

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI ÇOCUKLAR
VE AİLELERİNDE *ALFA SİNÜKLEİN*'İN
ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Mukaddes BADILLI KARACA**

**Danışman
Doç. Dr. Elif Funda ŞENER**

Yüksek Lisans Tezi

**HAZİRAN 2022
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI ÇOCUKLAR
VE AİLELERİNDE *ALFA SİNÜKLEİN*'İN
ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan
MUKADDES BADILLI KARACA**

**Danışman
Doç. Dr ELİF FUNDA ŞENER**

**Bu Çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi Tarafından TYL-2021-10996 Kodlu Proje ile
Desteklenmiştir.**

**HAZİRAN 2022
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu Kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Mukaddes BADILLI KARACA

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Otizm Spektrum Bozukluğu Tanili Çocuklar ve Ailelerinde Alfa Sinükleinin Araştırılması” adlı yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Mukaddes BADILLI KARACA

İmza

Danışman

Doç. Dr. Elif Funda ŞENER

imza

Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD Başkanı

Prof. Dr. Zuhale HAMURCU

İmza

Doç. Dr. Elif Funda ŞENER danışmanlığında **Mukaddes BADILLI KARACA** tarafından hazırlanan “**Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuklar ve Ailelerinde Alfa Sinüklein’in Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik** Anabilim Dalı **yüksek lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

...../...../.....

(Tez savunma sınav tarihi yazılacaktır.)

JÜRİ:

Danışman: **Doç. Dr. Elif Funda ŞENER**

Üye: **Doç. Dr. Didem Behice ÖZTOP**

Üye: **Doç. Dr. Esra DEMİRCİ**

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü yönetim kurulunun Tarih ve Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimine başladığım ilk günden beri her türlü bilgi ve desteğini esirgemeyen, tez çalışmam süresince her türlü sıkıntıda yanına koştüğüm ve tezimin her aşamasında bilgi ve birikiminden faydalandığım özellikle birçok konuda gösterdiği anlayışı ve sabrından dolayı danışmanım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Elif Funda ŞENER'e çok teşekkür ederim.

Fikir ve laboratuvar tecrübelerinden faydalandığım tez sürecimde ve her konuda destek olan Reyhan TAHTASAKAL'a ve Sağlık Teknikeri Fatma DAL'a teşekkür ederim.

Bu tezin tüm aşamalarında çok büyük emeği geçen ve birçok konuda yardımlarını esirgemeyen Halime DANA, Emre TUĞHAN ve Şeyda Nur PİRENCİOĞLU'na teşekkür ederim.

Tezim için gerekli hastaları temin etmemde bana destek olan çok değerli Doç. Dr. Esra DEMİRCİ ve Dr. Mürşide ŞAHİN'e teşekkür ederim

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini sürekli yanımda gördüğüm çok değerli aileme, her zaman yanımda olan ve aldığım her kararımda destek olup gözeten, daha ileriye gitmem için yüreklendiren, tez sürecimde desteğini esirgemeyen canım eşim Adnan KARACA'ya teşekkür ederim.

Tez savunma jüri üyelerime, çalışmamı yürüttüğüm Erciyes Üniversitesi Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK) çalışanlarına teşekkür ederim.

MUKADDES BADILLI KARACA

Kayseri, Haziran 2022

OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANILI ÇOCUKLAR VE AİLELERİNDE *ALFA SİNÜKLEİN*'İN ARAŞTIRILMASI

Mukaddes BADILLI KARACA

Erciyes Üniversitesi, Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Haziran 2022

Danışman: Doç. Dr. Elif Funda ŞENER

ÖZET

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), erken çocukluk döneminde başlayan ve yaşam boyu süren, klinik olarak heterojen nörogelişimsel bozuklukların bir grubudur. *Alfa sinüklein*, *SNCA* geni tarafından kodlanır. Bu gendeki mutasyonların, birçok nörodejeneratif hastalıkta ortaya çıkan *alfa sinüklein* birikimi ile sonuçlandığı gösterilmiştir. *Alfa-sinüklein*'in fizyolojik işlevleri kesin olarak bilinmemekle beraber, hücre nükleusunda histonlar, transkripsiyon faktörleri gibi nükleer proteinler ve çeşitli promotorlar ile etkileşerek gen ekspresyonunu modüle edebileceği öne sürülmüştür. Bu tez çalışmasında DSM-V tanı kriterlerine göre OSB tanısı konulan 50 hasta ve 25 sağlıklı kontrol üzerinde araştırma yapıldı. Aile temelli yaptığımız bu çalışma ile *SNCA* geninin OSB etiolojisine olası katkısını aydınlatabilmek için hasta çocukları hem sağlam kardeşleri hem anneleri hem de sağlıklı kontroller ile karşılaştırarak bu genin hem ekspresyon profilindeki değişimlerini hem de protein düzeyini belirlemeyi, bu bulguların klinik şiddet ile uyumlu olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Hasta ve kontrol grubunda *SNCA* gen ekspresyonunun hastalarda kontrollere göre azaldığı görülse de bu farklılık anlamlı değildir. Hastaların anneleri ile kontrol grubunun annelerinin *SNCA* gen ekspresyonunun karşılaştırıldığında ise anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. Hastalarda kontrol grubuna göre *alfa sinüklein* serum seviyesinin anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. Tüm hastaların anneleri ile kontrol grubunun annelerinin *alfa sinüklein* serum seviyesi karşılaştırıldığında anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada genel olarak azalan *alfa sinüklein* seviyeleri tespit etmekle birlikte, elde ettiğimiz bulgular literatür için ilktir. Yeni yapılacak çalışmalarda *SNCA* gen ekspresyonunun ve *alfa sinüklein* serum düzeyinin daha fazla otizm hastasında

ve ailelerinde ek olarak hastaların babalarında araştırılması ve elde edilen sonuçların bu hastalarda belirlenen diğer klinik bulgularla karşılaştırılmasını önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Otizm Spektrum Bozukluğu, Gen ekspresyonu, ELISA, SNCA, Alfa Sinüklein



INVESTIGATION OF *ALPHA SYNUCLEIN* IN CHILDREN DIAGNOSED WITH AUTISM SPECTRUM DISORDER AND THEIR FAMILIES

Mukaddes BADILLI KARACA

Erciyes University, Gevher Nesibe Genome and Stem Cell Institute

Department of Molecular Biology and Genetics, Master Thesis, June 2022

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elif Funda Şener

ABSTRACT

Autism spectrum disorder (ASD) is a group of clinically heterogeneous neurodevelopmental disorders that begin in early childhood and last throughout life. *Alpha synuclein* is encoded by the *SNCA* (*Synuclein Alpha*) gene. Mutations in this gene have been shown to result in the accumulation of *alpha synuclein*, which occurs in many neurodegenerative diseases. Although the physiological functions of *alpha-synuclein* are not known precisely, it has been suggested that it can modulate gene expression by interacting with nuclear proteins such as histones, transcription factors, and various promoters in the cell nucleus. In this thesis study, 50 patients diagnosed with ASD according to DSM-V diagnostic criteria and 25 healthy controls were investigated. In this family-based study, we aimed to determine the changes in the expression profile and protein level of this gene by comparing the sick children with both their healthy siblings, their mothers and healthy controls in order to elucidate the possible contribution of the *SNCA* gene to the etiology of ASD, and to investigate whether these findings are compatible with clinical severity. Although it was observed that *SNCA* gene expression was decreased in the patient and control groups, this difference was not significant. When the *SNCA* gene expression of the mothers of the patients and the mothers of the control group were compared, it was determined that there was a significant decrease in *SNCA* gene expression. It was determined that the serum level of *alpha synuclein* was significantly decreased in the patients compared to the control group. When the mothers of all patients and the mothers of the control group were compared, the serum level of *alpha synuclein* was found to be significantly reduced. Although we detected generally decreased *alpha synuclein* levels in this study, our findings are the first in the literature. We suggest that *SNCA* gene expression and *alpha-synuclein* serum level should be investigated in more autistic patients and their families, in addition to their fathers, and the results should be compared with other clinical findings in these patients in future studies.

Key Words: Autism Spectrum Disorder, Gene expression, ELISA, *SNCA*, *alpha-synuclein*

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	ii
ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR ve SİMGELER	x
TABLolar LİSTESİ	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUKLARI.....	4
2.1.1. Tanımı ve Tarihçesi	4
2.1.2. Otizm Spektrum Bozuklukları.....	5
2.2. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUKLARI İLE İLİŞKİLİ BAZI GENETİK SENDROMLAR	6
2.2.1. Asperger Sendromu	6
2.2.2. Fragile X Sendromu	6
2.2.3. Rett Sendromu	7
2.3. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUKLARINDA EPİDEMİYOLOJİK ÇALIŞMALAR.....	7
2.4. EPİGENETİK DEĞİŞİMLERİN OTİZME ETKİSİ	8
2.5. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNUN GENETİK YÖNÜ	12
2.5.1. Aile ve İkiz Çalışmaları.....	14
2.5.2. Kopya Sayısı Değişimleri (CNV).....	15
2.5.3. Moleküler Genetik Çalışmalar	16
2.6. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNUN NÖROLOJİSİ	17
2.7. ÇEVRESEL FAKTÖRLERİN OTİZME ETKİSİ	18
2.8. ALFA SİNÜKLEİN YAPISI	19

2.9. ALFA SİNÜKLEİN FİZYOLOJİSİ.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Tezde Kullanılan Cihazlar.....	24
3.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar	24
3.3. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Grupları	25
3.4. Kan Örneklerinin Alınması	27
3.4.1. Kandan Total RNA İzolasyonu	27
3.4.2. Total RNA'dan cDNA Sentezi	28
3.4.3. Kantitatif Real Time PCR ile SNCA geninin ekspresyonunun araştırılması	29
3.5. Rölatif Kantitasyon	30
3.6. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	30
3.7. Alfa-Sinüklein için ELISA Protokolü	31
3.8. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
4.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	33
4.2. SNCA Geninin Ekspresyon Sonuçları	35
4.3. ELISA Sonuçları	40
4.4. Korelasyon Sonuçları	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
6. KAYNAKÇA.....	52
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

AS	: Asperger sendromu
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADDM	: Developmental Disabilities Monitoring Network /Gelişimsel Engellileri İzleme Ağı
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention/Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
CNV	: Kopya Sayısı Değişimleri
CARS	: Childhood Autism Rating Scale
DSM-V	: Diagnostic and Statistical Manual of Mental
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DEHB	: Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FXS	: Fragile X Sendromu
ID	: Intellectual Disability/ Bilişsel Gerilik
MAM	: Membrane Associated With Mitochondria/ Mitokondri Ile İlişkili Zar
MSS	: Merkezi sinir sistemi
miRNA	: MikroRNA
ml	: Mililitre
NAC	: Non-Amyloid Component/Amiloid Olmayan Bileşen
OD	: Optical density /Optik yoğunluk
OSB	: Otizm Spektrum Bozukluğu

PD	: Parkinson's disease/Parkinson Hastalığı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
RT	: Reverse Transkriptase
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism / Tek Nükleotid Polimorfizmi
SNCA	: <i>Sinüklein Alfa</i>
Trizol	: Total RNA Isolation Reagent
QRT-PCR	: Kantitatif Real -Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu
μL	: Mikrolitre

