar; kalıbı olmayan kontrol(NTC: no template control), negatif kontrol ve pozitif kontrol mekanizmalarıdır. NTC tüm amplifikasyon aşamalarında, negatif kontrol ilk kalifikasyon aşamasında ve takibinde düzenli olarak, pozitif kontrol ise her sekanslama aşamasında yapılır.

5)Sekanslama: Oluşturulan kütüphaneler FASTQ(Fast Adaptive Shrinkage Thresholding Algorithm and Quality) formatında Illumina NextSeq 550 cihazına aktarılmıştır.

3.2.1.2 Tüm Ekzom Dizileme(WES) ve Klinik Ekzom Dizileme(CES) Analiz Aşamaları

Analiz aşamasında öncelikle oluşturulan kütüphaneler FASTQ(Fast Adaptive Shrinkage Thresholding Algorithm and Quality) formatında Illumina NextSeq 550 cihazına aktarılmıştır. Daha sonra bu veriler VCF(variant call format) ve BAM(binary alignment map) formatlarına dönüştürülmüş olup, elde edilen VCF verileri QCI(QIAGEN Clinical Insight) Interpret veritabanından filtrelenilerek analiz edilmiştir. Oluşturulan bu filtre ile analize sadece ekzonik alanlar ve ekzon/intron bileşkesindeki 20 baz çifti arasında kalan, upstream pipeline filtresini aşabilen ve call kalitesi 20'nin üzerinde olan varyantlar dahil edilirken, allel frekansı %5'in üzerinde olan 20x okuma uzunluğunun altında kalan bölgeler dışlanmıştır. Yapılan filtrelemeler sonucunda elde edilen veriler QCI Interpret programında analiz edilmiş olup patojenik/muhtemel patojenik ve klinik önemi bilinmeyen(variant of uncertain significance-VUS) varyantlar çalışmaya dahil edilmiştir ve varyantların patojenitesinin değerlendirilmesinde ACMG(American College of Medical Genetics and Genomics)'nin 5 Mart 2015'te yayınladığı sekans varyantlarının yorumlanmasına yönelik standartlar ve yönergeler kılavuzundan yararlanılmıştır. Bu kılavuza göre patojenik/muhtemel patojenik varyantlar ve benign/muhtemel benign varyantlar için iki ayrı kriter sınıflaması yapılmıştır(139). Patojenik/muhtemel patojenik varyantların tespitinde kriterler çok güçlü(PVS1), güçlü(PS1-4), orta(PM1-6) ve destekleyici (PP1-5) olarak ayrılmakta olup bu kriterler aşağıda özetlenmiştir(139):

1. **PVS1:** Bir hastalık mekanizması olarak bilinen LOF'un (Loss of Function - Fonksiyon Kaybı) olduğu bir gen içindeki PVS1 varyant (anlamsız, çerçeve kayması, kanonik ± 1 veya 2 splice bölgesi, başlatma kodonu, tek veya çoklu ekzon silinmesi). Burada dikkat edilmesi gereken bazı noktalar mevcut olup bunlar; fonksiyon kaybının bilinen bir hastalığa ait olmadığı genler, genin 32 bitirme ucundaki LOF varyantlar, proteinin geri kalanını bırakan ancak exon atlamasına yol açması öngörülen splice varyantlar, çoklu transkript varlığıdır.
2. **PS1:** Nükleotid değişimine bakılmaksızın daha önce belirlenmiş patojenik bir varyantla aynı amino asit değişimi olması. Amino asit/protein seviyesinden ziyade splice'ı etkileyen değişikliklere dikkat edilmelidir.

3. **PS2:** Hastanın aile geçmişinde bilinen hastalığın olmaması ve tespit edilen mutasyonun ebeveynlerde saptanmaması(de novo olması)
4. **PS3:** Gen veya gen ürünü üzerinde zararlı etkileri destekleyen iyi kurulmuş in vitro veya in vivo fonksiyonel çalışmaların varlığı. Klinik tanı laboratuvarı ortamında doğrulanmış ve tekrarlanabilir olduğu kanıtlanmış fonksiyonel çalışmalar en iyi kurulmuş olanlar olarak kabul edilir.
5. **PS4:** Varyantın etkilenen bireylerdeki yaygınlığı, kontrol grubundaki yaygınlıkla karşılaştırıldığında belirgin şekilde artmış olması. Relatif risk veya OR(odds ratio-olasılık oranı), vaka-kontrol çalışmalarından elde edilen, >5.0'tır ve bu tahmin etrafındaki güven aralığı 1.0'ı içermez. Çok nadir varyantların olduğu durumlarda vaka-kontrol çalışmalarının istatistiksel anlamlılığa ulaşamayabileceği durumlarda, aynı fenotipe sahip birden fazla ilişkisiz hastada varyantın önceden gözlenmesi ve kontrollerde bulunmaması, orta düzeyde bir kanıt olarak kullanılabilir.
6. **PM1:** Zararlı varyasyon olmadan mutasyonel bir odak noktasında ve/veya kritik ve iyi kurulmuş bir fonksiyonel alanda bulunur (örneğin, bir enzimin aktif bölgesi gibi).
7. **PM2:** Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project veya Exome Aggregation Consortium'da kontrollerde bulunmaması (veya resesif ise çok düşük frekansta olması).
8. **PM3:** Resesif bozukluklar için, bir patojenik varyant ile birlikte trans olarak tespit edilmesi. Bunu belirlemek için ebeveynlerin (veya çocukların) test edilmesi gerekir.
9. **PM4:** Sekanslamaya tekrar bölgesi olmayan bir bölgede in-frame silinmeler/eklemeler,stop kaybı varyantların eklenmesi ve protein uzunluğunda değişikliklere neden olması.
10. **PM5:** Daha önce patojenik olarak belirlenmiş farklı bir missense varyantın görüldüğü amino asit artığındaki novel bir missense değişiklik olması. Amino asit/protein seviyesinden ziyade splice'ı etkileyen değişikliklere dikkat edilmelidir.
11. **PM6:** Varsayılan de novo varyant varlığı
12. **PP1:** Birden fazla etkililenmiş bireyin bulunduğu bir ailede hastalığa neden olan gende kosegregasyon. Segregasyon verilerinin artmasıyla daha güçlü bir kanıt olarak kullanılabilir.

13. **PP2:** Hastalığa neden olan yaygın bir mekanizma olan missense varyantlara düşük oranda sahip olan bir gen içindeki missense varyantı.
14. **PP3:** Gen veya gen ürünü üzerinde zararlı bir etkiyi destekleyen kanıtların birden fazla olması (koruma, evrimsel, splice etkisi vb.). Bir varyantın herhangi bir değerlendirmesinde PP3 yalnızca bir kez kullanılabilir. Çünkü birçok in silico algoritması tahminlerinde aynı veya çok benzer girdiyi kullanır, her algoritma bağımsız bir kriter olarak sayılmamalıdır.
15. **PP4:** Hastanın fenotipi veya aile öyküsü, tek bir genetik etiyolojiye sahip olan bir hastalık için son derece özeldir.
16. **PP5:** Güvenilir bir kaynak son zamanlarda varyantı patojenik olarak raporlarken, laboratuvarın bağımsız bir değerlendirme yapmak için mevcut kanıtlara erişimi yoktur.

Yukarıdaki kriterler dikkate alınarak bir varyantın patojenik olarak değerlendirilebilmesi için; 1 çok güçlü(PVS1) ve ≥ 1 Güçlü (PS1–PS4) veya ≥ 2 Orta (PM1–PM6) veya 1 Orta (PM1–PM6) ve 1 destekleyici (PP1–PP5) veya ≥ 2 Destekleyici (PP1–PP5), ≥ 2 Güçlü (PS1–PS4), 1 Güçlü (PS1–PS4) ve ≥ 3 Orta (PM1–PM6) veya 2 Orta (PM1–PM6) ve ≥ 2 Destekleyici (PP1–PP5) veya 1 Orta (PM1–PM6) AND ≥ 4 Destekleyici (PP1–PP5) kritere sahip olması gerekmektedir. Bir varyantın muhtemel patojenik olarak değerlendirilebilmesi için; 1 Çok güçlü (PVS1) ve 1 Orta (PM1–PM6) veya 1 Güçlü (PS1–PS4) ve 1–2 Orta (PM1–PM6) veya 1 Güçlü (PS1–PS4) ve ≥ 2 Destekleyici (PP1–PP5) veya ≥ 3 Orta (PM1–PM6) veya 2 Orta (PM1–PM6) ve ≥ 2 Destekleyici (PP1–PP5) veya 1 Orta (PM1–PM6) ve ≥ 4 Destekleyici (PP1–PP5) kritere sahip olması gerekmektedir. Çelişkili kriterler taşıyan veya diğer kriterleri karşılamayan varyantlar klinik önemi bilinmeyen(VUS) varyant olarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızda saptanan varyantların patojenitesinin değerlendirilmesinde ClinVar, HGMD, Franklin , QCI ve Varsome veritabanlarından yararlanılmıştır.

Ayrıca OSB açısından risk barındıran genlerin sürekli artması nedeniyle bu genleri öğrenmeyi ve incelemeyi kolaylaştırmak amacıyla spesifik veri tabanları oluşturulmuştur ve bunlardan en sık kullanılanlarından biri SFARI(Simons Foundation

Autism Research Initiative) gene veritabanıdır(144). SFARI Gene, OSB'nin moleküler genetiği ve biyolojisi üzerine bilimsel ve klinik çalışmalardan elde edilen bilgiler üzerine kurulu bir veri tabanıdır(144). SFARI Gene veri tabanında OSB ile ilişkili genlerin ve kopya sayısı varyantlarının kapsamlı bir listesi, bu gen ürünleri arasında gerçekleşen bilinen tüm protein etkileşimlerinin güncel bir koleksiyonu ve ilişkili hayvan modelleri kullanılarak derlenen en son veriler yer almaktadır(144). Veritabanına girilen genler otizmle olan ilişkilerinin güçleri açısından geniş bir şekilde açıklanmış ve sınıflandırılmıştır(144). Veritabanına yapılan her bildiri, bir geni OSB'ye ile ilişkilendiren kanıtların gücünü yansıtan hesaplanmış bir puanla birlikte genin moleküler işlevinin tanımını içerir(144). Gen listesi, OSB genleriyle ilgili yeni yayınlanan bilimsel verileri tarayan bir çalışma grubu tarafından sürekli olarak güncellenmekte olup mevcut olan genler OSB ile ilişkisine göre 4 alt gruba ayrılmıştır. Bunlar aşağıdaki gibidir(144):

1. Sendromik Kategori: Önemli derecede artmış riskle ilişkilendirilen ve sürekli olarak OSB tanısı için gerekli olmayan ek özelliklerle bağlantılı olan mutasyonları içerir. Bu grupta 301 gen yer almaktadır.
2. Kategori 1 (Yüksek Güvenirlilik): Literatürde en az üç de novo muhtemel hasar verici mutasyonun rapor edilmesiyle OSB ile açıkça ilişkilendirilmiştir. Bu grupta 234 gen yer almaktadır.
3. Kategori 2 (Güçlü Aday): Literatürde iki defa rapor edilmiş de novo muhtemel hasar yapıcı mutasyona sahip genlerdir. Bu genler, bir genom çapında ilişkilendirme çalışması tarafından ilişkilendirilmiş olup, ya genom çapında anlamlılığa ulaşmakta ya da ulaşmamışsa bile tutarlı bir şekilde tekrarlanmakta ve risk varyantının fonksiyonel bir etkiye sahip olduğuna dair kanıtlarla desteklenmektedir. Bu grupta 711 gen yer almaktadır.
4. Kategori 3 (Desteklenen Kanıt): Literatürde tek rapor edilmiş de novo muhtemel hasar yapıcı mutasyona sahip genlerdir. Anlamlı ancak tekrarlanmamış bir ilişkilendirme çalışmasından elde edilen kanıtlar veya kontrol gruplarıyla titiz bir istatistiksel karşılaştırma yapılmamış nadir kalıtsal mutasyonların bir serisidir. Bu grupta 164 gen yer almaktadır.

3.2.2 Mikroarray

Genomda yer alan 3 milyar nükleotid değişik büyüklüklerde farklılıklar içermektedir. Tek nükleotid değişiklikleri single nükleotid variation(SNV), 2-50 nükleotid değişimi indel olarak adlandırılırken 50 bazdan fazla olan nükleotid değişimleri kopya sayısı değişiklikleri(copy number variation-CNV) olarak adlandırılmaktadır(97). CNV kromozomal bölgelerdeki gen içerebilen veya içermeyen değişimleri ifade etmekte olup bireyde CNV varlığı her zaman hastalığa neden olmamaktadır. Bir CNV'nin hastalığa yol açabilmesi için önemli bir yolakta işlev gören gen/genleri etkilemesi gerekmektedir. Sağlıklı bireylerden oluşan yapılan toplum çalışmalarında; çalışmaya katılanları %5-10'unda 500 kb(kilobaz)dan büyük, %1-2'sinde 1 Mb(megabaz)dan büyük CNV'ler saptanmıştır(97). Yapılan son araştırmalarda insan genomunun yaklaşık 2/3'ünün tekrarlardan oluştuğunu ve insan genomunun %4.8-9.5'inin CNV içerdiği tespit edilmiştir (97). Ancak ortak bir görüş olarak 1 Mb'dan büyük olan CNV'lerin patojenik, 200 kb'dan küçük olan CNV 'lerin ise benign olma olasılığı yüksek olarak bildirilmektedir(98). Mikroarray yönteminde delesyon ve duplikasyonların lokalizasyon ve büyüklüğü ardışık proplar ile belirlenir ve ardışık propların sayısı arttıkça kullanılan mikroarrayin de çözünürlüğü artmaktadır; mikroarrayin çözünürlüğü kullanılan probun boyutuna , proplar arasındaki genomik mesafeye, dizideki propların sayısına ve türüne bağlıdır(141). Prob olarak kullanılan DNA parçası ne kadar küçükse ve ardışık iki prob birbirine ne kadar yakınsa çözünürlük o kadar yüksek olur. Örnek olarak; 60k'lık bir dizi, genom boyunca dağıtılmış 60.000 prob veya oligonükleotit içerir. Çalışmamızda 4 hastaya 60K, 18 hastaya 180K, 57 hastaya da 700K çözünürlükte aCGH yöntemi uygulanmıştır.

CNV'lerin tespitinde bugüne birçok farklı yöntem kullanılmış olsa da diğer yöntemlere göre çok daha küçük boyuttaki CNV'leri tespit edebiliyor olması ve aynı anda tüm genomda tarama yapabilmesi nedeni ile mikroarray yöntemi CNV tespitinde en güncel kullanılan yöntemdir. İki tür mikroarray yöntemi bulunmaktadır(99):

1. **Array Temelli Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon(aCGH):** Bir test numunesinden izole edilen DNA ve bir referans numunesi, farklı floresan boya ile etiketlenir, eşit miktarda karıştırılır ve diziye hibridize edilir. Kontrol numunesiyle karşılaştırıldığında, iki floresan boyanın oranındaki değişiklikler, test numunesindeki farklı DNA miktarlarını gösterir ve bu değişiklikler CNV'lerin yerlerine karşılık gelir.
2. **Tek Nükleotid Polimorfizm Tabanlı Mikroarray(SNP Array):** ACGH den farklı olarak bir referans örnek kullanılmaz. SNP arrayler, polimorfik nükleotidleri içeren problemleri kullanır. SNP'ler genomda doğal olarak bulunur ve şu anda insan genomunda yaklaşık 85 milyon SNP tanımlanmıştır. Hesaplama algoritmaları ile sinyal yoğunluğu, numunede bulunan SNP genotiplerin yanı sıra kopya sayısına dönüştürülür. CNV'lere ek olarak, SNP dizilerindeki genotip bilgileri uniparental dizomi, parental orjinin belirlenmesi ve maternal hücre kontaminasyonu gibi klinik olarak faydalı diğer bilgileri de tanımlayabilmektedir. Buna ek olarak, triploidi aCGH ile tespit edilemese de, SNP dizileri üzerindeki alel modellerini değerlendirilerek kolayca tespit edilebilmektedir.

Entelektüel yetersizlik, gelişme geriliği ve otizm spektrum bozukluğunda Fajil X sendromu ekarte edildikten sonra mikroarray testi birinci basamak test olarak planlanmalıdır. Ayrıca aşağıdaki durumlarda da mikroarray testi planlanması önerilmektedir(140):

1. Çoklu konjenital anomaliler ve/veya dismorfik bulgulu olgularda
2. Bilinen mikrodelsiyon/duplikasyon sendromlarında özgün problemlerle yapılan FISH incelemesinde normal saptanan olgularda FISH tekniğinin saptayamayacağı daha küçük delesyon/duplikasyonların araştırılmasında
3. Büyüme sorunlarının; kısa boy veya aşırı büyüme varlığında
4. Konvensiyonel analizde marker kromozom veya de novo dengeli yeniden düzenlenmeler saptandığında
5. Ölü doğum ve/veya spontan abortus materyallerinde kromozomal inceleme mümkün olamazsa (mikrobiyal kontaminasyon nedeniyle)
6. Hematolojik malignansiler: NCCN(National Comprehensive Cancer Network) gibi ilgili kılavuzlarda yer alan endikasyonlarda

Her ne kadar CNV tespitinde mikroarray analizi en sık tercih edilen yöntem olsa da aCGH ve SNP Array yönteminin bazı dezavantajları bulunmaktadır ve bunlar aşağıdakiler gibidir(140):

1. Dengeli kromozomal yeniden düzenlenmeler (translokasyonlar, inversiyonlar) saptanamaması
2. %10'un altındaki mozaizm saptanamaması
3. Ökromatin materyal içermeyen marker kromozomlar saptanamaması
4. Tespit edilen dengesizliğin genomik koordinatları ve etkilenen genler belirlense de kromozomal lokasyonun belirlenmesi için karyotipleme ve FISH teknikleri uygulanmalıdır
5. Uniparental dizomi ve triploidi/tetraploidi tanısı SNP array ile mümkündür
6. 1 Mb'ın altındaki ve tanımlanmamış dengesizliklerin diğer tekniklerle (FISH, MLPA, çözünürlüğü daha yüksek bir başka kit/platform veya real time PCR) doğrulanması gerekmektedir.

3.2.2.1 Mikroarray Yönteminin Wet-Lab Aşamaları

Wet-Lab aşamasında öncelikle hastadan 4 ml'lik EDTA'lı tüplere periferik kan örneği alınmıştır. Sonrasında sırasıyla aşağıdaki basamaklar uygulanmaktadır:

1)DNA izolasyonu: Alınan periferik kan örneklerinden Qiagen EZ1&2 DNA Blood 200 µl Kit ile Qiagen EZ1 Advanced XL otomatik purifikasyon cihazında izolasyon yapılmıştır. Yapılan DNA izolasyon değerleri nanofotometre cihazında değerlendirilmiş olup mikroarray analizi için elde edilen DNA izolatlarının yoğunluğu en az 50 ng/µl, saflığı ise 1,8-2,0 aralığında olmalıdır. Elde edilen izolatların yoğunluk ve saflık değerlerinin bu aralıkta olmasına dikkat edilmiştir.

2)Genomik DNA Hazırlanması: Hasta DNA'ları ve referans DNA'lar gDNA izole edildikten sonra bunların hepsinin yoğunlukları nanofotometre cihazında 50 ng/µl olarak ayarlanır.

3)Enzimatik Etiketleme Kiti ile Restriksiyon Kesimi: Bu aşamada öncelikle digestion master mix hazırlanır. Bu karışımın içinde nuclease free water, restriction enzim buffer ve Alu1 ve Rsa1 kesim enzimleri bulunmaktadır. Daha sonra hasta DNA'sı bu master mix ile karıştırılır ve PCR işlemi uygulanır.

4)Genomik DNA'nın Floresan İşaretlenmesi: 26 µL gDNA içeren her bir PCR tüpüne 5 µL primer eklenerek hacim 31 µL'ye çıkarılır. Sonrasında PCR işlemi yapılarak tüpler buzda tutulur. Daha sonra bu tüplere Cyanin-3(mavi-Referans) ve Cyanin-5(kırmızı-hasta) içeren 2 farklı reaksiyon mixi eklenir. Sonrasında tekrar PCR işlemi uygulanır ve tüpler -20 derecede saklanır.

5)Genomik DNA'nın Pürifikasyonu: pH'sı 8 olan TE Buffer tüm reaksiyon tüplerine eklenir. Sonrasında tüpler santrifüje edilir ve alttaki sıvı atılarak TE Buffer konulur ve tekrar santrifüje edilerek altta kalan sıvı uzaklaştırılır.

6)Spesifik Aktivite ve Ürün Miktarı Hesaplama: Ortaya çıkan örnekler işaretlenir ve spesifik aktiviteleri hesaplanır. Bunun için aşağıdaki 2 formül uygulanır:

$$\text{Ürün (µg)} = \text{DNA Konsantrasyonu (ng/µL)} \times \text{Örnek hacmi (µL)} / 1000 \text{ ng/µg}$$

$$\text{Spesifik Aktivite} = (\text{µLboya başına pmol}) / (\text{µL gDNA başına µg})$$

7)Örneklerin Kurutulması: İşaretlenen hasta ve referans DNA 'ları karıştırılarak RNAase free tüplere alınır ve vakum konsantratör cihazında buharlaştırılır.

8)Hibridizasyon: Elde edilen örnekler saf su ve liyofilize olan aCGH blocking agent ile karıştırılarak 25 derecede tutulur. Daha sonra içerisinde cot-1 DNA, 10x aCGH bloklama ajanı, 2HI-RPM hibridizasyon buffer bulunan hibridizasyon karışımı eklenir. Sonrasında PCR işlemi uygulanır.

9)Hibridizasyon Örneklerinin Array Slaytlarına Yüklenmesi: Elde edilen mikrodizin örnekleri cam lam üzerine yayılır ve lamine işaretli tarafı alt tarafta olacak şekilde gasket slide a koyulur. Sonrasında hibridizasyon chamber'ı kapatılır ve döndürülerek lamaların karışımla tamamen temas etmesi sağlanır. Hazırlanan hibridizasyon chamber hibridizasyon fırınında 24 saat bekletilir.

10)Yıkama: Yıkama işlemi bir gece önceden hazırlanmış olan wash buffer 1 ve wash buffer 2 ile yapılır. Array slaytları önce 1 dakika wash buffer 1'de bekletilir ve sonrasında wash buffer 2'ye konulur, burada da 1 dakika bekledikten sonra yıkama

işlemi tamamlanmış olur. Yıkama aşamasından sonra tarama aşamasına geçilmiş olup tarama aşamasından önce array slaytları tarayıcı kasetler içerisine konulur.

3.2.2.2 Mikroarray Yönteminin Analiz Aşamaları

Array slaytları tarayıcı kasetler içerisine yerleştirildikten sonra cihaz karuseline yüklenir ve bilgisayardan scan control programı başlatılır. Scan control programında tarama işlemi tamamlandıktan sonra Feature Extraction yazılımı ile imaj dosyasından(.tiff dosyasından) log oranlarına dönüştürme işlemi yapılır. Bu yazılım ile ayrıca enzimatik etiketlemenin kalite kontrolü de yapılır. Bu kontrol sonucunda sinyal yoğunluğu 150'nin üzerinde olan örnekler mükemmel kabul edilirken 50'nin altında olan örnekler şüpheli olarak kabul edilmiştir. Kontrol sonucu uygun olan örneklerin bir kısmının analizinde Agilent SurePrint G3, bir kısmının analizinde Nx Clinical Software ve bir kısmının analizinde Bluefuse Multisoftware yazılımları kullanılmıştır. Her üç yazılımda da ortalama log ratiosu delesyon açısından 0,5'in altında, duplikasyon açısından 0,5'in üzerinde olan CNV'ler değerlendirilmeye alınmıştır.

Saptanan CNV'lerin yorumlanmasında; boyutu, lokalizasyonu, tipi, içerdiği genler ve bunların kalıtım paternleri, diğer allelde patojenik mutasyon olup olmadığı ve mozaiklik durumu dikkate alınmaktadır. CNV'ler totalde 3 grupta değerlendirilmekte olup bu gruplar da kendi içinde 3 alt gruba ayrılmaktadır(142):

1)Patojenik Değişimler: Literatürde yer alan ve mevcut fenotipi destekleyen değişimlerdir. Bu değişimler çoğunlukla de novo olup ailesel kalıtım da gösterebilmektedirler. 3 alt gruba ayrılırlar:

1. 5 megabazdan büyük patolojik değişimler: Fazla miktarda gen içeren, kapsadığı bölgedeki delesyon ve duplikasyonların mevcut fenotipi kesin olarak açıkladığı değişimler olup kromozom analizi ile de tespit edilebilirler. Doğrulama ve segregasyon analizi yapılmasına gerek yoktur.
2. 5 megabazdan küçük patolojik değişimler: Veri tabanlarında fazlaca bildirilen ve literatürde daha önce tanımlanmış delesyon ve duplikasyonları içeren

değişimlerdir. Sağlıklı bireylerde bu değişimler ya hiç saptanmamıştır ya da az sayıda saptanmıştır. Bu değişimlerde doğrulama ve segregasyon analizi yapılması gerekir.

3. Muhtemel patojenik değişimler: Veri tabanlarında az sayıda bildirilen ve içerdiği genler açısından yeterince literatür desteği bulunmayan değişimlerdir. Sağlıklı bireylerde bu değişimler yukarıdaki değişimlerden daha fazla saptanmıştır.

2)Klinik Önemi Bilinmeyen Değişimler(Variant of Uncertain Significance-VUS):

Veri tabanlarında az sayıda bildirilmiş olan ve yeterli literatür verisi olmayan değişimlerdir. Gen içermeyen ve de novo olmayan değişimler de VUS olarak kabul edilebilmektedir. 3 alt gruba ayrılırlar

1. Klinik önemi bilinmeyen/muhtemel patojenik değişimler: Mevcut fenotipe yol açabilecek mutasyonu taşıyan az sayıda hasta bildirilen veya önemli genler içerebilen değişimlerdir.
2. Klinik önemi bilinmeyen değişimler: Sağlıklı bireylerde bildirilmemiş ve gen içermeyen değişimler olup bu değişimler başka bir yöntemle doğrulanmalı ve segregasyon analizi yapılmalıdır.
3. Klinik önemi bilinmeyen/muhtemel benign değişimler: Klinikle ilişkisi olmadığı düşünülen ancak sağlıklı bireylerde az sayıda bildirilen değişimlerdir.

3)Benign Değişimler: Mevcut fenotiple ilişkili olmayan ve sağlıklı bireylerde fazlaca saptanan değişimler olup genellikle ebeveynlerden birinde de tespit edilirler.

Ayrıca saptanan bir CNV'nin patojenitesinin değerlendirilmesinde dikkate alınması gereken kriterler tablo3.1'de anlatılmıştır(143).

Tablo 3.1 CNV’lerin patojenitesinin değerlendirilmesinde dikkate alınması gereken kriterler(143)

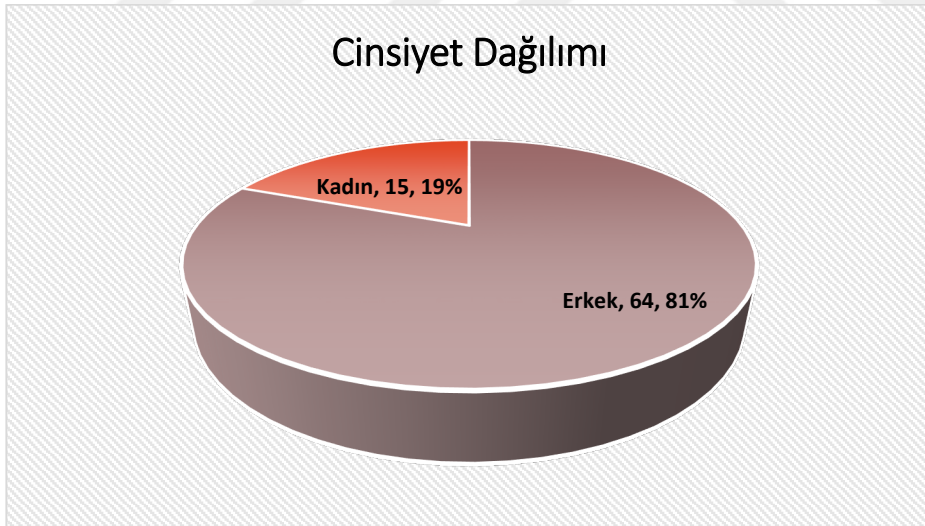
	BENİGN	PATOJENİK
Primer Kriterler		
Saptanan CNV sağlıklı ebeveynden aktarılmış	X	
Bie ebeveynden aktarılmış CNV’nin farklılaşması veya genişlemesi		X
Saptanan CNV hasta ebeveynden aktarılmış		X
Sağlıklı bir akrabada benzer CNV tespit edilmesi	X	
Etkilenmiş bir akrabada benzer CNV saptanması		X
Probandda saptanan CNV’nin sağlıklı bireylerinde olduğu CNV veritabanında sağlıklı bireylerde saptanması	X	
Probandda saptanan CNV’nin veritabanlarında MR,NGG ve OSB tanılı hastalarda saptanması		X
Saptanan CNV’nin daha önce bilinen bir genomik dengesizlik sendromu ile örtüşmesi		X
Saptanan CNV’nin morbid OMIM genleri içermesi		X
Saptanan CNV’nin genden zengin bir bölgede olması		X
Saptanan CNV’nin genden fakir bir bölgede olması	X	
Genel Bulgular		
Saptanan CNV bir delesyonsa		X
Saptanan CNV bir homozigot delesyonsa		X
Saptanan CNV bir duplikasyonsa(bilinen dozaj-duyarlı genleri içermiyor)	X	
Saptanan CNV bir amplifikasyonsa(1 kopyadan fazla artış)		X
Saptanan CNV bilinen düzenleyici elementleri içermiyorsa	X	

4.BULGULAR

Çalışmamızda Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine, 01.01.2024 tarihine kadar otizm spektrum bozukluğu tanısıyla başvuran; Yeni Nesil Dizileme ve mikroarray analizi yapılmış 79 hastanın verileri retrospektif olarak tekrar analiz edilerek güncel literatür verilerine göre revize edilmiştir. Çalışmamızda hastaların ayrıca demografik bilgileri, doğum bilgileri, özgeçmiş ve soygeçmiş bilgileri, ek klinik bulguları ve dismorfik özellikleri de arşivimizde yer alan hasta dosyalarından elde edilen veriler doğrultusunda incelenmiştir. Bu veriler doğrultusunda saptanan bulgular aşağıda anlatılmıştır.

4.1 Hastaların Demografik Bulguları

Çalışmamıza otizm tanısı almış toplam 79 hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya alınanların %81,0'i(64 birey) erkek, %19,0'u(15 birey) kadındır(Şekil 4.1).

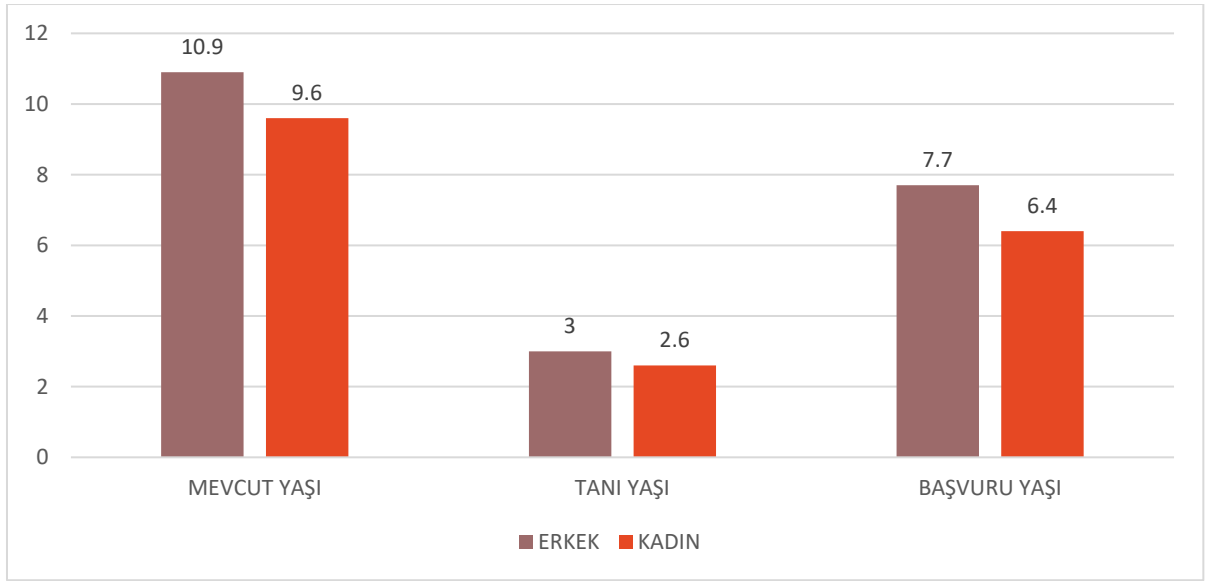


Şekil 4.1.Çalışmaya alınan hastaların cinsiyet dağılımı

Hastaların şu anki yaş ortalaması 10,6 olmakla beraber erkek hastaların yaş ortalaması 10,9 iken kadın hastaların yaş ortalaması 9,6'dır. Hastaların OSB tanısı alma yaşı ortalama 3 olmakla beraber erkek hastaların ortalama tanı yaşı 3 iken kadın hastaların ortalama tanı yaşı 2,6'dır. Hastaların %29'u 2 yaşından önce tanı almış olup hastaların %76'sı 3 yaşına kadar tanı almışlardır; %24'ü ise 3 yaşından sonra tanı almıştır. Hastaların tıbbi genetik polikliniğimize başvuru yaşı ortalama 7,5 olup erkek hastaların başvuru yaşı ortalama 7,7 iken kadın hastaların başvuru yaşı ortalama 6,4'tür. Hastaların %11,4'ü tanı aldığı yaşta tıbbi genetik polikliniğine başvurmuş olup geri kalan %88,1 en az 1 en çok 28 yıl sonra olmak üzere tanı yaşından ortalama 4,5 yıl sonra tıbbi genetik polikliniğine başvurmuşlardır (Tablo 4.1, Şekil 4.2).