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Otizm spektrum bozukluğu ile ilişkili bazı epigenetik değişiklikler	11
Tablo 2.2. Otizm Spektrum Bozukluğu ilişkili birkaç aday gen listesi	13
Tablo 3.1. Cihazlar Listesi.....	24
Tablo 3.2. Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler Listesi	25
Tablo 3.3. Otizmlili Hastaların Çalışmaya Dahil Edilme ya da Edilmeme Nedenleri	26
Tablo 3.5. cDNA Sentezi için Hazırlanan Reaksiyon Karışımı	28
Tablo 3.6. Ekspresyon Çalışması için Hazırlanan Karışım	29
Tablo 3.7. LightCycler 480 II Software Programında Kullanılan Program ve Süreleri	29
Tablo 3.6. Standartların Seyreltilme Miktarları.....	31
Tablo 4.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Gruplarının ve Kontrollerin Demografik Özellikleri.....	33
Tablo 4.2. Otizmlili Hastalardaki Klinik Bulgular.	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Nörogelişimsel bozukluklarda rol oynayan yolaklar gösterilmiştir	18
Şekil 2.2. Alfa Sinüklein protein yapısı	21
Şekil 2.3. Fizyolojik işlevi ve patolojik aktiviteleri ile ilişkili <i>alfa sinüklein</i> konformasyonlarının şeması	22
Şekil 2.4. <i>Alfa sinüklein</i> toksisitesinde rol oynayan yolaklar.	23
Şekil 4.1. <i>SNCA</i> gen ekspresyonu. Hastaları gruplara ayırmadan 50 hasta ve 25 kontrolde <i>SNCA</i> gen ekspresyonu sonuçları.	35
Şekil 4.2. Hastaları gruplara ayırdığımızda <i>SNCA</i> gen ekspresyonu. 1. grubun (kardeş olmayan grup) <i>SNCA</i> gen ekspresyonu sonuçları.	36
Şekil 4.3. <i>SNCA</i> gen ekspresyonu. 2. grubun (kardeş olan) <i>SNCA</i> gen ekspresyonu sonuçları.	37
Şekil 4.4. Hastaları yaş gruplarına göre ayırdığımızda kardeşi olmayan ile kardeşi olan yaş gruplarına göre <i>SNCA</i> gen ekspresyonu sonuçları.....	39
Şekil 4.5. CARS skoruna göre <i>SNCA</i> gen ekspresyonu.	40
Şekil 4.6. Hastaları gruplara ayırmadan 50 hasta ve 25 kontrolde <i>alfa sinüklein</i> serum seviyesinin sonuçları.....	40
Şekil 4.7. Hastalar gruplara ayrıldığında serum seviyesi sonuçları.	41
Şekil 4.8. Kardeşi olmayan grupta yaşlara göre serum seviyesinin analizi	42
Şekil 4.9. Kardeşi olan grupta yaşlara göre serum seviyesinin analizi.....	43
Şekil 4.10. Hastaların tamamı CARS skoruna göre gruplandırıldığında serum seviyesinin analizi	43
Şekil 4.11. Korelasyon Sonuçları	44

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), erken çocukluk döneminde başlayan ve yaşam boyu süren nörolojik ve gelişimsel bir durumdur (Shen ve ark., 2019). Anormal davranışın gözlemlenmesi, sosyal iletişim ve etkileşimin bozulmasına odaklanan kriterler ve kısıtlı, tekrarlayan davranış biçimleri, ilgi alanları veya faaliyetlerle tanının temelini oluşturur (Masi ve ark., 2017). Semptomların şiddeti çok fazla değişkenlik göstermektedir ve genellikle, epilepsi, anksiyete, uyku, gastrointestinal bozukluklar ve özellikle zihinsel engellilik ile birleşir (Cheroni ve ark., 2020).

OSB'nin tezahürü ve şiddetindeki çarpıcı heterojenliğe rağmen, en çok tekrarlanan bulgulardan biri, bozukluğun erkek baskınlığıdır. OSB'nin erkek: kadın oranı 4,5:1 olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte, zihinsel engeli olmayan OSB'li erkeklerin kadınlara oranı 6-16:1'dir ve orta-ağır düzeyde zihinsel engeli olanlar için erkek kadın oranı yaklaşık 1-2:1'dir (Krishnan, 2018).

OSB klinik ve etiyolojik olarak heterojendir. Otistik bozukluğu olan hastalarda gözlenen çok sayıda semptom, OSB'nin hem genetik hem de çevresel çoklu etiyolojik faktörlere sahip olduğunu düşündürmektedir (Wiśniowiecka-Kowalnik ve Nowakowska, 2019).

Hastalık çeşitli nörobiyolojik faktörlerle ilişkili olup güncel çalışmalar neticesinde sebepleri konusunda daha fazla bilgi sahibi olunmaya başlanmıştır (Schepici ve ark., 2019). OSB etiyolojisi ve patogenezinin anlaşılmasına yönelik önemli gelişmelerin yanı sıra artan sosyal farkındalık ve daha yoğun araştırmalara rağmen, OSB semptomlarını çözmek için başarılı bir şekilde etkili ilaçlar geliştirilmemiştir. Bu nedenle, "hastalığı modifiye edici" ajanlar olarak işlev görebilecek daha iyi tedaviler ve daha erken OSB teşhisi ve hastalık evresi tespiti için yeni biyobelirteçler bulunmasına ihtiyaç vardır

(Baranova ve ark., 2021). Bu nedenle, OSB tedavisi için yeni hedeflerin ve etkili terapötik yaklaşımların geliştirilmesi zorunlu hale gelmiştir (Şener ve ark., 2016).

Tanı kriterlerindeki sık değişiklikler, hastalık fenotiplerinin çeşitliliği, etiyoloji ve dünya çapında uyumlu veri toplama stratejilerinin eksikliği nedeniyle OSB prevalansını tanımlamak zordur (Baranova ve ark., 2021).

OSB, çoklu ailesel kalıtım kalıpları ve potansiyel olarak dahil olan 1000'e kadar gen tahmini ile güçlü ve karmaşık bir genetik bileşene sahiptir (Ramaswami ve Geschwind, 2018). OSB'ye katkıda bulunan genler, sinaptik yapı ve fonksiyon, hücre içi sinyalleşme, transkripsiyon regülasyonu ve kromatin yeniden şekillenmesi dahil olmak üzere beyin gelişimi ve fonksiyonunun yönleri üzerinde yakınsama ile çeşitli biyolojik fonksiyonlarda yer almaktadır (Hyman ve ark., 2019). OSB'na katkıda bulunan genlerin ve genomik bölgelerin tanımlanmasındaki son gelişmeler, bir dizi psikiyatrik bozukluk için genetik riskin doğasını ve OSB'nin biyolojisini anlamamız üzerinde geniş bir etkiye sahiptir (Freitag, 2017).

Sinükleinler, fonksiyonları henüz tam olarak bilinmeyen çözünebilir proteinlerin bir ailesidir. *Alfa sinüklein* 140 aminoasitten oluşan ufak, asidik bir proteindir. *Alfa sinüklein*'in fizyolojik işlevleri kesin olarak bilinmemekle beraber, proteinin presinaptik yerleşimi, membran yapıları ve çeşitli sinaptik proteinlerle etkileşimi sinaptik aktivitede rolü olabileceğini düşündürmektedir. *Alfa sinüklein*'in hücre nükleusunda histonlar, transkripsiyon faktörleri gibi nükleer proteinler ve çeşitli promotorlar ile etkileşerek gen ekspresyonunu modüle edebileceği öne sürülmüştür (Loureiro, Campêlo ve Silva, 2017). Yapılan literatür incelemesine göre *SNCA* (*Alfa sinüklein*) geni ve otizm ilişkisine yönelik birkaç çalışma mevcuttur (El-Ansary ve ark., 2021; Siddique ve ark., 2020; Kadak ve ark., 2015; Al-Mazidi ve Al-Ayadhi 2021; Sriwimol ve Limprasert 2018; Abou-Donia ve ark., 2019). Bu tez çalışmasında DSM-V tanı kriterlerine göre OSB tanısı konulan 50 hasta, anneleri, sağlıklı kardeşleri ve 25 sağlıklı kontrol ve anneleri üzerinde araştırma yapıldı. Aile temelli yaptığımız bu çalışma ile *SNCA* geninin OSB etiyolojisine olası katkısını aydınlatabilmek için hasta çocukların hem sağlam kardeşleri hem anneleri ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırmayı, diğer grupta da sadece hasta çocuklar ve annelerini kontrolleri ile karşılaştırarak bu genin hem

ekspresyon profilindeki değişimlerini hem de protein düzeyini belirlemeyi, ayrıca bu bulguların klinik şiddet ile uyumlu olup olmadığını belirtmeyi amaçladık.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUKLARI

2.1.1. Tanımı ve Tarihçesi

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB), çocuklarda yaygın olarak görülen nörogelişimsel bir bozukluktur. Yaşa uygun olmayan, bozulmuş sosyal iletişim ve stereotipik davranışların varlığı ile karakterizedir. Bu bozukluğun genetik, epigenetik ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık etkileşimden kaynaklanan serebral işlev bozukluğundan kaynaklandığı varsayılmaktadır (Mukherjee, 2017). OSB genellikle yaşamın ilk 3 yılında teşhis edilmekte ve yaşam boyu sürmektedir. OSB; otistik bozukluk, Asperger sendromu, çocukluk dezintegratif bozukluğu gibi yaygın gelişimsel bozuklukları da içermektedir (Gürsoy ve ark., 2019). OSB'li bireyler sıklıkla, işlevsellik ve yaşam kalitesini daha fazla etkileyen çeşitli tıbbi, gelişimsel, davranışsal veya psikiyatrik durumlarla birlikte ortaya çıkar. Sıklıkla çocuklarda tanımlanan birlikte ortaya çıkan durumlar OSB yetişkinliğe kadar devam eder (Bennett ve ark., 2018). OSB heterojen bir hastalıktır ve semptomların şiddeti etkilenen bireyler arasında büyük farklılıklar gösterir (Peretti ve ark., 2019). OSB'nin altında yatan etiyolojik ve nörobiyolojik mekanizmalar karmaşıktır ve otizm spektrumundaki bireyler arasında klinik ve nörobiyolojik fenotipte önemli ölçüde heterojenlik vardır (Ecker ve ark., 2017). OSB'nin altında yatan biyolojinin anlaşılmasının zor olmasının nedenlerinden biri, iyi tanımlanmış bir sistemdeki veya biyolojik mekanizmadaki anormalliklerden ziyade birçok biyolojik sistem arasındaki etkileşimi içeriyor gibi görünmesi gerçeğidir. Bu nedenle OSB, iyi bilinen hastalıkların kurallarına uymamaktadır (Frye, 2020). Populasyondaki yaygınlığın artmasıyla birlikte, anlaşılması zor ama bir o kadar da yaygın olan OSB'nin nedenlerine artan ilgi düzeyi haline geldi²⁵. OSB ilk olarak 1940'larda Amerikalı çocuk psikiyatrisi Dr. Leo Kanner tarafından “duygusal temas bozukluğu” ve “otistik

psikopatlık” olarak tanımlandı (Green ve ark., 2019). Psikiyatri, 1980 yılına kadar otizmi çocukluk şizofrenisinin bir parçası olarak kabul etti. Çocukluk şizofrenisinin bir alt tipi olan ve temel özelliklerin derin bir sosyal anlayış eksikliği ve aynılık ihtiyacı olarak tanımlandığı monolitik bir sendrom olarak karakterize edildi (Frye, 2018). Kanner, gözlemlerine ve ebeveynlerinin çocuklarının davranışlarıyla ilgili ayrıntılı açıklamalarına dayanarak, 'otistik duygusal temas bozukluğu' olan 11 çocuğun ayrıntılı vaka geçmişlerini sağladı. Bu çocuklarda gözlemlediği temel özellikler, iletişimsel dil kullanımı eksikliği, aynılığın korunması, etkinliklere sınırlı ilgi ve el çırpma ve döndürme gibi basmakalıp ve tekrarlayan davranış kalıpları, daha sonra yeni çocuk gruplarında da bu durum tekrarlandı (Harris, 2018). Diğer bilim insanları, bir otizm teşhisi için gerekli davranışsal özellikleri tanımlama girişiminde çeşitli anketler düzenleyerek Kanner'ı takip etti. Wing, otizmin bir “üçlü bozukluk” olarak kavramsallaştırılabileceğini öne sürdü (yani, iletişimde bir eksiklik, sosyal etkileşimde bir eksiklik ve zayıf hayal gücü ile sonuçlanan katı düşünme) (D’gama ve ark., 2021). Ornitz, otizmin bir duyuşal işlev bozukluğu olduğunu öne sürerken, Rutter ve Prior, başlangıçta otizmin temelde bilişsel bir eksiklik olduğuna inandılar (Shulman ve ark.,2020). Otizm, 1980’de “infantil otizm”, 1987’de “otistik bozukluk” olarak adlandırıldı (Won, Mah ve Kim, 2013). Günümüzdeki klasik tanımı, yavaş yavaş, çok daha fazla nörogelişimsel değişkenliğe sahip daha hafif otistik fenotipleri içeren daha geniş bir tanım olan otizm spektrum bozukluğuna dönüştü (Graf ve ark., 2017).

2.1.2. Otizm Spektrum Bozukluğu

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), günlük işleyişi önemli ölçüde etkileyen bir dereceye kadar olağandışı veya tekrarlayan ilgi alanları veya davranışlarla birlikte bozulmuş sosyal iletişim ve etkileşim ile karakterizedir (Shattuck ve ark., 2020). Ayrıca, bilişsel yetenek, dil gelişiminin hızı ve epilepsi veya dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozuklukları gibi diğer tanılarının komorbiditesini içeren çok çeşitli fenotipik varyasyonlar mevcuttur. OSB, becerilerin ve işleyişin heterojenliği ile karakterize karmaşık bir nörogelişimsel bozukluktur (Cheung ve Lau, 2020).

OSB, bozulmuş sosyal etkileşim, azalan sözlü ve sözlü olmayan iletişim ve tekrar eden davranışlar gibi davranışsal gözlemler temelinde teşhis edilmektedir (Yeniçeri, 2020). OSB'li bazı kişiler sözel değildir veya yalnızca basit cümlelerle konuşur, diğerleri ise

sözlü olarak yeteneklidir ancak sosyal iletişim ve pragmatik dil ile ilgili sorunları vardır, öyle ki konuşmada uygunsuz tepkiler verirler, sözlü olmayan iletişimi yanlış anlarlar veya yaşına uygun yeterlilikten yoksundurlar (Christensen ve Zubler, 2020).

OSB'nin kökeninin bilinip bilinmemesine bağlı olarak, bozukluk sendromik ve sendromik olmayan OSB olmak üzere iki alt gruba ayrılabilir. Sendromik OSB, iyi karakterize edilmiş bir etiyolojiye sahip vakaları içerirken, sendromik olmayan OSB vakalarının, bozukluğun gelişimine katkıda bulunan çok sayıda faktörle birlikte daha az tanımlanmış bir etiyolojisi vardır (Pensado-López ve ark., 2020).

2.2. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU İLE İLİŞKİLİ BAZI GENETİK SENDROMLAR

2.2.1 Asperger Sendromu

Asperger Sendromu, geniş otizm spektrum bozuklukları ailesinin bir parçası olan nörogelişimsel bir bozukluktur. Asperger sendromlu kişiler sosyal etkileşimlerde, sözlü ve sözsüz iletişimde güçlük çekerler ve klişeler ve sınırlı ilgilerle davranışsal tuhaflıklar gösterebilirler. Dil gecikmesi göstermezler ve bilişsel gelişimleri genel bir gecikmeyle değil, yürütücü işlevler gibi belirli alanlardaki belirli bozukluklarla tespit edilmektedir (Mirkovic ve Gérardin 2019). OSB'deki dilsel ve bilişsel gelişim korunur, bu da onu OSB'nin diğer alt türlerinden ayırt etmemize yardımcı olmaktadır (Faridi ve Khosrowabadi, 2017).

Asperger Sendromu 1940 yılında çocuk doktoru Hans Asperger tarafından tanımlandı. Normal dil gelişimi ve zekâsı olan erkek çocuklarda iletişim ve sosyal etkileşimde otizm benzeri zorluk belirtileri gözlemledi. Pek çok sağlık uzmanı, Asperger'in OSB'nin küçük bir formu olduğunu öne sürmüştü ve bundan etkilenen çocukları tanımlamak için “yüksek işlevli otizm” terimini kullanmıştır (Upadhyay ve ark., 2021).

2.2.2. Fragile X Sendromu

Mevcut literatür, nörogelişimsel bozukluklarda sosyal dikkat ve sosyo-davranışsal profiller arasında bağlantılar kurmaktadır. Fragile X Sendromu (FXS), sosyal kaygının bilinen bir sosyo-davranışsal fenotipi ve yüksek sosyal motivasyonun yanı sıra sosyal iletişim güçlükleri ile ilişkilidir (Crawford ve ark., 2017). Frajil X sendromu, kalıtsal

zihinsel engelliliğin en yaygın biçimlerinden biridir. Aynı zamanda otizm spektrum bozukluklarının iyi bilinen bir monogenik nedeni olmaktadır (Zhou ve ark., 2019).

FXS ve OSB'ler, klinik ve genetik olarak farklı olsalar da, önemli bir komorbiditeyi paylaşırlar, bu da muhtemelen sinapta ortak bir moleküler ve/veya hücresel temel olabileceğini düşündürmektedir (Bagni ve Zukin, 2019). OSB'nin semptomları FXS'li hastalarda sıklıkla gözlenmesine rağmen, araştırmacılar FXS'li hastalardaki semptomların OSB'si olmayan veya sendromik olmayan OSB'li hastalardaki semptomlardan farklı olup olmadığını henüz net olarak belirleyememiştir. FXS ve OSB arasındaki davranışsal benzerlikler ve farklılıklar, OSB'nin FXS ile nedenlerini ve korelasyonlarını anlamamızı geliştirmek için önemli olmaktadır (Niu ve ark., 2017).

2.2.3.Rett Sendromu

Rett Sendromu ilk olarak 1966 yılında Viyanalı çocuk doktoru Andreas Rett tarafından Almanca olarak tanımlanmıştır (OMIM 312750), çok çeşitli nörolojik ve davranışsal özellikler ile karakterize ciddi ve ilerleyici bir nörogelişimsel bozukluktur. Etkilenen bireylerin önemli bir kısmı OSB için tanı kriterlerini karşılamaktadır (Banerjee ve ark., 2019). Rett sendromu gibi bir genetik bozukluğun birçok belirtisinden birini temsil etmektedir (Persico ve ark., 2019).

2.3. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNDA EPİDEMİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

OSB prevalansı son yıllarda dramatik bir şekilde artış göstermektedir. OSB tüm ırksal, etnik ve sosyoekonomik gruplarda görülür, ancak teşhisi bu gruplar arasında tek tip olmaktan uzak kalmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), OSB'nin uluslararası yaygınlığını %0.76 olarak tahmin etmektedir; ancak bu, küresel çocuk nüfusunun yalnızca yaklaşık %16'sını oluşturmaktadır (Hodges, Fealko ve Soares, 2020). OSB, dünyadaki tüm ülkelerde son yirmi yılda en hızlı büyüyen gelişimsel engellilik durumudur. 1960-1989 döneminde otizm hem Avrupa'da hem de Amerika'da 10.000'de bir ile nadir görülen bir hastalık iken, DSÖ şu anda dünyada 1000 çocuktan 62'sinde OSB olduğunu tahmin etmektedir. 3-17 yaş arası Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) çocuklarda, ebeveyn raporlarına göre OSB tanısının tahmini prevalansı 1/40 olmaktadır (Strunecka ve Strunecky, 2019).

ABD’de 2012 yılında yapılan bir araştırma, prevalansın 1000’de 14.5 (69’da bir) olduğunu göstermiştir. Tahmini prevalans erkekler arasında (1.000’de 23.4), kızlara göre (1000’de 5.2) önemli ölçüde daha yüksek olmaktadır (Tavares ve ark., 2021).

İsveç’te yapılan epidemiyolojik çalışmada, 0-17 yaş arası çocuklarda prevalans, neredeyse %250’lik bir artışla 2001’de 4.20/1000’den 2011’de 14.4/1000’e taşındı. Bu artış temel olarak zihinsel engeli olmayan çocuklarda/ergenlerde gözlenen OSB prevalansındaki büyük artıştan kaynaklanmıştır. Almanya’da 2006 ile 2012 yılları arasında yapılan çalışmada 6-11 yaş arası çocuklar, tahminen 6.00/1000 ile en yüksek prevalansı gösterdi. İran’da 6-18 yaşındaki çocuklar için ağırlıklı OSB prevalansı tahmini yaklaşık 1,60/1000 olmaktadır (Chiarotti ve Venerosi, 2020).

ABD’de OSB’nin tahmini prevalansı, 2000 yılından bu yana Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) Otizm ve Gelişimsel Engellileri İzleme Ağı (ADDM) tarafından izlenmektedir ve her yıl OSB oranlarında artışlar görülmektedir. 2000 yılında OSB prevalansı 1/150 idi, 2006’da 1/110 iken 2012’de 1/68’e yükseldi. 2016 yılı baz alınarak 2020’de yayınlanan en son raporda ise 1/54’e yükselerek bu oran artmaktadır (Como ve ark.,2021). Bugüne kadar yapılan epidemiyolojik çalışmalar OSB sıklığının dünya nüfusunun %1’in üzerinde olduğunu rapor etmiştir (Peretti ve ark., 2019). Daha yeni çalışmalar %2’den fazla yaygınlık oranları bildirmektedir (Taylor ve ark., 2020).

OSB ile ilişkili artan prevalans hastalığın ciddiye alınması gerektiği göstermekte ve önemli ekonomik ve sosyal maliyetler göz önüne alındığında, altta yatan etiyolojileri daha iyi anlamak ve durum için iyileştirilmiş tedaviler bulmak için sürekli çaba gösterilmesi kritik öneme sahip olmaktadır (Mostafavi ve Gaitanis, 2020).

2.4. EPIGENETİK DEĞİŞİMLERİN OTİZME ETKİSİ

Otizm spektrum bozukluğunun karmaşık patofizyolojisi, genetik ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimleri kapsar. Bir yandan, epigenetik düzenleme ve sinaptik işlev gibi seçici biyolojik alanlarda işlevsel düzeyde birleşen yüzlerce genin, otizmin ya nedensel ya da risk faktörleri olduğu belirlenmiştir (Cheroni, Caporale ve Testa, 2020). Epigenetik, gen ekspresyonundaki değişiklikleri ifade eder, buradaki değişiklikler gerçek DNA dizisinin modifikasyonundan kaynaklanmaz, bunun yerine DNA yapısını ve ekspresyonunu düzenleyen modifikasyonlardan kaynaklanır. Epigenetik faktörler, iç

(hücre) ve dış ortamlara yanıt olarak dalgalanabilir, bu da OSB gibi durumlarda gen-çevre etkileşimleri hakkında bilgi vermelerine izin verebilir (Wagner ve ark., 2020). Tablo 2.1’de Otizm spektrum bozukluğu ile ilişkili bazı epigenetik değişiklikler verilmiştir (Eshraghi ve ark., 2018).

Epigenetik kontrol, doğrudan DNA modifikasyonunun yanı sıra, DNA’nın, histonların ve kodlamayan RNA ile ilgili faktörlerin üç boyutlu (3B) yapısındaki ve paketlenmesindeki modifikasyonlar şeklini de alabilir. Kromatin dinamik bir yapı olmaktadır. Transkripsiyon faktörleri için erişilebilirliği, DNA metilasyonunun yanı sıra asetilasyon, fosforilasyon ve histonların metilasyonu dahil olmak üzere belirli modifikasyonlarla belirlenmektedir (Forsberg, Ilieva ve Maria Michel, 2018). Bu modifikasyonlar, DNA’nın kimyasal modifikasyonlarını, histon kuyruklarının modifikasyonlarını ve çekirdek içinde kromatin organizasyonu ve yeniden şekillenmeyi içermektedir. Kalıtsal moleküler bozukluklar, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve DNA erişilebilirliğini ve kromatin yapısını değiştirerek gen ekspresyon paternlerini düzenleyen kodlayıcı olmayan RNA’daki (ncRNA) değişiklikler gibi epigenetik modifikasyonları içermektedir (Smith ve ark., 2020).

Kodlamayan RNA’ların ve RNA modifikasyonlarının aracılık ettiği klasik olmayan mekanizmalarla birlikte, ya transkripsiyon faktörlerinin ve diğer enzim komplekslerinin düzenleyici DNA elementlerine bağlanma yeteneğini modüle ederek ya da post transkripsiyonel mekanizmalar yoluyla topluca gen ekspresyonundaki değişikliklere katkıda bulunan epigenetik ağı oluşturmaktadırlar (Bludau ve ark., 2019). Bu epigenetik modifikasyonların beyin gelişimindeki önemi iyi bilinmektedir. Bu modifikasyonlardan sorumlu enzimlerde ve proteinlerde bulunan genetik mutasyonlar, nörogelişimsel bozukluklar da dahil olmak üzere birçok insan hastalığında epigenetik düzensizlikle ilişkilendirilmektedir (Tremblay ve Jiang, 2019).

DNA metilasyonu, DNA dizisini değiştirmeden çevresel etkilere yanıt olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan epigenetik faktörlerden biridir. Son zamanlarda, yapılan çalışmalar, OSB etiolojisinde DNA metilasyonunun bir rolü olduğunu göstermektedir (Kimura ve ark., 2019).

Gerçekten de, DNA metilasyonunu, histon proteinlerinin translasyon sonrası modifikasyonlarını ve transkripsiyonel düzenlemeleri içeren epigenetik mekanizmalar, muhtemelen sigara, alkol, obezite ve yetersiz beslenme gibi maternal yaşam tarzı faktörlerinden etkilenebilir (Eshraghi ve ark., 2018).

Histon modifikasyonlarını kontrol eden proteinlerin düzensizliği OSB ile ilişkilidir. Genel olarak, histon H3'ün dördüncü lizin tortusu üzerindeki trimetilasyon olan H3K4me3, açık kromatin oluşumunda ve gen aktivasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Spesifik olarak, H3K4me3, gen transkripsiyonel başlangıç bölgesine kromozom yeniden modelleme faktörlerini alır ve hipokampal öğrenme ve hafıza için gerekli olan farklılaşma, büyüme ve plastisitenin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Yoon ve ark., 2020).