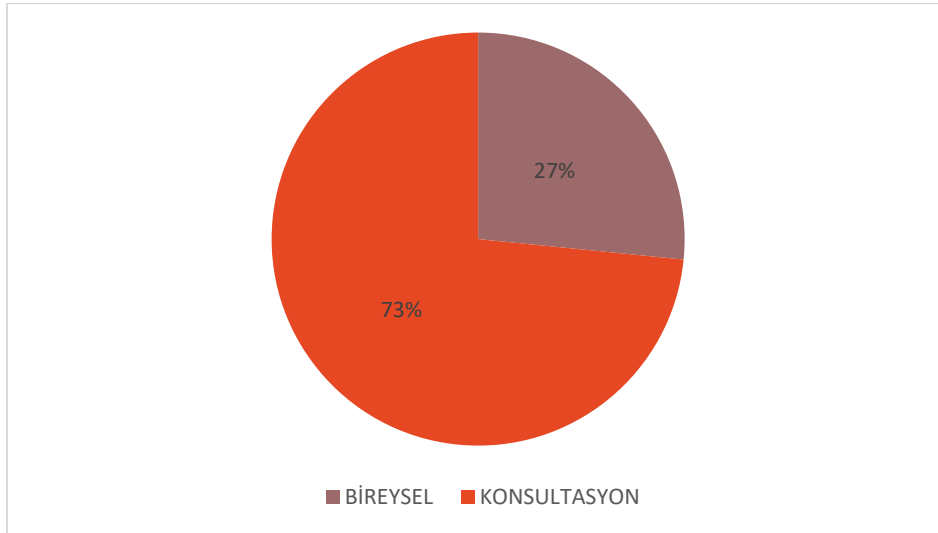
Tablo 4.1 Çalışmaya alınan hastaların kendi yaşının, tanı yaşının, başvuru yaşının ve anne-baba yaşının ortalamasının cinsiyete göre dağılımı

	ERKEK (n=64)	KADIN (n=15)	TOPLAM (n=79)
	Ort.	Ort.	Ort.
YAŞ	10,9	9,6	10,6
TANI YAŞI	3,0	2,6	3,0
BAŞVURU YAŞI	7,7	6,4	7,5
BAŞVURU YAŞI- TANI YAŞI	4,7	3,8	4,5
ANNE YAŞI	30,4	29,7	30,3
BABA YAŞI	33,7	34,1	33,8



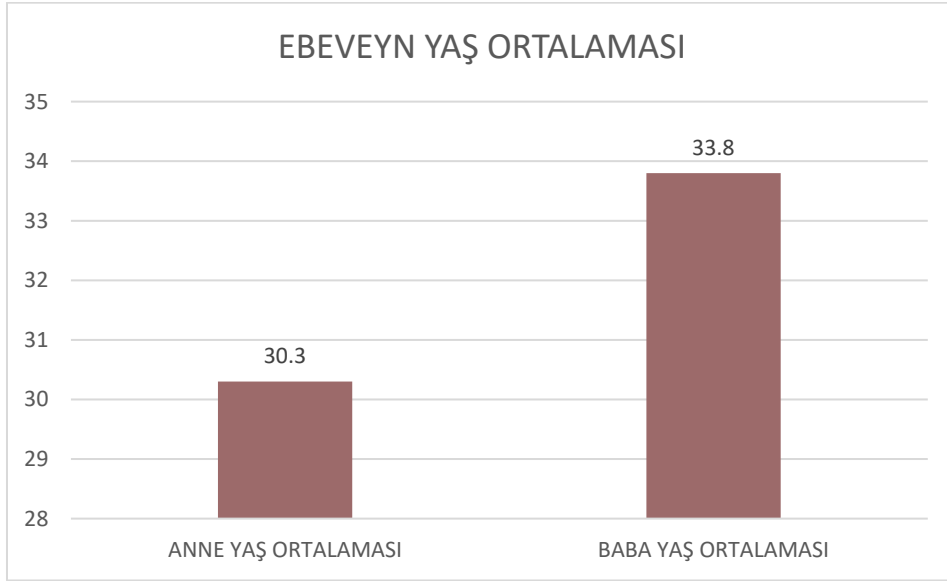
Şekil 4.2 Çalışmaya alınan hastaların kendi yaşının, tanı yaşının, başvuru yaşının ve anne-baba yaşının ortalamasının cinsiyete göre dağılım grafiği

Hastalarımızın %26,6'sı tıbbi genetik polikliniğine direkt bireysel başvuruda bulunmuş olup geriye kalan %73,4'ü ilgili diğer branşlarca(çocuk psikiyatri, çocuk nöroloji, genel pediatri...) tarafımıza yönlendirilmişlerdir(Şekil 4.3)



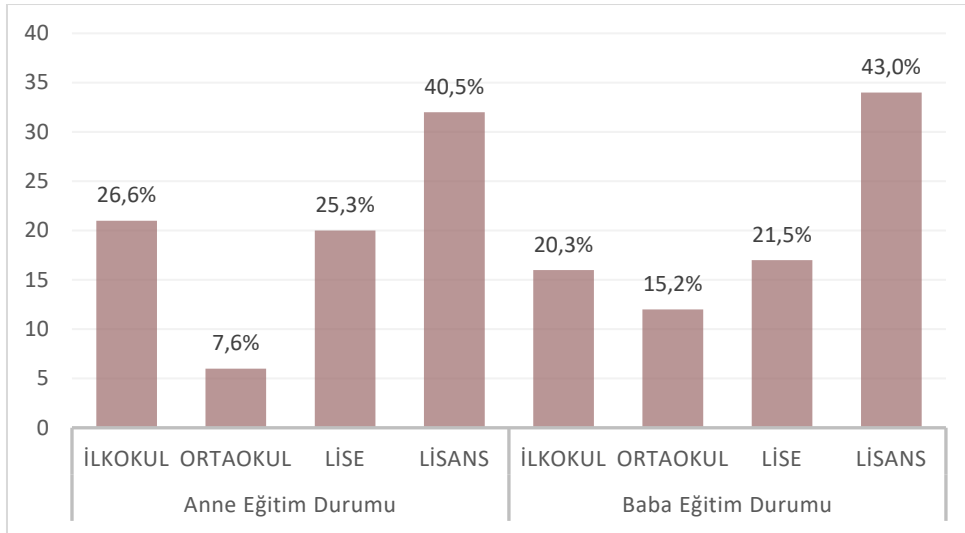
Şekil 4.3 Hastaların başvuru şeklinin dağılım grafiği

Hastalarımızın annelerinin yaş ortalaması 30,3 olup hasta bireylerin %28'inin annelerinin yaşı 35'ten büyüktür. Hastalarımızın babalarının yaş ortalaması 33,8 olup hasta bireylerin %10.1'inin babalarının yaşı 40'dan büyüktür(Şekil 4.4).



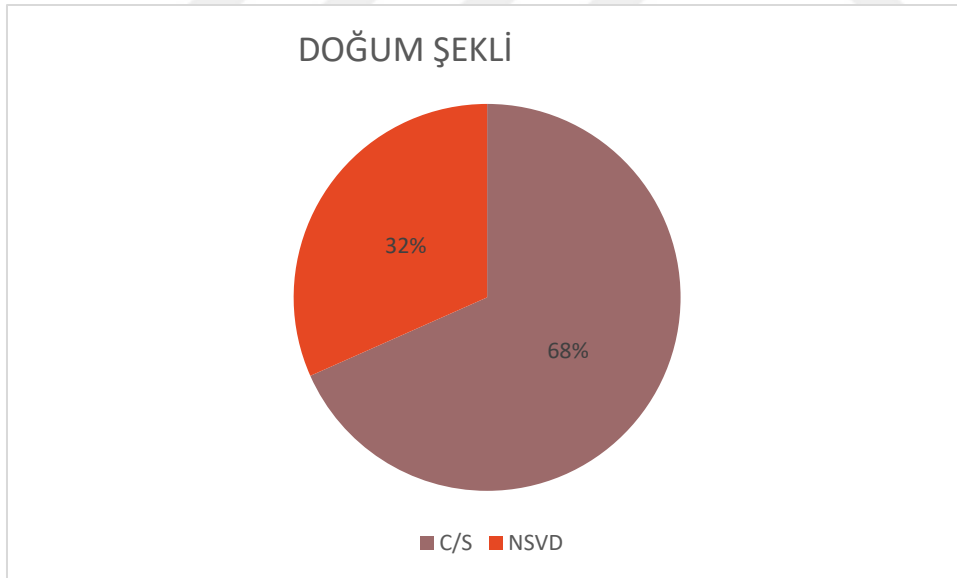
Şekil 4.4 Çalışmaya alınan hastaların anne-baba yaş ortalaması grafiği

Çalışmamıza katılan hastaların annelerinin %26.6 sı ilkokul, %7.6'sı ortaokul, %25.3'ü lise ve %40.5 i üniversite mezunudur. Hastalarımızın babalarının ise %20.3'ü ilkokul, %15.2'si ortaokul, %21.5'i lise, %43'ü üniversite mezunudur(Şekil 4.5)



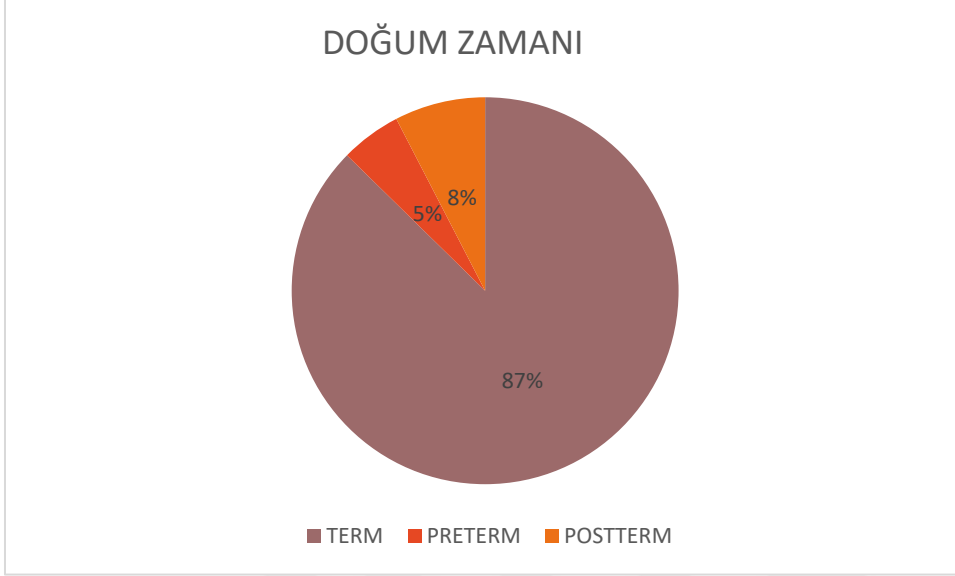
Şekil 4.5 Çalışmaya alınan hastaların ebeveynlerinin eğitim durumunun dağılımı

Hastalarımızın %68'i sezaryan doğum ile dünyaya gelmişken %32'si normal spontan vajinal doğum ile dünyaya gelmiştir.(Şekil 4.6).



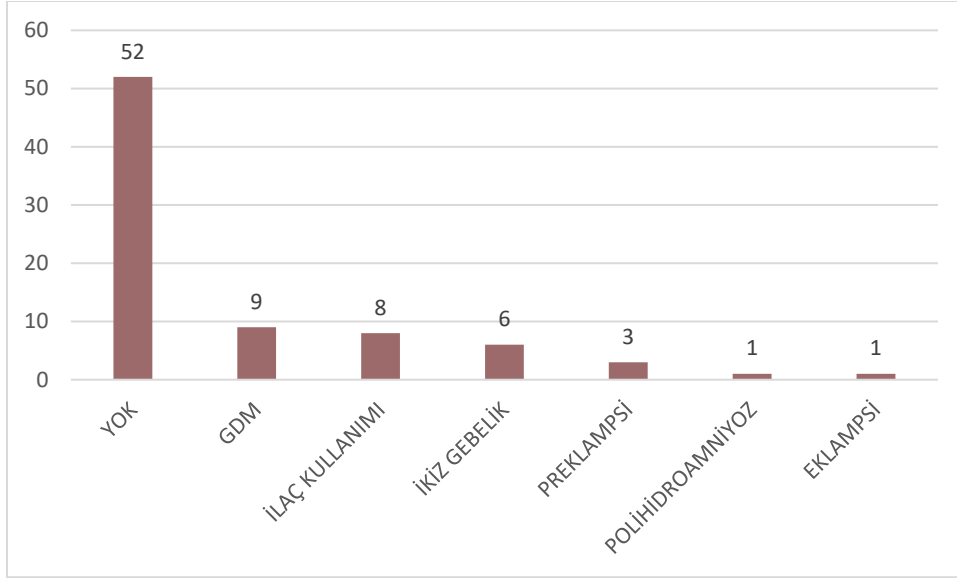
Şekil 4.6 Çalışmaya alınan hastaların doğum şeklinin dağılımı grafiği

Hastalarımızın %87'si term doğum olup %5'i preterm, %8' ise postterm dünyaya gelmiştir(Şekil 4.7).



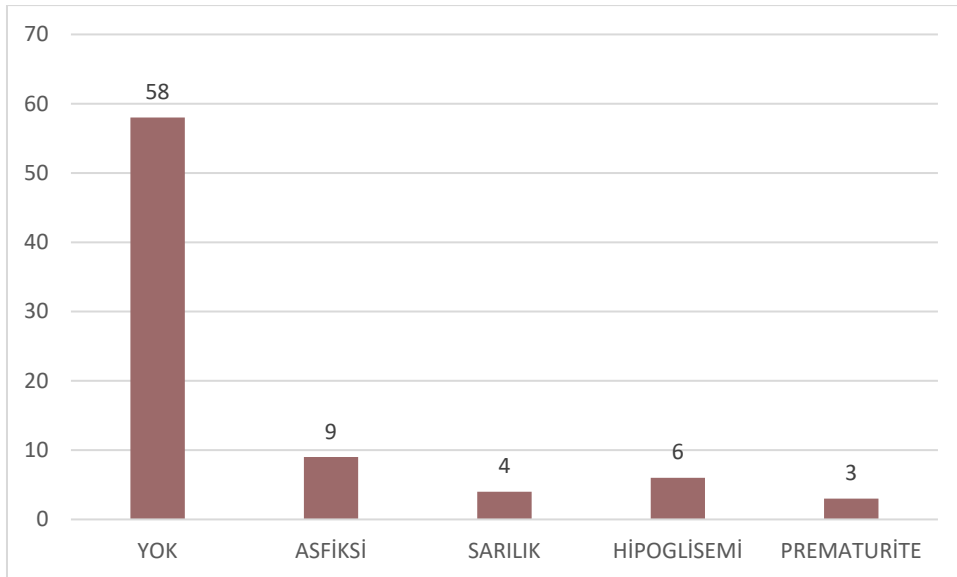
Şekil 4.7 Çalışmaya alınan hastaların doğum zamanı dağılım grafiği

Hastaların prenatal dönemdeki öyküleri incelendiğinde %66'sında prenatal dönemde herhangi bir özellik saptanmamışken; %11.4'ünde gestasyonel diabetes mellitus, %9'inde gebelikte ilaç(antibiyotik,antiepileptik,hormon..vs) kullanımı, %8'inde ikiz gebelik, %4'ünde preklampsi, %1.3'ünde gebelikte sigara kullanımı, %1.3'ünde polihidroamniyozis ve %1.3'ünde eklampsi öyküsü saptanmıştır(Şekil 4.8).



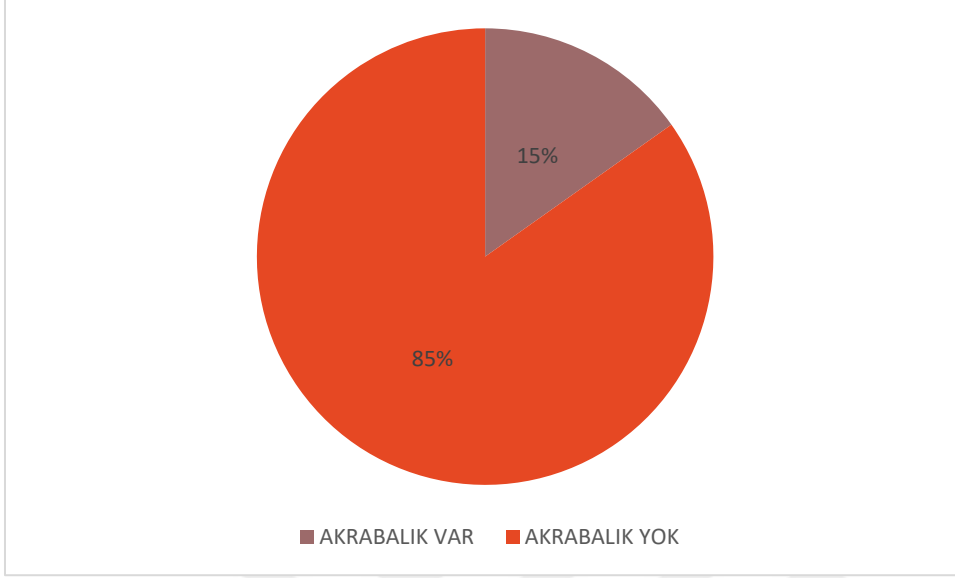
Şekil 4.8 Çalışmaya alınan hastaların prenatal dönemdeki özelliklerinin dağılım grafiği

Hastaların natal dönemdeki öyküleri incelendiğinde %73.4'ünde natal dönemde herhangi bir özellik saptanmamışken; hastaların %11.3'ünde asfiksi, %5'inde sarılık, %7.6'sında hipoglisemi(beslenme bozukluğu) ve %3'ünde prematurite nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü bulunmaktadır(Şekil 4.9).



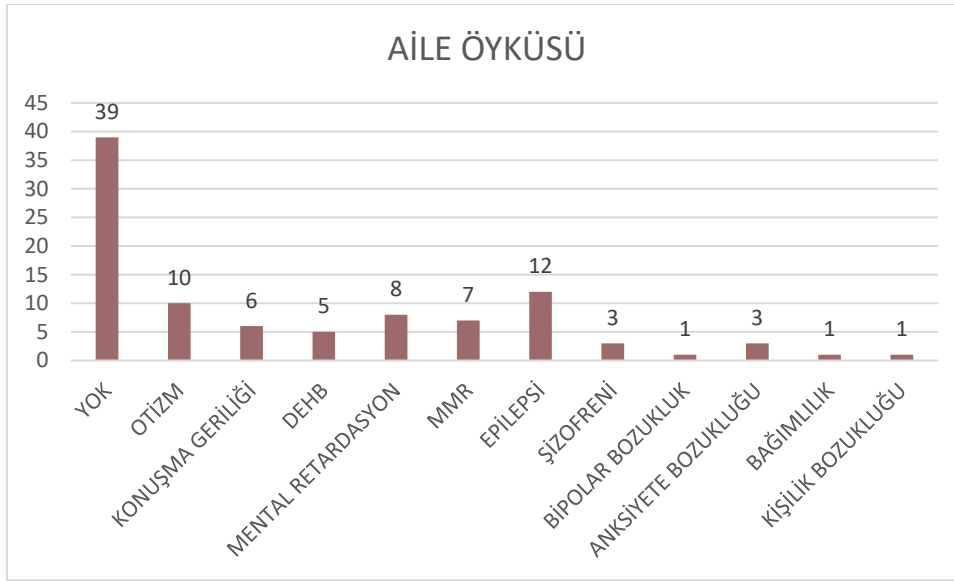
Şekil 4.9 Çalışmaya alınan hastaların natal dönemdeki özelliklerinin dağılım grafiği

Çalışmaya aldığımız hastaların %15.2'sinin anne-babası arasında akrabalık bulunmaktayken %84.8'inin anne-babası arasında akrabalık bulunmamaktadır(Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Çalışmaya alınan hastaların anne-babası arasındaki akrabalık oranı grafiği

Çalışmaya aldığımız hastalarımızdan 1 çifti tek yumurta ikizi(H12,H12-K) olmak üzere toplam 4 çift kardeş(H13,H13-K/H34,H34-K/H50,H50-K) bulunmaktadır. Çalışmamızdaki 4 hastanın(H3, H38, H45, H52) çift yumurta ikizi bulunmakta olup bu hastaların ikiz kardeşlerinde herhangi bir nöropsikiyatrik hastalık öyküsü bulunmamaktadır. Ayrıca hastalarımızın %49'unun ailesinde herhangi bir nöropsikiyatrik hastalık öyküsü bulunmazken; %13'ünün ailesinde otizm, %8'inin ailesinde konuşma geriliği, %6'sının ailesinde DEHB, %10'unun ailesinde mental retardasyon, %9'unun ailesinde MMR, %15'inin ailesinde epilepsi, %4'ünün ailesinde şizofreni, %4'ünün ailesinde anksiyete bozukluğu, %1.3'ünün ailesinde bipolar bozukluk, %1.3'ünün ailesinde alkol bağımlılığı, %1.3'ünün ailesinde ise kişilik bozukluğu öyküsü bulunmaktadır(Şekil 4.11, Tablo 4.2)



Şekil 4.11 Çalışmaya alınan hastaların ailelerindeki nöropsikiyatrik hastalıkların dağılım grafiği

Tablo 4.2. Çalışmaya alınan hastaların ailelerinde bulunan nöropsikiyatrik hastalıklar

HASTA KODU	AİLEDE NÖROPSİKİYATRİK HASTALIK ÖYKÜSÜ	HASTA KODU	AİLEDE NÖROPSİKİYATRİK HASTALIK ÖYKÜSÜ
H2	BİPOLAR BOZUKLUK	H40	KONUŞMA BOZUKLUĞU
H7	ALKOL BAĞIMLILIĞI,ANKSİYETE BOZUKLUĞU	H41	EPİLEPSİ
H10	EPİLEPSİ,MMR	H45	MMR
H11	KONUŞMA BOZUKLUĞU	H47	KONUŞMA BOZUKLUĞU
H13	OTİZM,MMR, EPİLEPSİ	H49	KONUŞMA BOZUKLUĞU
H13-K	OTİZM,MMR, EPİLEPSİ	H50	OTİZM
H14	KONUŞMA BOZUKLUĞU	H50-K	OTİZM,MENTAL RETARDASYON,EPİLEPSİ
H15	OTİZM	H51	ŞİZOFRENİ,OTİZM
H17	EPİLEPSİ	H52	ANKSİYETE BOZUKLUĞU,DEHB
H19	OTİZM,ŞİZOFRENİ	H53	EPİLEPSİ
H20	ŞİZOFRENİ	H54	KONUŞMA BOZUKLUĞU
H21	DEHB	H55	MENTAL RETARDASYON
H28	EPİLEPSİ,OTİZM	H59	EPİLEPSİ,MMR
H29	MENTAL RETARDASYON	H60	OTİZM
H30	DEHB	H61	DEHB
H33	DEHB,ANTİSOSYAL KİŞİLİK BOZUKLUĞU	H62	EPİLEPSİ,ANKSİYETE BOZUKLUĞU
H34	MENTAL RETARDASYON,EPİLEPSİ	H64	MMR

Tablo 4.2.Çalışmaya alınan hastaların ailelerinde bulunan nöropsikiyatrik hastalıklar(devamı)

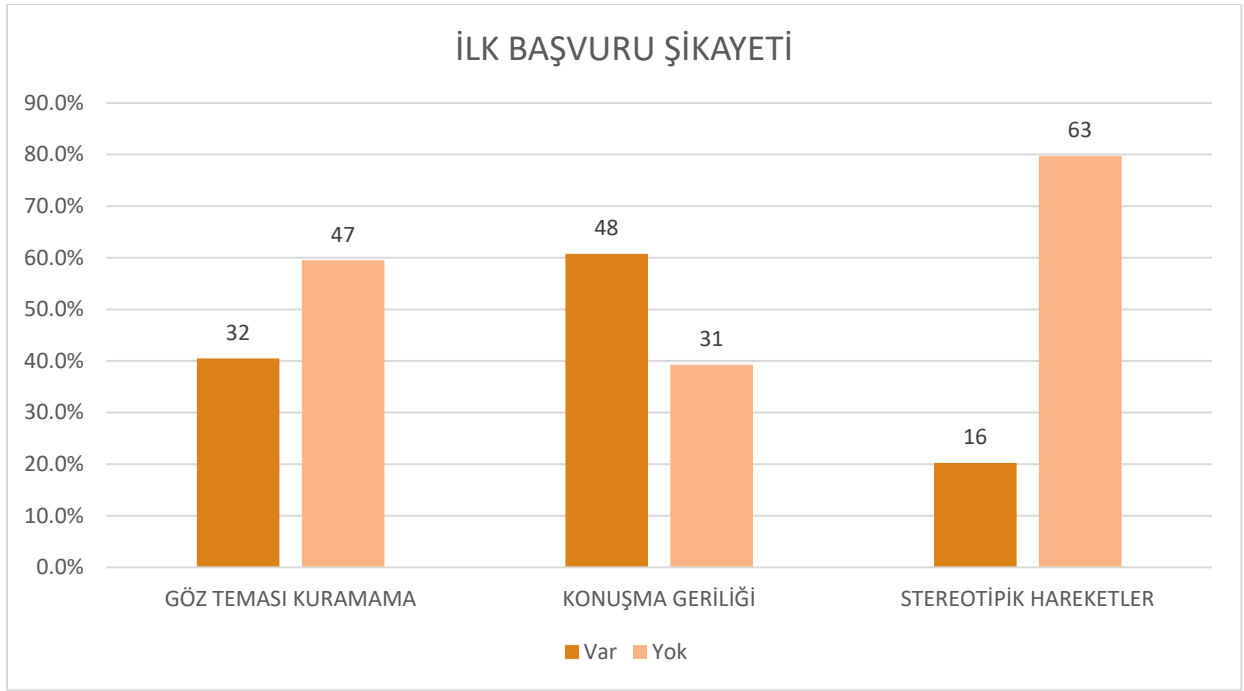
HASTA KODU	AİLEDE NÖROPSİKİYATRİK HASTALIK ÖYKÜSÜ	HASTA KODU	AİLEDE NÖROPSİKİYATRİK HASTALIK ÖYKÜSÜ
H34-K	MENTAL RETARDASYON,EPİLEPSİ	H65	OTİZM
H36	MMR	H71	MENTAL RETARDASYON
H38	MENTAL RETARDASYON	H73	MENTAL RETARDASYON

4.2 Hastaların Klinik Bulguları

Hastaların ilk klinik bulguları sorgulandığında cevaplar 4 klinik bulgu üzerine yoğunlaşmıştır. Bunlar; konuşma geriliği, sosyal iletişim bozukluğu, stereotipik hareketler ve yaygın gelişim bozukluğudur. Hastalarımızda ilk saptanan klinik bulguların %60.8'i konuşma geriliği, %40.5'i sosyal iletişim bozukluğu(göz teması kuramama), %20.3'si stereotipik hareketler, %16.4'ünde yaygın gelişim bozukluğudur. Hastaların %64.6'sında ilk başvuru anında bu klinik bulgulardan sadece biri bulunmaktayken %35.4'ünde birden fazla klinik bulgu bulunmaktadır(Tablo 4.3, Şekil 4.12)

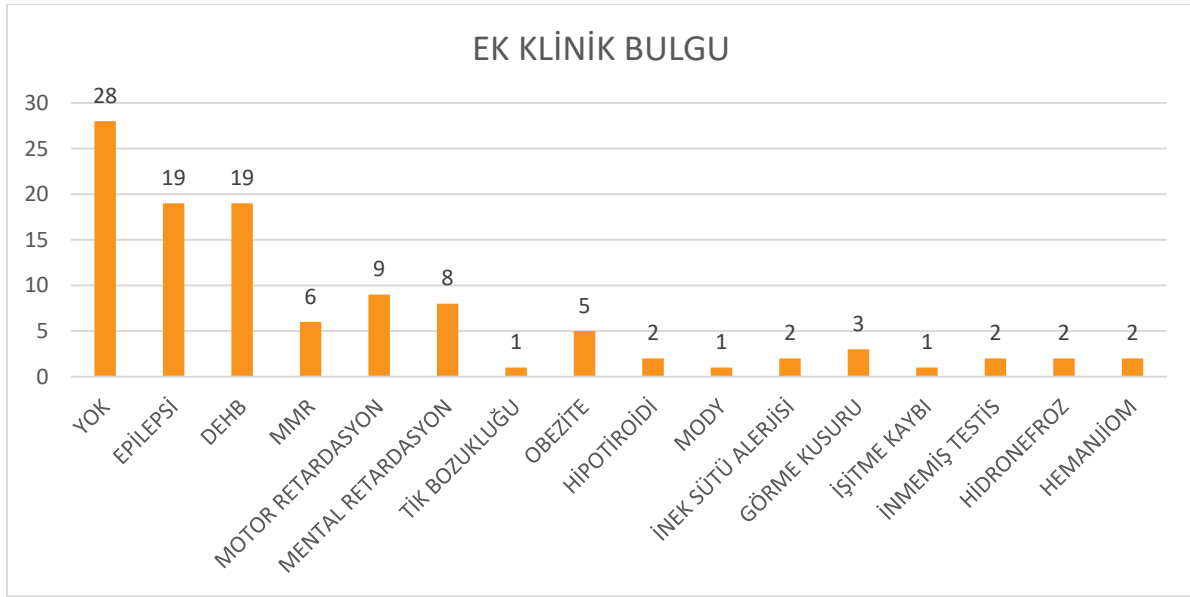
Tablo 4.3. Çalışmaya alınan hastaların ilk başvuru şikayetinin cinsiyete göre dağılımı

	ERKEK		KADIN	
	n	%	n	%
SOSYAL İLETİŞİM BOZUKLUĞU(GÖZ TEMASI KURAMAMA)	6	10,9	2	18,2
KONUŞMA GERİLİĞİ	23	41,8	4	36,4
STEREOTİPİK HAREKETLER	3	5,5	0	0,0
GÖZ TEMASI KURMAMA, STEREOTİPİK HAREKETLER	7	12,7	0	0,0
KONUŞMA GERİLİĞİ, GÖZ TEMASI KURMAMA	11	20,0	4	36,4
KONUŞMA GERİLİĞİ, STEREOTİPİK HAREKETLER	4	7,3	0	0,0
KONUŞMA GERİLİĞİ, GÖZ TEMASI KURMAMA, STEREOTİPİK HAREKETLER	1	1,8	1	9,1



Şekil 4.12.Çalışmaya alınan hastaların ilk başvuru şikayetinin cinsiyete göre dağılımı grafiği

Hastalarımızın tamamı otizm spektrum bozukluğu tanısı almış olup %35.4'ünde sadece OSB bulunurken geri kalan %64,6'sında farklı ek klinik bulgular bulunmaktadır. Hastaların %24'ünde epilepsi, %24'ünde DEHB, %7.6'sında MMR, %11,4'ünde motor retardasyon, %10.1'inde mental retardasyon, %1.3'ünde tik bozukluğu, %6.3'ünde obezite, %2.5'inde hipotiroidi, %1.3'ünde diyabetes mellitus, %2.5'inde inek sütü alerjisi, %3.8'inde görme kusuru, %1.3'ünde işitme kaybı, %2.5'inde inmemiş testis, %2.5'inde hidronefroz ve %2.5'inde hemanjiom bulunmaktadır. Hastalarda bulunan ek klinik bulgular ve hangi hastada görüldüğü tabloda özetlenmiştir ve otizme sık eşlik eden klinik bulguların cinsiyete göre dağılımı tabloda belirtilmiş olup; erkeklerin %18,8'inde kadınların ise %46,7'sinde epilepsi erkeklerin %28,1 kadınların %6,7'sinde DEHB, erkeklerin %7,8 kadınların %6,7'sinde MMR ve erkeklerin %10,9'unda kadınların %6,7'sinde MR bulunmaktadır(Tablo 4.4, Tablo 4.5, Şekil 4.13)



Şekil 4.13 Çalışmaya alınan hastalardaki ek klinik bulguların dağılım grafiği

Tablo 4.4 Çalışmaya alınan hastalardaki ek klinik bulguların cinsiyete göre dağılımı

Ek klinik bulgular		Erkek		Kadın	
		n	%	n	%
Epilepsi	VAR	12	18,8	7	46,7
	YOK	52	81,2	8	53,3
DEHB	VAR	18	28,1	1	6,7
	YOK	46	71,9	14	93,3
MMR	VAR	5	7,8	1	6,7
	YOK	59	92,2	14	93,3
Mental Retardasyon	VAR	7	10,9	1	6,7
	YOK	57	89,1	14	93,3

Tablo 4.5 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan ek klinik bulgular

HASTA KODU	EK KLİNİK BULGU	HASTA KODU	EK KLİNİK BULGU
H1	MMR, OBEZİTE	H35	EPİLEPSİ
H2	EPİLEPSİ	H37	DEHB, MOTOR RETARDASYON
H4	MOTOR RETARDASYON, GÖRME KUSURU	H38	DEHB, HEMANJİOM
H7	OBEZİTE, MMR	H40	DEHB
H8	MMR, EPİLEPSİ, İNMEMİŞ TESTİS, HİDRONEFROZ	H41	DEHB, EPİLEPSİ
H9	DEHB	H42	EPİLEPSİ, MOTOR RETARDASYON
H10	EPİLEPSİ, MENTAL RETARDASYON	H44	EPİLEPSİ, MOTOR RETARDASYON
H13	MMR, EPİLEPSİ	H45	DEHB
H13-K	MMR, EPİLEPSİ	H46	EPİLEPSİ
H14	MOTOR RETARDASYON	H50	MENTAL RETARDASYON, EPİLEPSİ
H15	DEHB, MENTAL RETARDASYON	H53	MENTAL RETARDASYON
H16	DEHB	H56	EPİLEPSİ
H18	MOTOR RETARDASYON	H58	DEHB
H19	İNEK SÜTÜ ALERJİSİ	H59	EPİLEPSİ, DEHB, OBEZİTE, GÖRME KUSURU
H20	İNEK SÜTÜ ALERJİSİ	H62	DEHB
H21	DEHB	H64	MOTOR RETARDASYON
H22	EPİLEPSİ, DEHB	H66	MENTAL RETARDASYON, HİPOTİROİDİ
H23	HEMANJİOM	H68	DEHB
H24	DEHB, İNMEMİŞ TESTİS, GÖRME KUSURU	H69	DEHB ,OBEZİTE
H26	TİK BOZUKLUĞU	H70	MMR
H27	EPİLEPSİ	H71	MOTOR RETARDASYON, EPİLEPSİ, HİDRONEFROZ
H29	İŞİTME KAYBI, MİYOPİ	H72	DEHB, HİPOTİROİDİ
H30	MODY	H73	DEHB
H33	DEHB, OBEZİTE	H74	MENTAL RETARDASYON
H34	MENTAL RETARDASYON, EPİLEPSİ	H75	EPİLEPSİ, MOTOR RETARDASYON
H34-K	MENTAL RETARDASYON, EPİLEPSİ		

Hastaların ayrıca %43'ünde dismorfik özellik bulunurken, %57'sinde herhangi bir dismorfik bulgu saptanmamıştır. Hastalarda bulunan dismorfik özellikler ve hangi hastada görüldükleri tablo 4.6'da özetlenmiştir.