H1 bağlayıcı histon proteinlerinin, nükleozom filamentlerinin daha yüksek sıralı yapılara katlanmasına ve gen transkripsiyonunun modülasyonuna ek olarak kromozomal DNA'nın organizasyonuna ve stabilizasyonuna katkıda bulunduğu inanılmaktadır (Duffney ve ark., 2018).

Tablo 2.1. Otizm spektrum bozukluğu ile ilişkili bazı epigenetik değişiklikler verilmiştir (Eshraghi ve ark., 2018).

Epigenetik Mekanizma	Bulgular	Doku	Referanslar
DNA metilasyonu	Prolin açısından zengin transmembran protein 1 (<i>PRRT1</i>) geninin daha düşük metilasyonu	Beyin	Ladd-Acosta ve ark., 2014
DNA metilasyonu	Plasental metilom analizi ile OSB deneklerinden plasentada daha yüksek metilasyon	Plasenta	Schroeder ve ark., 2016
Maternal astım ile ilişkili DNA metilasyonu	<i>FAM181A</i> , <i>CHFR</i> ve <i>AURKA</i> Genlerinin hipermetilasyonu	Kan	Gunawardhana ve ark., 2014
Maternal astım ile ilişkili DNA metilasyonu	<i>MAP8KIP3</i> ve <i>NALP1L5</i> 'te hipometilasyon	Kan	Gunawardhana ve ark., 2014
Epigenetik Proteinler	Tet metilsitozin dioksijenazların -1,-2 ve-3'ün artan ifadesi	Beyin	Zhubi ve ark., 2017
Epigenetik Proteinler	DNA metiltransferaz 1'in (<i>DNMT1</i>) ekspresyonunda azalma	Beyin	Zhubi ve ark., 2017
Histon Modifikasyonları	Sendromik ve idiyopatik OSB vakalarının %68'inden fazlasında gözlenen>5.000 cis düzenleyici elementte ortak bir asetilom imzası.	Beyin	Güneş ve ark., 2016
MikroRNA (miRNA) Düzensizliği	OSB'de aşağı regüle edilen nöronal genleri hedefleyen hsa-miR-21-3p miRNA'nın yukarı regülasyonu.	Beyin	Wu ve ark., 2016
MikroRNA (miRNA) Düzensizliği	Nöral gelişim ve bağışıklık fonksiyonunda rol oynayan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) sinyal yollarını düzenleyen aşağı regülasyonu.	Beyin	Wu ve ark., 2016

2.5.OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNUN GENETİK YÖNÜ

OSB'nin güçlü bir genetik temeli olmasına rağmen, etiyolojisi karmaşıktır ve çevresel etkilerle etkileşimlerin yanı sıra çeşitli genetik faktörlerin dahil olması muhtemeldir. Bundan dolayı OSB, heterojen nedenlere sahip bir koşullar koleksiyonunu temsil etmektedir (H.Wong ve Hoeffler, 2018). Otizmin genomdan güçlü bir şekilde etkilendiği bilinmektedir daha önceki spekülasyonların aksine, kalıtsallık tahminlerinin aralıkları genellikle ~% 50 veya % 55 olmaktadır (Meltzer ve Van De Water, 2017). Genetik değişkenliğin, OSB'nin heterojenliğine önemli bir katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Yüksek verimli genomik yöntemler, OSB gen havuzunu hızla artırmakta ve bunu yaparken OSB heterojenliği ile ilişkili genetik değişkenliği genişletmektedir (Masi ve ark., 2017). OSB ile ilişkili genlerin ve risk varyantlarının belirlenmesi, OSB araştırmasının ana odak noktası olmuştur. Sıralama teknolojisindeki gelişmeler ve büyük genomik veri kümelerinin mevcudiyeti ile güçlendirilmiş de-novo gen mutasyonları ve yaygın poligenik varyantlar dahil olmak üzere birçok yeni OSB risk varyantı tanımlanmıştır (Choi ve An, 2021). Birçok OSB risk geni, sinaptik oluşum, transkripsiyonel düzenleme ve kromatin yeniden şekillenmesi dahil olmak üzere kritik işlevleri paylaşmaktadır (Trinh ve ark., 2020). **Tablo 2.2'de** Otizm Spektrum Bozukluğu ilişkili birkaç aday gen listesi verilmiştir (Masini ve ark.,2020). Birçok gen varyantı, ortak biyolojik yollar veya etkileşimler üzerinde etkilidir ve otizmde potansiyel bir nedensel rol oynayabilir, ancak OSB'nin genetik etiyolojisi ve patogenezi büyük ölçüde belirsiz kaldığından, otizm genetiğini klinik uygulamaya çevirmedeki mevcut zorlukları ele almak için daha fazla araştırma yapmak gerekmektedir (Genovese ve Butler, 2020). Geçtiğimiz on yılda, OSB patofizyolojisinde genetiğin katkısı, hastalıkla bağlantılı yüzlerce farklı genetik polimorfizmle kapsamlı bir şekilde belirlenmiştir. Çalışmalar, monozigotik ikizlerde %80-90 arasında değişen uyum oranlarıyla OSB'nin güçlü bir kalıtsallık bileşenine sahip olduğunu göstermiştir. (Ravaccia ve Ghafourian 2020).

Tablo 2.2. Otizm Spektrum Bozukluğu ilişkili birkaç aday gen listesi (Masini ve ark., 2020).

KATEGORİ	GEN SEMBOLÜ	GEN ADI	DEĞİŞİKLİKLER
Kromatin düzenleyiciler	<i>ATRX</i>	ATRX Kromatin Yenileyici	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı
	<i>AUTS2</i>	Otizme yatkınlık adayı 2	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, ters çevirme, yer değiştirme
	<i>CHD2</i>	Kromodomain sarmal DNA bağlayıcı protein 2	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı
	<i>CHD7</i>	Kromodomain sarmal DNA bağlayıcı protein 7	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, yer değiştirme
	<i>CHD8</i>	Kromodomain sarmal DNA bağlayıcı protein 8	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, kopya sayısı kazancı; yer değiştirme
Transkripsiyon faktörleri/düzenleyiciler	<i>ADNP</i>	Aktiviteye bağlı nöroprotektör homeobox	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı
	<i>FOXP1</i>	Forkhead kutusu G1	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, kopya sayısı kazancı; yer değiştirme
	<i>FOXP1</i>	Forkhead kutusu P1	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, ters çevirme; yer değiştirme
	<i>FOXP2</i>	Forkhead kutusu P2	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, yer değiştirme
	<i>POGZ</i>	ZNF alanlı Pogo aktarılabılır öge	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, kopya numarası kazancı
	<i>RAI1</i>	Retinoik Asit Kaynaklı 1	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, kopya numarası kazancı
mRNA bağlama ve düzenleyicisi	<i>FMR1</i>	Frajl X zekâ geriliği 1	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı
Protein bozulması	<i>UBE3A</i>	Ubiquitin protein ligaz E3A	Mutasyonlar; kopya sayısı kazancı

Hücre büyümesi/ Çoğalması	<i>DYRK1A</i>	Çift özgüllük tirozin-(Y)-fosforilasyonla düzenlenen kinaz 1A	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, ters çevirme; yer değiştirme
	<i>NF1</i>	Nörofibromin 1	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı
	<i>PTEN</i>	Fosfataz ve tensin homologu	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı
	<i>SYNGAP1</i>	Sinaptik Ras GTPaz aktive edici protein 1	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, yer değiştirme
	<i>TSC1/TSC2</i>	Tuberoskleroz 1/2	Mutasyonlar
Protein Modifikasyonu	<i>CDKL5</i>	Sikline bağımlı kinaz benzeri 5	Mutasyonlar; kopya sayısı kaybı, kopya sayısı kazanç translokasyonu

2.5.1. Aile ve İkiz Çalışmaları

Genetiğin rolünün bilinmediği bir zamandan, ikiz ve aile çalışmalarının otizmin en yüksek kalıtsal bozukluklardan biri olduğunu gösterdiği bir döneme geçilmiştir (Thapar ve Rutter, 2021). OSB'deki genetik faktörler üzerine ilk çalışmalar, etkilenen bireyler tarafından birlikte kalıtılan kromozomal bölgeleri tanımlamayı amaçlayan multipleks ailelerde yapılan genetik bağlantı çalışmaları şeklindedir (Ramaswami ve Geschwind 2018). OSB etiyolojisinde genetiğin katkısını destekleyen erken kanıtlar, etkilenen monozigotik ikiz çiftlerinde yüksek bir uyum oranı (%90) gösteren ikiz çalışmalarından gelmektedir. Daha yakın tarihli araştırmalar, monozigotik ikizlerde %88, dizigotik ikizlerde %31 ve kardeşlerde %18.7 uyum oranları ile OSB'de yüksek bir nüks oranı göstermiştir (Fakhoury, 2018). Aile ve ikiz çalışmaları, OSB'lerin yüksek oranda kalıtsal olduğunu ve fenotipik varyansın ~%65-90'ının genetik faktörlerle açıklanabileceğini göstermektedir. Bu kayda değer kalıtılabilirliğe rağmen, genetik mimarileri karmaşık ve oldukça heterojen olduğundan, hem yaygın hem de nadir kalıtsal ve ayrıca OSB etiyolojisine katkıda bulunan *de novo* genetik varyantlar ile zorlu olmaktadır (Bralten ve ark., 2018).

Aile çalışmaları bir çocuğun gelişme riskinin çok daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca, etkilenen probandların kardeşleri ve ebeveynlerinin, OSB'li çocuklarda görülen sosyal ve iletişimsel eksikliklere çarpıcı biçimde benzer, ancak

onlardan daha hafif otistik özellikler sergileme olasılığı daha yüksektir OSB ailesi verilerinin istatistiksel analizi, sporadik otizmin kısmen bir dizi önemli lokustan herhangi birini hedef alan ebeveyn germ hattı mutasyonlarından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bu genler, sinaptik iletim ve nöronal plastisite dahil olmak üzere birçok temel merkezi sinir sistemi (MSS) sürecinden sorumludur (Srivastava ve Sahin, 2017). Son on yılda, çok sayıda büyük ölçekli aile temelli tüm ekzom ve genom dizileme çalışmaları, OSB bağlantılı, hızla artan sayıda gen tanımlamıştır. Sporadik OSB'li (simpleks) veya birden fazla etkilenen bireyli (multipleks) aile kohortlarını içeren bu çalışmalar, çeşitli kalıtım modellerine sahip nadir veya yaygın varyantların keşfiyle sonuçlanmaktadır (Ayhan ve Konopka, 2019). Aile öyküsü olmayanlar, kromozomal mikroyarray analizi ve kopya sayısı varyasyonları (CNV'ler) için DNA problemleri ve karşılaştırmalı genomik hibridizasyon kullanılarak kromozom düzeyinde CNV'ler veya delesyonlar/duplikasyonlar açısından daha büyük risk altında olabilmektedir (Genovese ve Butler, 2020).

2017 yılında Sandin ve ark., 37.570 ikiz çifti, 2.642.064 tam kardeş çifti, 432.281 anne üvey kardeş çifti ve 445.531 baba üvey kardeş çifti üzerinde bir araştırma yaptı. OSB için kalıtılabilirlik oranının %83 olduğunu ve tek başına ikiz çalışmalardan elde edilen OSB kalıtılabilirlik oranının %87 olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuçlar, genetik faktörlerin çevresel faktörlere kıyasla daha büyük bir etkisi olduğunu göstermiştir (Imamura ve ark., 2020).

2.5.2. Kopya Sayısı Değişimleri (CNV)

OSB'nin altında yatan genler hakkındaki bilgilerin çoğu, orta ila yüksek riskli varyantları tanımlayan çalışmalardan gelmektedir. 400'den fazla gendeki varyantların ve birkaç CNV'lerin (silme ve çoğaltma olayları) hastalık için yüksek ila orta riskli varyantları temsil edebileceği tahmin edilmektedir (Griesi-Oliveira ve Sertié, 2017). CNV'ler, normal gen kopyası sayısındaki değişiklikleri temsil eder ve delesyon, insersiyon, duplikasyon ve karmaşık çok bölgeli varyantları içerir. OSB yatkınlık genleri, çeşitli kromozomlarda, özellikle 2q, 5p, 7q, 15q, 17q ve X kromozomunda lokalize olmuştur. Delesyon ve duplikasyon, translokasyon ve inversiyon dahil olmak üzere CNV'leri içeren kromozomların yapısal varyasyonu, OSB'de önemli bir role sahip olmaktadır (Brundin, Dave ve Kordower, 2017). Yaygın olarak en çok tekrarlayan OSB

ile ilişkili CNV'ler, OSB bireylerinin yaklaşık %1'inde tanımlanan 16p11.2 bölgesindeki yaklaşık 600 kb'lık mikrodelsiyonlar ve mikroduplicasyonlardır. Vakaların en az %15'inde, çoğunlukla tek bir gen bozukluğu veya CNV'ler nedeniyle tanımlanabilir genetik bir durum olmaktadır (Haakonsen Smith ve ark., 2018). CNV kalıtsal olabilir veya *de novo* olarak ortaya çıkabilir. Birçok gen bu değişikliklerden etkilenebilir, ancak hepsi mutlaka hastalık etkeni olmamaktadır. CNV, artık OSB duyarlılığına son derece önemli bir katkıda bulunan faktör olarak anlaşılmaktadır ve mevcut tahminler, bu varyasyonların doğrudan OSB vakalarının yaklaşık %10'una neden olduğunu varsaymaktadır (Rylaarsdam ve Guemez-Gamboa, 2019).

OSB genetiğinin anlaşılmasında, OSB'nin önemli nedenleri olarak, CNV'ler ve protein kodlayan genleri bozabilecek nokta mutasyonları da dahil *de novo* mutasyonların tanımlanmasında son on yılda büyük ilerleme kaydedilmiştir (Zhou ve ark., 2019). Özellikle, *de novo* CNV'ler, OSB vakalarındaki simpleks ailelerde, etkilanmemiş kontrollerdekine kıyasla daha yüksek bir frekansta meydana gelirken, kalıtsal CNV'ler, benzer frekanslarda meydana gelmektedir bu durum *de novo* CNV'lerin, OSB'nin genetik mimarisini belirleyen önemli bir risk faktörü olduğunu düşündürmektedir (Choi ve An 2021). *De novo* CNV'lerin toplam yükü, etkilenenlerde etkilanmeyen bireylere göre daha yüksek olmasına rağmen, aynı CNV'lerin çoğu, etkilanmeyen bireylerde de meydana gelir ve hangi değişikliklerin hastalığa neden olabileceğinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Chahrour, Kleiman ve Manzini, 2017). Toplanan veriler, OSB'li ve nedensel CNV'leri barındıran bireylerin, nedensel olmayan CNV'leri olan veya CNV'si olmayan bireylere göre daha şiddetli OSB semptomları ve dil becerilerinde daha ciddi eksiklikler sergilediğini göstermiştir. Önemli olarak, *de novo* olayların çoğu, OSB ile ilişkili tekrarlayan lokuslarla örtüşmektedir (Vicari ve ark., 2019).

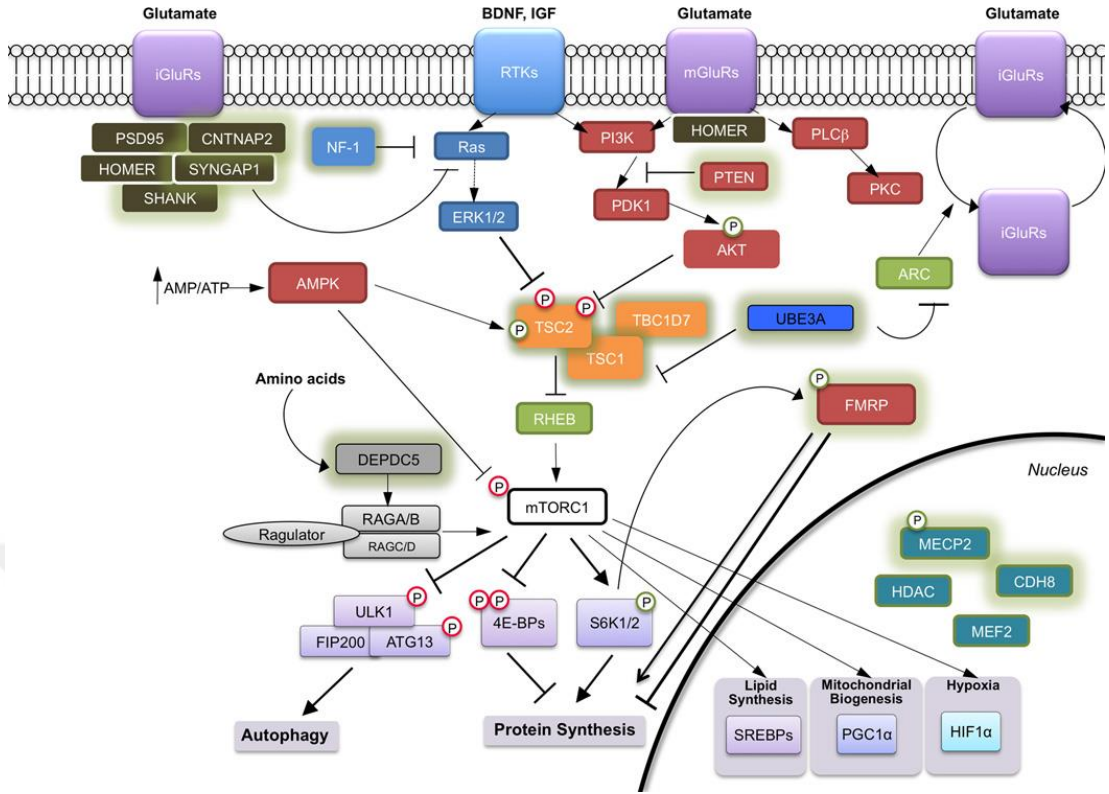
2.5.3.Moleküler Genetik Çalışmalar

Son on yılda, otizm üzerine yayınlanan moleküler genetik bulgulara önemli bir artış yaşanmaktadır. Tıp ve psikiyatri alanlarında, spesifik varyantlar ile bozukluk veya özellikler arasındaki bağlantıları araştırmak için genom çapında araştırmalar yapılmaktadır (Thapar ve Rutter, 2021). Tanımlanan her OSB yatkınlık geni, OSB'nin altında yatan hücresel mekanizmalara yeni bir ışık tutmaktadır. OSB genlerinin çoğu

birkaç ana sinyal yolunda birleşir: transkripsiyonel kontrol ve kromatin yeniden şekillenmesi, protein sentezi ve hücrel metabolizma ve sinaps gelişimi ve işlevi. Bu hücrel süreçlerin birçoğu nöronlar ve nöronal olmayan hücreler arasında paylaşılırken, beyinde özellikle OSB ile ilgili roller oynuyor gibi görünmektedirler (Sahin ve Sur, 2015). Genetik testlerden elde edilen veriler, çevresel risk faktörleriyle karşılaştırıldığında genetik varyasyonun nörogelişimsel bozuklukların gelişimine daha büyük bir nedensel katkısı olduğunu göstermektedir. Gerçekten de, modern teknikler artık ciddi nöropsikiyatrik bozukluğu olan hastaların yarısından fazlasında genetik etiyolojilerin tanımlanmasıyla sonuçlanmaktadır, bu sayının teknolojiye gelişmeler ve hastalık-gen keşfi ile artması beklenmektedir (Blesson ve Cohen, 2020).

2.6. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNUN NÖROLOJİSİ

Otizm spektrum bozukluğu, beyin anatomisi ve bağlanabilirlikteki farklılıklarla ilişkili, yaşam boyu süren heterojen bir nörogelişimsel durumdur. Yine de, OSB'de beyin atipik gelişimini destekleyen moleküler ve hücrel mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır (Ecker ve ark., 2017). OSB'li bireylerde mutasyona uğramış genlerin çoğu, birkaç ortak nöronal süreçte rol oynar. Bunlar çekirdekte transkripsiyonel kontrol ve kromatin yeniden şekillenmesi ve protein sentezi olmaktadır. **Şekil 2.1'de** nörogelişimsel bozukluklarda rol oynayan yolların özeti gösterilmiştir (Sahin ve Sur, 2015). Bununla birlikte, nörolojik bozukluğu olan çocukların, nörolojik bozukluğu olmayanlara göre OSB tanısı alma şanslarının ve OSB ile ilişkili sorunların daha yüksek oranda olduğu bildirilmektedir (Varghese ve ark., 2017). Ryland ve meslektaşları tarafından 11-13 yaşındaki çocuklar arasında yapılan bir çalışmada, nörolojik bozukluğu olanların, nörolojik bozukluğu olmayanlara kıyasla OSB semptomları için bir tarama aracında önemli ölçüde daha yüksek puanlara sahip olduğu bulundu. Bu çalışmanın bulguları ayrıca nörolojik bozukluğu olan çocukların %14.1'inin önemli OSB semptomlarına sahip olduğunu göstermiştir (Arinda, Nakasujja ve Odokonyero, 2021). OSB, beyin anatomisi ve bağlanabilirlikteki farklılıklarla ilişkili, yaşam boyu süren heterojen bir nörogelişimsel durumdur. Yine de, OSB'de beyin atipik gelişimini destekleyen moleküler ve hücrel mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır (Ecker ve ark., 2017).



Şekil 2.1. Nörogelişimsel bozukluklarda rol oynayan yollar gösterilmiştir (Sahin ve Sur, 2015).

2.7. ÇEVRESEL FAKTÖRLERİN OTİZME ETKİSİ

OSB, sosyal etkileşim/iletişim zorlukları ve kısıtlayıcı, basmakalıp davranış kalıpları ile karakterize karmaşık nörogelişimsel bozukluk olarak tanımlanır (Williams Buckley ve ark., 2020). Nörogelişimsel bozuklukların prevalansındaki şiddetli artış, çevresel faktörlerin önemli bir rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir. Hayvan çalışmaları, normalde sinir sistemine çok az veya hiç zarar vermeyen düşük dozda çevresel nörotoksik maddelere maruz kalmanın, fizyolojik gelişim/olgunlaşma aktivitelerinde kalıcı bir değişikliğe yol açabileceğini göstermiştir (Ijomone ve ark., 2020). Ancak, son kanıtlara göre, OSB sorumluluğundaki varyansın %40-50'ye varan kısmı çevresel faktörler tarafından belirlenmektedir. Sigara ve alkol kullanımı, beslenme gibi faktörler OSB riski ile güçlü anlamlı bir ilişki göstermektedir (Modabbernia, Velthorst ve Reichenberg, 2017).

Çevresel kirleticilere (oksitleyici maddeler, ağır metaller, herbisitler ve pestisitler), ışığa duyarlılaştırıcılar, UV ışığı veya iyonlaştırıcı radyasyona uzun süre maruz kalma,

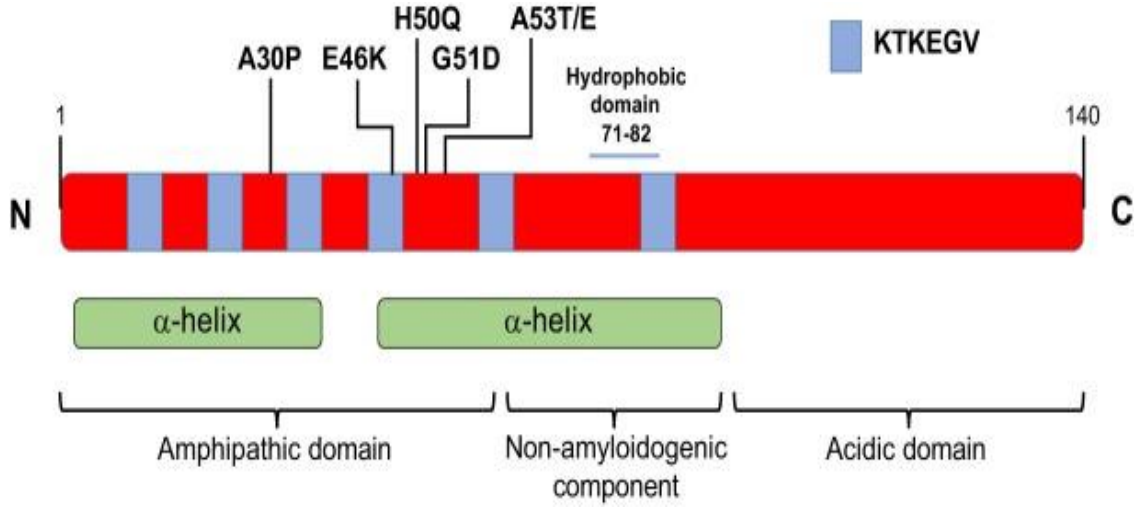
potansiyel nedensel faktörler olarak incelenmiştir (Björklund ve ark., 2020). Belirgin bir şekilde, yetersiz emzirme uygulamaları, yüksek düzeyde D vitamini eksikliği, böcek ilaçlarına ve ağır metallere artan maruz kalma, OSB'ye potansiyel olarak önemli katkıda bulunan faktörler olabilir. Çeşitli çevresel faktörler ile OSB prevalansı arasında önemli bağlantılar olduğu fikrini desteklemektedir (Virolainen, Hussien ve Dalibalta, 2020). OSB'de araştırılan biyolojik çevresel risk faktörleri arasında anne ve baba yaşı, obezite, diyabet, hipertansiyon veya ultrason muayeneleri), perinatal ve obstetrik olaylar, ilaçlar gibi çevresel faktörlerin OSB'nin otistik davranışları ve klinik varyantlarını oluşturabileceği pek çok varsayılan mekanizma olsa da, inflamasyon ve immün aktivasyon, oksidatif stres, hipoksi ve endokrin bozulmalar muhtemelen atipik nörogelişime katkıda bulunmada en önemli olanlardır (Bölte, Girdler ve Marschik, 2019).