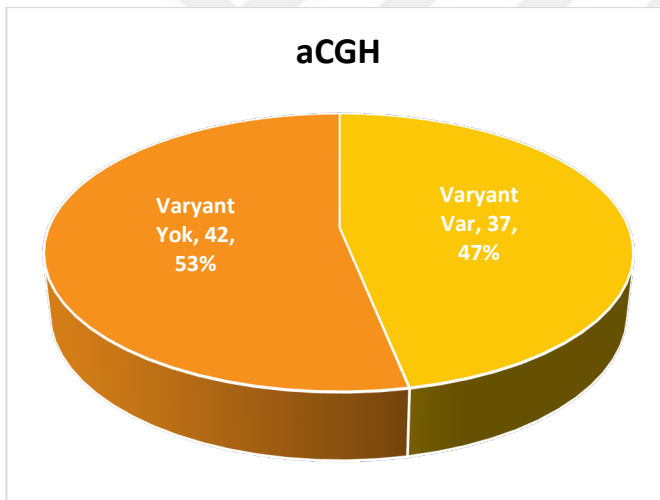
Tablo 4.6 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan dismorfik bulgular

HASTA KODU	DİSMORFİK BULGU
H1	GENİŞ BURUN KÖKÜ, ANTEVERT VE BÜYÜK KULAKLAR
H2	EPIKANTAL KATLANTI, İNCE ÜST DUDAK
H5	İNVERTED MEME BAŞI
H6	BELİRSİZ ANTİHELİKS
H7	KULAKTA FOKAL EKSİKLİK
H8	BRAKİSEFALİ, KALIN ÜST DUDAK, YAPIŞIK KULAK LOBLARI, ANTEVERT BURUN DELİKLERİ, DIŞ ÇARPIKLIĞI, MİKROGNATİ
H10	SİNOFRİZ
H13	MİKROSEFALİ, KONVEKS BURUN KEMER, ÇARPIK DIŞLER
H13-K	MİKROSEFALİ, KONVEKS BURUN KEMER, ÇARPIK DIŞLER
H15	BELİRGİN KİRPİKLER, YÜKSEK YERLEŞİMLİ KAŞLAR, BÜYÜK BURUN DELİKLERİ, İNCE ÜST DUDAK
H22	ANTEVERT VE BÜYÜK KULAKLAR, BELİRGİN ÖN DIŞLER
H23	MONGOL LEKESİ, SOL EPIKANTUS, BELİRGİN OKSİPUT
H25	CAFE AU LAİT LEKELERİ
H26	CAFE AU LAİT LEKELERİ
H27	CAFE AU LAİT LEKELERİ
H34	MİKROSEFALİ, MİKROGNATİ, TIRNAK HİPOPLAZİSİ
H34-K	MİKROSEFALİ, MİKROGNATİ
H40	İNCE ÜST DUDAK, ÇENE GAMZESİ, FRONTAL BOSSİNG
H41	CAFE AU LAİT LEKESİ
H44	ANTEVERT KULAK, RETROGNATİ
H47	HİPERTELORİZM
H50	HİPERTELORİZM, ANTEVERT KULAKLAR, DOWNSLANTİNG PALPEBRAL FİSSUR
H52	KÜÇÜK YÜZ, HİPOTELORİZM, MONGOL LEKESİ, MİKRODONTİ
H53	YUVARLAK YÜZ, DÜZ SAÇ, MİKRORETROGNATİ, KONVEKS BURUN KEMERİ
H57	CAFE AU LAİT LEKESİ
H58	CAFE AU LAİT LEKESİ
H60	SİNOFRİZ, BULBÖZ BURUN, ÇEKİK GÖZ
H61	UZUN FİLTRUM, ÇEKİK GÖZ, GENİŞ KOLUMELLA
H66	MAKROSEFALİ, DAR TORAKS
H67	YUVARLAK YÜZ
H68	UZUN FİLTRUM
H70	KABA YÜZ, DÜŞÜK YERLEŞİMLİ KULAKLAR, KALIN KAŞLAR
H72	BRAKİSEFALİ, DOLGUN KULAK MEMESİ, MİKROPENİS, HİPOPLASTİK MEME UCU
H74	HİPERTELORİZM, UZUN FİLTRUM, MAKROSEFALİ, MAKROPENİS

4.3 Hastaların Genetik Verileri

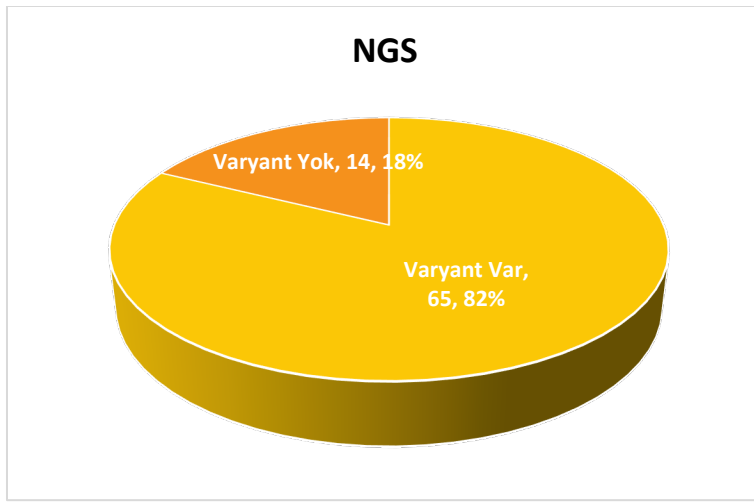
Çalışmaya alınan hastaların hepsine aCGH ve Yeni Nesil Dizileme analizi çalışmaları yapılmıştır. aCGH çalışması yapılan hastalardan elde edilen veriler Agilent SurePrint G3, Nx Clinical Software ve Bluefuse Multisoftware programlarında Clinvar, Decipher, DGV veritabanları kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen verilerden VUS ve patojenik/muhtemel patojenik olan veriler çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastalara yapılan aCGH çalışmaları sonucunda hastaların %46,8 kliniği açıklayabilecek VUS,patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmış olup %53.2 herhangi bir varyant gözlenmemiştir(Şekil 4.14). Varyant gözlenen hastaların %70,3'ünde tek varyant, %29,7'inde 1'den fazla varyant tespit edilmiştir.



Şekil 4.14 aCGH’de varyant saptanan ve saptanmayan hastaların dağılımı

NGS analizi yapılan hastalardan elde edilen veriler QCI(QIAGEN Clinical Insight) Interpret veritabanında Franklin, Clinvar, Varsome gibi veritabanları kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen verilerden VUS ve patojenik/muhtemel patojenik olan veriler çalışmaya dahil edilmiştir Hastalara yapılan Yeni Nesil Dizileme çalışmaları sonucunda hastaların %82,3'ünde kliniği açıklayabilecek VUS,patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmış olup %17,7'sinde herhangi bir varyant gözlenmemiştir(Şekil 4.15)



Şekil 4.15 NGS’de varyant saptanan ve saptanmayan hastaların dağılımı

Ayrıca hastaların %8,9unda(7 hasta) aCGH ile varyant saptanabilmişken NGS ile herhangi bir varyant saptanamamıştır. Hastaların %44,3'ünde(35 hasta) ise NGS ile varyant saptanabilmişken mikroarray ile herhangi bir varyant saptanamamıştır.

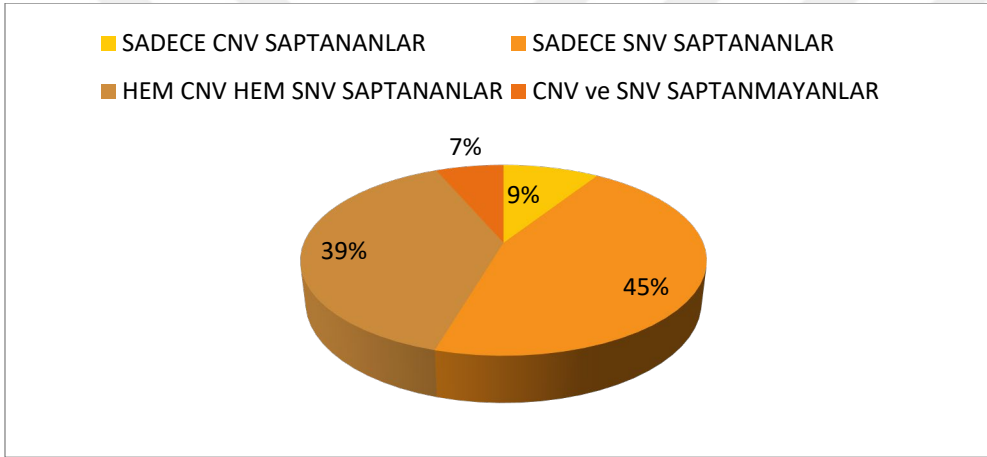
Hastaların %6,3'ünde(5 hasta) aCGH ve NGS yöntemi ile kliniği açıklayabilecek VUS,patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmamış olup, %38'inde(30 hasta) hem aCGH’de hem de NGS’de hastanın kliniği ile ilişkili olabilecek varyant saptanmıştır.

Ayrıca hastaların %5'inde(4 hasta) hem aCGH’de hem de NGS’de patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmıştır.

Çalışmaya alınan 79 hastada aCGH ve NGS ile varyant saptama ve saptanma oranları tablo 4.7’de ve şekil 4.16’da belirtilmiştir.

Tablo 4.7 Çalışmaya alınan hastaların aCGH ve NGS analizinde varyant saptanma veya saptanmama oranları

		aCGH	
		VARYANT VAR	VARYANT YOK
NGS	VARYANT VAR	%38(30 HASTA)	%44,3(35 HASTA)
	VARYANT YOK	%8,9(7 HASTA)	%6,3(5 HASTA)

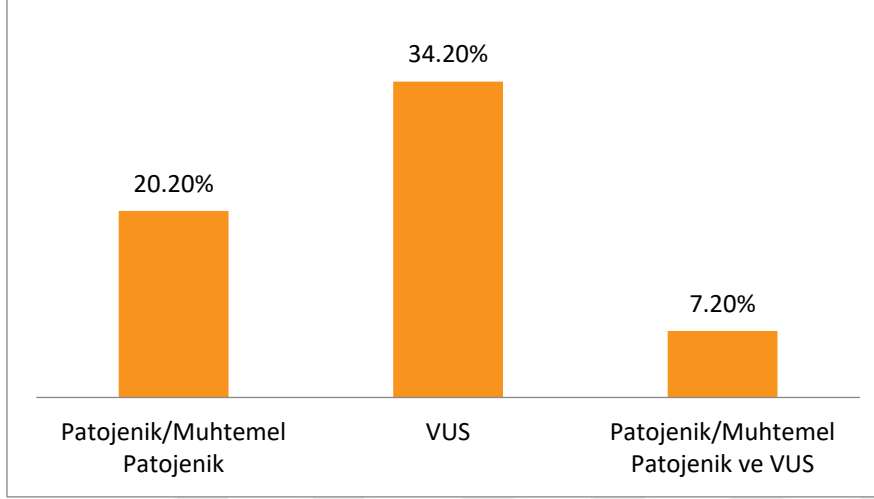


Şekil 4.16 Çalışmaya alınan hastaların aCGH ve NGS analizinde varyant saptanma veya saptanmama oranlarının dağılımı

4.3.1.aCGH Analiz Bulguları

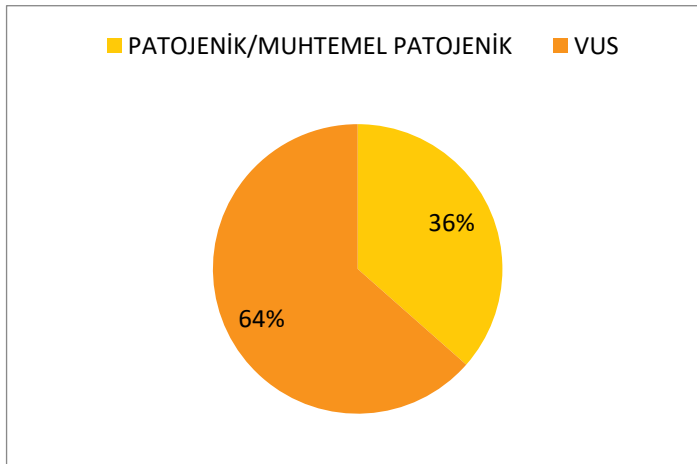
Hastalara yapılan aCGH çalışması sonucu elde edilen veriler Agilent SurePrint G3, Nx Clinical Software ve Bluefuse Multisoftware programlarında Clinvar, Decipher, DGV gibi veritabanları kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen verilerden VUS ve patojenik/muhtemel patojenik olan veriler çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalara yapılan aCGH çalışmaları sonucunda hastaların %46,8’inde(37 hasta) hastanın kliniğiyle ilişkili VUS,patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmış olup %53,2’sinde(42 hasta) klinik ile ilişkili herhangi bir CNV saptanmamıştır. Çalışmaya alınan 79 hastanın

16'sında(%20,2) patojenik/muhtemel patojenik varyant, 27'sinde(%34,2) VUS varyant, 6'sında(%7,2) hem patojenik/muhtemel patojenik hem de VUS varyant saptanmıştır(Şekil 4.17)



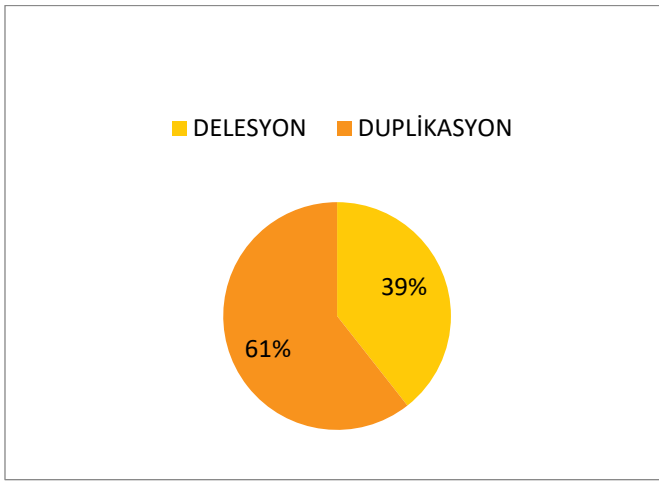
Şekil 4.17 Çalışmaya alınan hastaların aCGH analizinde saptanan patojenik/muhtemel patojenik ve VUS varyantların dağılımı

Toplamda 37 hastada 52 varyant saptanmış olup varyant gözlenen hastaların %70,3'ünde tek varyant, %29,7'inde 1'den fazla varyant tespit edilmiştir. Saptanan varyantların %36,5'i patojenik/muhtemel patojenik, %63,5'i VUS olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca varyant saptanan hastaların hastaların %27,0'sinde sadece patojenik mutasyon, %56,8'inde sadece VUS, %16,2'sinde hem patojenik mutasyon hem de VUS mevcuttur(Şekil 4.18)

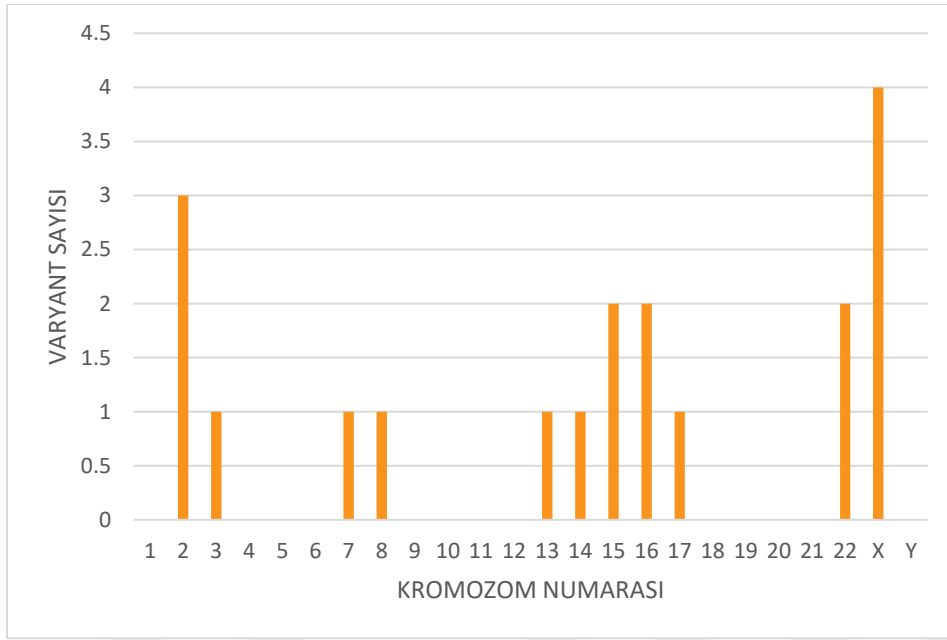


Şekil 4.18 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik ve VUS CNV'lerin oranı

Hastalarda toplamda 52 CNV saptanmış olup bunların %63.5'i VUS olarak yorumlanmıştır. Saptanan VUS varyantların %39,4'ü delesyon olup %60,6'sı duplikasyondur(Şekil 4.19). Saptanan VUS varyantların boyutu en küçüğü 5kB en büyüğü 1500kB olmak üzere ortalama 216.81 kB'dır. Saptanan VUS varyantların %25'i herhangi bir gen içermemektedir. Hastalarımızda saptadığımız VUS CNV'ler tablo 4.8'de belirtilmiş olup CNV'lerin kromozom numarasına göre dağılımı şekil 4.20'deki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.19 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS CNV'lerdeki delesyon duplikasyon oranı



Şekil 4.20 Çalışmaya alınan hastalardaki VUS CNV'lerin kromozom numarasına göre dağılımı grafiği

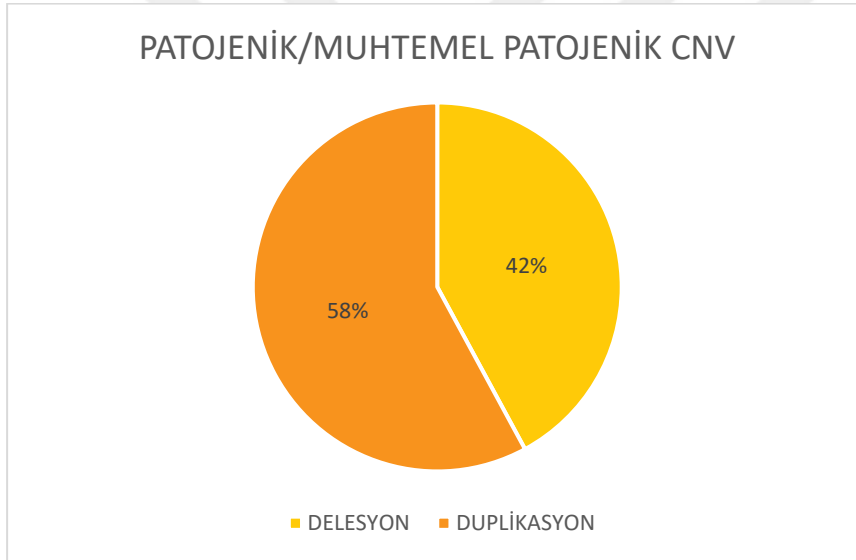
Tablo 4.8 Çalışmaya alınan hastalarda Acgh ile saptanan VUS CNV'ler

HASTA KODU	CİNS.	CNV	BAŞLANGIÇ ve BİTİŞ NOKTALARI	BOYUT	MORBID OMİM GENLERİ	DİĞER OMİM GENLERİ
H5	E	dup2p21	45168836-45172125	33	SIX3	-
H13	E	dup3q13.32	119008246 - 119081433	74	-	IGSF11
H13-K	E	dup3q13.32	119008246 - 119081433	75	-	IGSF12
H16	E	dup6q26	161530034-161930607	400	PRKN	-
H17	E	del15q15.3	43603435-43657374	53	STRC	CATSPER2
H19	E	dup3p26.3	137074-296275	159	-	CHL1
H23	E	del16q23.1	78586596-78618640	32	WVOX	-
H23	E	dupXp22.33	1134264-1383689	249	CSF2RA	CRLF2,IL3RA
H24	E	del12p13.33	722717-1395547	673	WNK1	RAD52, ERC1
H26	E	del13q21.32	66524723-66587647	62	-	PCDH9
H31	E	del10q21.3	66655973-66743096	281	CTNNA3	-
H37	E	del4p16.3	958003-1003475	45	IDUA,SLC26A1	DGKQ,TMEM175
H48	K	dup17q22	57560350-57864542	304	MSI2, MRPS23	RNU7-134P, CUEDC1
H50	K	dup16p13.2	9864094-9913110	49	GRIN2A	-
H51	K	del1q44	245474736-245483680	10	-	KIF26B
H53	E	del2p21	47314725-47361198	46	-	BCYRN1
H54	E	dupXq13.1	71367591-71384078	16	TAF1	-
H55	E	dup6q27	167896755-168314461	417	-	AFDN, KIF25, DACT2
H56	K	del16p12.1	27549716-27592129	42	KATNIP	GTF3C1
H57	E	dup7q36.2	154459434-154497161	67	DPP6	-

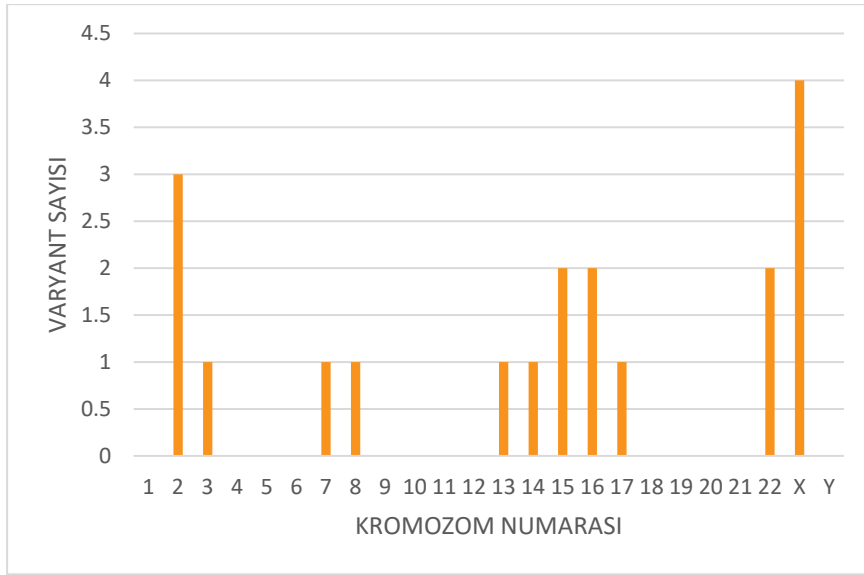
Tablo 4.8 Çalışmaya alınan hastalarda Acgh ile saptanan VUS CNV'ler(devamı)

HASTA KODU	CİNS.	CNV	BAŞLANGIÇ ve BİTİŞ NOKTALARI	BOYUT	MORBID OMİM GENLERİ	DİĞER OMİM GENLERİ
H58	E	dup1p13.3	109670892-109692233	21	-	GSTM2 GSTM1
H58	E	dupXq22.1	100406645-100412612	5	PCDH19	-
H62	K	dup5q35.3	31373663-31648620	112	LTC48, SQSTMI	MRNIP, MGAT4B, MAML1
H63	E	dup1p36.11	25246493-25324762	78	RHD	-
H63	E	del6q26	162359963-162626829	266	PRKN	-
H65	E	del5q13.3	76513383-76587009	73	-	IQGAP2
H67	E	dup10p11.21	34872757-35074176	201	-	CUL2
H67	E	dup17q21.31	46081300-46717824	636	KANSL1, NSF	LRRC37A LRRC37A2
H68	E	del12q21.31	82912160-84459094	1500	-	TMTC2
H73	E	del1q21.3	154489004-154681156	192	ADAR, CHRNA2	UBE2Q1, SHE
H75	K	dup4q13.3	72953320-73179125	225	COX18, ANKRD17	-
H75	K	dup15q11.2	22572809-23174546	601	TUBGCP5,CYFIP1, NIPA2, NIPA1	-

Hastalarda toplamda 52 CNV saptanmış olup bunların %36,5'i patojenik/muhtemel patojenik olarak yorumlanmıştır. Saptanan patojenik/muhtemel patojenik varyantların %42,1'i delesyon %57,9'u duplikasyondur(Şekil 4.21). Saptanan patojenik/muhtemel patojenik varyantların boyutu en küçüğü 7kB en büyüğü 12.200kB olmak üzere ortalama 1879.52kB'dır. Saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerin %5.3'ü herhangi bir gen içermemektedir. Hastalarda saptadığımız patojenik/muhtemel patojenik CNV'ler tablo 4.9'da belirtilmiş olup bu CNV'lerin kromozom numarasına göre dağılımı şekil 4.22'deki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.21 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerdeki delesyon duplikasyon oranı



Şekil 4.22 Çalışmaya alınan hastalardaki patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerin kromozom numarasına göre dağılımı grafiği

Tablo 4.9 Çalışmaya alınan hastalarda aCGH ile saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'ler

HASTA KODU	CİNS.	CNV	BAŞLANGIÇ ve BİTİŞ NOKTALARI	BOYUT	MORBID OMIM GENLERİ	DİĞER OMIM GENLERİ
H3	E	del3p26.3	93949-1133628	1039	CHL1	-
H18	K	dup17p11.2	16879232-20268210	3388	TNFRSF13B, FLCN, RAI1,ATPAF2, MYO15A,B9D1, ALDH3A2,AKAP10	MPRIIP, PLD6, COPS3, NT5M, MED9, RASD1, PEMT, SREBF1, MIR33B, TOM1L2, GID4, DRG2, ALKBH5, LLGL1, FLII, MIEF2, TOP3A, SMCR8, SHMT1, FBXW10, PRPSAP2, FAM83G, GRAP, SNORD3A, EPN2,MAPK7, MFAP4, RNF112, SLC47A1, SLC47A2, ALDH3A1, ULK2, SPECC1
H23	E	del16p13.3	155036-188483	155	NPRL3	YOK
H25	E	dupXq21.33	97382662-97897543	514	DIAPH2	DIAPH2-AS1
H25	E	dupXq22.1	101407710-101606699	198	GLA,HNRNPH2	ARMCX4,ARMCX1
H27	E	dupXq13.1	71367591-71394203	150	TAF1	-
H36	E	delXq28	155546050-155586778	40.7	TMLHE	-
H37	E	dup2p16.3	47806532-47806942	411	MSH6,FBXO11	-
H37	E	dup2q24.3	165992154-166013896	21	SCN1A	-
H40	E	del2p16.3	50636135-50936852	300,7	NRXN1	-

Tablo 4.9Çalışmaya alınan hastalarda aCGH ile saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'ler(devamı)

HASTA KODU	CİNS.	CNV	BAŞLANGIÇ ve BİTİŞ NOKTALARI	BOYUT	MORBID OMIM GENLERİ	DİĞER OMIM GENLERİ
H42	E	dup15q11.1-q13.3	19956119-32147080	12.200	NIPA1, MKRN3, MAGEL2, NDN, SNRPN, UBE3A, GABRB3, GABRA5, OCA2, HERC2, NSMCE3, FAN1, TRPM1	NBEAP1 ,POTEB, POTEB, NIPA2, CYFIP1, TUBGCP5, PWRN2,PWRN1, NPAP1, PWAR5,SNORD116-1,IPW, PWAR1,SNORD115-1,ATP10A, GABRG3,APBA2,TJP1, CHRFAM7A, ARHGAP11B,MIR211, KLF13, OTUD7A, CHRNA7
H43	E	dup14q13.1	34605816-34704212	98,2	-	SNX6
H48	K	del7p21.2	16212542-16287021	74	CRPPA	-
H50	K	del8q21.2-q22.1	85831636-95239215	9400	CNGB3, NBN, OTUD6B ,CIBAR1, TMEM67, PDP1, RAD54B, ESRP1, INTS8, NDUFAF6	PSKH2, ATP6V0D2, SLC7A13, WWP1 RMDN1, CPNE3, MMP16, RIPK2, OSGIN2, DECR1, CALB1, PIP4P2, SLC26A7, RUNX1T1, CDH17, GEM, FSBP, VIRMA, DPY19L4, CCNE2, TP53INP1, PLEKHF2
H54	E	dup16p11.2	31951790-33002285	1000	-	TP53TG3D, TP53TG3
H61	E	dup22q11.21	20792825-21107318	314	PI4KA, SNAP29, LZTR1	CRKL, AIFM3, THAP7, P2RX6, SLC7A4
H67	E	del13q14.2	48373422-48381381	7	RB1	-
H67	E	dup15q11.2	22033739-23113538	1000	NIPA1	TUBGCP5, CYFIP1, NIPA2

Tablo 4.9Çalışmaya alınan hastalarda aCGH ile saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'ler(devamı)

HASTA KODU	CİNS.	CNV	BAŞLANGIÇ ve BİTİŞ NOKTALARI	BOYUT	MORBID OMIM GENLERİ	DİĞER OMIM GENLERİ
H71	K	del22q13.31-q13.33	45293237-50776368	5400	ACR, TRMU, ARSA, TYMP, CHKB, ATXN10, MOV10L1, SBF1, ALG12, CELSR1, MLC1, TUBGCP6, SCO2, FBLN1, PPARA,SHANK3	RABL2B, MAPK8IP2, CHKB- CPT1B, CPT1B, SYCE3, NCAPH2, MIOX, ADM2, PPP6R2, PLXNB2, MAPK11, MAPK12, HDAC10, SELENOO, PANX2, TTLL8, IL17REL, PIM3, CRELD2, ZBED4, BRD1, TAF5, TBC1D22A, CERK, GRAMD4, GTSE1, PKDREJ, MIRLET7B, MIRLET7A3, MIRLET7BHG, WNT7B, SMC1B, UPK3A

Array CGH sonuçlarını cinsiyete göre incelediğimizde 64 erkek hastanın %45,3'ünde(29 hasta) klinikle ilişkili varyant saptanmış olup 29 erkek hastada toplam 40 varyant saptanmıştır. Erkek hastalarda saptanan varyantların %37,5'i (15 varyant) patojenik, %62,5'i(25 varyant) VUS varyanttır. Kadın hastaları incelediğimizde 15 kadın hastanın %53,3'ünde(8 hasta) klinikle ilişkili varyant saptanmış olup 8 kadın hastada toplam 12 varyant tespit edilmiştir. Kadın hastalarda saptanan varyantların %33,3'ü (4 varyant) patojenik, %66,7'si (8 varyant) VUS varyanttır.