2.8. ALFA SİNÜKLEİN YAPISI

Alfa-sinüklein (α -Syn), yaklaşık 30 yıl önce keşfedilen 140 amino asitli bir proteindir. Bu proteini kodlayan gen, insanlarda kromozom 4 üzerinde bulunur ve genomda yaklaşık 114 kb bölgeyi kapsamaktadır. *Alfa-sinüklein*, β ve γ *sinüklein* gibi diğer iki üyenin de bulunduğu ve bunları kodlayan genlerin türler arasında iyi korunduğu bir sinüklein proteinleri ailesine aittir (Guhathakurta ve ark., 2017). Merkezi sinir sisteminde (MSS), *alfa sinüklein* esas olarak nöronlar tarafından ifade edilir ve çoğunlukla presinapslarda lokalize olmaktadır. *A-sinüklein*'in N-terminali, amfipatik bir alfa-sarmal yapısı oluşturduğu tahmin edilen yedi yüksek oranda korunmuş heksamerik motif içermektedir (Peng, Gathagan ve Lee, 2018). *Alfa sinüklein*, üç alandan oluşan bir proteindir: N-terminal amfipatik alan, amiloidojenik olmayan bileşen (bir hidrofobik çekirdek içerir) ve C-terminal asidik alan. KTKGV kusurlu tekrarları, amfipatik alan ve insan *alfa sinüklein* 'in amiloidojenik olmayan bileşeni boyunca uzanır. **Şekil 2.2'de** *alfa sinüklein* yapısı gösterilmiştir (Pozo Devoto ve Falzone, 2017). *A-sinüklein*'in N terminal bölgesi, amfipatik bir a-sarmal oluşturan yedi yüksek oranda korunmuş 11 amino asit tekrar dizisinin varlığı ile karakterize edilir. Bu amfipatik bölgenin varlığı, proteinin zarlara bağlanmasını sağlar. Bunu *alfa sinüklein*'in hidrofobik veya amiloid olmayan bileşen (NAC) bölgesi takip eder. Bu bölge amiloidojeniktir ve protein agregasyonundan sorumludur (Mehra, Sahay ve Maji, 2019). Burada, amfipatik N

terminali ve NAC bölgesi, kusurlu KTKEGV heksamerik motiflerden oluşan yedi tekrar bölgesi içerirken, C terminali 10 Glu ve 5 Asp tortusu içerir ve bu nedenle yüksek net negatif yüke sahiptir (Ugalde ve ark., 2019). N-terminalinin proteini zarlara tutturması önerilmiştir, NAC alanının zar özelliklerini ve *alfa sinüklein* agregasyonunu algılamada bir rol oynadığı öne sürülmüştür ve C-terminali, translasyon sonrası modifikasyonların yanı sıra etkileşimlerin ana bölgesidir. Diğer proteinler ve iyonlar; bununla birlikte, C-terminalinin de Ca^{2+} varlığında membranlarla etkileşime girdiği gösterilmiştir. *A-sinüklein* önemli bir yapısal esneklik sunmaktadır (Bozelli ve ark.,2021). *SNCA* geni tarafından kodlanan *alfa sinüklein*, genel olarak üç alana bölünebilen 14 kDa'lık bir polipeptittir. *A-sinüklein* en kapsamlı olarak araştırılan içsel olarak düzensiz proteinlerden (IDP'ler) biridir. Ağırlıklı olarak presinaptik terminallerde lokalize olan ve küçük sinaptik veziküllere bağlanan bol miktarda nöronal bir proteindir (D'onofrio, Munari ve Assfalg, 2020).

A-sinüklein, zenginleştirilmiş bir presinaptik lokalizasyon ile nöronlardaki toplam protein içeriğinin %1'ini oluşturur. Ayrıca, sitozol, çekirdek, mitokondri ve mitokondri ile ilişkili zarlarda (MAM'ler) bulunan nöronlar içinde yaygın olarak dağıldığı da rapor edilmiştir (Pozo Devoto ve Falzone, 2017). Biyolojik sıvılarda (kan serumu veya plazma ve beyin omurilik sıvısı) *alfa sinüklein* oligomerlerinin tespiti, Parkinson Hastalığında bir biyobelirteç olarak kullanım potansiyeli nedeniyle özellikle ilgi çekicidir (Srinivasan ve ark.,. 2021). Oligomerik formu, tanısal bir biyobelirteç olarak, hastalığın ilerlemesinin bir biyobelirteç olarak ve gelecekte belki de yeni tedavilere yanıtın bir göstergesi olarak kullanımlara sahip olabilmektedir (Bengoa-Vergniory ve ark., 2017).



Şekil 2.2. *Alfa-Sinüklein* protein yapısı (Pozo Devoto ve Falzone, 2017).

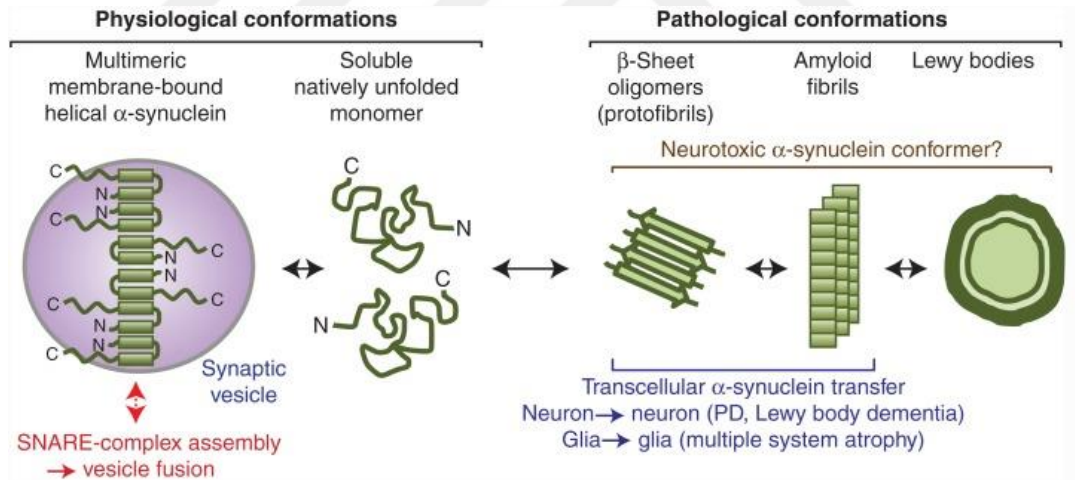
2.9. ALFA-SİNÜKLEİN FİZYOLOJİSİ

Alfa-sinüklein, fizyolojik işlevi, hala tam olarak anlaşılmamış olsa bile, sürekli olarak sinaptik işlev ile ilişkili olan bol miktarda nöronal bir proteindir. *Alfa-sinüklein* 'in çoklu sinyal yollarına müdahale ederek nörodejenerasyondan sorumlu olduğunu göstermektedir. *Alfa-sinüklein* genindeki tek nokta mutasyonları, duplikasyonları ve tripplikasyonun otozomal dominant Parkinson formlarıyla bağlantılı olması, tabloyu daha da karmaşıklştırmaktadır (Ottolini ve ark., 2017).

Son zamanlarda yapılan bir dizi çalışma, hücre dışı *alfa sinüklein*'in hücre yüzeyi reseptörleri için spesifik bir ligand görevi gördüğünü ileri sürmektedir. Hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanan oligomerik *alfa sinüklein*, sinyalin hücrelere iletilmesini indükler ve Ca^{2+} düzensizliği, sinaptik işlev bozukluğu, nörodejenerasyon, bilişsel eksiklik, vb. dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik reaksiyonlara neden olur (Surguchev, Emamzadeh ve Surguchov, 2019). *Alfa-sinüklein*'in spesifik formları, örneğin, oligomerler ve biyolojik membranlar arasındaki etkileşimler, son zamanlarda büyük ilgi görmüştür, çünkü *alfa sinüklein* kümelerinin, muhtemelen hücre zarı ile etkileşime girerek lipid düzenlemesinin bozulmasına yol açarak nöronal hücre ölümüne neden olduğu düşünülmüştür (Moons ve ark., 2020). Çözünür *alfa sinüklein* doğal olarak yapılandırılmamış ve monomeriktir. Sinaptik veziküller gibi oldukça kavisli zarlara bağlandıktan sonra, *alfa sinüklein* konformasyonel bir değişikliğe uğrar ve multimerizasyon ile ilişkili olan ve onun SNARE-kompleks şaperon işlevine aracılık

eden amfipatik bir α -helikse katlanır. Patolojik koşullar altında, çözünür *alfa sinüklein*, amiloid fibrillerine dönüşen ve sonunda Lewy cisimciklerine biriken β -tabaka benzeri oligomerler (protofibriller) oluşturur. Protofibriller ve fibriller, Parkinson hastalığında ve Lewy cisimcikli demansta nörondan nörona ve çoklu sistem atrofisinde gliadan gliaya yayılabilmektedir. **Şekil 2.3'de** *alfa sinüklein* konformasyonlarının şeması gösterilmiştir (Burré, Sharma ve Südhof, 2018).

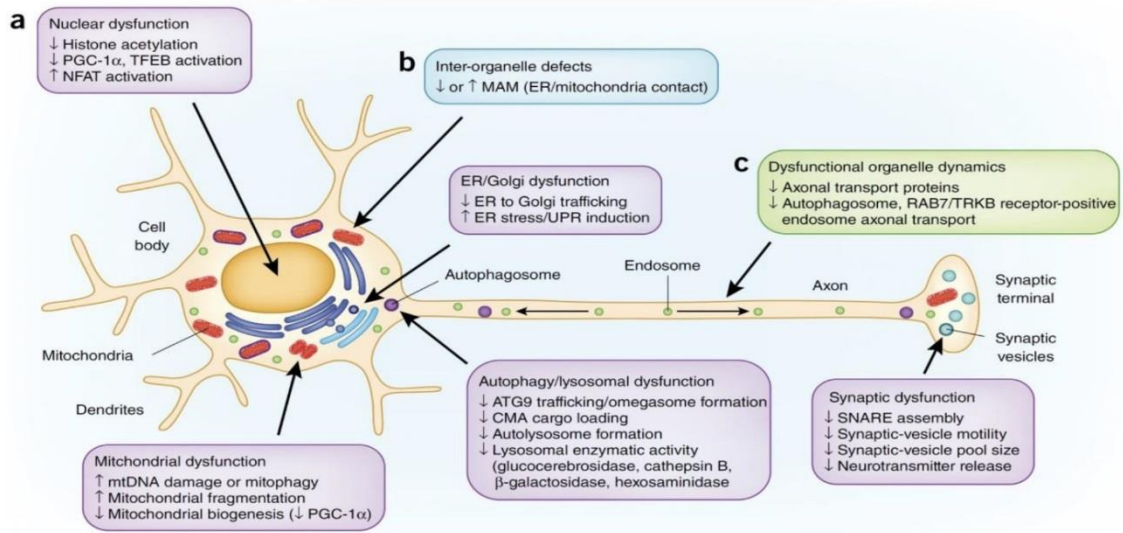
A-sinüklein beyin dokusunda, özellikle presinaptik terminallerde ve sinaptik membranlarda güçlü bir şekilde eksprese edilmektedir. Ayrıca presinaptik terminaller olarak adlandırılan özel yapılarıdaki sinir hücrelerinin (nöronlar) uçlarında bulunmaktadır (Dulak ve ark., 2020). Hücre dışı *alfa sinüklein*, hücrel toksisite ve sinaptik iletimde bozulma sergileyen patolojik öneme sahiptir. Özellikle, yanlış katlanmış *alfa sinüklein*, hücre dışı boşluk yoluyla patolojinin hücreden hücreye yayılmasını sağlar. Bununla birlikte, hücre dışı *alfa sinüklein* seviyelerini düzenleyen birincil mekanizma henüz belirlenmemiştir (Yamada ve Iwatsubo, 2018).



Şekil 2.3. Fizyolojik işlevi ve patolojik aktiviteleri ile ilişkili *alfa sinüklein* konformasyonlarının şeması (Burré, Sharma ve Südhof, 2018).