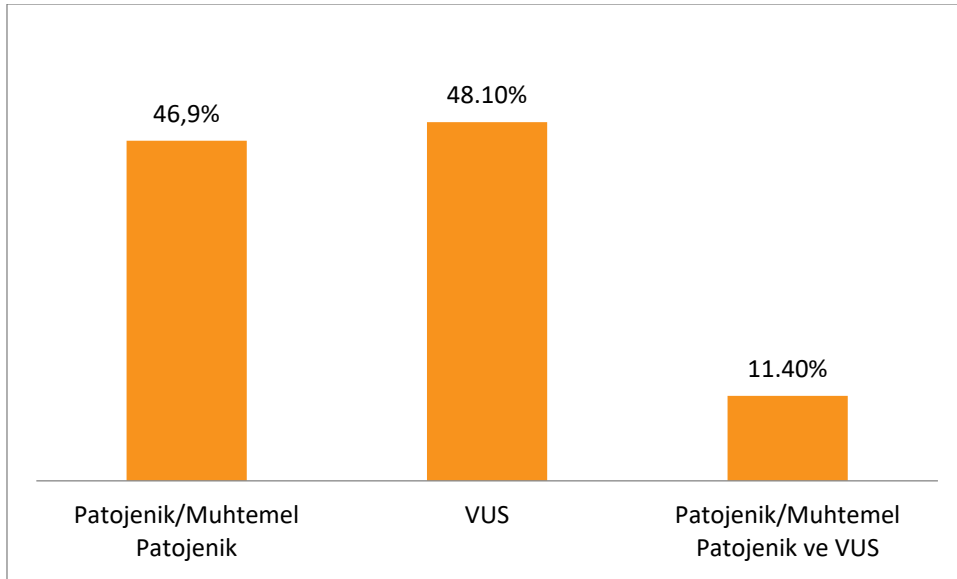
Patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanan 16 hastada bulunan ek klinik bulgular ve dismorfik bulgular tablo 4.10'da belirtilmiştir. Patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanan hastaların %56,3'ünde ek klinik bulgu bulunmakta olup bu hastaların; %25'inde epilepsi, %25'inde motor retardasyon, %12,5'inde DEHB, %6,25'inde mental retardasyon bulunmaktadır. Ayrıca patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanan hastaların %31,25'inde dismorfik bulgu bulunmaktadır.

Tablo 4.10 Patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanan hastalarda bulunan ek klinik bulgular ve dismorfik bulgular

HASTA KODU	EK KLİNİK BULGU	DİSMORFİK BULGU
H3	-	-
H18	MOTOR RETARDASYON	-
H23	SOL KOLDA HEMANJİOM	MONGOL LEKESİ,SOL EPİKANTUS,BELİRGİN OKSİPUT
H25	CAFE AU LAİT LEKELERİ	-
H27	EPİLEPSİ, CAFE AU LAİT LEKELERİ	-
H36	-	-
H37	DEHB,MOTOR RETARDASYON	-
H40	DEHB	İNCE ÜST DUDAK,ÇENE GAMZESİ,FRONTAL BOSSİNG
H42	EPİLEPSİ,MOTOR RETARDASYON	-
H43	-	-
H48	-	-
H50	MENTAL RETARDASYON,EPİLEPSİ	HİPERTELORİZM,ANTEVERT KULAKLAR,DOWNSLANTİNG PALPEBRAL FİSSUR
H54	-	-
H61	-	UZUN FİLTRUM,ÇEKİK GÖZ,GENİŞ KOLUMELLA
H67	-	YUVARLAK YÜZ
H71	MOTOR RETARDASYON,EPİLEPSİ,HİDRONEFROZ	-

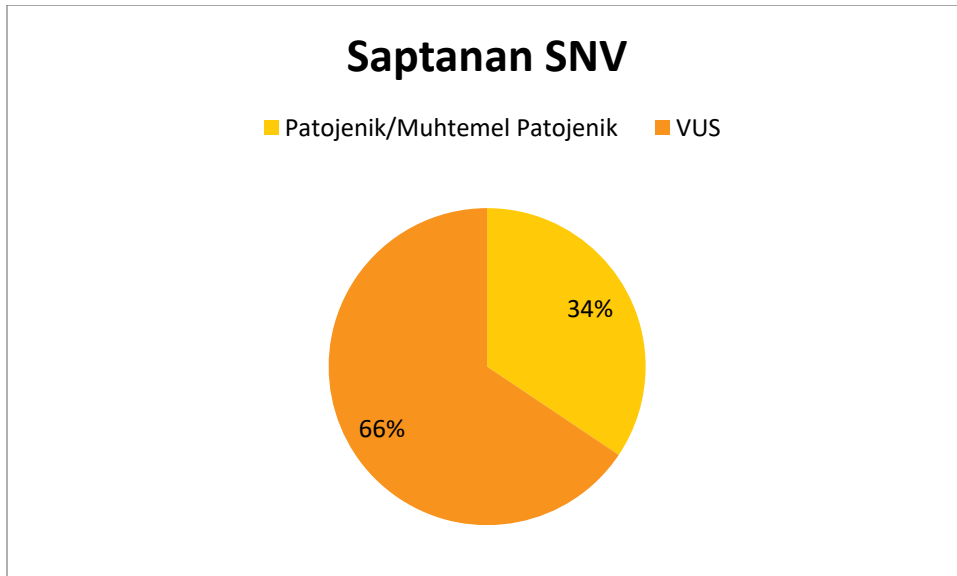
4.3.2 Yeni Nesil Dizileme Analizi Bulguları

Hastalara yapılan NGS çalışması sonucu elde edilen veriler QCI(QIAGEN Clinical Insight) Interpret veritabanında Franklin, Clinvar, Varsome gibi veritabanları kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen verilerden VUS ve patojenik/muhtemel patojenik olan veriler çalışmaya dahil edilmiştir Hastalara yapılan Yeni Nesil Dizileme çalışmaları sonucunda hastaların %84.8'inde hastanın kliniğiyle ilişkili olabilecek SNV saptanmışken, %15.2'sinde hastanın kliniği ile ilişkili olabilecek herhangi bir SNV saptanmamıştır. Çalışmaya alınan 79 hastanın 37'sinde(%46,9) patojenik/muhtemel patojenik varyant, 38'inde(%48,1) VUS varyant, 9'unda(%11,4) hem patojenik/muhtemel patojenik hem de VUS varyant saptanmıştır(Şekil 4.23).



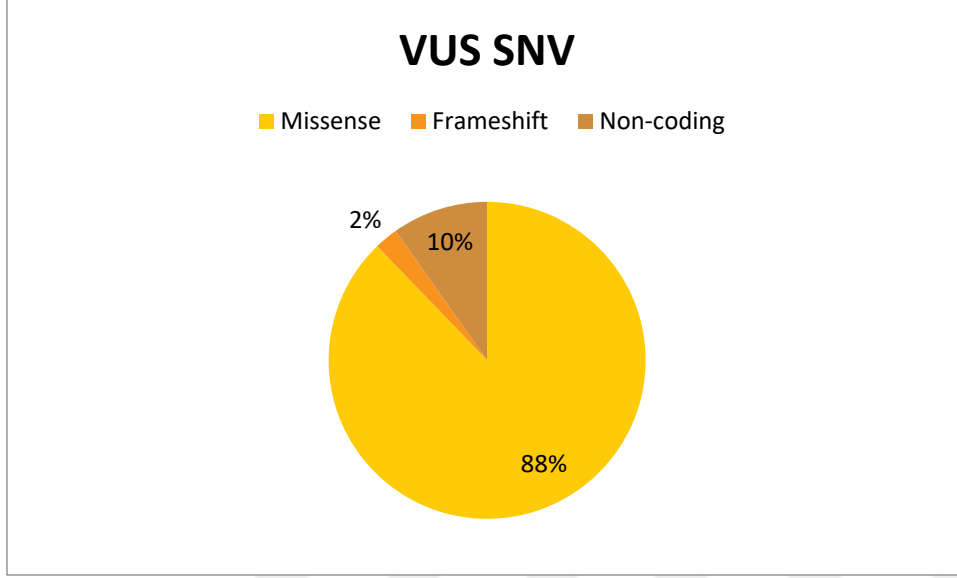
Şekil 4.23 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan SNV'lerin dağılımı

Toplam 65 hastada 125 varyant gözlenmiş olup varyant saptanan hastaların %63.3'ünde klinikle ilişkili birden fazla SNV saptanmışken %36.7'sinde klinikle ilişkili tek SNV saptanmıştır. Saptanan varyantların %34,4'ü patojenik/muhtemel patojenikken, %65,6 sı VUS olarak yorumlanmıştır. Ayrıca varyant saptanan hastaların %41,5'inde (27 hasta) sadece patojenik mutasyon, %44,6'sında (29 hasta) sadece VUS, %13,9'unda (9 hasta) hem patojenik mutasyon hem de VUS mevcuttur.



Şekil 4.24 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik ve VUS SNV'lerin oranı

Hastalarda toplamda 125 SNV saptanmış olup bunların %65,6'sı VUS olarak yorumlanmıştır. VUS varyantların 2'si (%2,4) frameshift, 72'si (%87,8) missense, 8'i(%9,8) ise noncoding varyant olup nonsense varyant gözlenmemiştir(Şekil 4.25). Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS SNV'ler tablo 4.11'de belirtilmiştir.



Şekil 4.25 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS SNV'lerin tiplerine göre dağılımı

Tablo 4.11 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS SNV'ler

HASTA KODU	CİNS.	GEN	LOKASYON	VARYANT	PROTEİN DEĞİŞİMİ	TİPİ	ZİGOSİTE/KALITIM	TRANSKRİPT
H1	E	TRRAP	7q22.1	c.10324G>A	p.V3442I	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001375524.1
H2	K	ST3GAL3	1p34.1	c.1038+836T>C	YOK	noncoding	HETEROZİGOT(OR)	NM_006279.5
H4	K	AFF4	5q31.1	c.2005C>T	p.P669S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_014423.4
H5	E	SLC6A8	Xq28	c.1646A>C	p.N549T	missense	HEMİZİGOT(XLR)	NM_005629.4
H6	E	CLTC	17q23.1	c.4139A>G	p.N1380S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_004859.4
H7	E	IQSEC2	Xp11.22	c.4418C>T	p.P1473L	missense	HEMİZİGOT(XLD)	NM_001111125.3
H7	E	SRCAP	16p11.2	c.1106C>T	p.A369V	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006662.3
H7	E	CACNA1C	12p13.33	c.332A>G	p.N111S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_000719.7
H8	E	ASXL3	18q12.1	c.5134A>G	p.T841M	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_030632.3
H9	E	FMN2	1q43	c.3215C>T	p.A1072V	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_020066.5
H11	E	SETBP1	18q12.3	c.1319G>A	p.G440E	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015559.3
H11	E	NAA15	4q31.1	c.602G>A	p.R201Q	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_057175.5
H12	E	SRCAP	16p11.2	c.9325C>T	p.P3109S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006662.3
H-12	E	MYT1L	2p25.3	c.3276+6A>G	YOK	noncoding	HETEROZİGOT(OD)	NM_001303052.2
H12-K	E	SRCAP	16p11.2	c.9325C>T	p.P3109S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006662.3
H12-K	E	MYT1L	2p25.3	c.3276+6A>G	YOK	noncoding	HETEROZİGOT(OD)	NM_001303052.2
H13	E	GABRD	1p36.33	c.664A>G	p.T222A	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_000815.5
H13	E	GABRB3	15q12	c.-741C>G	YOK	noncoding	HETEROZİGOT(OD)	NM_000814.6
H13	E	RORA	15q22.2	c.86C>T	p.T29I	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_134261.3
H13	E	CHD8	14q11.2	c.7490A>C	p.H2497P	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001170629.2
H13-K	E	GABRD	1p36.33	c.664A>G	p.T222A	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_000815.5
H13-K	E	GABRB3	15q12	c.-741C>G	YOK	noncoding	HETEROZİGOT(OD)	NM_000814.6
H13-K	E	RORA	15q22.2	c.86C>T	p.T29I	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_134261.3
H13-K	E	CHD8	14q11.2	c.7490A>C	p.H2497P	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001170629.2
H14	E	TBR1	2q24.2	c.164T>C	p.I55T	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006593.4

Tablo4.11Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS SNV'ler(devamı)

HASTA KODU	CİNS.	GEN	LOKASYON	VARYANT	PROTEİN DEĞİŞİMİ	TİPİ	ZİGOSİTE/KALITIM	TRANSKRİPT
H14	E	HDAC4	2q37.3	c.155G>A	p.R52H	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001378414.1
H14	E	DDX3X	Xp11.4	c.1025+42_1025+46delTTGTT	-	noncoding	HEMİZİGOT(XLD)	NM_001356.5
H17	E	HNRNPU	1q44	c.1958C>T	p.T653I	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_031844.3
H18	K	NBEA	13q13.3	c.2695C>T	p.L899F	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001385012.1
H19	E	CHAMP1	13q34	c.1456A>T	p.I486F	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_032436.4
H20	E	SHANK2	11q13.3-q13.4	c.4436C>A	p.P1479H	missense	HETEROZİGOT	NM_012309.5
H20	E	SETD2	3p21.31	c.1330A>G	p.T444A	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_014159.7
H20	E	KDM4B	19p13.3	c.2483G>A	p.R828H	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015015.3
H22	E	TRRAP	7q22.1	c.10324G>A	p.V3442I	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001375524.1
H22	E	CNOT3	19q13.42	c.910G>A	p.G304S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_014516.4
H23	E	TRIP12	2q36.3	c.730A>G	p.T244A	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001348323.3
H23	E	SETBP1	18q12.3	c.4575_4580dupACCGCC	p.P1528_P1529dup	frameshift	HETEROZİGOT(OD)	NM_015559.3
H23	E	CNTNAP2	7q35-q36.1	c.28G>C	p.G10R	missense	HETEROZİGOT(AR)	NM_014141.6
H25	E	SHANK2	11q13.3-q13.4	c.1294G>A	p.D432N	missense	HETEROZİGOT	NM_012309.5
H25	E	AUTS2	7q11.22	c.3776G>A	p.R1259Q	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015570.4
H27	E	STAG1	3q22.3	c.154A>G	p.K52E	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_005862.3
H28	E	CDH15	16q24.3	c.598G>C	p.E200Q	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_004933.3
H33	E	TNIK	3q26.2-q26.31	c.1934G>A	p.S645N	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_001161566.3
H37	E	SETBP1	18q12.3	c.1120G>T	p.A374S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015559.3
H37	E	KCNQ5	6q13	c.7C>A	p.R3S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_019842.4
H40	E	TMLHE	Xq28	c.722G>A	p.R241Q	missense	HEMİZİGOT(XLR)	NM_018196.4
H41	E	SRCAP	16p11.2	c.2292C>G	p.N764K	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006662.3
H42	E	TENM4	11q14.1	c.7687G>A	p.G2563S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001098816.3

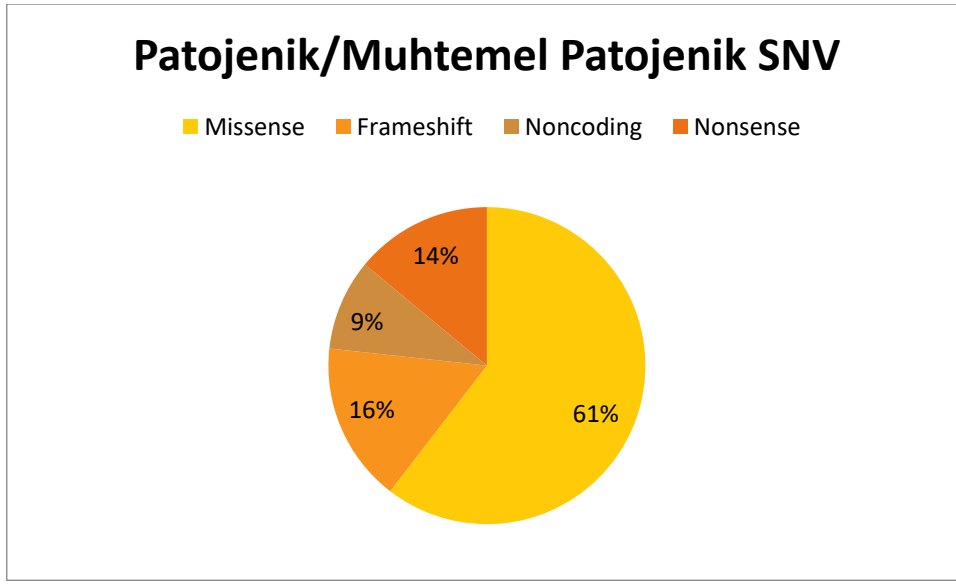
Tablo4.11Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS SNV'ler(devamı)

HASTA KODU	CİNS.	GEN	LOKASYON	VARYANT	PROTEİN DEĞİŞİMİ	TİPİ	ZİGOSİTE/KALITIM	TRANSKRİPT
H44	E	DNMT3A	2p23.3	c.209C>T	p.A70V	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_022552.5
H44	E	DYNC1H1	14q32.31	c.12496G>A	p.V4166I	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001376.5
H45	E	USP9X	Xp11.4	c.5693A>G	p.Y1898C	missense	HEMİZİGOT(XLR,XLD)	NM_001039591.3
H47	K	SRCAP	16p11.2	c.2860C>T	p.R954C	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006662.3
H47	K	NBEA	13q13.3	c.4988A>G	p.D1663G	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001385012.1
H50	K	AHDC1	1p36.11- p35.3	c.2710G>A	p.G904R	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001371928.1
H50	K	TCF20	22q13.2	c.3406C>G	p.L1136V	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001378418.1
H50	K	KMT2C	7q36.1	c.13648G>A	p.V4550M	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_170606.3
H50	K	CHD8	14q11.2	c.6865A>G	p.N2289D	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001170629.2
H50-K	K	AHDC1	1p36.11- p35.3	c.2710G>A	p.G904R	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001371928.1
H50-K	K	SETD1B	12q24.31	c.4303A>G	p.T1435A	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001353345.2
H51	K	BRWD3	Xq21.1	c.43C>G	p.L15V	missense	HETEROZİGOT(XLR)	NM_153252.5
H51	K	BRWD3	Xq21.1	c.2002G>A	p.V668I	missense	HETEROZİGOT(XLR)	NM_153252.5
H51	K	MYT1L	2p25.3	c.3074+1424C>A	YOK	non- coding	HETEROZİGOT(OD)	NM_015025.4
H53	E	GABRG2	5q34	c.341A>G	p.D114G	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_000816.3
H55	E	PTEN	10q23.31	c.409G>T	p.A137S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001304717.5
H57	E	ARX	Xp21.3	c.327_335dupGGCGGCGGC	p.A113_A115dup	frameshift	HEMİZİGOT(XLR)	NM_139058.3
H58	E	ZNF462	9q31.2	c.6509G>A	p.R2170H	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_021224.6
H58	E	SETD2	3p21.31	c.7006A>G	p.I2336V	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_014159.7
H58	E	KMT2B	19q13.12	c.2327G>T	p.R776L	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_014727.3
H58	E	CAMTA1	1p36.31- p36.23	c.1988A>G	p.E663G	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015215.4
H59	E	TRIP12	2q36.3	c.3598G>A	p.A1200T	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001348323.3

Tablo4.11Çalışmaya alınan hastalarda saptanan VUS SNV'ler(devamı)

HASTA KODU	CİNS.	GEN	LOKASYON	VARYANT	PROTEİN DEĞİŞİMİ	TİPİ	ZİGOSİTE/KALITIM	TRANSKRİPT
H59	E	CUL4B	Xq24	c.2078T>G	p.F693C	missense	HEMİZİGOT(XLR)	NM_001079872.2
H61	E	ATP7A	Xq21.1	c.1934G>A	p.R645Q	missense	HEMİZİGOT(XLR)	NM_000052.7
H62	K	CHD2	15q26.1	c.3367G>T	p.V1123L	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001271.4
H62	K	WFS1	4p16.1	c.292G>A	p.G98R	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006005.3
H62	K	MECP2	Xq28	c.785G>A	p.R262H	missense	HEMİZİGOT(XLD)	NM_001110792.2
H63	E	MECP2	Xq28	c.746G>T	p.G249V	missense	HEMİZİGOT(XLD)	NM_001110792.2
H65	E	MED13L	12q24.21	c.1214C>T	p.P405L	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015335.5
H68	E	SHANK2	11q13.3-q13.4	c.1568A>G	p.Y523C	missense	HETEROZİGOT	NM_012309.5
H68	E	KDM4B	19p13.3	c.432C>T	p.D144D	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015015.3
H68	E	HIVEP2	6q24.2	c.7199C>T	p.S2400L	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006734.4
H69	E	HIVEP2	6q24.2	c.6839A>G	p.K2280R	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006734.4

Hastalarda toplamda 125 SNV saptanmış olup bunların %34,4'ü patojenik/muhtemel patojenik olarak yorumlanmıştır. Patojenik/muhtemel patojenik varyantların 7'si(%16,3) frameshift, 26'sı(%60,5) missense, 4'ü(%9,3) noncoding ve 6'sı(%14,0) nonsense varyanttır(Şekil 4.26). Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik SNV'ler tablo4.12'de gösterilmiştir.



Şekil 4.26 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik SNV'lerin tiplerine göre dağılımı

Tablo 4.12 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik SNV'ler

HASTA KODU	Cins	GEN	LOKASYON	VARYANT	PROTEİN DEĞİŞİMİ	TİPİ	ZİGOSİTE/KALITIM	TRANSKRİPT
H1	E	HK1	10q22.1	c.75+20082A>G	-	non-coding	HETEROZİGOT(OD)	NM_001358263.1
H5	E	UNC80	2q34	c.2077_2078delGA	p.E693fs*3	frameshift	HETEROZİGOT(OR)	NM_001371986.1
H5	E	DHTKD1	10p14	c.2185G>A	p.G729R	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_018706.7
H6	E	WARS2	1p12	c.37T>G	p.W13G	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_015836.4
H6	E	BTD	3p25.1	c.38_44delinsTCC	p.Cys13Phfs*36	frameshift	HETEROZİGOT(OR)	NM_001370658.1
H8	E	SCN1A	2q24.3	c.2522C>T	p.T841M	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001165963.4
H13	E	SLC6A8	Xq28	c.1222_1224delTTC	p.F408del	frameshift	HEMİZİGOT(XLR)	NM_005629.4
H13-K	E	SLC6A8	Xq29	c.1222_1224delTTC	p.F408del	frameshift	HEMİZİGOT(XLR)	NM_005629.5
H14	E	PAH	12q23.2	c.1139C>T	p.T380M	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_000277.3
H16	E	TBL1X	Xp22.31-p22.2	c.G19A	p.A7T	missense	HEMİZİGOT(XL)	NM_005647
H17	E	EIF2B1	12q24.31	c.439C>T	p.R147*	nonsense	HETEROZİGOT(OR)	NM_001414.4
H20	E	NRXN1	2p16.3	c.772+1128_772+1129delGA	YOK	non coding	HETEROZİGOT	NM_001330078.2
H21	E	PARD3B	2q33.3	c.1511C>A	p.Ser504*	nonsense	HETEROZİGOT	NM_001302769.2
H26	E	CADM1	11q23.3	c.752A>C	p.Y251S	missense	HETEROZİGOT	NM_001301043.2
H26	E	ELP2	18q12.2	c.1465-2A>G	YOK	non-coding	HETEROZİGOT(OR)	NM_018255.4
H30	E	GCK	7p13	c.1178T>C	p.M393T	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_000162.5
H31	E	TBRG1	11q24.2	c.1A>C	p.M1L	missense	HETEROZİGOT	NM_032811.3
H34	E	CC2D1A	19p13.12	c.1264C>T	p.Q422*	nonsense	HOMOZİGOT(OR)	NM_016139.4
H34-K	K	CC2D1A	19p13.12	c.1264C>T	p.Q422*	nonsense	HOMOZİGOT(OR)	NM_016139.4
H37	E	PAH	12q23.2	c.1223G>A	p.R408Q	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_000277.3
H37	E	SOS1	2p22.1	c.755T>C	p.I252T	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_005633.4
H38	E	SLC6A8	Xq28	c.570_571delTG	p.A191fs*10	miisense	HEMİZİGOT(XLR)	NM_005629.4

Tablo4.12 Çalışmaya alınan hastalarda saptanan patojenik/muhtemel patojenik SNV'ler(devamı)

HASTA KODU	Cins	GEN	LOKASYON	VARYANT	PROTEİN DEĞİŞİMİ	TİPİ	ZİGOSİTE/KALITIM	TRANSKRİPT
H40	E	ATP13A5	3q29	c.2848+2T>C	-	non coding	HETEROZİGOT	NM_198505.4
H40	E	ABCA7	19p13.3	c.2773C>T	p.Q925*	nonsense	HETEROZİGOT(OD)	NM_019112.4
H43	E	CC2D1A	19p13.12	c.2065C>A	p.P689T	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_017721.5
H45	E	ALDH5A1	6p22.3	c.1226G>A	p.G409D	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_001080.3
H47	K	BTD	3p25.1	c.1270G>C	p.D424H	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_001370658.1
H49	E	BTD	3p25.2	c.1270G>C	p.D424H	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_001370658.2
H52	E	MN1	22q12.1	c.28C>T	p.Q10*	nonsense	HETEROZİGOT(OD)	NM_002430.3
H53	E	AP1G1	16q22.2	AP1G1	p.R15W	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_001128.6
H56	K	SLC6A1	3p25.3	c.331G>A	p.G111R	MİSSENSE	HETEROZİGOT(OD)	NM_003042.4
H57	E	PGAP2	11p15.4	c.251delT	p.V84fs*41	MİSSENSE	HETEROZİGOT(OR)	NM_014489.4
H60	E	HFE	6p22.2	c.187C>G	p.H63D	missense	HOMOZİGOT(OR)	NM_000410.4
H63	E	WARS2	1p12	c.37T>G	p.W13G	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_015836.4
H64	E	IRF2BPL	14q24.3	c.251_254del	p.S84Lfs*67	FRAMESHİFT	HETEROZİGOT(OD)	NM_024496.4
H66	E	MTOR	1p36.22	c.5395G>A	p.E1799K	MİSSENSE	HETEROZİGOT(OD)	NM_004958.4
H67	E	SLC46A1	17q11.2	c.1160_1161delAG	p.E387fs*13	FRAMESHİFT	HETEROZİGOT(OR)	NM_080669.6
H68	E	SEC23B	20p11.23	c.40C>T	p.R14W	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006363.6
H70	K	ARID1B	6q25.3	c.1539dupG	p.R514fs*104	FRAMESHİFT	HETEROZİGOT(OD)	NM_001374820.1
H70	K	BTD	3p25.1	c.1270G>C	p.D424H	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_001370658.1
H72	E	GNB	9p13.3	c.1768G>A	p.G590R	MİSSENSE	HETEROZİGOT(OD)	NM_001128227.3
H74	E	SLC6A1	3p25.3	c.1070 C>T	p.Ala357Val	MİSSENSE	HETEROZİGOT(OD)	NM_003042
H75	K	SCN8A	12q13.13	c.3149G>C	p.G1050A	MİSSENSE	HETEROZİGOT(OD)	NM_001177984.3
H75	K	CHD2	15q26.1	c.2698C>G	p.R900G	MİSSENSE	HETEROZİGOT(OD)	NM_001271.4

NGS sonuçlarını cinsiyete göre incelediğimizde 64 erkek hastanın %82,8'sinde(53 hasta) klinikle ilişkili varyant saptanmış olup 53 erkek hastada toplam 101 varyant saptanmıştır. Erkek hastalarda saptanan varyantların %35,6'sı (36 varyant) patojenik, %64,4'ü (65 varyant) VUS varyanttır. Kadın hastaları incelediğimizde 15 kadın hastanın %80,0'inde varyant saptanmış olup 12 Kadın hastada toplam 24 varyant tespit edilmiştir. Kadın hastalarda saptanan varyantların %29,2'si (7 varyant) patojenik, %70,8'i (17 varyant) VUS türündedir.

Patojenik/muhtemel patojenik SNV saptanan 37 hastada mevcut olan ek klinik bulgular ve dismorfik bulgular tablo4.13'de belirtilmiştir. Patojenik/muhtemel patojenik SNV saptanan hastaların %75'inde ek klinik bulgu bulunmakta olup bu hastaların; %23'ünde DEHB, %19,4'ünde epilepsi, %13,9'unda MMR, %13,9'unda motor retardasyon, %13,9'unda mental retardasyon bulunmaktadır. Ayrıca patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmış hastaların %53'ünde dismorfik bulgu bulunmaktadır.

Tablo 4.13 Patojenik/muhtemel patojenik SNV saptanan hastalarda bulunan ek klinik bulgular ve dismorfik bulgular

HASTA KODU	EK KLİNİK BULGU	DİSMORFİK BULGU
H1	MOTOR-MENTAL RETARDASYON(MMR), OBEZİTE	GENİŞ BURUN KÖKÜ, ANTEVERT VE BÜYÜK KULAKLAR
H5	SAĞ EZOTROPYA, İLERİ DERECE HİPERMETROPI, MOTOR RETARDASYON	-
H6	-	BELİRSİZ ANTİHELİKS
H8	MMR, EPİLEPSİ, İNMEMİŞ TESTİS, HİDRONEFROZ	BRAKİSEFALİ, KALIN ÜST DUDAK, YAPIŞIK KULAK LOBLARI, ANTEVERT BURUN DELİKLERİ, DIŞ ÇARPIKLIĞI, MİKROGNATİ
H13	MMR, EPİLEPSİ	MİKROSEFALİ, KONVEKS BURUN KEMER, ÇARPIK DIŞLER
H13-K	MMR, EPİLEPSİ	MİKROSEFALİ, KONVEKS BURUN KEMER, ÇARPIK DIŞLER
H14	MOTOR RETARDASYON	-
H16	DEHB	-
H17	-	-
H20	İNEK SÜTÜ ALERJİSİ	-
H26	TİK BOZUKLUĞU	CAFE AU LAİT LEKELERİ
H30	MODY	-
H31	-	-
H34	MENTAL RETARDASYON, EPİLEPSİ	MİKROSEFALİ, MİKROGNATİ, TIRNAK HİPOPLAZİSİ
H34-K	MENTAL RETARDASYON, EPİLEPSİ	MİKROSEFALİ, MİKROGNATİ
H37	DEHB, MOTOR RETARDASYON	-
H38	DEHB, ALINDA HEMANJİOM	-
H43	-	-
H45	DEHB	-
H47	-	HİPERTELORİZM

Tablo 4.13. Patojenik/muhtemel patojenik SNV saptanan hastalarda bulunan ek klinik bulgular ve dismorfik bulgular(devamı)

HASTA KODU	EK KLİNİK BULGU	DİSMORFİK BULGU
H49	-	-
H52	-	KÜÇÜK YÜZ,HİPOTELORİZM,MONGOL LEKESİ,MİKRODONTİ
H53	MENTAL RETARDASYON	YUVARLAK YÜZ,DÜZ SAÇ,MİKRORETROGNATİ,KONVEKS BURUN KEMERİ
H56	EPİLEPSİ	-
H57	CAFE AU LAİT LEKESİ	-
H60	-	SİNOFRİS,BULBÖZ BURUN,ÇEKİK GÖZ
H63	-	-
H64	MOTOR RETARDASYON	-
H66	MENTAL RETARDASYON,HİPOTİROİDİ	MAKROSEFALİ,DAR TORAKS
H67	-	YUVARLAK YÜZ
H68	DEHB	UZUN FİLTRUM
H70	MMR	KABA YÜZ,DÜŞÜK YERLEŞİMLİ KULAKLAR,KALIN KAŞLAR
H72	DEHB,HİPOTİROİDİ	BRAKİSEFALİ,DOLGUN KULAK MEMESİ,MİKROPENİS,HİPOPLASTİK MEME UCU
H74	MENTAL RETARDASYON	HİPERTELORİZM,UZUN FİLTRUM,MAKROSEFALİ,MAKROPENİS
H75	EPİLEPSİ,MOTOR RETARDASYON	-

NGS sonucunda 37 hastada patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmış olup 24 hasta(%30,4) WES/CES gibi geniş kapsamlı yeni nesil dizileme analizi testleriyle tanı alabilmiştir. WES yapılan 20 hastanın 9'u(%45) CES yapılan 59 hastanın ise 15'i(25,4) tanı alabilmiş olup bu hastalarda saptanan genler ve OMIM'de ilişkilendirildiği hastalıklar tablo 4.14'de belirtilmiştir. Diğer 13 hastada saptanan genler otozomal resesif kalıtılan hastalıklarla ilişkilendirilmiş olup hastalarda bu genlerdeki varyantlar heterozigot olarak saptanmış olduğu için hastalar bu hastalıklar açısından taşıyıcı olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.14 NGS ile tanı alabilen hastalarda saptanan genler ve bu genlerin OMIM’de ilişkilendirildiği hastalıklar

HASTA KODU	GEN	OMIM HASTALIĞI	Literatür Verisi	SFARİgene
H1	HK1	Beyin ve görme anomalisi ile seyreden nörogelişimsel gerilik(OD)	+	-
H8	SCN1A	Gelişimsel ve Epileptik Ensefalopati 6B(OD)	+	+
H13	SLC6A8	Serebral Kreatin Eksikliği Sendromu 1(XLR)	+	+
H13-K	SLC6A8	Serebral Kreatin Eksikliği Sendromu 1(XLR)	+	+
H16	TBL1X	Konjenital Hipotiroidi 8(XL)	+	+
H20	NRXN1	Şizofreniye Yatkınlık	+	+
H21	PARD3B	-	+	+
H26	CADM1	-	+	+
H31	TBRG1	-	-	-
H34	CC2D1A	Entelektüel Gelişimsel Gerilik 3(OR)	+	+
H34-K	CC2D1A	Entelektüel Gelişimsel Gerilik 3(OR)	+	+
H37	SOS1	Noonan Sendromu 4	+	-
H38	SLC6A8	Serebral Kreatin Eksikliği Sendromu 1(XLR)	+	+
H40	ATP13A5	-	-	-
H40	ABCA7	Alzheimer'a Yatkınlık 9(OD)	+	+
H52	MN1	CEBALID Sendromu(OD)	+	-
H53	AP1G1	Usmani-Rizauddin Sendromu(OD)	+	-
H56	SLC6A1	Miyoklonik-Atonik Epilepsi(OD)	+	+
H64	IRF2BPL	Anormal hareketler,konuşma kaybı ve epilepsi ile seyreden nörogelişimsel bozukluk ve gerileme(OD)	+	+
H66	MTOR	Smith-Kingsmore Sendromu(OD)	+	+
H68	SEC23B	Cowden Sendromu 7(OD)	+	-
H70	ARID1B	Coffin-Siris Sendromu 1(OD)	+	+
H72	GNE	Siyalüri(OD)	+	-
H74	SLC6A1	Miyoklonik-Atonik Epilepsi(OD)	+	+
H75	SCN8A	Gelişimsel ve Epileptik Ensefalopati 13(OD)	+	+
H75	CHD2	Gelişimsel ve Epileptik Ensefalopati 94(OD)	+	+

Array CGH ile NGS verileri beraber değerlendirildiğinde 16 hasta(%20,2) aCGH ile tanı alabilmiş olup aCGH ile tanı alamayan 22 hasta(%35) NGS ile tanı alabilmiştir. 24 hasta(%30,4) NGS ile tanı alabilmiş olup NGS ile tanı alamayan 14 hasta(%20) Acgh ile tanı alabilmişlerdir. Bu durumda çalışmamız sonucunda hastalara sadece aCGH yapıldığında tanısal verim %20,2; sadece NGS yapıldığında tanısal verim %30,4 iken iken hastalara aCGH ve NGS analizi birlikte yapıldığında tanısal verim %48,1'e yükselmektedir. 6 hasta(%7,6) ise Acgh ve NGS ile tanı alamamıştır. Ayrıca 2 hastamız(H37,H40) aCGH ile tanı alabilmişken bu hastaların NGS analizinde de kliniği açıklayan patojenik mutasyon saptanmıştır.

Hastalara yapılan NGS analizi sonucunda saptanan 125 varyantın 21 tanesi daha öncede literatürde bildirilmemiş olup bu varyantlarla ilgili popülasyon veritabanlarında ve diğer veritabanlarda herhangi bir bildiri bulunmamaktadır. Bu varyanlar novel olarak değerlendirilmiş olup tablo 4.15'te belirtilmiştir

Tablo 4.15 Çalışmaya alınan hastalarda NGS ile saptanan novel varyantlar

HASTA KODU	GEN	LOKASYON	VARYANT	PROTEİN DEĞİŞİMİ	TİPİ	ZİGOSİTE/KALITIM	TRANSKRİPT	ANALİZ SONUCU
H2	ST3GAL3	1p34.1	c.1038+836T>C	YOK	noncoding	HETEROZİGOT(OR)	NM_006279.5	VUS
H7	CACNA1C	12p13.33	c.332A>G	p.N111S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_000719.7	VUS
H8	ASXL3	18q12.1	c.5134A>G	p.T841M	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_030632.3	VUS
H11	SETBP1	18q12.3	c.1319G>A	p.G440E	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015559.3	VUS
H19	CHAMP1	13q34	c.1456A>T	p.I486F	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_032436.4	VUS
H23	SETBP1	18q12.3	c.4575_4580dupACCGCC	p.P1528_P1529dup	frameshift	HETEROZİGOT(OD)	NM_015559.3	VUS
H23	CNTNAP2	7q35-q36.1	c.28G>C	p.G10R	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_014141.6	VUS
H27	STAG1	3q22.3	c.154A>G	p.K52E	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_005862.3	VUS
H33	TNIK	3q26.2-q26.31	c.1934G>A	p.S645N	missense	HETEROZİGOT(OR)	NM_001161566.3	VUS
H37	SETBP1	18q12.3	c.1120G>T	p.A374S	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015559.3	VUS
H41	SRCAP	16p11.2	c.2292C>G	p.N764K	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006662.3	VUS
H45	USP9X	Xp11.4	c.5693A>G	p.Y1898C	missense	HEMİZİGOT(XLR)	NM_001039591.3	VUS
H51	BRWD3	Xq21.1	c.2002G>A	p.V668I	missense	HETEROZİGOT(XLR)	NM_153252.5	VUS
H51	MYT1L	2p25.3	c.3074+1424C>A	YOK	noncoding	HETEROZİGOT(OD)	NM_015025.4	VUS
H52	MN1	22q12.1	c.28C>T	p.Q10*	nonsense	HETEROZİGOT(OD)	NM_002430.3	LP
H58	CAMTA1	1p36.31-p36.23	c.1988A>G	p.E663G	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_015215.4	VUS
H59	CUL4B	Xq24	c.2078T>G	p.F693C	missense	HEMİZİGOT(XLR)	NM_001079872.2	VUS
H64	IRF2BPL	14q24.3	c.251_254del	p.S84Lfs*67	frameshift	HETEROZİGOT(OD)	NM_024496.4	LP
H67	SLC46A1	17q11.2	c.1160_1161delAG	p.E387fs*13	frameshift	HETEROZİGOT(OR)	NM_080669.6	LP
H68	HIVEP2	6q24.2	c.7199C>T	p.S2400L	missense	HETEROZİGOT(OD)	NM_006734.4	VUS

Tablo4.15.Çalışmaya alınan hastalarda NGS ile saptanan novel varyantlar

HASTA KODU	GEN	LOKASYON	VARYANT	PROTEİN DEĞİŞİMİ	TİPİ	ZİGOSİTE/KALITIM	TRANSKRİPT	ANALİZ SONUCU
H70	ARID1B	6q25.3	c.1539dupG	p.R514fs*104	frameshift	HETEROZİGOT(OD)	NM_001374820.1	LP

5.TARTIŞMA

Otizm spektrum bozukluğu, yaşamın erken dönemlerinde başlayan sosyal iletişimde bozulma, tekrarlayan duyuşal ve motor davranışlar, ilgi alanlarında kısıtlılık, dil ve konuşma bozuklukları ve duyuşal davranışların gelişiminde gerilik ile seyreden nörogelişimsel bir bozukluktur(145). OSB'nin yaygınlığı giderek artmakta olup dünya genelinde %1 olarak tahmin edilmekle birlikte ABD'deki 8 yaşındaki çocukların %2,3'ünü yetişkinlerinse %2,2'sini etkilemekte olup erkek/kadın oranı yaklaşık 4-5:1'dir(146). Otizm görölme sıklığının artışında otizm farkındalığı ve tanınmasındaki iyileşme, sağlık hizmetlerine kolay ulaşım, coğrafi farklılıklar, zihinsel yetersizliğin eşlik etmediğı hafif düzey olguların tanıya dâhil edilmesi ve daha erken yaşlarda tanı konulması gibi faktörler rol oynamaktadır(146).

Yapılan tüm çalışmalara rağmen otizimli bireylerin sadece %20-25'inde etyolojik faktör tespit edilebilmiş olsa da yapılan geniş çaplı ikiz çalışmalarıyla otizmin hem genetik hem de çevresel etyolojisi ile ilgili anlamlı sonuçlara varılmıştır. İkiz çalışmaları OSB'nin kalıtılabilirliği ile ilgili güçlü kanıtlar ortaya konmuş olup bu oran literatürde %64-91 olarak bildirilmektedir(147). Yapılan çalışmalarda OSB'nin konkordansı tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine kıyasla anlamlı derecede daha yüksek saptanmış olup OSB konkordansı tek yumurta ikizlerinde %45 iken çift yumurta ikizlerinde %16 olarak bildirilmiştir(148). Benzer şekilde OSB'li bireylerin kardeşleriyle ve birinci derece akrabalarıyla yapılan çalışmalarda OSB'nin kalıtsallık oranı %85 olarak bildirilmiştir(149). OSB özellikleri taşıyan nadir genetik sendromlarda meydana gelen spesifik genetik değişimler OSB'nin kalıtılabilirliğini destekleyen ilk kanıtlardan olup bunlar OSB'nin patogeneğinde genetik varyasyonların daha geniş çapta araştırılmasının önünü açmışlardır(150). OSB'li bireylerin yaklaşık %5-15'inde tek gen hastalıkları tespit edilmekte olup bunlar arasında en sık bilinenleri; Frajil X, Rett Sendromu, Tuberosklerozis, Williams Sendromu ve Angelman Sendromu gibi sendromik bozukluklardır(151). Ancak OSB'nin

multifaktöriyel poligenik bir hastalık olması nedeniyle OSB'nin genetik etyolojisini aydınlatmak için daha geniş çaplı genetik çalışmalar yapılmış ve OSB'nin birçok gen ve lokusu içeren son derece karmaşık bir genetik mimariyle karakterize edildiği gösterilmiş olup OSB'li bireylerin en çok %40'ında fenotipi açıklayacak genetik mutasyon saptanmıştır(152).

Kromozomal mikroarray ve yeni nesil dizileme tekniklerinin geliştirilmesi ile OSB patogenezinde potansiyel rol oynayan birçok gen ve lokus belirlenebilmiş olup bu metodlar önceden yapılan konvansiyonel kromozom analizi ve tek gen dizileme gibi yöntemlerle kıyaslandığında genomda çok daha büyük alanları tek seferde analiz ederek OSB'de genetik tanı şansını yüksek oranda arttırmaktadırlar(153).

Çalışmamızın amacı Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine başvuran ve Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon(aCGH) ile Yeni Nesil Dizileme analizleri yapılmış hastaların verileri retrospektif olarak yeniden analiz edilip elde edilen verileri literatür verileriyle karşılaştırılarak hem literatüre katkıda bulunmayı hem de bu iki farklı genetik tanı yöntemini birlikte kullanarak elde edilen verilerin otizmin genetik tanısı verimi üzerine etkilerini ortaya koymayı hedeflemekteyiz.

5.1.aCGH Verilerinin Değerlendirilmesi

Mikroarray tabanlı bir test olan aCGH konvansiyonel kromozom analizi ve FISH ile saptanamayacak submikroskobik(<5 mb) boyutlardaki CNV'lerin saptanmasını sağlamakta olup aCGH ISCA(The International Standards of Cytogenomics Arrays) tarafından entelektüel yetersizlik, nörogelişimsel gerilik ve sendromik olmayan OSB tanılı hastalarda uygulanması gereken birinci basamak genetik test olarak bildirilmiştir(149). Yüksek çözünürlüklü ve yüksek verimli genom taraması sunan mikrodizi platformlarının erişilebilir hale

gelmesiyle, OSB'li bireylerde genom segmentlerinin duplikasyonu veya delesyonu tanımlanmış olup CNV'ler insan genomunda yaygın olarak bulunmakta ve biyolojik çeşitlilikte rol almaktadırlar. Genomda ortalama 3 milyon genetik varyant bulunduğu tahmin edilmekte olup bunların %95'i popülasyonda %5'ten fazla görülen yaygın varyantlar, %4'ü popülasyonun %1-4'ünde bulunur geri kalan %1'i ise tek bir ailede veya bireyde görülen nadir varyantları oluşturmaktadır(154). Nadir varyantların kalıtsal olabildiği gibi de novo da olabileceği bildirilmiştir(155). Nadir CNV'ler genellikle gen ekspresyonunu etkileyerek patojenik bir fenotipe neden olurlar ve doz duyarlı genleri veya onların düzenleyici elementlerini kapsayan delesyonlar veya duplikasyonlar, entelektüel yetersizlik, OSB, DEHB, epilepsi, şizofreni ve bipolar bozukluklar gibi nörogelişimsel ve psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir(156). Nörotipik popülasyonlar ile OSB'li kohortları karşılaştıran geniş çaplı çalışmalarda, OSB'li bireylerde kontrollerden daha yüksek CNV oranları gösterilmiş olup genel sıklık %8 ile %21 arasında değişirken, tespit edilen CNV'lerin %10'u klinik olarak anlamlı kabul edilmiştir(157). Ayrıca, OSB'li bireylerdeki CNV'lerin genel popülasyonda görülenlere kıyasla daha büyük olduğu (ortalama boyut 2.3 Mb) ve bu CNV'lerin bilinen entelektüel yetersizlik ve/veya OSB genlerini, patojenik veya klinik olarak anlamlı diğer genleri, beyinde eksprese edilen, özellikle postsinaptik bölgede yer alan ve kromatin yeniden şekillenmesi/transkripsiyon düzenlenmesini kontrol eden gen gruplarını içerdiği tespit edilmiştir(158). OSB'li bireylerin yaklaşık %10'unda de novo CNV saptanmakta ve bu bireylerin nörotipik kardeşlerinde de novo CNV saptanma oranı %1-2 olup bu oran genel popülasyondakinden daha yüksektir(159). Pinto ve arkadaşları Otizm Genom Projesi verilerini kullanarak nadir CNV'leri incelediği bir çalışmada de novo CNV'lerin OSB riskini yaklaşık %4,7 arttırdığını bildirmiş olup herediter CNV'lerin OSB'li bireylerdeki prevalansını %3 olarak bildirmişlerdir(160). Literatürde bilinen OSB risk genlerini (NLGN3, NLGN4X, SHANK3, ASTN2, PTCHD1, DDX53, NRXN1, CNTN4, CNTNAP2, OXTR, PTCHD1, NLGN1 ve SHANK1,...) içeren de novo ve herediter olabilen birçok CNV bildirilmiş olup bunlardan en sık bildirilenleri 16p11.2 delesyon ve duplikasyonu(%0,8), 15q11-13 duplikasyonu(%0,5), 22q11 delesyon ve

duplikasyonu(%0,5), 7q11.23 duplikasyonu(%0,2), 1q21.1 delesyon ve duplikasyonudur(%0,2)(160). Bunlar OSB ile en sık ilişkilendirilen bölgeler olup 2007’de kurulan Otizm Gen Veritabanı(Autism Gene Database-AutDB) ve SFARI gene veritabanında OSB ile ilişkili 4544 CNV bildirilmektedir(161).

OSB’de saptanan CNV’ler genel olarak yaygın ve nadir varyantlar olarak iki başlık altında incelenmekte olup bu varyantların OSB üzerine etkisine dair iki farklı görüş bulunmaktadır(162). İlk görüş yaygın varyantların tek başına zayıf klinik etki yaratarak diğer nesillere de aktarılabildiği ve bu şekilde OSB’nin kalıtılabilirliğine neredeyse %50 gibi önemli ölçüde katkıda bulunduğu yönündedir(162). Bu görüş nadir varyantların ağır klinik etkilere neden olarak diğer nesillere aktarılamayacağı ve nadir varyantların popülasyonda anlamlı bir frekansa ulaşamayacağını da savunmaktadır(162). İkinci görüş ise nadir varyantların daha ağır bir fenotipe yol açarak OSB üzerinde daha yüksek risk faktörleri oluşturmaya dayanmaktadır(163).

Bu görüşlerle ilgili birçok çalışma yapılmış olup bunların en geniş çaplısı 2020’de Grove ve arkadaşları tarafından 18.381 OSB’li birey ve 27.969 nörotipik birey arasında yapılan genom çapında bağlantılı meta analiz(genome-wide association meta-analysis-GWAS) çalışması olup bu çalışmada yaygın varyantların ailede 2 veya daha fazla OSB’li birey bulunan ailelerde ailede tek OSB vakası bulunan ailelere göre anlamlı bir şekilde daha fazla(yaklaşık %60) görüldüğü tespit edilmiştir(164). Ayrıca yine aynı çalışmada nadir CNV’lerin OSB’li bireylerde nörotipik bireylerden daha sık(%7,6 vs.%4) görüldüğü tespit edilmiştir(164). Bu çalışmada aCGH’nin OSB hastalarındaki tanısal verimi %15-20 olarak belirtilmiş olup OSB’li hastalarda en sık 1q21, 2p16.3, 3p25-26, 7q36.2, 15q11-13, 16p11.2, 22q11.2 bölgelerinde CNV saptanmıştır ve bu CNV’ler OSB etyolojisinde rol oynadığı bilinen PCDH10, CNTNAP2, CNTN3, MAPK3, MAZ, DOC2A, SEZ6L2, NLGN1, NLGN3, NLGN4, DPP10, ASTN1, BZRAP1, NRXN1, CNTN4, DPP6, UBE3A, OR4M2, OR4N4, HIRIP3, IL6 ve

SHANK3 genlerini barındırmaktadırlar(164). Ayrıca bu çalışmada OSB'li bireylerdeki de novo mutasyon sıklığı %10 olarak belirtilmiştir(165).

Cucinotta ve arkadaşları tarafından 2023 'te yapılan ve 329 OSB'li bireyin dahil edildiği bir çalışmada hastaların %15,2'sinde patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanmış olup saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerin %42,9'u delesyon %57,1'i duplikasyondur(166). Aynı çalışmada %27,1 oranında VUS CNV saptanmış olup saptanan VUS CNV'lerin%47,2'si delesyon %52,1'i duplikasyondur(165). Ayrıca bu çalışmada patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanan hastaların %26'sında ek klinik bulgu saptanmıştır(166).

Türkiye'de 2022'de Ayaz ve arkadaşları tarafından yapılan OSB'nin yanısıra entelektüel yetersizlik ve çoklu konjenital anomalili 445 olgunun dahil edildiği çift merkezli bir çalışmada hastaların %13,6'sında patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmış olup saptanan varyantların %46'sı duplikasyonken %54'ü delesyondur(167). Bu çalışmada 22q11.21 bölgesi en yaygın patojenik CNV bölgesi olarak tespit edilmiştir(167).

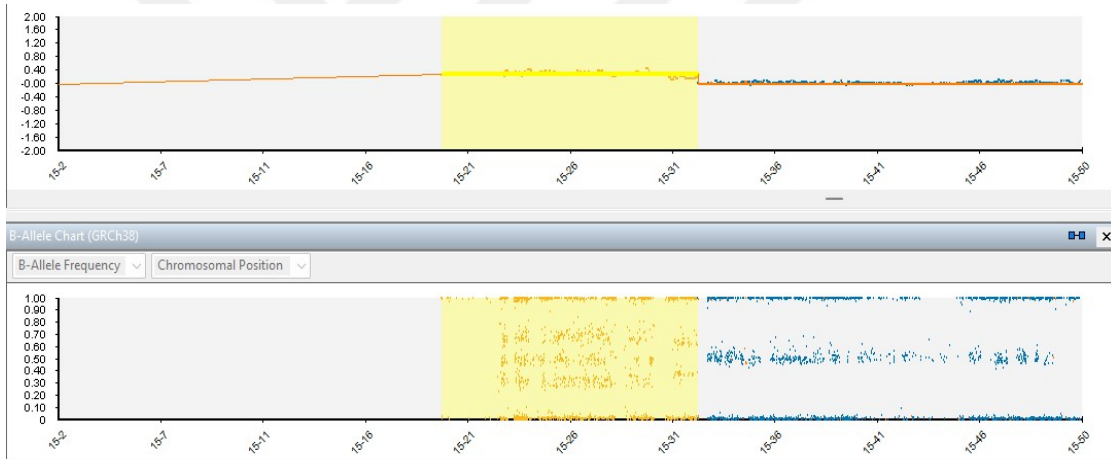
Lee ve arkadaşları tarafından 2023'te yapılan ve 80 OSB'li bireyin dahil edildiği bir çalışmada hastaların %33,8'inde patojenik/muhtemel patojenik, %16,3'ünde VUS CNV saptanmıştır(166). Aynı çalışmada erkeklerin %62,5'inde kadınların %53,1'inde klinikle ilişkili CNV saptanmış olup erkeklerin %37,5'inde kadınların ise %40,6'sında patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanmıştır(166). Bu çalışmada saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerin %42'si duplikasyonken %52'si delesyondur(168).

Bizim çalışmamızda hastaların %46,8'inde kliniği açıklayabilecek VUS,patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanmış olup %53.2'sinde herhangi bir CNV saptanmamıştır. CNV gözlenen hastaların %70,3'ünde tek varyant,

%29,7'inde 1'den fazla varyant tespit edilmiştir. Çalışmaya alınan 79 hastanın 16'sında(%20,2) hastanın kliniğini açıklayacak patojenik/muhtemel patojenik varyant, 27'sinde(%34,2) hastanın kliniği ile ilişkili VUS varyant, 6'sında(%7,2) hem patojenik/muhtemel patojenik hem de VUS varyant saptanmıştır. Toplamda 37 hastada 52 varyant saptanmış olup saptanan varyantların %36,5'i patojenik/muhtemel patojenik, %63,5'i VUS olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca varyant saptanan hastaların hastaların %27,0'sinde sadece patojenik mutasyon, %56,8'inde sadece VUS, %16,2'sinde hem patojenik mutasyon hem de VUS mevcuttur. Saptanan VUS varyantların %39,4'ü delesyon olup %60,6'sı duplikasyondur. Saptanan VUS varyantların boyutu en küçüğü 5kB en büyüğü 1500kB olmak üzere ortalama 216.81 kB'dır. Saptanan VUS varyantların %25'i herhangi bir gen içermemektedir. Hastalarımızda saptadığımız VUS varyantlar 1,2,3,4,5,6,7,10,12,13,15,16 ve X kromozomlarında yer almakta olup en çok VUS CNV saptanan varyant kromozom %12 oranıyla 1 numaralı kromozom olmuştur. Saptanan patojenik/muhtemel patojenik varyantların %42,1'i delesyon %57,9'u duplikasyondur. Saptanan patojenik/muhtemel patojenik varyantların boyutu en küçüğü 7kB en büyüğü 12.200kB olmak üzere ortalama 1879.52kB'dır. Saptanan patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerin %5.3'ü herhangi bir gen içermemektedir. Hastalarımızda saptadığımız patojenik/muhtemel patojenik CNV'ler 2,3,7,8,13,14,15,16,17,22 ve X kromozomlarında yer almakta olup en çok CNV saptanan kromozom %22 oranıyla X kromozomu olmuştur. Literatürde OSB'li bireylerde en sık saptanan CNV'ler 16p11.2(%0,8),15q11-13(%0,5) ve 22q(%0,5) bölgelerindeki delesyonlar ve duplikasyonlardır(168). Bizim çalışmamızda en sık patojenik/muhtemel patojenik CNV X kromozomunda tespit edilmiş olup bu veri literatür verileriyle çakışmaktadır. Bunun nedeni hasta sayımızın kısıtlı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızda klinik olarak en anlamlı saptadığımız CNV H42'de saptanan 15q11.1-q13.3 bölgesinde yer alan 12,2 Mb'lık heterozigot duplikasyon olup bu varyant Decipher veritabanında entelektüel yetersizlik,otizm,motor retardasyon ve epilepsi için Clinvar'da ise entelektüel yetersizlik için patojenik olarak

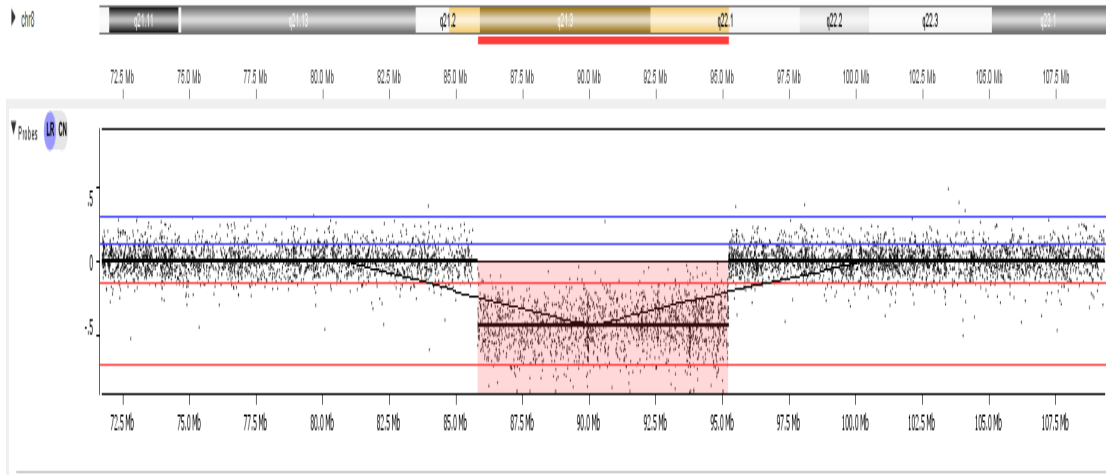
bildirilmiştir. Bu varyant literatürde çokça bildirilmiş olup geniş fenotipik özelliklerle ilişkilendirilmiştir(169,170,171). Ayrıca bu bölge SFARI gene veritabanında 68 OSB'li bireyde bildirilmiştir. Bu bölge OMIM'de daha önce bir hastalıkla ilişkilendirilmiş NIPA1, MKRN3, MAGEL2, NDN, SNRPN, UBE3A, GABRB3, GABRA5, OCA2, HERC2, NSMCE3, FAN1, TRPM1 genlerini içermekte olup NIPA1, MKRN3, MAGEL2, NDN genleri akson büyümesi ve sinaptik bağlantı yolları üzerinde görev yaptığı için hastaların neredeyse hepsi nörogelişimsel olarak etkilenmektedirler(172). Bu duplikasyon daha önce en sık olarak; gelişme geriliği, konuşma geriliği, motor retardasyon, entelektüel yetersizlik, epilepsi ve OSB fenotipleriyle ilişkilendirilmiş olup bizim hastamızda literatür verileriyle uyumlu şekilde OSB kliniğine ek olarak, epilepsi,yaygın gelişme geriliği ve motor retardasyon bulunmaktadır.



Şekil 5.1 H42'de saptanan 15q11.1-q13.3 bölgesinde yer alan 12,2 Mb'lık heterozigot duplikasyonun aCGH görüntüsü

Çalışmamızda saptadığımız bir diğer CNV H50'de saptanan 8q21.2-q22.1 bölgesinde yer alan 9,4 Mb'lık heterozigot delesyon olup bu CNV hastanın otizm tanılı kız kardeşinde saptanmamıştır. Bu varyant decipher veritabanında bilişsel bozukluk için patojenik olarak bildirilmiş olup clinvar veritabanı bu varyant için bir fenotip belirtilmeyerek patojenik olarak değerlendirmiştir. Bu varyant literatürde mikroftalmi, anoftalmi, koloboma ve lakrimal gland tümörleri

gibi farklı fenotiplere sahip olan hastalarda bildirilmiş olsa da OSB ile ilişkilendirilmemiştir(172,173). Ayrıca SFARI gene veritabanında bu varyant ile ilgili bildiri bulunmamaktadır. Bu bölge OMIM’de daha önce bir hastalıkla ilişkilendirilmiş CNGB3, NBN, OTUD6B ,CIBAR1, TMEM67, PDP1, RAD54B, ESRP1, INTS8, NDUFAF6 genlerini içermekte olup OTUD6B, INTS8 genleri beyinde eksprese olarak sinaptik bağlantı yolları ve santral sinir sisteminde hücre proliferasyonu üzerinde düzenleyici etki yapmaktadır. Bizim hastamızda OSB kliniğine ek olarak entelektüel yetersizlik, epilepsi, hipertelorizm, antevert kulaklar ve downslanting palpebral fissur bulunmaktadır.

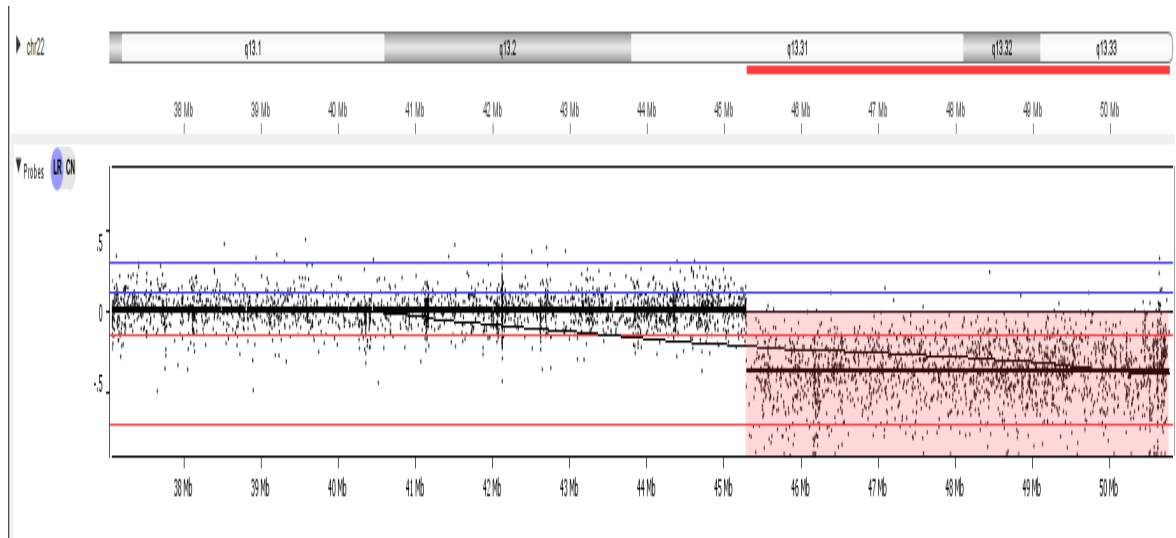


Şekil 5.2 H50’de saptanan 8q21.2-q22.1 bölgesinde yer alan 9,4 Mb’lık heterozigot delesyonun aCGH görüntüsü

H18’de saptanan 3,4 Mb’lık 17p11.2 heterozigot duplikasyonu Potocki-Lupski Sendromu olarak bilinmekte olup prevalansı 1/25.000’dir(174). Bu varyant literatürde daha bildirilmiş olup geniş fenotipik özelliklerle ilişkilendirilmiştir ve bu hastaların yaklaşık %60’ında OSB görüldüğü bildirilmiştir(174,175). Ayrıca bu bölge SFARI gene veritabanında 64 OSB’li bireyde bildirilmiştir. Bu bölge OMIM’de daha önce bir hastalıkla ilişkilendirilmiş TNFRSF13B, FLCN, RAI1,ATPAF2, MYO15A,B9D1, ALDH3A2,AKAP10 genlerini içermekte olup klinikten RAI1 geni sorumlu tutulmaktadır. Bu duplikasyon daha önce en sık olarak; gelişme geriliği, motor retardasyon,

entelektüel yetersizlik ve OSB fenotipleriyle ilişkilendirilmiş olup bizim hastamızda literatür verileriyle uyumlu şekilde OSB kliniğine ek olarak, yaygın gelişme geriliği ve motor retardasyon bulunmaktadır.

H71’de saptanan 5,4 Mb’lık 22q13.31-q13.33 heterozigot delesyonu Phalen-McDermid Sendromu olarak bilinmekte olup prevalansı net olarak bilinmemektedir(176). Bu varyant literatürde daha önce bildirilmiş olup geniş fenotipik özelliklerle ilişkilendirilmiştir ve bu hastaların yaklaşık %60’ında OSB görüldüğü bildirilmiştir(176). Bu bölge OMIM’de daha önce bir hastalıkla ilişkilendirilmiş ACR, TRMU, ARSA, TYMP, CHKB, ATXN10, MOV10L1, SBF1, ALG12, CELSR1, MLC1, TUBGCP6, SCO2, FBLN1, PPARA, SHANK3 genlerini içermekte olup SHANK3 geni beyinde büyük çapta eksprese edilmekte olup eksitator nöronların postsinaptik bölgesinde protein sentezinde rol almaktadır(177). Bu duplikasyon daha önce en sık olarak; gelişme geriliği, konuşma geriliği, hareket bozuklukları, epilepsi, motor retardasyon, entelektüel yetersizlik ve OSB fenotipleriyle ilişkilendirilmiş olup bizim hastamızda literatür verileriyle uyumlu şekilde OSB kliniğine ek olarak, yaygın gelişme geriliği ve motor retardasyon ve epilepsi bulunmaktadır.