Sinir sistemi içinde, *alfa sinüklein* evrensel olarak beyinde gelişimsel olarak düzenlenmiş bir şekilde eksprese edilir. Sinüklein protein ailesi, neokorteks, hipokampus, striatum, talamus ve serebellum bölgelerindeki sinaptik terminallerde lokalize olan bir presinaptik protein ailesidir. *alfa sinüklein*, veziküler stabilizasyon, sinaptik plastisite ve dopamin sentezi ve nörotransmitter salınımının düzenlenmesi dahil olmak üzere sinaptik fonksiyonlarda kritik bir rol oynar (Sriwimol ve Limprasert,

2018). Kemirgenlerde, *alfa sinüklein* mRNA ekspresyonu geç embriyonik evrelerde başlar, doğum sonrası ilk birkaç haftada bir zirveye ulaşır ve daha sonra yavaş yavaş azalır. *A-Sinüklein* protein seviyeleri genellikle mRNA seviyelerini yansıtır, ancak yetişkinlik döneminde yüksek kalır (Burré, Sharma ve Südhof, 2018). Genetik kanıtlar, *alfa sinüklein*'nin Parkinson ve ilgili bozukluklarda nedensel bir rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir. Kısaca, *SNCA* geninin nokta mutasyonları ve duplikasyonu, Parkinsona veya nörolojik bozukluklara yol açmaktadır (Brundin, Dave ve Kordower, 2017). *Alfa-sinüklein* mutasyona uğradığında veya aşırı eksprese edildiğinde, ekzositoz, ER-Golgi taşınması, ER stresi, golgi homeostazı, endositoz, otofaji, oksidatif stres ve diğerleri dahil olmak üzere çeşitli membran bozukluklarını ve stres yollarını etkilemektedir, bunlar **şekil 2.4.**'de verilmiştir (Wong ve Krainc, 2017).



Şekil 2.4. *Alfa sinüklein* toksisitesinde rol oynayan yollar (Wong ve Krainc, 2017).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Tezde Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazların listesi Tablo 3.1’de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. Cihazlar Listesi.

ALETLER	MARKASI
-20 Buzdolabı	Siemens
-80 derin dondurucu	Binder
+4 Buzdolabı	Siemens
Kantitatif Real Time PCR cihazı	LightCycler 480 II (Roche, Almanya)
Nano drop	BioSpec-Nano (Shimadzu)
Vorteks	Heidolp
PCR cihazı	LabCycler SensoQuest, Qiagen
Soğutmalı Santrifüj	Sigma
Mikropipet	Gilson
Perfect Spin	PeQlab

3.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasal, sarf malzeme ve kitlerin listesi Tablo 3.2 ’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler Listesi

Kimyasal Maddeler ve Sarflar Malzemeler	Markası
Trizol	Roche
Kloroform	Merck
Etenol	Merck
İzopropanol	Merck
Nükleaz Free Water	BIO-RAD
cDNA Sentez Kiti	İScript cDNA Synthesis Kit
Primer	İScript cDNA Synthesis Kit
Steril eldiven	Beybi
10 µL'lik filtreli pipet ucu	Axygen
1000 µL'lik filtreli pipet ucu	Axygen
100 µL'lik filtreli pipet ucu	Axygen
Plate	Roche
1.5 ml mikrosantrifüj ependorf tüp	Greiner
0.2 ml PCR tüpü	Axygen

Bu tez çalışması; Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2021-10996 kodlu proje ile desteklenmiştir.

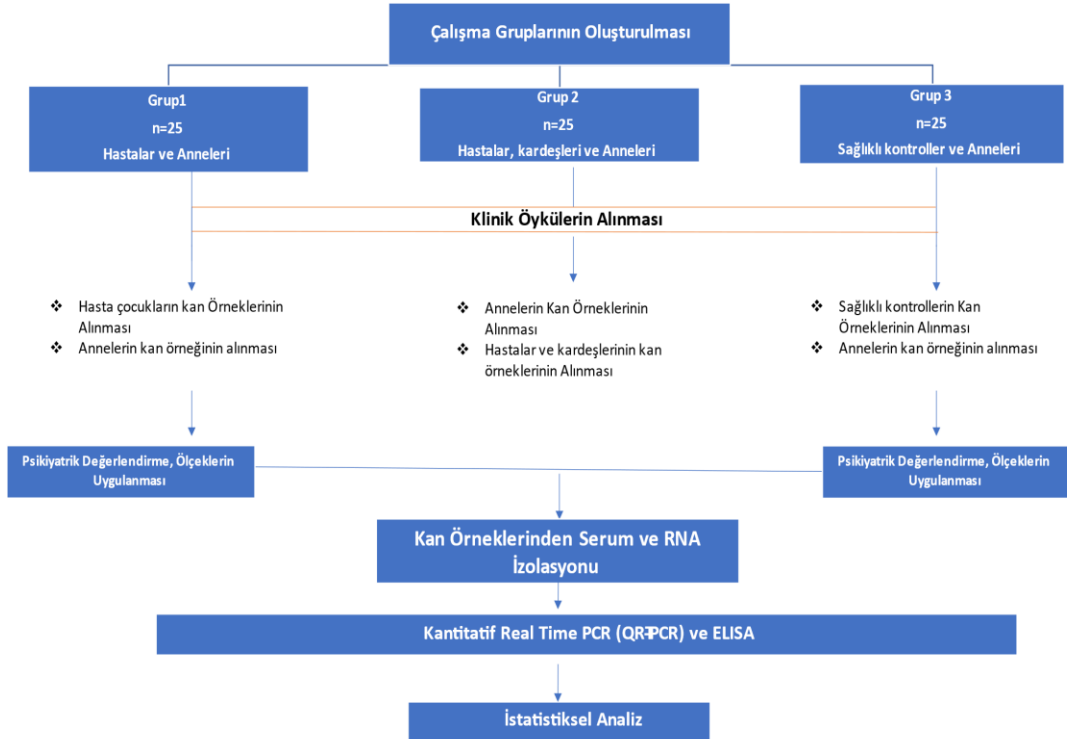
3.3.Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Grupları

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniği'ne başvuran DSM-V tanı kriterlerine göre yeni otizm tanısı almış ayrıca Childhood Autism Rating scale (CARS) ölçeğine göre şiddet değerlendirmesi yapılmış olan 2-12 yaş arası 50 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma için özellikle herhangi bir ilaç kullanmamış olmamasına ve yeni tanı almış olmaya dikkat edilmiştir. Ayrıca psikiyatrik ek tanısı bulunmayan, bilinen nörolojik, endokrinolojik ya da metabolik rahatsızlığı olmayan, herhangi bir genetik sendromlu

olmayan vakalar çalışma grubuna dahil edilmiştir. Hastaların çalışmaya dahil edilme ve edilmeme nedenleri Tablo 3.3.'te özetlenmiştir. Çalışmaya hastalar dışında aile temelli olabilmesi için çalışmaya alınan hastaların anneleri ve sağlam kardeşleri de dahil edilmiştir ve çalışma grupları tablo 3.1'de gösterilmiştir. İlk grupta 25 hasta çocuk ve anneleri, 2. grupta ise 25 hasta çocuk, sağlam kardeşleri ve anneleri yer almıştır. Bu gruplara ek olarak 25 sağlıklı birey ve anneleri çalışmaya dahil edilerek kontrol grubu oluşturulmuştur. Kontrol grubu için de danışmanlık için Çocuk Psikiyatri Anabilim Dalına başvuran 2-12 yaş aralığında herhangi bir psikiyatrik hastalığa sahip olmayan ve ilaç kullanmayan sağlıklı çocuklar çalışmaya dahil edilmiştir.

Tablo 3.3. Otizmlili Hastaların Çalışmaya Dahil Edilme ya da Edilmeme Nedenleri

Dahil Edilme Nedenleri	Dahil Edilmeme Nedenleri
1. Otizm tanısı olması	1. otizm tanısı almamış olanlar
2. ilaç kullanıyor olması	2. ilaç kullananlar
3. hastaların 2-12 yaş arası olması	3. onam vermeyi kabul etmeyenler
4. sendromik herhangi bir bozukluğu olmaması	4. sendromik herhangi bir bozukluğa sahip olanlar



Şekil 3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması ve çalışma planının özeti.

3.4.Kan Örneklerinin Alınması

Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniği'nde otizm tanısı almış hasta ve/veya hasta yakınlarından gerekli onay alındıktan sonra hastalar ve sağlıklı kontrollerin kan örnekleri iki farklı tüp içerisine alınmıştır. EDTA içeren (ml)'lik vakumlu steril tüpler içerisine 2 mililitre ve separatör jel içeren (SST) steril tüpler içerisine 5 mililitre kan alınmıştır ve deneysel çalışmalar başlatılmıştır. Alınan kanlar hemen çalışılmak üzere Genom ve Kök Hücre Merkezi'ne transfer edilmiştir. Otizmlili hastalar ve bu hastalarda yaş açısından uyumlu sağlıklı bireylerden toplanan kan örnekleri GENKÖK genom birimine gönderilmiştir. Genetik çalışmaların tamamı bu birimde gerçekleşmiştir. RNA İzolasyonu için hasta ve kontrollerden alınan kan örneklerinden TRIZol yöntemine göre total RNA izolasyonu yapılmıştır. Daha sonra RNA'ların konsantrasyonları NanoDrop kullanılarak ölçülmüştür.

Hastalardan alınan kan örneklerinde, mRNA ekspresyon seviyelerini belirlemek için kantitatif Real-Time PCR (QRT-PCR) uygulanmıştır. Bunun için; total RNA izolasyonu yapılarak, elde edilen RNA örneklerinden reverse-transkriptaz enzimi kullanılarak cDNA elde edilmiştir. Kantitatif Real Time PCR (QRT-PCR) ile *SNCA* geni ve housekeeping olarak *GAPDH* genlerinin ekspresyon seviyeleri araştırılmıştır. Tüm katılımcılardan elde edilen serumlarından *alfa sinüklein* protein miktarını belirlemek için ELISA yöntemi kullanılmıştır. Çalışmanın tüm laboratuvar aşamalarının detayları aşağıda sırasıyla açıklanmaktadır.

3.4.1. Kandan Total RNA İzolasyonu

1. Hastalar, sağlıklı kardeşleri ve anneleri ile sağlıklı kontrollerden alınan 3 ml periferik kan örneklerinden TRIZol ile (Roche, Almanya) RNA izolasyonu yapıldı.
2. 500 µl kana 500 µl trizol eklenerek vortekslendi ve buz üzerine alındı.
3. 200 µl kloroform eklenip vortekslendi
4. 1200 rpm'de 30 dk santrifüj edildi. Aköz faz yeni tüpe alındı. 1:1 oranında izopropanol eklenip altüst edildi ve bir gece -20 °C' de bekletildi.
5. 14000 rpm' de 30dk +4 °C' de santrifüj edildi.

6. Tüpe 1 ml %70'lik etanol doldurulup yıkama başlatıldı. 14000 rpm 5 dk santrifüj edildi.
7. Süpernatant atıldı. 500 µl distile su eklenip vortekslendi ve 25 µl 5M NaCl eklendi. Daha sonra tüplere 1ml absolute etanol eklendi ve tüpler alt-üst edildi. -20 °C'de bir gece bekletildi.
8. 1400 rpm 30 dk santrifüj edildi süpernatant dökülüp tüplerin ağzı ters çevrilerek kurutuldu.
9. 1 µl %70'lik etanol tüplere dolduruldu. 14000 rpm 5dk santrifüj edildi.
10. Süpernatant atıldı ve etanol uzaklaştırıldı.
11. 50 µl nükleaz free water ile resüspanse edildi.
12. En son aşamada 1/10 seyreltip nanodropta ölçüm yapıldı. RNA'nın kalitesi ve miktarı BioSpech-Nano (shimadzu) ile belirlendi.

3.4.2. Total RNA'dan cDNA Sentezi

Elde edilen RNA'lardan İScript cDNA Synthesis Kiti (BIO-RAD) kullanılarak komplementer DNA (cDNA) sentezlenmiştir. cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon karışımı Tablo 3.5'te gösterilmiştir.

Tablo 3.5. cDNA Sentezi için Hazırlanan Reaksiyon Karışımı

Distile Su + RNA	7,5 µl
Reverse transkriptaz enzim	0,5 µl
5x1script	2,5 µl

cDNA sentezi için tablo 3.5'de verilen oranlara göre soğuk blok üzerinde karışım hazırlandı. Her hastanın RNA miktarına göre distile su ile konsantrasyon miktarı 7,5 µl olacak şekilde eşitlendi. Her bir tüpe 10,5 µl karışım dağıtıldı. Hazırlanan bu karışım PCR cihazında (SensoQuest, Qiagen) 25°C'de 5 dakika, 46°C'de 20 dakika ve 95°C'de 1 dakika inkübe edilerek cDNA'lar elde edildi.