Şekil 5.3 H71’de saptanan 5,4 Mb’lık 22q13.31-q13.33 heterozigot delesyonunun aCGH görüntüsü

Çalışmamızda aCGH'in OSB'li hastalardaki tanısal verimi %20,2 olarak tespit edilmiş olup bu oran literatürdeki %15-20 oranıyla uyumaktadır. Hastaların %34,2'sinde VUS CNV tespit edilmiş olup bu hastalara segregasyon analizi yapılamadığı için bu varyantların patojenitesi net olarak değerlendirilememiştir.

Ayrıca çalışmamızda saptadığımız 8q21.2-q22.1 delesyonu literatürde daha önce OSB ile ilişkilendirilmemiş olup bu bölgeyi OSB için aday bölge olarak önermekteyiz. 8q21.2-q22.1 bölgesinde yer alan INST8 geni beyinde eksprese edilerek piramidal hücrelerdeki internöronal migrasyonun düzenlenmesinde rol almaktadır(178). INST8 geni literatürde daha önce OSB ile ilişkilendirilmemiş olup bu geni OSB için aday gen olarak önermekteyiz.

5.2.Yeni Nesil Dizileme Analizi Verilerinin Değerlendirilmesi

Milyonlarca DNA fragmanının aynı anda dizilenmesini mümkün kılan Yeni Nesil Dizileme(Next Generation Sequencing-NGS) yöntemi aynı anda tek bir dizileme reaksiyonu gerçekleştirebilen birinci jenerasyon sekanslama yöntemi olan Sanger sekanslama yöntemine göre SNV tespitindeki verimi olağanüstü bir şekilde arttırmakla birlikte NGS teknolojilerinin ortaya çıkışı, OSB genetiği çalışmalarında önemli bir ilerleme sağlamış olup WES/CES ve WGS yöntemleri aracılığıyla yaygın varyantların yanı sıra nadir varyantlar da tespit edilmeye başlamıştır(179). 2004-2006 yılları arasında ikinci jenerasyon dizileme yöntemleri olan kısa okumalı yeni nesil dizileme yöntemleri(short-read NGS) kullanıma girmiş olup yeni nanoteknoloji prensipleri sayesinde milyonlarca DNA fragmanı aynı anda sekanslanabilmeye başlamıştır(179). Yüksek verimlilik ve tek molekül DNA sekanslama tüm NGS yöntemlerinin ortak özelliği olup short-read NGS teknolojileri tek seferde 250-800 bp'lik klonal olarak amplifiye edilmiş birbirine paralel milyonlarca DNA fragmanını büyük ölçekli sekanslayabilmektedir(179). Short-read NGS'nin sanger sekanslamaya göre birçok üstün özelliği olup bunlar:

- Yüksek verimlilik
- Daha fazla veri çıkışı
- Aynı anda milyonlarca DNA fragmanını dizileyebilme
- Daha düşük maliyet
- Daha yüksek hassasiyet ve kapsam
- Zaman tasarrufudur(179)

Bu short read NGS teknolojileri kısa okumalardan oluşan büyük ölçekli paralel dizileme işlemlerini gerçekleştirmelerine rağmen; kısa okuma özelliğine sahip olmaları nedeniyle uzun DNA fragmanları üzerindeki verilerin tekrar birleştirilmesi gerekir ve bu da yapısal varyasyonlar ve düşük kompleksite bölgeleri gibi zorlukları beraberinde getirmektedir(179). Short-read NGS teknolojilerinin bu dezavantajlarından kurtulmak için geliştirilen üçüncü jenerasyon sekanslama yöntemleri olan uzun okumalı yeni nesil dizileme yöntemleri(long-read NGS) 10kb'ye kadar okuma uzunlukları elde edebilmekte olup bu teknolojiler short-read NGS teknolojilerinde karşılaşılan genom çapındaki tekrar bölgeleri ve yapısal varyant tespiti gibi sorunları çözebilmektedir(180). İkinci jenerasyon sekanslama yöntemleriyle karşılaştırıldığında üçüncü jenerasyon sekanslama yöntemlerinde minimal kütüphane hazırlık aşamaları ve parçalanmamış DNA moleküllerinin real-time doğrudan hedeflenmesi yer almakta olup üçüncü jenerasyon sekanslama teknolojilerinin en büyük dezavantajı bu işlemler için yüksek molekül ağırlıklı DNA üretimi yapılmasıdır(180). Üçüncü jenerasyon sekanslama yöntemlerinin bir diğer dezavantajı ise veritabanlarının yeterli olmaması nedeniyle analiz doğruluğu olup bu durumun yazılım analizindeki ilerlemelerle çözülebileceği düşünülmektedir(180). Long-read NGS teknolojileri ile karşılaştırıldığında short-read NGS teknolojilerinin kısıtlılıkları arasında; uzun işlem süreleri, montaj zorlukları, haplotip fazlaması, transkript izoformlarının ve yapısal varyantların tespitindeki güçlükler sayılabilmektedir(181). Short-read NGS teknolojilerinin long-read NGS teknolojilerine göre en büyük avantajı ise birçok analiz programının short-read NGS verilerine göre tasarlanmış olup bu durum long-read NGS analizinde hata oranının daha yüksek olmasına(yaklaşık %2) neden olmaktadır(181). Long-read NGS'nin short read NGS'ye göre en önemli avantajları arasında; polimorfik genlerin daha iyi fazlanması, yapısal

yeniden düzenlenmelerin doğru tespiti ve karakterizasyonu, eş zamanlı veri toplama ve zaman tasarrufu sayılabilmektedir(182). Ayrıca long-read NGS'de native DNA kullanıldığından short-read NGS'deki DNA amplifikasyonu sürecinde ortaya çıkan hatalardan korunulmaktadır(182).

Long-read NGS teknolojilerinin tüm avantajlarına rağmen daha kolay ulaşılabilir olması, daha düşük maliyetli olması ve analiz kolaylığı nedeniyle short-read NGS yöntemi SNV tespitinde hala en sık kullanılan yöntem olup WES/CES ve WGS yöntemleri aracılığıyla yaygın varyantların yanı sıra nadir varyantlar da tespit edilmeye başlamıştır(115). WES yüksek çıktılı bir teknoloji olup, insan genomunun protein kodlayan bölgelerinin(ekzonların) analizini sağlar ve bilinen 20.000'den fazla genin kodlama bölgelerini eşzamanlı analiz etme olanağı tanır(116). WES günümüzde insan genomunun protein kodlayan kısmını incelemek için en yaygın kullanılan teknolojik yaklaşımdır. WES insan genomunun sadece %2'sini kapsamakla birlikte, bu küçük genom kısmı bile herhangi bir hastalığa neden olduğu bilinen mutasyonların yaklaşık %85'ini içermektedir(116). Yapılan geniş çaplı çalışmalarda OSB vakalarında WES'in tanısal verimi %30-43 olarak belirtilmiştir(116). WGS insan genomunda protein kodlayan ve kodlamayan(ekzon ve intronların) bölgelerin analizine olanak vermekte olup WGS'nin WES'e üstünlükleri:

- Tüm DNA'yı dizilemesi
- Büyük kromozomal değişiklikleri tespit etmesi (delesyon, duplikasyon, translokasyon)
- Hastalık oluşturan de novo varyantları tanımlamada daha etkili olmasıdır.

Tüm avantajlarına rağmen ulaşma zorluğu, fazla maliyetli olması ve analiz zorluğu nedeniyle WGS OSB'li bireylerdeki SNV tespitinde kullanılan yaygın bir yöntem olmayıp OSB'li bireylerde SNV tespitinde kullanılan en yaygın yöntemler WES/CES yöntemleridir.

Genel bir yaklaşım olarak OSB'li bireylerde ilk basamak testler olarak konvansiyonel kromozom analizi, frajil X testi ve kromozomal mikroarray testi kullanılmaktadır(183). Ancak tüm bu testler birlikte uygulandığında dahi OSB'li bir hastada genetik etyoloji saptama oranı en fazla %24 olarak bildirilmiştir(184). Bu nedenle yapılan son çalışmalar geleneksel yöntemin başarısız olduğu hastalarda genom çapında OSB'ye neden olabilecek varyantların tespit edilebilmesi açısından ekzom sekanslamayı hem maliyet hem de tanı koyulabilirlik açısından verimli bir tanısal araç olarak önermekte olup ekzom sekanslamanın OSB tanısında ilk tercih test olmasını savunmaktadırlar(185,186).

Soden ve arkadaşlarının geleneksel yöntemlerle tanı konulamamış 119 OSB'li bireyle yaptığı bir çalışmada hastaların %45'ine WES ile tanı koyabilmiş olup bu hastalara yapılan testleri maliyet açısından da incelemişlerdir. Bu çalışmada hastalara daha önceden yapılan ve sonuç alınamayan testlerin maliyeti hasta başına 6400 dolar olarak belirtilirken sonrasında yapılan ekzom sekanslamanın hasta başına maliyeti 3300 dolar olarak belirtilmiştir(186).

Tammimies ve arkadaşlarının 258 OSB tanılı birey üzerinde yaptığı bir çalışmada hastaların hepsine kromozomal mikroarray ve WES analizi yapılmıştır. Çalışma sonucunda hastaların %17,2'sine kromozomal mikroarray, %29'una WES ile tanı koyulabilmişken mikroarray ile tanı konulamayan hastalara WES analizi yapıldığında tanı oranının %39'a yükseldiğini belirtmişlerdir(187).

Lee ve arkadaşlarının 298 OSB'li birey ve sağlıklı ebeveynleriyle yaptıkları bir çalışmada probandin kendisine ve ebeveynlerine CES analizi yapılmış olup sadece probanda CES yapıldığında tanısal verim %25 iken trio CES yapıldığında tanısal verimin %39'a yükseldiğini tespit etmişlerdir(188).

Stefanski ve arkadaşlarının 103 OSB tanılı birey üzerinde yaptığı bir çalışmada hastaların bir kısmına hedef gen paneli sekanslama bir kısmına ise CES analizi yapılmış olup hedef gen sekanslama yapılan hastalarda tanı oranı %17,2 iken CES yapılan hastalarda tanı oranının %27,2'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir(189).

Sriastava ve arkadaşlarının geniş kohortlar üzerinde yapılmış 30 çalışmayı derlediği bir meta analiz çalışma OSB tanısında ekzom sekanslamanın veriminin aCGH 'den neredeyse %15-20 daha fazla olduğunu ortaya koymuş olup bu çalışmada tanısız verim aCGH'de %15-20, ekzom sekanslamada ise %30-43 olarak belirtilmiştir(190).

Dias ve arkadaşlarının 74 hasta üzerinde yaptığı trio ekzom sekanslama ve genom sekanslama çalışmasının sonucunda ekzom sekanslamanın tanısız verimi %57 olarak tespit edilmişken genom sekanslamanın tanısız verimi %69 olarak tespit edilmiş olup ekzom sekanslama ile sonuçlanamayan hastaların %28'ine genom sekanslama ile tanı konabilmiştir. Bu çalışmada önce ekzom sekanslama yapıp ardından tanı konulamayan hastalara genom sekanslama uygulanması durumunda hasta başına maliyet 4976 dolar olarak belirtilmişken birinci basamak test olarak genom sekanslama uygulandığında hasta başına maliyet 7062 dolar olarak belirtilmiştir(191).

OSB'ye neden olan genlerin tespiti açısından birçok farklı kohortlar üzerinde çalışmalar yapılmış olup olarak 2012'de O'Roak ve arkadaşlarının küçük bir kohort üzerinde yaptığı çalışmada SCN2A,CHD8 ve KATNAL2 genlerinin OSB ile ilişkili olduğu belirtilmiş olup çalışma yapılan kohortun genişliği arttıkça tespit edilen gen sayısı da artmıştır ve yapılan tüm bu çalışmalar sonucunda neredeyse 1000'den fazla genin OSB oluşumuna katkıda bulunduğu tespit edilmiştir(192,193,194). Günümüzde OSB ile ilişkili genlerin bulunduğu iki önemli veritabanı bulunmakta olup bunlar SFARI gene ve AutDB veritabanlarıdır ve

SFARI gene’de 1364 AutDB’de ise 1128 OSB’ye özgü gen bulunmaktadır(195). Bu veritabanlarında OSB’li bireylerde en sık saptanan 20 gen sırasıyla; MECP2, SYNGAP1,SHANK3,CHD2,DYRK1A,NRXN1,CHD8,TCF4,STXBP1,GRIN2B,PTEN,ADNP,DDX3X,POGZ,AUTS2,GABRB3,CACNA1C,UBE3A,TRIO ve WAC genleri olarak tespit edilmiş olup bu genlerin fonksiyonlarına göre sınıflandırılması tablo5.1. belirtilmiştir(196).

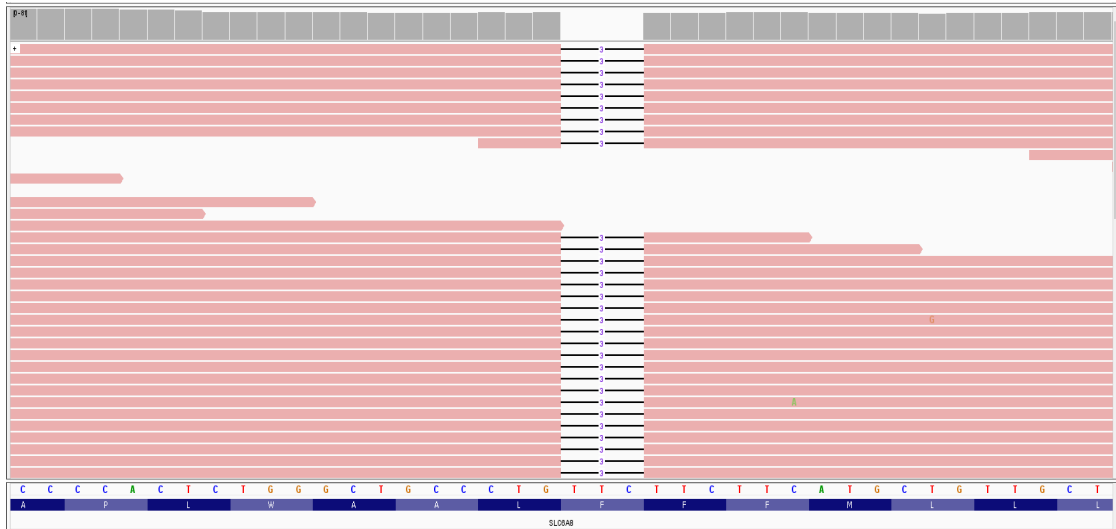
Tablo 5.1 OSB’li bireylerde en sık saptanan genler ve bunların fonksiyonları(196)

FONKSİYON	GEN ADI
Hücre bağlantı organizasyonu	ADNP,UBE3A,GABRB3,MECP2,NRXN1,SHANK3,GRIN2B
Sinaps organizasyonu	ADNP,UBE3A,GABRB3,MECP2,NRXN1,SHANK3,GRIN2B
Kimyasal sinaptik ileti	ADNP,STXBP1,GABRB3,MECP2,NRXN1,SHANK3,GRIN2B
Sinaptik toplanma	ADNP,GABRB3,MECP2,MECP2,NRXN1,SHANK3
Sosyal davranış	CHD8,MECP2,NRXN1,SHANK3
Nöron farklılaşması	TRIO,ADNP,UBE3A,STXBP1,AUTS2,MECP2,NRXN1,TCF4,SHANK3
Nöron projeksiyon gelişimi	TRIO,ADNP,UBE3A,STXBP1,AUTS2,MECP2,NRXN1,SHANK3
Hücre morfogenezi ve farklılaşması	TRIO,ADNP,UBE3A,STXBP1,AUTS2,NRXN1,SHANK3

OSB’li bireylerle nörotipik bireyler arasında yapılan birçok genom çapında bağlantılı meta analiz(genome-wide association meta-analysis-GWAS) çalışmasında saptanan varyantlardan missense,frameshift ve nonsense varyantların sinonim ve noncoding varyantlara göre OSB gelişimine çok daha büyük katkı sağladığı tespit edilmiş olup OSB’li bireylerde frameshift ve nonsense varyant oranı nörotipik bireylerden yaklaşık %16 daha fazla olarak tespit edilmiştir(197).

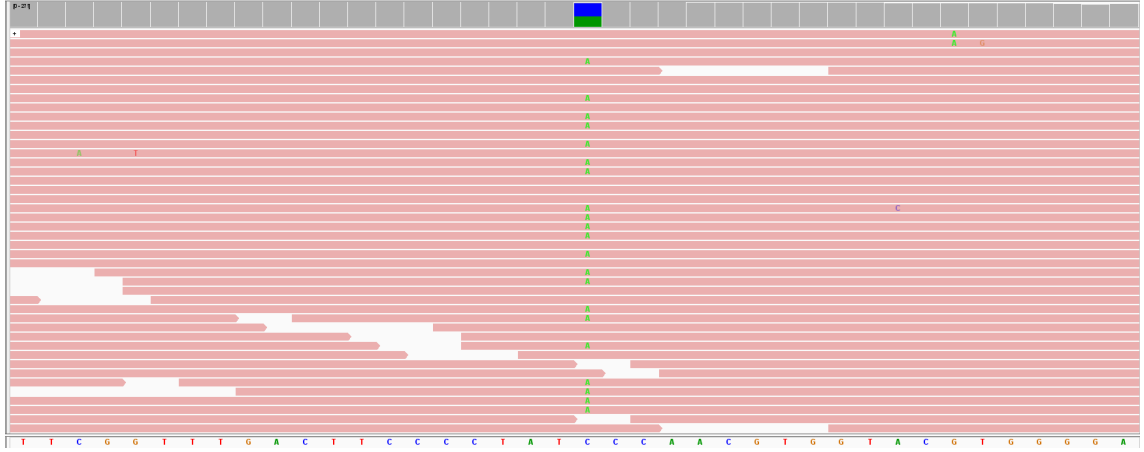
Çalışmamızda hastalara yapılan Yeni Nesil Dizileme çalışmaları sonucunda hastaların %84.8'inde hastanın kliniğiyle ilişkili olabilecek SNV saptanmışken, %15.2'sinde hastanın kliniği ile ilişkili olabilecek herhangi bir SNV saptanmamıştır. Çalışmaya alınan 79 hastanın 37'sinde(%46,9) patojenik/muhtemel patojenik varyant, 38'inde(%48,1) VUS varyant, 9'unda(%11,4) hem patojenik/muhtemel patojenik hem de VUS varyant saptanmıştır. Hastalarda toplamda 125 SNV saptanmış olup bunların %65,6'sı VUS olarak yorumlanmıştır. VUS varyantların 2'si (%2,4) frameshift, 72'si (%87,8) missense, 8'i(%9,8) ise noncoding varyant olup nonsense varyant gözlenmemiştir. Saptanan SNV'lerin %34,4'ü patojenik/muhtemel patojenik olarak yorumlanmıştır. Patojenik/muhtemel patojenik varyantların 7'si(%16,3) frameshift, 26'sı(%60,5) missense, 4'ü(%9,3) noncoding ve 6'sı(%14,0) nonsense varyanttır. NGS sonucunda 37 hastada HK1,UNC80,DHTKD1,WARS2,BTD,SCN1A,SLC6A8,PAH,TBL1X,EIF2B1,NRXN1,PARD3B,CADM1,ELP2,GCK,TBRG1,CC2D1A,PAH,ATP13A5,ABCA7,ALDH5A1,MN1,AP1G1,SLC6A1,PGAP2,HFE,,IRF2BPL,MTOR,SLC46A1,SEC23B,ARID1B,GNE,SCN8A,CHD2 genlerinde patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanmış olup en sık varyant saptanan genler SLC6A8(H13,H13-K,H38) ve CC2D1A(H34,H34-K,H43) genleri olmuştur.

SLC6A8 geni OMIM'de X'e bağlı resesif kalıtılan serebral kreatin eksikliği sendromu 1 ile ilişkilendirilmiş olup prevalansının nörogelişimsel geriliğe sahip bireylerde %2,6 olduğu tahmin edilmektedir(197). Bu gen SFARI gene veritabanında kategori 2'de yer almakta olup bu gende patojenik varyanta sahip olan hastaların %41'inde OSB görülmektedir(198). Bu hastalarda OSB'ye ek olarak yaygın gelişme geriliği,epilepsi,hareket bozuklukları ve diğer davranış anomalileri görülebilmektedir(198). Bizim çalışmamızda 3 hastada(H13,H13-K,H38) SLC6A8 geninde patojenik mutasyon saptanmış olup literatür ile uyumlu olarak H13 ile H13-K'da OSB'ye MMR ve epilepsi eşlik etmekteyken H38'de OSB'ye DEHB eşlik etmektedir.



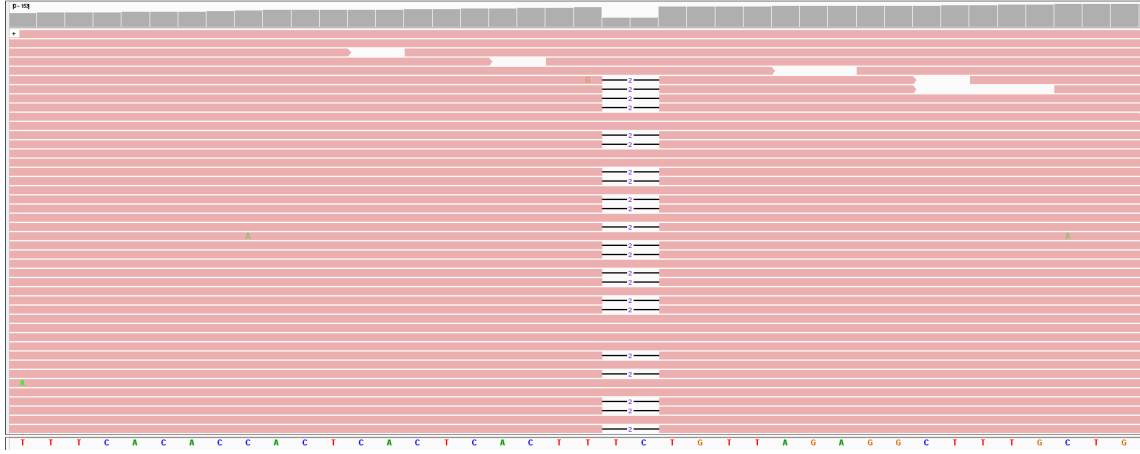
Şekil 5.4 H13 ve H13-K da saptanan SLC6A8 c.1222_1224delTTC; p.F408del varyantının IGV görüntüsü

CC2D1A geni OMIM'de otozomal resesif kalıtmıllı entelektüel gelişimsel gerilik 3 ile ilişkilendirilmiş olup bu genle ilişkili bozukluklar literatürde sadece 39 hastada bildirilmiştir(199). Bu gen SFARI gene veritabanında kategori 2'de yer almakta olup bu hastalarda OSB'ye ek olarak entelektüel disabilite ve motor retardasyon görülebilmektedir. Bizim çalışmamızda 3 hastada(H34,H34-K,H43) CC2D1A geninde patojenik mutasyon saptanmış olup bu mutasyonlar kardeş olan H34 ile H34-K'da homozigot H43'te ise heterozigot olarak tespit edilmiştir. H34 ile H34-K'nın anne ve babası 1.derece kuzen olup bu hastalarda literatürle uyumlu olarak OSB'ye entelektüel yetersizlik eşlik etmektedir. Bu gen OR bir hastalık ile ilişkili olup H43 bu hastalık açısından taşıyıcı olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 5.5 H43'te saptanan CC2D1A c.2065C>A; p.P689T varyantının IGV görüntüsü

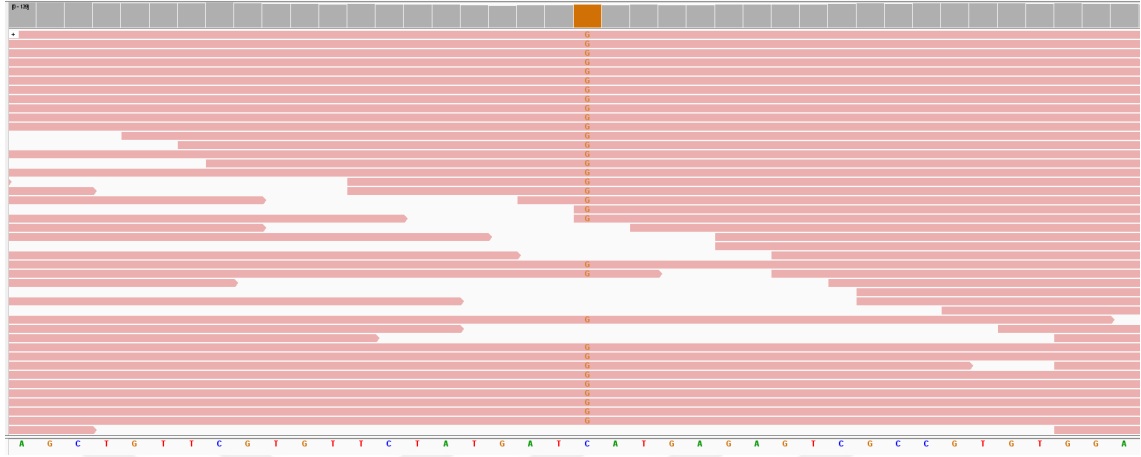
NRXN1 geni OMIM'de şizofreniye yatkınlık ve otozomal resesif kalıtılan Pitt-Hopkins Benzeri Sendrom 2 ile ilişkilendirilmiş olup bu gen OSB'li bireylerde en sık saptanan genlerden biridir. NRXN1 sinaptik bağlantı oluşumunda ve diferansiasyonunda rol alan nöroksinleri kodlamakta olup OSB gibi birçok nöropsikiyatrik hastalığın patofizyolojisinde rol almaktadır(200). NRXN1 SFARI gene veritabanında kategori 1'de yer almakta olup hastalarda OSB'ye ek olarak entelektüel yetersizlik, gelişme geriliği ve konuşma geriliği görülebilmektedir(200). Bizim çalışmamızda 1 hastada(H20) NRXN1 geninde patojenik mutasyon saptanmış olup literatürle uyumlu olarak H20'de OSB'ye konuşma geriliği de eşlik etmektedir.



Şekil 5.6 H20’de saptanan NRXN1 c.772+1128_772+1129delGA varyantının IGV görüntüsü

H60’da HFE geninde homozigot patojenik varyant saptanmış olup aCGH çalışmasında da OSB ile ilişkili herhangi bir varyant saptanamamıştır. OMIM’de otozomal resesif hemakromatozis ile ilişkilendirilmiş prevalansı Avrupa popülasyonunda 1/500 olarak bildirilmiştir(201). Bu gen SFARI gene veritabanında bulunmamakta olup literatürde direkt olarak OSB ile ilişkilendirildiğine dair bir veri bulunmamaktadır. Ancak 148 OSB tanılı ve 97 nörotipik bireyle yapılan bir çalışmada beyin gelişiminde, nörotransmitter sentezinde, nöronal miyelinizasyonda ve mitokondriyal fonksiyonlarda demir metabolizmasının önemli rol oynadığı ve demir metabolizmasındaki bozuklukların OSB patogenezinde rol oynayabileceği bildirilmiştir(202). Çalışmamızda H60’ın OSB dışında ek bir klinik bulgusu bulunmayıp laboratuvar bulgularında demir, demir bağlama, ferritin ve transferrin saturasyonları normal saptanmıştır. Ancak hemakromatoziste demir birikimine bağlı yüklenme bulgularının(karaciğer yetmezliği, diyabetes mellitus, artrit ...vs) genellikle 40 yaşından sonra ortaya çıktığı bildirilmekle beraber HFE geninin ekstraselüler demir transferinde rol oynayan moleküller üzerindeki düzenleyici etkisi nedeniyle HFE geninin mutasyonlarında kan demir düzeyleri normal olsa bile vücutta demir metabolizmasının bozulması nedeniyle bilişsel fonksiyonların bozulabileceği bildirilmektedir(226). Bu verilere dayanarak ve H60’daki OSB kliniğini açıklayacak başka bir varyant saptanamaması nedeniyle hastamızda

olan homozigot HFE mutasyonunun OSB kliniğine katkı sağladığını düşünmekte olup hastanın bu açıdan da takip edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.



Şekil 5.7 H60'da saptanan HFE c.187C>G; p.H63D varyantının IGV görüntüsü

Çalışmamızda H21,H26,H31 ve H40'da saptanan sırasıyla PARD3B,CADM1,TBRG1 VE ATP13A5 genleri OMIM'de herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiş olup bu genlerin OSB ile ilişkisine dair bazı literatür verileri bulunmaktadır.

PARD3B geni hücrede mikrotübüllerin düzenlenmesinde rol oynayarak subselüler farklılaşma ve gelişim sürecinde rol oynamaktadır(204). Yapılan çalışmalarda PARD3B'nin özellikle ön beyin ve hipokampüste eksprese edildiğini göstermiş olup bu genin disfonksiyonunda öğrenmenin bozulup stereotipik hareketlerin arttığını gösterilmiştir(204). PARD3B geni SFARI gene veritabanında kategori 2'de yer almakta olup PARD3B geni literatürde OSB'li bireylerde bildirilmiştir(204). Çalışmamızda H21'de PARD3B geninde c.1511C>A; p.Ser504* varyantı heterozigot olarak saptanmış olup bu varyant veritabanlarında muhtemel patojenik olarak yer almaktadır. Hastamızda OSB'ye ek olarak DEHB kliniği bulunmakta olup literatürde PARD3B geni ile DEHB

arasında bir ilişki bildirilmemiştir. Hastamızda OSB'ye neden olabilecek başka bir varyant saptanmamış olması, literatürde daha önce PARD3B geninin OSB ile ilişkili olduğunun bildirilmiş olması ve PARD3B geninin fonksiyonel özellikleri nedeniyle hastamızda saptadığımız bu varyantın OSB ve DEHB kliniğini açıklayabileceğini düşünmekteyiz.

CADM1 geni immunoglobulin ailesine ait bir membran glikoproteini olan SynCAM molekülünün sentezinde rol oynar(205). Bu molekül hipokampal nöronlarda sinaptik yarıkların her iki tarafında yer alarak sinaps oluşumunun düzenlenmesinde rol oynamakta olup yapılan çalışmalarda bu yolun disfonksiyonlarında öğrenmenin bozulduğu ve stereotipik hareketlerin meydana geldiği gösterilmiştir(205). CADM1 geni SFARI gene veritabanında kategori 2'de yer almaktadır. Çalışmamızda H26'de CADM1 geninde c.752A>C; p.Y251S varyantı heterozigot olarak saptanmış olup bu varyant veritabanlarında muhtemel patojenik olarak yer almaktadır. Hastamızda OSB'ye ek olarak tik bozukluğu bulunmakta olup literatürde CADM1 genindeki fonksiyon bozukluklarının stereotipik hareketlere neden olduğu bildirilmiştir(205). Hastamızda aCGH'de ve CES analizinde OSB'ye neden olabilecek VUS varyantlar saptanmış olmakla birlikte hastaya segregasyon analizi yapılamadığı için bu varyantların patojenitesi net olarak değerlendirilememiştir. Ancak mevcut şartlarda CADM1 geninin literatürde daha önce OSB ve stereotipik hareketler ile ilişkilendirilmiş olması ve bu genin fonksiyonel özellikleri göz önüne alındığında hastamızda saptadığımız bu varyantın OSB ve tik bozukluğu kliniğini açıklayabileceğini düşünmekteyiz.

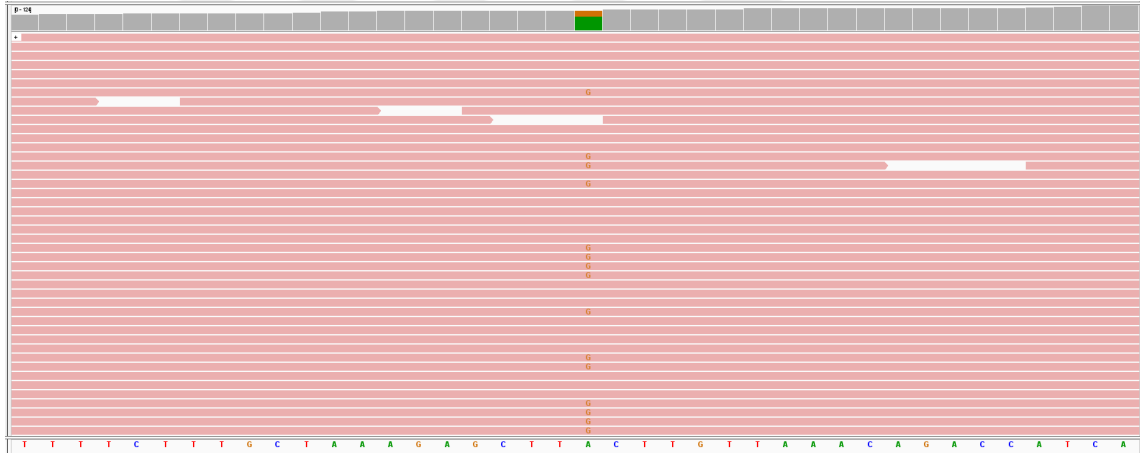


Şekil 5.8. H26’da saptanan CADM1 c.752A>C; p.Y251S varyantının IGV görüntüsü

TBRG1 geni ile ilgili yapılan çalışmalarda bu genin serebellar korteks ve bazal ganglionlarda farklı şekillerde eksprese edildiği tespit edilmiş olup hayvan deneylerinde anormal davranışa sahip domuzlarda TBRG1 ekspresyonun arttığı tespit edilmiştir(206). Bu gen literatürde nonsendromik entelektüel yetersizliğe sahip iki kardeşte bildirilmiş olup SFARI gene veritabanında yer almamaktadır ve literatürde daha önce OSB ile ilişkilendirildiğine dair bir veri bulunmamaktadır(206). Bizim çalışmamızda H31’de TBRG1 geninde c.1A>C varyantı saptanmış olup hastamızda OSB kliniğini açıklayacak başka varyant tespit edilmemiştir. Beyinde eksprese edilmesi ve hastamızdaki OSB kliniğini açıklayabilmesi nedeniyle TBRG1’i OSB için aday gen olarak önermekteyiz.

ATP13A5 hücre zarı boyunca inorganik katyonları ve diğer substratları taşıyan P-tipi ATPaz ailesinin 5 üyesinden(ATP13A1-A5) biri olup yapılan çalışmalarda ATP13A4 ile ATP13A5’in beyinde bu ailenin diğer üyelerine göre çok daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir(207). Bu gen daha önce literatürde herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiş olup SFARI gene veritabanında yer almamaktadır. Ancak 30 OSB’li bireyin dahil edildiği bir çalışmada bir hastada bu genin homoloğu olan ATP13A4 geninde varyant saptandığı bildirilmiş olup bu çalışmada P-tipi ATPaz’ların kalsiyum

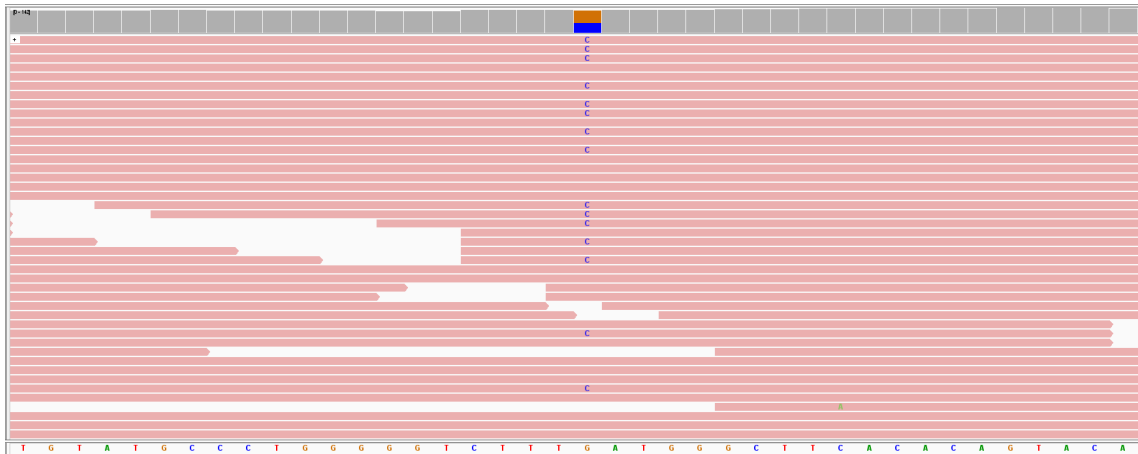
taşınmada rol aldığı ve bu nedenle disfonksiyonlarında bilişsel fonksiyonlarda bozulma olabileceği ifade edilmektedir(208). Yine aynı çalışmada konuşma bozukluğu olan 7 yaşındaki bir kız hastada ve DEHB tanılı bir hastada ATP13A4 geninde varyant bildirilmiştir(208). Bizim çalışmamızda H40'da ATP13A5 geninde c.2848+2T>C varyantı tespit edilmiş olup aynı hastada ABCA7 geninde de patojenik varyant tespit edilmiştir. ABCA7 geni SFARI gene veritabanında kategori 2'de yer almakta olup literatürde daha önce OSB'li bireylerde bildirilmiştir(209). ABCA7 genindeki patojenik varyant H40'daki OSB kliniğini açıklayabilmekte olup hastamızda OSB'ye ek olarak ağır konuşma bozukluğu ve DEHB de bulunmaktadır. Bu nedenle bu hastada saptadığımız varyant direkt olarak OSB ile ilişkili olmasa da hastadaki ek klinik bulguları da göz önünde bulundurduğumuzda ATP13A5 genindeki varyantın hastanın kliniğine katkı sağladığını düşünmekteyiz.



Şekil 5.9 H40'da saptanan ATP13A5 c.2848+2T>C varyantının IGV görüntüsü

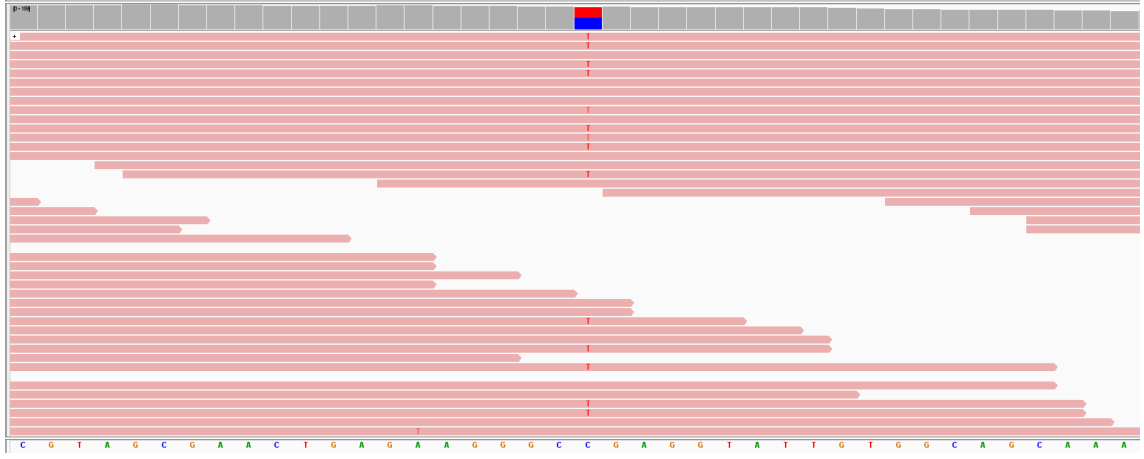
BTD geni OMIM'de otozomal resesif kalıtmımlı biotinidaz eksikliği ile ilişkilendirilmiş olup hastalığın prevalansı 1/60000 olarak bildirilmekteyken taşıyıcılık frekansının 1/120 olduğu tahmin edilmektedir. BTD geni SFARI gene veritabanında yer almamakla birlikte literatürde biotinidaz eksikliği olan hastalarda tedavi edilmezse ilerleyen dönemlerde OSB gelişebildiğini destekleyen çalışmalar mevcuttur(210). Özellikle parsiyel biotinidaz eksikliği

olan bireylerde saç ve cilt bulguları oluşmadan sadece OSB oluşabileceği ve bu durumun tanıda yanıltıcı olabileceği bildirilmektedir(211). Biotidinaz enzimi biotini geri dönüştürmek için gerekli olup bu enzimin disfonksiyonunda biotin eksikliğine bağlı yağ asidi sentezi, dallı zincirli aminoasit katabolizması ve glukoneogenez gibi yollarda bozulma meydana gelmektedir(212). Her ne kadar biotinidaz eksikliği otozomal resesif olarak kalıtılsa da BTM geninde bulunan patojenik heterozigot varyantların da biotinidaz enzimi fonksiyonun kısmi olarak bozarak bazı hastalarda biotin eksikliğine bağlı klinik meydana getirebileceği bildirilmektedir(213). Taşıyıcı bireylerde klinik atipik seyretilmekte olup hastalarda sadece OSB, gelişme geriliği, davranış anomalileri gibi nöropsikiyatrik hastalıkların görülebileceği ve bu bireylerin biotin tedavisinden fayda görebileceği bildirilmektedir(214). Bizim çalışmamızda 4 hastada(H6,H47,H49,H70) BTM geninde heterozigot patojenik varyant tespit edilmiş olup H6,H47 ve H49'da OSB'ye neden olabilecek başka herhangi bir varyant olmaması nedeniyle bu hastaların biotin tedavisinden fayda göreceğini düşünmekteyiz. H70'de ise ARID1B geninde c.1539dupG varyantı heterozigot olarak saptanmış olup bu hasta Coffin-Siris Sendromu tanısı almıştır.ARID1B geni SFARI gene veritabanında kategori 1S'te yer almakta olup H70'de Coffin-Siris Sendromu ile uyumlu olarak yaygın gelişme geriliği ve motor-mental retardasyon bulunmakta olup hastada saptadığımız varyant literatürde daha önce bildirilmediği için novel olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 5.10 H47 ve H49'da saptanan BTM c.1270G>C; p.D424H varyantının IGV görüntüsü

PAH geni OMIM'de otozomal resesif kalıtlı fenilketonüri ile ilişkilendirilmiş olup hastalığın Türkiye'de prevalansı 1/2600, taşıyıcılık frekansı ise 1/26 olarak bildirilmektedir(215). PAH geni SFARI gene veritabanında kategori 1'de yer almakta olup tedavisiz bireylerin yaklaşık %10'unda OSB geliştiği bildirilmektedir(113). Fenilketonüri fenil alanini parçalayan fenil alanin hidroksilaz enzimindeki disfonksiyondan kaynaklanır ve bu durum erken yaşta tespit edilmediğinde kandaki fenil alanin düzeyi artarak beyin üzerinde nörotoksik etkiye neden olmaktadır. Her ne kadar fenilketonüri otozomal resesif olarak kalıtılsa da PAH geninde yer alan patojenik heterozigot varyantların taşıyıcı bireylerde fenil alanin hidroksilaz enzim aktivitesinde farklı oranlarda düşüşe yol açtığı birçok çalışma da kanıtlanmıştır(216,217). Ayrıca Thalhammer ve arkadaşları 20 taşıyıcı ve 26 normal birey üzerinde yaptıkları bir çalışmada taşıyıcılarda hücre içi fenil alanin düzeyinin normal bireylere kıyasla daha yüksek olduğunu saptamış olup bu hücre içi yüksek fenil alanin düzeyinin ganglion hücrelerine doğrudan toksik etki yaparak bazı nöropsikiyatrik hastalıkların oluşumuna katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir(218). Fenilketonüri tedavisinde klasik olarak diyetten fenil alaninin çıkarılması uygulanmakta olup fenil alanin hidroksilaz enzim aktivitesini arttıran sapropterin gibi ajanlardan da faydalanılmaktadır(219). Fenilketonüri taşıyıcılarında fenil alanin içeren gıda ile beslenme sonrası hücre içi fenil alanin düzeyinin farklı oranlarda yükseldiği kanıtlanmış olup bu hastalarda diyet veya farmakolojik tedavinin nöropsikiyatrik hastalık gelişimi üzerine etkisi ile ilgili literatürde yeterli çalışma bulunmamaktadır(220). Bizim çalışmamızda 2 hastada(H14,H37) PAH geninde heterozigot patojenik varyant tespit edilmiş olup H14'te OSB'ye neden olabilecek başka bir varyant saptanmaması nedeniyle bu hastanın fenil alaninden kısıtlı diyetten veya sapropterin tedavisinden fayda görebileceğini düşünmekteyiz. H37'de ise SOS1 geninde c.755T>C varyantı heterozigot olarak saptanmış olup bu hasta Noonan Sendromu tanısı almıştır.SOS1 geni SFARI gene veritabanında yer almamakta olup literatürde OSB ve DEHB tanılı bir hastada bildirilmiştir(221).Hastamızda literatürle uyumlu bir şekilde OSB kliniğine ek olarak DEHB tanısı da bulunmaktadır.



Şekil 5.11 H14'te saptanan PAH c.1139C>T; p.T380M varyantının IGV görüntüsü

ACMG'nin 2023'de yayınladığı ACMG SF v3.2 sekonder bulguların raporlanması için önerilen varyant listesinde BTD ve PAH genlerindeki homozigot veya birleşik heterozigot varyantların raporlanması önerilmekte olup taşıyıcılığa neden olan heterozigot varyantların raporlanması önerilmemektedir(222). Ancak literatürde bu genlerin taşıyıcılık durumunda da kliniğe neden olabileceğinin bildirilmesi, bu genlerin taşıyıcılıklarının Türkiye gibi akraba evliliklerinin yaygın olduğu ülkelerde sık gözlenmesi ve bu bireylerin tedaviden fayda görme olasılıkları olması nedeniyle bu genlerinin taşıyıcılıklarının da ACMG'de raporlanması önerilen varyant listesine eklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda NGS sonucunda patojenik/muhtemel patojenik varyant saptanan 37 hastanın 24'ü NGS ile tanı alabilmiştir. Bu durumda çalışmaya aldığımız hastaların %30,4'üne NGS ile tanı koyabilmiş olup bu oran literatür ile uyumludur.

NGS ile tanı alamayan hastalarımızdan olan H30'da GCK geninde patojenik varyant saptanmış olup hastamızın aCGH çalışmasında da OSB ile ilişkili

herhangi bir varyant saptanmamıştır. GCK geni OMIM'de otozomal dominant kalıtlı geç başlangıçlı insülin bağımlı olmayan diyabetes mellitus ile ilişkilendirilmiştir. GCK geni SFARI gene veritabanında yer almamakta olup literatürde direkt olarak OSB ile ilişkilendirildiği bir veri bulunmamaktadır. Ancak glukoz-insülin homeostazındaki dengesizliklerin mitokondriyal disfonksiyona yol açarak OSB patogenezinde rol oynayabileceği daha önce bildirilmiştir(223). Mukhtarova ve arkadaşlarının 211 OSB tanılı olan ve olmayan birey üzerinde SLC30A8,GCK,CDKN2B ve ADIPQ genlerindeki varyantlar ile OSB arasındaki ilişkiyi incelediği bir çalışmada bu genlerdeki varyantlar ile OSB'ye duyarlılık arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiş olup çalışmaya aldıkları hastalardan glukoz regülasyonu ve BMI ideal olan OSB hastalarının prognozunun daha iyi olduğunu bildirmişlerdir(224). H30 3 yaşında OSB tanısı almış olup özgeçmişi incelendiğinde hastanın 5 yaşında diyabetik ketoasidoz ile diyabetes mellitus tanısı aldığı öğrenilmiştir. Hastamız şu anda MODY ve OSB tanılarıyla takip edilmekte olup yapılan incelemelerde hastanın OSB kliniğini açıklayabilecek herhangi bir varyant saptanamaması ve glukoz regülasyonunun kötü olması nedeniyle hastada mevcut olan MODY tanısının OSB'ye yatkınlığı arttırabileceğini ve hastada glukoz regülasyonu sağlanabilmesi durumunda prognozunun daha iyi olabileceğini düşünmekteyiz.

NGS ile tanı alamayan 2 hastamızda(H62,H63) MECP2 geninde VUS varyant saptanmıştır.MECP2 geni OMIM'de X'e bağlı resesif kalıtılan entelektüel gelişimsel yetersizlik 13, X'e bağlı dominant kalıtılan Rett Sendromu ve X'e bağlı otizme yatkınlık ile ilişkilendirilmiş olup Rett Sendromunun prevalansı kadınlarda 1/10.000 ile 1/23.000 arasında bildirilmiştir(225). MECP2 geni SFARI gene veritabanında kategori 1S'de yer almakta olup Rett Sendromlu bireylerin yaklaşık %60'ında OSB bulguları görülmektedir. MECP2 ilişkili hastalıklar çok geniş bir klinik spektruma sahip olup bu hastalarda fenotip kadınlarda hafif öğrenme güçlüğünden klasik Rett Sendromuna uzanmaktayken erkeklerde sendromik olan/olmayan entelektüel yetersizlikten neonatal başlangıçlı ağır ensefalopatiye uzanmaktadır. Kadınlarda klasik Rett sendromunda tipik olarak yaşamın ilk 6-18 ayında nöromotor gelişimde

duraksama ve sonrasında mental ve motor gelişimde ağır gerileme gözlenmekle beraber erkeklerde görülen neonatal başlangıçlı ensefalopatide klinik çok daha ağır seyreder ve bu hastalar genellikle ilk 2 yaşta kaybedilmektedir. MECP2 geni birçok dokuda eksprese edilmekle birlikte yapılan çalışmalarda en çok beyinde eksprese edildiği tespit edilmiş olup erken beyin gelişiminde önemli rol oynadığı belirtilmiştir(226). MECP2 geni metil bağlayıcı bir protein olan Mecp2'nin sentezinde görev almakta olup bu protein X kromozomu üzerindeki genlerin 5' ucundaki CpG adacıklarının metilasyonunda düzenleyici olarak görev almaktadır(226). X'e bağlı genlerin inaktivasyonu genellikle 5' ucundaki CpG adalarının metilasyonu ile gerçekleştiği için MECP2 geninin disfonksiyonunda X'e bağlı genlerin inaktivasyonu meydana gelmektedir(226). H62'de MECP2 geninde c.785G>A; p.R262H varyantı saptanmıştır ve bu varyant MECP2 geninde fonksiyon kaybına(loss of function) yol açmakta olup veritabanlarında VUS olarak değerlendirilmiştir. Hastamızın annesinde epilepsi ve anksiyete bozukluğu mevcut olup babasında herhangi bir öykü bulunmamaktadır. Hastamıza segregasyon analizi yapılamamış olması nedeniyle varyantın patojenitesi net olarak değerlendirilememiş olup VUS olarak değerlendirilmiştir. Hastamızda OSB kliniğine ek olarak DEHB mevcut olmakta olup literatürde MECP2 genindeki fonksiyon bozukluklarının DEHB ile ilişkilendirildiği veriler bulunmaktadır(227). H63'te MECP2 geninde c.746G>T; p.G249V varyantı saptanmıştır ve bu varyant MECP2 geninde fonksiyon kaybına(loss of function) yol açmakta olup veritabanlarında VUS olarak değerlendirilmiştir. Hastamızın anne ve babasında herhangi bir klinik bulgu saptanmamış olup hastaya segregasyon analizi yapılamamış olması nedeniyle varyantın patojenitesi net olarak değerlendirilememiştir. Literatürde bu MECP2 geninde saptanan bu iki VUS varyantın OSB ile ilişkisi ile ilgili bir veri olmamakla birlikte MECP2'de fonksiyon kaybına yol açan mutasyonların OSB'ye yatkınlığı arttırdığına dair veriler bulunmaktadır(228). Hastalarımızda derin intronik varyantlar değerlendirilememiş olup OSB ile ilişkili başka varyant saptanamamış olması nedeniyle bu varyantların hastalarımızdaki OSB kliniğine katkı sağladığını düşünmekteyiz.

tanı alabilmiş olup geri kalan hastalara segregasyon analizi yapılamaması, hastalarda olabilecek derin intronik varyantların tespit edilememesi ve veri yetersizliğinden dolayı novel varyantların değerlendirilememesi nedeniyle tanı konulamamıştır.

Çalışmamızda daha önce OSB tanısı almış 79 hastanın aCGH ve yeni nesil dizileme analizi bulguları retrospektif olarak incelenerek bu testlerin OSB hastalarındaki genetik tanısal verimi belirlenmiş olup elde edilen veriler literatür verileriyle karşılaştırılmıştır. Ancak çalışmamızda bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. Çalışmamızdaki en büyük kısıtlılık hastalara segregasyon analizi yapılamamış olması nedeniyle aCGH ve NGS'de saptanan VUS varyantların patojenitesinin net olarak değerlendirilememiş olmasıdır. Yapılan aCGH çalışmalarında hastaların hepsine aynı çözünürlükte aCGH çalışması yapılamamış olup; 4 hastaya 60K, 18 hastaya 180K, 57 hastaya ise 700K aCGH çalışması yapılmıştır. aCGH'de prop sayısı arttıkça çözünürlükte artmakta olup artan çözünürlük sayesinde daha çok CNV tespiti sağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda kromozomal mikroarray'in OSB'li bireylerdeki tanısal verimi %15-20 olarak bildirilmekteyken aynı hastalara yüksek çözünürlüklü kromozomal mikroarray analizi yapıldığında tanısal verimin %28'e çıktığı bildirilmektedir(229). Yapılan NGS çalışmalarında 20 hastaya WES 59 hastaya ise CES çalışması yapılmıştır. WES analizinde genomda yer alan 22.000'den fazla genler taranmaktayken CES analizinde sadece daha önce hastalıklarla ilişkilendirilmiş genler taranmaktadır. Bu nedenle CES analizi yapılan hastalarda daha önce herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmediği halde OSB'ye neden olabilecek genler tespit edilememiştir. Ayrıca WES ve CES çalışmalarında intronik bölgeler incelenmemekte olup hastalarda olabilecek intronik varyantlar tespit edilememiştir.

6.SONUÇ

OSB, yaşamın erken dönemlerinde başlayan sosyal iletişimde bozulma, tekrarlayan duyuşal ve motor davranışlar, ilgi alanlarında kısıtlılık, dil ve konuşma bozuklukları ve duyuşal davranışların gelişiminde gerilik ile seyreden nörogelişimsel bir bozukluk olup sıklığı her geçen yıl artmaktadır. OSB multifaktöriyel poligenik bir hastalık olup teknolojinin gelişmesiyle birlikte OSB'nin genetik etyolojisi her geçen gün daha fazla anlaşılabilirilmektedir. OSB poligenik bir hastalık olmakla birlikte genetik etyolojisinde birçok faktörün rol oynadığı bilinmekte olup hastalığın genetik tanısında farklı genetik testlerin birlikte kullanılması hastalığın tanısıal verimini arttıracaktır.

Literatürde OSB hastalarında tanısal verimi en yüksek testin %69 oranıyla WGS olduğu bildirilmekte olup; ulaşılabilir ve maliyet etkin olmaması ve analizindeki zorluklar nedeniyle şu an OSB hastalarının genetik incelemesinde rutin olarak kullanılamamaktadır. ISCA OSB hastalarının birinci basamak tanısında Acgh'i primer test olarak önermekte olup birçok çalışma NGS'nin tanısal veriminin Acgh'den çok daha yüksek olduğunu desteklemektedirken; literatürde OSB hastalarında Acgh'in tanısal verimi %15-25, NGS'nin tanısal verimi ise %30-43 olarak bildirilmektedir. Bununla birlikte öncelikle Acgh gibi klasik yöntemlerle tanı elde edilemeyip sonrasında NGS analizi yapıldığında maliyetin primer test olarak NGS yapılmasından daha fazla olduğu bildirilmektedir. Ayrıca literatürde bu iki tanı testinin beraber kullanıldığında tanısal verimin %15-20 arttığı bildirilmektedir.

Çalışmamızda Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine başvuran ve aCGH ile NGS analizleri yapılmış 79 hastanın verileri retrospektif olarak yeniden analiz edilmiş ve bu testlerin OSB hastalarındaki genetik tanısal verimleri belirlenerek literatür verileriyle karşılaştırılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastaların sonuçları incelendiğinde literatür verileriyle uyumlu olarak hastaların %20,2'si aCGH ile %30,4'ü ise NGS ile tanı alabilmiştir. Ayrıca aCGH ile tanı alamayan hastaların %35'i NGS ile, NGS ile tanı alamayan hastaların %20'si aCGH ile tanı alabilmişlerdir. Bu durumda çalışmamız sonucunda hastalara sadece aCGH yapıldığında tanısal verim %20,2; sadece NGS yapıldığında tanısal verim %30,4 olup bu iki tanı yöntemi beraber kullanıldığında tanısal verim %48,1'e yükselmektedir. 2 hastamızda ise hem aCGH hem de NGS analizinde de kliniği açıklayan patojenik mutasyon saptanmıştır. Ayrıca hastaların %34'ünde aCGH'te %48'inde ise NGS'de VUS varyant saptanmış olup hastalara segregasyon analizi yapılamamış olması nedeniyle VUS varyantların patojenitesi net olarak değerlendirilememiş olup segregasyon analizi yapılması durumunda tanı veriminin artacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda NGS'de patojenik varyant saptanan PARD3B, CADM1, TBRG1 ve ATP13A5 genleri OMIM'de herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiş olmakla birlikte PARD3B ve CADM1 genleri SFARI gene veritabanında kategori 2'de yer almaktayken TBRG1 ve ATP13A5 genleri SFARI gene veri tabanında yer almamaktadır. Ayrıca Acgh'de saptanan patojenik 8q21.2-q22.1 delesyonu literatürde daha önce OSB ile ilişkilendirilmemiş olup bu bölge SFARI gene veritabanında da yer almamaktadır. Hastalardaki OSB kliniğini açıklayabilmesi ve fonksiyonel özellikleri nedeniyle TBRG1 ve ATP13A5 genlerini OSB için aday gen, 8q21.2-q22.1 bölgesini ise OSB için aday bölge olarak önermekteyiz.

Çalışmamızda tablo 4.15'te belirtilen varyantlar literatürde daha önce bildirilmemiş olup novel olarak değerlendirilmiştir. Bu varyantların 17 tanesi hastalara segregasyon analizi yapılamaması ve literatürdeki veri yetersizliği nedeniyle VUS olarak değerlendirilmiş olup bu varyantların patojenitesinin net olarak değerlendirilebilmesi için hastalara segregasyon analizi yapılması gerekmektedir. Ayrıca MN1 c.28C>T; p.Q10*, IRFSBPL c.251_254del;

p.S84Lfs*67, SLC46A1 c.1160_1161delAG; p.E387fs*13 ve ARID1B c.1539dupG; p.R514fs*104 varyantları veritabanlarında muhtemel patojenik olarak değerlendirilmekte olup çalışmamızda bu novel varyantlar tespit edilerek OSB ile ilgili literatüre katkıda bulunulmuştur.

Sonuç olarak OSB multifaktöriyel poligenetik bir hastalık olup genetik tanısının çok yönlü olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Çalışmamızın sonuçlarını ve literatür verilerini beraber değerlendirdiğimizde tanısal veriminin daha yüksek olması ve maliyet etkin olması nedeniyle OSB tanısında primer test olarak WES/CES gibi geniş kapsamlı yeni nesil dizileme analizi yöntemlerinin kullanılmasının desteklemekteyiz. Ayrıca iki genetik tanı yönteminin beraber kullanıldığında tanısal verimin artması ve aynı hastada iki yöntemde de kliniği açıklayabilecek patojenik varyant saptanabilecek olması nedeniyle OSB'nin genetik tanısında en ideal olanın bu 2 tanı testinin beraber kullanılması olduğunu düşünmekteyiz.

7.KAYNAKLAR

1. Rodas, Julia Miele. Autistic disturbances: Theorizing autism poetics from the DSM to Robinson Crusoe. University of Michigan Press, 2018.
2. American Psychiatric Association. "Diagnostic and statistical manual of mental disorders." *Text revision* (2000).
3. Association, American Psychiatric. "Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th." (2013).
4. Kaba, Duygu, and Ayla SOYKAN Aysev. "Dsm-5 tanı ölçütlerine göre erken çocukluk döneminde otizm spektrum bozukluğunun değerlendirilmesi." *Türk Psikiyatri Dergisi* 31.2 (2020): 106-12.
5. Bradley, Catherine C., et al. "Reported history of developmental regression and restricted, repetitive behaviors in children with autism spectrum disorders." *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics* 37.6 (2016): 451-456.
6. Hansen, Robin L., et al. "Regression in autism: prevalence and associated factors in the CHARGE Study." *Ambulatory Pediatrics* 8.1 (2008): 25-31.
7. Stefanatos GA. Regression in autistic spectrum disorders. *Neuropsychol Rev.* 2008;18(4):305-19.
8. Baio, Jon. "Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2014." *MMWR. Surveillance Summaries* 67 (2018).
9. <https://www.cdc.gov/media/releases/2023/p0323-autism.html>
10. Tager-Flusberg, H., and C. Kasari. "Minimally verbal school-aged children with autism spectrum disorder: the neglected end of the spectrum', *Autism Research*, 6 (6), 468-478." (2013).

11. Braden, B. Blair, et al. "Sex differences in the autistic brain." *Frontiers in Integrative Neuroscience* 15 (2021): 708368.
12. Ozonoff, Sally, et al. "Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study." *Pediatrics* 128.3 (2011): e488-e495.
13. Hirota, Tomoya, and Bryan H. King. "Autism spectrum disorder: A review." *Jama* 329.2 (2023): 157-168.
14. Lord, Catherine, et al. "Autism spectrum disorder." *Nature reviews Disease primers* 6.1 (2020): 1-23
15. Wu, Yulu, et al. "Multi-trait analysis for genome-wide association study of five psychiatric disorders." *Translational psychiatry* 10.1 (2020): 209.
16. Howsmon, Daniel P., et al. "Classification and adaptive behavior prediction of children with autism spectrum disorder based upon multivariate data analysis of markers of oxidative stress and DNA methylation." *PLoS computational biology* 13.3 (2017): e1005385.
17. Masini, Elena, et al. "An overview of the main genetic, epigenetic and environmental factors involved in autism spectrum disorder focusing on synaptic activity." *International journal of molecular sciences* 21.21 (2020): 8290.
18. Fett-Conte AC, Bossolani-Martinis AL, Pereira-Nascimento P. Genetic Etiology of Autism. In: Fitzgerald M, ed. Recent Advances in Autism Spectrum Disorders. Vol. I. Rijeka, Croatia: IntechOpen; 2013:216-248.
19. Fombonne E, Psych FRC. Epidemiology of Autistic Disorder and Other PDDs. *J Clin Psychiatry*. 2005;66(suppl 10):3-8.
20. Willsey, Helen Rankin, et al. "Genomics, convergent neuroscience and progress in understanding autism spectrum disorder." *Nature Reviews Neuroscience* 23.6 (2022): 323-341.

21. Sztainberg, Yehezkel, and Huda Y. Zoghbi. "Lessons learned from studying syndromic autism spectrum disorders." *Nature neuroscience* 19.11 (2016): 1408-1417.
22. Betancur, Catalina. "Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: more than 100 genetic and genomic disorders and still counting." *Brain research* 1380 (2011): 42-77.
23. Sebat, Jonathan, et al. "Strong association of de novo copy number mutations with autism." *Science* 316.5823 (2007): 445-449.
24. Zarrei, Mehdi, et al. "A large data resource of genomic copy number variation across neurodevelopmental disorders." *NPJ genomic medicine* 4.1 (2019): 26.
25. Harding, Katharine E., and Neil P. Robertson. "Applications of next-generation whole exome sequencing." *Journal of neurology* 261 (2014): 1244-1246.
26. Ng, Sarah B., et al. "Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes." *Nature* 461.7261 (2009): 272-276.
27. Dias, Kerith-Rae, et al. "Narrowing the diagnostic gap: Genomes, episinatures, long-read sequencing, and health economic analyses in an exome-negative intellectual disability cohort." *Genetics in Medicine* 26.5 (2024): 101076.
28. Choi, Murim, et al. "Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106.45 (2009): 19096-19101.
29. Cohn, Ronald Doron-Scherer, Stephen W.-
Hamosh, Ada. Thompson & Thompson Genetics and Genomics in Medicine Ninth Edition, Philadelphia, Elsevier 2024
30. Hansen, Stefan N., et al. "Recurrence risk of autism in siblings and cousins: A multinational, population-based study." *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry* 58.9 (2019): 866-875.

31. Iourov, Ivan Y., Svetlana G. Vorsanova, and Yuri B. Yurov. "Pathway-based classification of genetic diseases." *Molecular cytogenetics* 12 (2019): 1-5.
32. Kanner, Leo. "Autistic disturbances of affective contact." *Nervous child* 2.3 (1943): 217-250.
33. Asperger, Hans. "Die „Autistischen psychopathen“ im kindesalter." *Archiv für psychiatrie und nervenkrankheiten* 117.1 (1944): 76-136.
34. Aman, Michael G., et al. "Medication and parent training in children with pervasive developmental disorders and serious behavior problems: results from a randomized clinical trial." *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry* 48.12 (2009): 1143-1154.
35. Marks, Susan Unok. "Can “special” programs for children with autism spectrum disorders be inclusive?." *Research and Practice for Persons with Severe Disabilities* 32.4 (2007): 265-268.
36. Frith, Uta. *Autism: A very short introduction*. Vol. 195. Oxford University Press, USA, 2008.
37. Sherer, Michelle R., and Laura Schreibman. "Individual behavioral profiles and predictors of treatment effectiveness for children with autism." *Journal of consulting and clinical psychology* 73.3 (2005): 525.
38. Folstein, Susan, and Michael Rutter. "Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs." *Journal of Child psychology and Psychiatry* 18.4 (1977): 297-321.
39. Vashisth, Shayal, and Maria H. Chahrour. "Genomic strategies to untangle the etiology of autism: A primer." *Autism Research* 16.1 (2023): 31-39.
40. Klin, Ami, and Fred R. Volkmar. "10 The pervasive developmental disorders: Nosology and profiles of development." *Developmental*

psychopathology: Perspectives on adjustment, risk, and disorder (1997): 208.

41. American Psychiatric Association. "American Psychiatric Association Committee on Nomenclature and Statistics." *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV), Fourth Edition. 4ed.* Washington DC (1994).
42. American Psychiatric Association. "Diagnostic and statistical manual of mental disorders; revised (DSM-III-R)." *Washington DG* (1987).
43. Kraemer, Helena Chmura. "DSM categories and dimensions in clinical and research contexts." *International journal of methods in psychiatric research* 16.S1 (2007): S8-S15.
44. <https://icd.who.int/browse11>
45. Cohen, Donald J., and Fred R. Volkmar. *Handbook of autism and pervasive developmental disorders*. John Wiley & Sons, Inc., 1997.
46. Lord, Catherine, et al. "Autism spectrum disorder." *Nature reviews Disease primers* 6.1 (2020): 1-23.
47. Fombonne, Eric. "The epidemiology of autism: a review." *Psychological medicine* 29.4 (1999): 769-786.
48. Elsabbagh, Mayada, et al. "Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders." *Autism research* 5.3 (2012): 160-179.
49. Network, Disabilities Monitoring. "Prevalence of Autism Spectrum Disorders—Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, Six Sites, United States, 2000; Prevalence of Autism Spectrum Disorders—Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network." *MMWR* 56 (2007): 1-11.
50. Fombonne, É.; Kisely, S.; Rochette, L.; Vasiliadis, H.-M.; Vanasse, A.; Noiseux, M.; Pelletier, É.; Renaud, J.; St-Laurent, D.; et al. Prevalence and Correlates of Autism Spectrum Disorders in Quebec. *Can. J. Psychiatry* 2018, 63, 231–239.

51. <https://tohumotizm.org.tr/>
52. Massie, Henry. "The prodromal phase of autism and outcome of early treatment." *Signs of Autism in Infants*. Routledge, 2018. 3-17.
53. Ozonoff, Sally, et al. "The onset of autism: patterns of symptom emergence in the first years of life." *Autism research* 1.6 (2008): 320-328.
54. Tidmarsh, Lee, and Fred R. Volkmar. "Diagnosis and epidemiology of autism spectrum disorders." *The Canadian Journal of Psychiatry* 48.8 (2003): 517-525.
55. Fein, Deborah, and Michelle A. Dunn. *Autism in Your Classroom: A General Educator's Guide to Students with Autism Spectrum Disorders*. Woodbine House. 6510 Bells Mill Road, Bethesda, MD 20817, 2007.
56. Baranek, G. T., et al. "Play: Engaging children with autism." *Sensorimotor interventions in autism* (2001): 311-351.
57. Siegel, Bryna. *Getting the best for your child with autism: An expert's guide to treatment*. Guilford Press, 2008.
58. Bishop, Somer L., et al. "Diagnostic assessment." *Autism spectrum disorders in infants and toddlers* (2008): 23-49.
59. Güleç, Cengiz, and Ertuğrul Köroğlu, eds. *Psikiyatri temel kitabı*. HYB, 1997.
60. Volkmar, Fred R., and Lisa A. Wiesner. *A practical guide to autism: What every parent, family member, and teacher needs to know*. John Wiley & Sons, 2009.
61. Gallo, Donald P. *Diagnosing autism spectrum disorders: A lifespan perspective*. John Wiley & Sons, 2010.
62. Fernandez, Bridget A., and Stephen W. Scherer. "Syndromic autism spectrum disorders: moving from a clinically defined to a molecularly defined approach." *Dialogues in clinical neuroscience* 19.4 (2017): 353-371.
63. Bishop, Somer L., et al. "Convergent validity of the Mullen Scales of Early Learning and the differential ability scales in children with

- autism spectrum disorders." *American journal on intellectual and developmental disabilities* 116.5 (2011): 331-343.
64. Ruiz, Pedro. *Comprehensive textbook of psychiatry*. Eds. Benjamin J. Sadock, and Virginia Alcott Sadock. Vol. 1. Philadelphia: lippincott Williams & wilkins, 2000.
 65. <https://www.psychiatry.org/psychiatrists/practice/dsm>
 66. <https://icd.who.int/browse11>
 67. American Psychiatric Association. "Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 2013. 5." *Washington DC: American Psychiatric Association*: 251-4.
 68. Friedman, Nora DB, et al. "Autism spectrum disorder." *Psychiatry* (2015): 722-747.
 69. Tuchman, Roberto, Deborah Hirtz, and Laura A. Mamounas. "NINDS epilepsy and autism spectrum disorders workshop report." *Neurology* 81.18 (2013): 1630-1636.
 70. Maenner, Matthew J., et al. "Brief report: Association between behavioral features and gastrointestinal problems among children with autism spectrum disorder." *Journal of autism and developmental disorders* 42 (2012): 1520-1525.
 71. Krakowiak, Paula, et al. "" Sleep problems in children with autism spectrum disorders, developmental delays, and typical development: A population-based study": Corrigendum." (2012).
 72. White, Susan W., et al. "Anxiety in children and adolescents with autism spectrum disorders." *Clinical psychology review* 29.3 (2009): 216-229.
 73. Sauer, Ann Katrin, et al. "Autism spectrum disorders: etiology and pathology." *Exon Publications* (2021): 1-15.
 74. Gurrieri, Fiorella. "Working up autism: the practical role of medical genetics." *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*. Vol. 160. No. 2. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2012.

75. Bailey, Aea, et al. "A clinicopathological study of autism." *Brain: a journal of neurology* 121.5 (1998): 889-905.
76. Minshew, Nancy J., and Diane L. Williams. "The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization." *Archives of neurology* 64.7 (2007): 945-950.
77. Schumann, Cynthia M., Steven C. Noctor, and David G. Amaral. "Neuropathology of autism spectrum disorders: postmortem studies." *Autism spectrum disorders* (2011): 539-565.
78. Buie, Timothy, et al. "Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report." *Pediatrics* 125.Supplement_1 (2010): S1-S18.
79. Dietert, Rodney R., Janice M. Dietert, and Jamie C. DeWitt. "Environmental risk factors for autism." *Emerging health threats journal* 4.1 (2011): 7111.
80. Zerbo, Ousseney, et al. "Interpregnancy interval and risk of autism spectrum disorders." *Pediatrics* 136.4 (2015): 651-657.
81. Wu, S., et al. "Advanced parental age and autism risk in children: a systematic review and meta-analysis." *Acta Psychiatrica Scandinavica* 135.1 (2017): 29-41.
82. Trerotola, Marco, et al. "Epigenetic inheritance and the missing heritability." *Human genomics* 9 (2015): 1-12.
83. Binici, Nagihan Cevher, and Begüm Şahbudak. "Otizm Spektrum Bozukluklarında Epigenetik Değişiklikler: Kısa Kodlamayan RNA'lara Genel Bakış." *Turkish Journal of Child & Adolescent Mental Health* 30.2 (2023).
84. Lintas, C. "Linking genetics to epigenetics: The role of folate and folate-related pathways in neurodevelopmental disorders." *Clinical genetics* 95.2 (2019): 241-252.
85. Ladd-Acosta, Christine, et al. "Common DNA methylation alterations in multiple brain regions in autism." *Molecular psychiatry* 19.8 (2014): 862-871.

86. Sun, Wenjie, et al. "Histone acetylome-wide association study of autism spectrum disorder." *Cell* 167.5 (2016): 1385-1397.
87. Loke, Yuk Jing, Anthony John Hannan, and Jeffrey Mark Craig. "The role of epigenetic change in autism spectrum disorders." *Frontiers in neurology* 6 (2015): 140506.
88. Szatmari, Peter, and Marshall B. Jones. "Genetic epidemiology of autism spectrum disorders." *Autism and pervasive developmental disorders* 2 (2007): 157-178.
89. Ozonoff, Sally, et al. "Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study." *Pediatrics* 128.3 (2011): e488-e495.
90. Miles, Judith H. "Autism spectrum disorders—a genetics review." *Genetics in Medicine* 13.4 (2011): 278-294.
91. Lazar, Steven M., Thomas D. Challman, and Scott M. Myers. "Etiologic Evaluation of Children with Autism Spectrum Disorder." *Pediatric Clinics* 71.2 (2024): 179-197.
92. Miles, Judith H. "Autism spectrum disorders—a genetics review." *Genetics in Medicine* 13.4 (2011): 278-294.
93. Şener, Elif Funda, and Yusuf Özkul. "Otizmin genetik temelleri." *Sağlık Bilimleri Dergisi* 22.1 (2013): 86-92.
94. Hogart, Amber, et al. "The comorbidity of autism with the genomic disorders of chromosome 15q11. 2-q13." *Neurobiology of disease* 38.2 (2010): 181-191.
95. Gavril, Eva-Cristiana, et al. "Genotype–Phenotype Correlations in 2q37-Deletion Syndrome: An Update of the Clinical Spectrum and Literature Review." *Genes* 14.2 (2023): 465.
96. Phelan, Katy, R. Curtis Rogers, and Luigi Boccuto. "Deletion 22q13 syndrome: Phelan–McDermid syndrome." *Cassidy and Allanson's Management of Genetic Syndromes* (2021): 317-334.
97. Shchelochkov, Oleg A., et al. "GeneReviews [Internet]." *Seattle (WA): University of Washington, Seattle* 2021.

98. Zarrei, Mehdi, et al. "A copy number variation map of the human genome." *Nature reviews genetics* 16.3 (2015): 172-183.
99. Nowakowska, Beata. "Clinical interpretation of copy number variants in the human genome." *Journal of applied genetics* 58 (2017): 449-457.
100. Vermeesch, Joris R., et al. "Genome-wide arrays: Quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics." *Human Mutation* 33.6 (2012): 906-915.
101. Jacquemont, Marie-Line, et al. "Array-based comparative genomic hybridisation identifies high frequency of cryptic chromosomal rearrangements in patients with syndromic autism spectrum disorders." *Journal of medical genetics* 43.11 (2023): 843-849.
102. Kearney, Hutton M., et al. "American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants." *Genetics in Medicine* 13.7 (2011): 680-685.
103. Sebat, Jonathan, et al. "Strong association of de novo copy number mutations with autism." *Science* 316.5823 (2007): 445-449
104. Marshall CR, Noor A, Vincent JB, Lionel AC, Feuk L, Skaug J, Shago M, Moessner R, Pinto D, Ren Y, Thiruvahindrapduram B, Fiebig A, Schreiber S, Friedman J, Ketelaars CE, Vos YJ, Ficicioglu C, Kirkpatrick S, Nicolson R, Sloman L, Summers A, Gibbons CA, Teebi A, Chitayat D, Weksberg R, Thompson A, Vardy C, Crosbie V, Luscombe S, Baatjes R, Zwaigenbaum L, Roberts W, Fernandez B, Szatmari P, Scherer SW. Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet.* 2008;82:477-88.
105. Chung, Wendy K., et al. "16p11. 2 deletion syndrome." *Current opinion in genetics & development* 68 (2021): 49-56.
106. Wang, Yunan, et al. "Prenatal phenotype features and genetic etiology of the Williams-Beuren syndrome and literature review." *Frontiers in Pediatrics* 11 (2023): 1141665.

107. Blanco-Hinojo, Laura, et al. "Cerebellar dysfunction in adults with Prader Willi syndrome." *Journal of clinical medicine* 10.15 (2021): 3320.
108. Srivastava, Siddharth, et al. "Updated consensus guidelines on the management of Phelan–McDermid syndrome." *American Journal of Medical Genetics Part A* 191.8 (2023): 2015-2044.
109. Shinawi, Marwan, et al. "A small recurrent deletion within 15q13. 3 is associated with a range of neurodevelopmental phenotypes." *Nature genetics* 41.12 (2009): 1269-1271.
110. An, Joon Yong, and Charles Claudianos. "Genetic heterogeneity in autism: From single gene to a pathway perspective." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 68 (2016): 442-453.
111. Specchio, Nicola, et al. "Autism and epilepsy in patients with tuberous sclerosis complex." *Frontiers in Neurology* 11 (2020): 639.
112. Lu, Zongyang, et al. "Locus-specific DNA methylation of Mecp2 promoter leads to autism-like phenotypes in mice." *Cell death & disease* 11.2 (2020): 85.
113. DeSpensa, Tyrone, et al. "PTEN mutations in autism spectrum disorder and congenital hydrocephalus: developmental pleiotropy and therapeutic targets." *Trends in neurosciences* 44.12 (2021): 961-976.
114. Li, Peiying, et al. "Association of urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites with symptoms among autistic children: A case–control study in Tianjin, China." *Autism Research* 15.10 (2022): 1941-1960.
115. Yıldız, Yılmaz, et al. "Creatine transporter deficiency presenting as autism spectrum disorder." *Pediatrics* 146.5 (2020).
116. Vashisth, Shayal, and Maria H. Chahrour. "Genomic strategies to untangle the etiology of autism: A primer." *Autism Research* 16.1 (2023): 31-39.
117. Choi, Murim, et al. "Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106.45 (2009): 19096-19101.

118. Turner, Tychele N., et al. "Genomic patterns of de novo mutation in simplex autism." *Cell* 171.3 (2017): 710-722.
119. Power, Robert A., et al. "Fecundity of patients with schizophrenia, autism, bipolar disorder, depression, anorexia nervosa, or substance abuse vs their unaffected siblings." *JAMA psychiatry* 70.1 (2013): 22-30.
120. Iossifov, Ivan, et al. "The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder." *Nature* 515.7526 (2014): 216-221.
121. Satterstrom, F. Kyle, et al. "Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism." *Cell* 180.3 (2020): 568-584.
122. Fu, Jack M., et al. "Rare coding variation provides insight into the genetic architecture and phenotypic context of autism." *Nature genetics* 54.9 (2022): 1320-1331.
123. Samocha, Kaitlin, et al. "Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism." *Nature* 515.7526 (2014).
124. O'Roak, Brian J., et al. "Exome sequencing in sporadic autism spectrum disorders identifies severe de novo mutations." *Nature genetics* 43.6 (2011): 585-589.
125. Niu, Manman, et al. "Autism symptoms in fragile X syndrome." *Journal of child neurology* 32.10 (2017): 903-909.
126. Wilfert, Amy B., et al. "Recent ultra-rare inherited variants implicate new autism candidate risk genes." *Nature genetics* 53.8 (2021): 1125-1134.
127. AKALIN, Akçahan, and Pelin Özlem ŞİMŞEK KİPER. "Otizm Spektrum Bozukluğunda Klinik Genetik Yaklaşım." *Türkiye Klinikleri Pediatric Genetic Diseases-Special Topics* 3.1 (2022): 1-9.
128. Miller, David T., et al. "Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies." *The American Journal of Human Genetics* 86.5 (2010): 749-764.

129. Ozonoff, Sally, et al. "Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study." *Pediatrics* 128.3 (2011): e488-e495.
130. Calderoni, Sara. "Sex/gender differences in children with autism spectrum disorder: A brief overview on epidemiology, symptom profile, and neuroanatomy." *Journal of Neuroscience Research* 101.5 (2023): 739-750.
131. Aishworiya, Ramkumar, et al. "An update on psychopharmacological treatment of autism spectrum disorder." *Neurotherapeutics* 19.1 (2023): 248-262.
132. Genovese, Ann, and Merlin G. Butler. "Clinical assessment, genetics, and treatment approaches in autism spectrum disorder (ASD)." *International journal of molecular sciences* 21.13 (2020): 4726.
133. Fuentes, Joaquin, et al. "ESCAP practice guidance for autism: a summary of evidence-based recommendations for diagnosis and treatment." *European child & adolescent psychiatry* 30.6 (2021): 961-984.
134. Benger, Matthew, Maria Kinali, and Nicholas D. Mazarakis. "Autism spectrum disorder: prospects for treatment using gene therapy." *Molecular autism* 9.1 (2018): 39.
135. Lee, James J., et al. "Gene discovery and polygenic prediction from a genome-wide association study of educational attainment in 1.1 million individuals." *Nature genetics* 50.8 (2018): 1112-1121.
136. Karen Guldberg, Elaine Ashbee, Lila Kossyvaki, Ryan Bradley and A. Basulayyim: Meeting the Needs of Pupils with Autism in Qatar: Moving forward. In, Report of WISE 2017 Summit (2017)
137. A. Baghdadli, F. Russet and L. Mottron: Measurement properties of screening and diagnostic tools for autism spectrum adults of mean normal intelligence: A systematic review. *Eur Psychiatry*, 44, 104-124 (2017)

138. Rabbani, Bahareh, Mustafa Tekin, and Nejat Mahdieh. "The promise of whole-exome sequencing in medical genetics." *Journal of human genetics* 59.1 (2014): 5-15.
139. Petersen, Britt-Sabina, et al. "Opportunities and challenges of whole-genome and-exome sequencing." *BMC genetics* 18 (2017): 1-13.
140. Li, Quan, and Kai Wang. "InterVar: clinical interpretation of genetic variants by the 2015 ACMG-AMP guidelines." *The American Journal of Human Genetics* 100.2 (2017): 267-280.
141. Kaminsky EB, Kaul V, Paschall J, et al. An evidence-based approach to establish the functional and clinical significance of copy number variants in intellectual and developmental disabilities. *Genet Med*; 2011;13(9):777-84. doi:10.1097/GIM.0b013e31822c79f9.
142. FAUCETT, ANDREW W., and Melissa Savage. "Chromosomal microarray testing." *JAAPA* 25.1 (2012): 65-68.
143. Kearney, Hutton M., et al. "American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants." *Genetics in Medicine* 13.7 (2011): 680-685.
144. Miller, David T., et al. "Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies." *The American Journal of Human Genetics* 86.5 (2010): 749-764.
145. <https://gene.sfari.org/>
146. Centers for Disease Control and Prevention. "Autism Spectrum Disorder (ASD) Centers for Disease Control and Prevention." 2021
147. Kim, Young Shin, et al. "Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample." *American Journal of Psychiatry* 168.9 (2011): 904-912.
148. Tick, Beata, et al. "Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies." *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 57.5 (2016): 585-595.

149. Huguet, Guillaume, Marion Benabou, and Thomas Bourgeron. "The genetics of autism spectrum disorders." *A time for metabolism and hormones* (2016): 101-129.
150. Yip, Benjamin Hon Kei, et al. "Heritable variation, with little or no maternal effect, accounts for recurrence risk to autism spectrum disorder in Sweden." *Biological psychiatry* 83.7 (2018): 589-597.
151. Blomquist, Hans K., et al. "Frequency of the fragile X syndrome in infantile autism." *Clinical genetics* 27.2 (1985): 113-117.
152. Carter, Melissa T., and Stephen W. Scherer. "Autism spectrum disorder in the genetics clinic: a review." *Clinical genetics* 83.5 (2013): 399-407.
153. Chen, Mu-Hong, et al. "Risk of suicide attempts among adolescents and young adults with autism spectrum disorder: A nationwide longitudinal follow-up study." *The Journal of clinical psychiatry* 78.9 (2017): 1709.
154. Bergbaum, Anne, and Caroline Mackie Ogilvie. "Autism and chromosome abnormalities—A review." *Clinical Anatomy* 29.5 (2016): 620-627.
155. Bourgeron, Thomas. "Current knowledge on the genetics of autism and propositions for future research." *Comptes rendus biologies* 339.7-8 (2016): 300-307.
156. Woodbury-Smith, Marc, and Stephen W. Scherer. "Progress in the genetics of autism spectrum disorder." *Developmental Medicine & Child Neurology* 60.5 (2018): 445-451.
157. Rosenfeld, Jill A., and Ankita Patel. "Chromosomal microarrays: understanding genetics of neurodevelopmental disorders and congenital anomalies." *Journal of pediatric genetics* 6.01 (2017): 042-050.
158. Napoli, Eleonora, et al. "Beyond autophagy: a novel role for autism-linked Wdpy3 in brain mitophagy." *Scientific reports* 8.1 (2018): 11348.

159. Bourgeron, Thomas. "The genetics and neurobiology of ESSENCE: The third Birgit Olsson lecture." *Nordic Journal of Psychiatry* 70.1 (2016): 1-9.
160. Pinto, Dalila, et al. "Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders." *The American Journal of Human Genetics* 94.5 (2014): 677-694.
161. Luo, Rui, et al. "Genome-wide transcriptome profiling reveals the functional impact of rare de novo and recurrent CNVs in autism spectrum disorders." *The American Journal of Human Genetics* 91.1 (2012): 38-55.
162. Basu, Saumyendra N., Ravi Kollu, and Sharmila Banerjee-Basu. "AutDB: a gene reference resource for autism research." *Nucleic acids research* 37.suppl_1 (2009): D832-D836.
163. Gaugler, Trent, et al. "Most genetic risk for autism resides with common variation." *Nature genetics* 46.8 (2014): 881-885.
164. Liu, Xiaoxi, and Toru Takumi. "Genomic and genetic aspects of autism spectrum disorder." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 452.2 (2014): 244-253.
165. Weiner, Daniel J., et al. "Polygenic transmission disequilibrium confirms that common and rare variation act additively to create risk for autism spectrum disorders." *Nature genetics* 49.7 (2020): 978-985.
166. Cucinotta, Francesca, et al. "Diagnostic yield and clinical impact of chromosomal microarray analysis in autism spectrum disorder." *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 11.8 (2023): e2182.
167. Ayaz, Akif, et al. "Diagnostic value of microarray method in autism spectrum disorder, intellectual disability, and multiple congenital anomalies and some candidate genes for autism: Experience of two centers." *Medeniyet Medical Journal* (2022).
168. Lee, Chung-Lin, et al. "Increased diagnostic yield of array comparative genomic hybridization for autism spectrum disorder in one institution in Taiwan." *Medicina* 58.1 (2023): 15.

169. Picinelli, Chiara, et al. "Recurrent 15q11. 2 BP1-BP2 microdeletions and microduplications in the etiology of neurodevelopmental disorders." *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 171.8 (2016): 1088-1098.
170. Sztainberg, Yehezkel, and Huda Y. Zoghbi. "Lessons learned from studying syndromic autism spectrum disorders." *Nature neuroscience* 19.11 (2016): 1408-1417.
171. Genovese, Ann, and Merlin G. Butler. "Clinical assessment, genetics, and treatment approaches in autism spectrum disorder (ASD)." *International journal of molecular sciences* 21.13 (2020): 4726.
172. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010;86:749-64.
173. Ferri, Sarah L., Ted Abel, and Edward S. Brodtkin. "Sex differences in autism spectrum disorder: a review." *Current psychiatry reports* 20 (2018): 1-17.
174. Lai, Meng-Chuan, et al. "Quantifying and exploring camouflaging in men and women with autism." *Autism* 21.6 (2017): 690-702.
175. Howlin, Patricia, and Iliana Magiati. "Autism spectrum disorder: Outcomes in adulthood." *Current opinion in psychiatry* 30.2 (2017): 69-76.
176. Lord, Catherine. "Recognising the heterogeneity of autism." *The Lancet Psychiatry* 6.7 (2019): 551-552.
177. Hultman, Christina M., et al. "Advancing paternal age and risk of autism: new evidence from a population-based study and a meta-analysis of epidemiological studies." *Molecular psychiatry* 16.12 (2011): 1203-1212.
178. Kong, Sek Won, et al. "Characteristics and predictive value of blood transcriptome signature in males with autism spectrum disorders." *PloS one* 7.12 (2012): e49475.

179. Satam, Heena, et al. "Next-generation sequencing technology: current trends and advancements." *Biology* 12.7 (2023): 997. Mardis, Elaine R. "Next-generation sequencing platforms." *Annual review of analytical chemistry* 6.1 (2013): 287-303.
180. Hu, Taishan, et al. "Next-generation sequencing technologies: An overview." *Human Immunology* 82.11 (2021): 801-811.
181. Quick, Joshua, et al. "Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance." *Nature* 530.7589 (2016): 228-232.
182. McCombie, W. Richard, John D. McPherson, and Elaine R. Mardis. "Next-generation sequencing technologies." *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 9.11 (2019): a036798.
183. Battaglia, Agatino, et al. "Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features." *European Journal of Paediatric Neurology* 17.6 (2013): 589-599.
184. Gilissen, Christian, et al. "Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability." *Nature* 511.7509 (2014): 344-347.
185. Srivastava, Siddharth, et al. "Clinical whole exome sequencing in child neurology practice." *Annals of neurology* 76.4 (2014): 473-483.
186. Soden, Sarah E., et al. "Effectiveness of exome and genome sequencing guided by acuity of illness for diagnosis of neurodevelopmental disorders." *Science translational medicine* 6.265 (2014): 265ra168-265ra168.
187. Tammimies, Kristiina, et al. "Molecular diagnostic yield of chromosomal microarray analysis and whole-exome sequencing in children with autism spectrum disorder." *Jama* 314.9 (2015): 895-903.
188. Lee, Hane, et al. "Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders." *Jama* 312.18 (2014): 1880-1887.

189. Stefanski, Arthur, et al. "Clinical sequencing yield in epilepsy, autism spectrum disorder, and intellectual disability: A systematic review and meta-analysis." *Epilepsia* 62.1 (2021): 143-151.
190. Srivastava, Siddharth, et al. "Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders." *Genetics in Medicine* 21.11 (2019): 2413-2421.
191. Dias, Kerith-Rae, et al. "Narrowing the diagnostic gap: Genomes, episignatures, long-read sequencing, and health economic analyses in an exome-negative intellectual disability cohort." *Genetics in Medicine* 26.5 (2024): 101076.
192. O’Roak, Brian J., et al. "Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations." *Nature* 485.7397 (2012): 246-250.
193. Sanders, Stephan J., et al. "De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism." *Nature* 485.7397 (2012): 237-241.
194. Iossifov, Ivan, et al. "The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder." *Nature* 515.7526 (2014): 216-221.
195. Kereszturi, Éva. "Database-assisted screening of autism spectrum disorder related gene set." *Molecular Brain* 17.1 (2024): 55.
196. Sanders, Stephan J., et al. "Whole genome sequencing in psychiatric disorders: the WGSPD consortium." *Nature neuroscience* 20.12 (2017): 1661-1668.
197. Bahl, Shalini, et al. "Urine creatine metabolite panel as a screening test in neurodevelopmental disorders." *Orphanet Journal of Rare Diseases* 15 (2020): 1-10.
198. van de Kamp, Jiddeke M., et al. "Phenotype and genotype in 101 males with X-linked creatine transporter deficiency." *Journal of medical genetics* 50.7 (2013): 463-472.

199. Yi, Sheng, et al. "A nonsense CC2D1A variant is associated with congenital anomalies, motor delay, hypotonia, and slight deformities." *Heliyon* 10.6 (2024).
200. Barton JC, Parker CJ. **Hemochromatosis**. In: Means RT Jr, Roders GM, Glader B, Arber DA, Appelbaum FR, Disperenzieri A, Fehniger TA, Michaelis LC, Leonard JPI, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 15 ed. Philadelphia, PA: Wolters-Kluwer/Lippincott Williams and Wilkins; 2023:ch 27.
201. Huang, Wenyan, et al. "Identification of Immune Infiltration and Iron Metabolism–Related Subgroups in Autism Spectrum Disorder." *Journal of Molecular Neuroscience* 74.1 (2024): 12.
202. Lin, Pei-Yi, et al. "Neurexin-2 restricts synapse numbers and restrains the presynaptic release probability by an alternative splicing-dependent mechanism." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 120.13 (2023).
203. Zhong, Yuanxin, et al. "Functional abnormality in the sensorimotor system attributed to NRXN1 variants in boys with attention deficit hyperactivity disorder." *Brain Imaging and Behavior* (2021): 1-10.
204. Voglewede, Mikayla M., et al. "Loss of the polarity protein Par3 promotes dendritic spine neoteny and enhances learning and memory." *Isience* 27.7 (2024).
205. Fujita, Eriko, et al. "Autism spectrum disorder is related to endoplasmic reticulum stress induced by mutations in the synaptic cell adhesion molecule, CADM1." *Cell death & disease* 1.6 (2010): e47-e47.
206. Santos-Cortez, Regie Lyn P., et al. "Novel candidate genes and variants underlying autosomal recessive neurodevelopmental disorders with intellectual disability." *Human genetics* 137 (2018): 735-752.

207. Schultheis, Patrick J., et al. "Characterization of the P5 subfamily of P-type transport ATPases in mice." *Biochemical and biophysical research communications* 323.3 (2004): 731-738.
208. Kwasnicka-Crawford, Dorota A., et al. "Characterization of a novel cation transporter ATPase gene (ATP13A4) interrupted by 3q25–q29 inversion in an individual with language delay." *Genomics* 86.2 (2005): 182-194.
209. Eid, Ola M., and Maha M. Eid. "The implications of genetic factors in autism spectrum disorder and alzheimer's disease." *Neurological Disorders and Imaging Physics, Volume 3: Application to autism spectrum disorders and Alzheimer's*. Bristol, UK: IOP Publishing, 2019. 5-1.
210. Jay, Allison M., et al. "Outcomes of individuals with profound and partial biotinidase deficiency ascertained by newborn screening in Michigan over 25 years." *Genetics in Medicine* 17.3 (2015): 205-209.
211. Manzi, Barbara, et al. "Autism and metabolic diseases." *Journal of child neurology* 23.3 (2008): 307-314.
212. Tardy, Anne-Laure, et al. "Vitamins and minerals for energy, fatigue and cognition: a narrative review of the biochemical and clinical evidence." *Nutrients* 12.1 (2020): 228.
213. Huang, Zhi-Xiong, et al. "Systematic review and bioinformatic analysis of microRNA expression in autism spectrum disorder identifies pathways associated with cancer, metabolism, cell signaling, and cell adhesion." *Frontiers in psychiatry* 12 (2021): 630876.
214. İnci, Asli, et al. "Autism: Screening of inborn errors of metabolism and unexpected results." *Autism Research* 14.5 (2021): 887-896.
215. Ozalp, I., et al. "Newborn PKU screening in Turkey: at present and organization for future." *The Turkish journal of pediatrics* 43.2 (2001): 97-101.

216. Kaufman, Seymour, Edward E. Max, and Ellen S. Kang. "Phenylalanine hydroxylase activity in liver biopsies from hyperphenylalaninemia heterozygotes: deviation from proportionality with gene dosage." *Pediatric Research* 9.8 (1975): 632-634.
217. Berry, Helen K., et al. "Diagnosis of phenylalanine hydroxylase deficiency (phenylketonuria)." *American Journal of Diseases of Children* 136.2 (1982): 111-114.
218. Thalhammer, O., et al. "Intracellular phenylalanine and tyrosine concentration in homozygotes and heterozygotes for phenylketonuria (PKU) and hyperphenylalaninemia compared with normals." *Human genetics* 60 (1982): 320-321.
219. Khan, Sophia M., Robyn R. Heister, and Justine R. Keathley. "Are Carriers Unaffected? A Literature Review of Metabolic and Health Outcomes among Genetic Carriers of Phenylketonuria." *Lifestyle Genomics* 17.1 (2024): 102-112.
220. Hames, Amber, et al. "Carriers of autosomal recessive conditions: are they really 'unaffected?'." *Journal of Medical Genetics* 61.1 (2024): 1-7.
221. Rai, Bhavana, et al. "Novel effects of Ras-MAPK pathogenic variants on the developing human brain and their link to gene expression and inhibition abilities." *Translational psychiatry* 13.1 (2023): 245.
222. Miller, David T., et al. "ACMG SF v3. 2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)." *Genetics in Medicine* 25.8 (2023): 100866.
223. Stern, Michael. "Insulin signaling and autism." *Frontiers in endocrinology* 2 (2011): 54.
224. Mukhtarova, Kymbat, et al. "Genetic Variations Influencing Glucose Homeostasis and Insulin Secretion and their Associations with Autism

- Spectrum Disorder in Kazakhstan." *Electronic Journal of General Medicine* 18.2 (2021).
225. Ellaway, Carolyn, et al. "Rett syndrome: randomized controlled trial of L-carnitine." *Journal of child neurology* 14.3 (1999): 162-167.
226. Tillotson, Rebekah, and Adrian Bird. "The molecular basis of MeCP2 function in the brain." *Journal of molecular biology* 432.6 (2020): 1602-1623.
227. Vanterpool, Elaine, and Ronelle Dorant. "MECP2 and its interaction with Attention Deficit Hyperactivity Disorder." (2024).
228. Wen, Zhu, et al. "Identification of autism-related MECP2 mutations by whole-exome sequencing and functional validation." *Molecular autism* 8 (2017): 1-10.
229. Ho, Karen S., et al. "Chromosomal microarray analysis of consecutive individuals with autism spectrum disorders using an ultra-high resolution chromosomal microarray optimized for neurodevelopmental disorders." *International journal of molecular sciences* 17.12 (2016): 2070.

8. EKLER

8.1 EK 1. Etik kurul onayı



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Etik Kurulu
Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği



Sayı : E-84026528-050.99-2400085742
Konu : Başvuru İncelenmesi

23.03.2024

Sayın Prof. Dr. Fatma SILAN

Yürütücülüğünüzü yapmış olduğunuz 2024-YÖNP-0188 nolu projeniz ile ilgili Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Komisyonu'nun almış olduğu 21.03.2024 tarih ve 04/41 sayılı kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

KARAR 41- Sorumlu yürütücülüğünü **Prof. Dr. Fatma SILAN**'ın yaptığı ve proje araştırmacısı **Arş. Gör. Dr. Nihan Ecmel TURAN** tarafından gerçekleştirilen "Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Hastalarda Array CGH ve Yeni Nesil Dizileme Analizi Yöntemlerinin Retrospektif Olarak Karşılaştırılması" başlıklı araştırmanın, Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Komisyonu ilkelerine **uygun** olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Doç. Dr. Derya GİRGİN
Kurul Başkanı