3.4.3. Kantitatif Real Time PCR ile SNCA geninin ekspresyonunun araştırılması

SNCA geninin ekspresyon düzeyi, housekeeping gen olarak *GAPDH* kullanılarak incelendi. Hibrid prob kullanılarak kantitatif Real time PCR ile SNCA geninin ekspresyonu rölatif kantitasyonla analiz edildi.

Bu amaçla Tablo 3.6’da belirtilen oranlarda karışım hazırlandı. Her bir hasta örneği iki kez çalışıldı. Her çalışmaya 2 adet negatif kontrol ve kalibratör konuldu.

Tablo 3.6. Ekspresyon Çalışması için Hazırlanan Karışım

Distile su	3 µl
Primer Forward	0,5 µl
Primer Reverse	0,5 µl
Enzim	5 µl

Tablodaki miktarlar her çalışma grubundaki hasta sayısına göre hesaplanıp, her bir kuyucuğa 9 µl olacak şekilde dağıtıldı. Seyreltilmiş cDNA’lar ise her kuyucuğa 1’er µl dağıtıldı. Kullanılan plate üzeri şeffaf bir bant ile kapatılarak, kısa süreli santrifüj edildikten sonra, LightCycler 480 II (Roche, Almanya) Kantitatif Real Time PCR cihazına yüklendi. LightCycler 480 Software açılarak aşağıda verilen tablo 3.7 programına göre çalışma başlatıldı.

Tablo 3.7. LightCycler 480 II Software Programında Kullanılan Program ve Süreleri

	Döngü sayısı	Sıcaklık	Sıcaklık artış/azalış (°C)	Süre (saniye)
Preinkübasyon	1	95	4,4	600
Amplifikasyon	40	95	4,4	10
		60	2,2	30
		72	4,4	1
Soğutma	1	40	2,2	30

3.5. Rölatif Kantitasyon

Rölatif kantitasyon yöntemi, hedef genin konsantrasyonunun başka bir referans gene oranlanarak hesaplanması işlemidir. Verilerin normalize edilmesi için kullanılacak referans gen tüm hücrelerde eksprese olan, hücre canlılığı için gerek duyulan, hücresel değişikliklerde ekspresyonu değişmeyen özellikte olmalıdır. Yukarıda bahsi geçen özellikleri taşıyan referans genlere ‘housekeeping gen’ denilmektedir. Sıklıkla kullanılan referans gen olarak *GAPDH* ve *ACTB* (b-aktin)  rnek verilebilir. Bu  alı mada *SNCA* hedef geni *GAPDH* referans geni ile çalışıldı. LightCycler 480 Software II Programından Ct değerleri elde edildi. Verilerin analizi sırasında $2^{\Delta Ct}$ metodu kullanıldı.

3.6. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Bu *SNCA* kiti, yöntem olarak sandviç-ELISA'yı kullanılmıştır. Bu kitte sağlanan mikroelisa  erit plakası, *SNCA*'ya özgü bir antikoru önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler uygun mikroelisa stripplate kuyularına eklendi ve spesifik antikoru birleştirildi.

Daha sonra, *SNCA*'ya özgü bir Horseradish peroxidase (HRP) konjuge antikoru her mikroelisa stripplate kuyucuğuna eklendi ve inkübe edildi. Serbest bileşenler yıkandı.

TMB substrat solüsyonu her kuyucuğa eklenir. Sadece *SNCA* ve HRP konjuge *SNCA* antikoru içeren kuyucuklar mavi renkte görünecek ve durdurma solüsyonunun eklenmesinden sonra sarıya dönecektir. Optik yoğunluk (OD), 450 nm Dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. OD değerleri, *SNCA* konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğri ile kar ıla tırarak numunelerdeki *SNCA* konsantrasyonu hesaplandı.

3.7. Alfa Sinüklein için ELISA Protokolü:

1. Standartların hazırlanması

Öncelikle standart küçük tüplere seyreltildi, ardından her tüpten microplate kuyucuklarına 50ml'lik hacmi pipetleyip her tüp 2 kuyucuk kullanıldı. Tablo 3.6' da Standartların seyreltilme miktarları verilmiştir.

Tablo 3.6. Standartların Seyreltilme Miktarları

180pg/ml	Standart No.1	300ml orijinal standart+150ml standart diluents
120pg/ml	Standart No.2	300ml standart no.1 +150ml standart diluent
60pg/ml	Standart No.3	150ml standart no.2 + 150ml standart diluent
30pg/ml	Standart No.4	150ml standart no.3 + 150ml standart diluent
15pg/ml	Standart No.5	150ml standart no.4 + 150ml standart diluent

2) Mikroelisa strip plakasında boş kontrol olarak bir kuyucuk boş bırakıldı. Numune kuyucuklarına, 40 ml numune seyreltme tamponu ve 10 ml örnek eklendi (dilüsyon faktörü 5'tir). Numuneler kuyu duvarına değmeden dibe yüklendi. Hafif sallayarak iyice karıştırıldı.

3) **İnkübasyon:** Kapatma plakası membranı ile kapatıldıktan sonra 37°C'de 30 dk inkübe edildi.

4) **Seyreltme:** Konsantre yıkama tamponu damıtılmış su ile seyreltildi.

5) **Yıkama:** kapatma plakası zarı dikkatlice açıldı, aspire edildi ve yıkama solüsyonunu tekrar dolduruldu. 30 sn dinlendirdikten sonra yıkama solüsyonunu atıldı. Yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.

6) Kör kontrol kuyusu dışındaki her kuyucuğa 50 ml HRP-konjugat Reaktifi eklendi.

7) **İnkübasyon:** Kapatma plakası membranı ile kapatıldıktan sonra 37°C'de 30 dk inkübe edildi.

8) **Yıkama:** Kapatma plakası zarı dikkatlice açıp, aspire edildi ve yıkama solüsyonunu tekrar dolduruldu. 30 sn dinlendirdikten sonra yıkama solüsyonunu atıldı. Yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.

9) **Renklendirme:** her bir kuyucuğa 50 ml kromojen solüsyonu A ve 50 ml kromojen solüsyonu B ekleyip, hafifçe çalkalayarak karıştırıldı ve 37°C’de 15 dk inkübe edildi.

10) **Sonlandırma:** Reaksiyonu sonlandırmak için her kuyucuğa 50 ml durdurma solüsyonu eklendi.

11) 450 nm’de bir mikrolitre plaka okuyucusu kullanarak kör kontrol kuyusunun OD değeri sıfır olarak ayarlandı. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra test 15 dk içinde yapılmalıdır.

3.8. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasında verilerin normal dağılıma uygunluğu histogram, q-q grafikleri ve Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Aşırı değerler varsa Grubs testi ile belirlenerek verilerden çıkartıldı. Grupların karşılaştırmalarında nicel değişkenler için Student t testi kullanıldı. Korelasyon analizi için Pearson korelasyon testi kullanıldı. Grafiklerin oluşturulması için GraphPad Prism (8.0 versiyon) programı kullanıldı. Verilerin analizinde $p < 0.05$ düzeyi anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmaya 2-12 yaş arası 42 erkek ve 8 kızdan oluşan 50 otizmli birey dahil edilerek 2 farklı hasta grubu oluşturulmuştur. 1.grupta 25 hasta ve anneleri, 2.grupta ise 25 hasta, kardeşleri ve anneleri çalışmaya dahil edilmiştir. 3. grup olarak da 25 sağlıklı çocuk ve annelerinden oluşan kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışmaya dahil edilen hasta gruplarının ve kontrollerin demografik özellikleri tablo 4.1’de gösterilmiştir. Bu çalışma için belirlenen hastaların 7’si DEHB, 3’ü epilepsi, 6’sı otizm tanısına ek olarak bilişsel gerilik bulgusuna sahiptir. Tablo 4.2’de çalışmaya dahil edilen OSB’li hastalar ve bu hastaların sahip oldukları klinik bulgular gösterilmiştir. Bu 50 hastanın karşılaştırılabilmesi için de seçilen hastalarla uyumlu 25 sağlıklı birey kontrol grubu olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Gruplarının ve Kontrollerin Demografik Özellikleri.

Demografi	1.Grup Otizm (n=25)	2.Grup Otizm (n=25)	3. Grup Kontrol (n=25)
Cinsiyet	22 erkek 3 kız	20 erkek 5 kız	11 erkek 14 kız
Yaş Ortalaması	6,1	7,4	6,54
Yaş aralığı	2-12	2-12	2-12

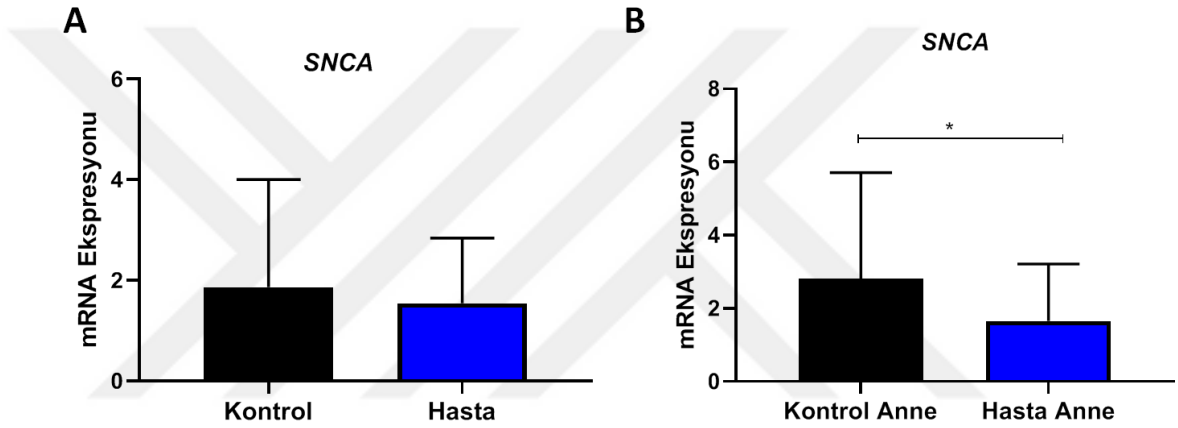
Tablo 4.2. Otizmlı Hastalardaki Klinik Bulgular.

PROTOKOL NO	YAŞ	CİNSİYET	ANNE YAŞ	EK TANI	OSB ŞİDDETİ
H-128	7	Erkek	32		Hafif
H-87	6	Erkek	33	DEHB	Hafif
H-97	7	Erkek	30		Orta
H-138	4	Erkek	46	DEHB	Hafif
H-135	5	Erkek	40		Hafif
H100	11	Erkek	24		Hafif
H-119	4	Erkek	41		Orta
H102	5	Erkek	25		Hafif
H-137	9	Erkek	34	EPİLEPSİ, DEHB	Hafif
H-125	3	Kız	35		Hafif
H-126	4	Erkek	42	DEHB, TİK, ENSEFALİT	Hafif
H-109	11	Erkek	35		Hafif
H-99	4	Erkek	25	DEHB	Orta
H-106	3	Erkek	34	Bilişsel Gerilik	Orta
H-129	3	Kız	23		Hafif
H-98	3	Erkek	26		Hafif
H-133	12	Kız	26	Bilişsel Gerilik	Ağır
H-139	3	Erkek	40		Hafif
H-38	4	Erkek	32		Hafif
H-93	4	Erkek	26		Hafif
H1	7	Erkek	42	DEHB	Hafif
H2	6	Erkek	42		Orta
H3	8	Erkek	33	Hafif Düzeyde Bilişsel Gerilik	Orta
H4	4	Erkek	40		Hafif
H5	4	Erkek	44		Ağır
H6	10	Erkek	42	DEHB, EPİLEPSİ	Orta
H7	3	Erkek	25		Hafif
H8	6	Erkek	35		Hafif
H9	5	Erkek	38	Hafif Düzeyde Bilişsel Gerilik	Hafif
H10	4	Erkek	33	Orta Düzeyde Bilişsel Gerilik, Epilepsi	Orta
H11	6	Erkek	24		Hafif
H12	3	Kız	37	Hafif Düzeyde Bilişsel Gerilik	Hafif
H13	11	Erkek	48	Sosyal Fobi	Hafif
H14	8	Erkek	41		Orta
H15	4	Erkek	36		Hafif
H16	6	Erkek	41		Hafif
H17	9	Erkek	36		Hafif
H18	6	Erkek	42		Hafif
H19	4	Erkek	41		Hafif
H20	3	Erkek	39		Hafif
H21	9	Erkek	35		Hafif
H22	9	Erkek	30		Hafif
H83	8	Kız	40		Hafif
H91	3	Erkek	42		Hafif
H122	8	Kız	40		Hafif

4.2. SNCA Geninin Ekspresyon Sonuçları

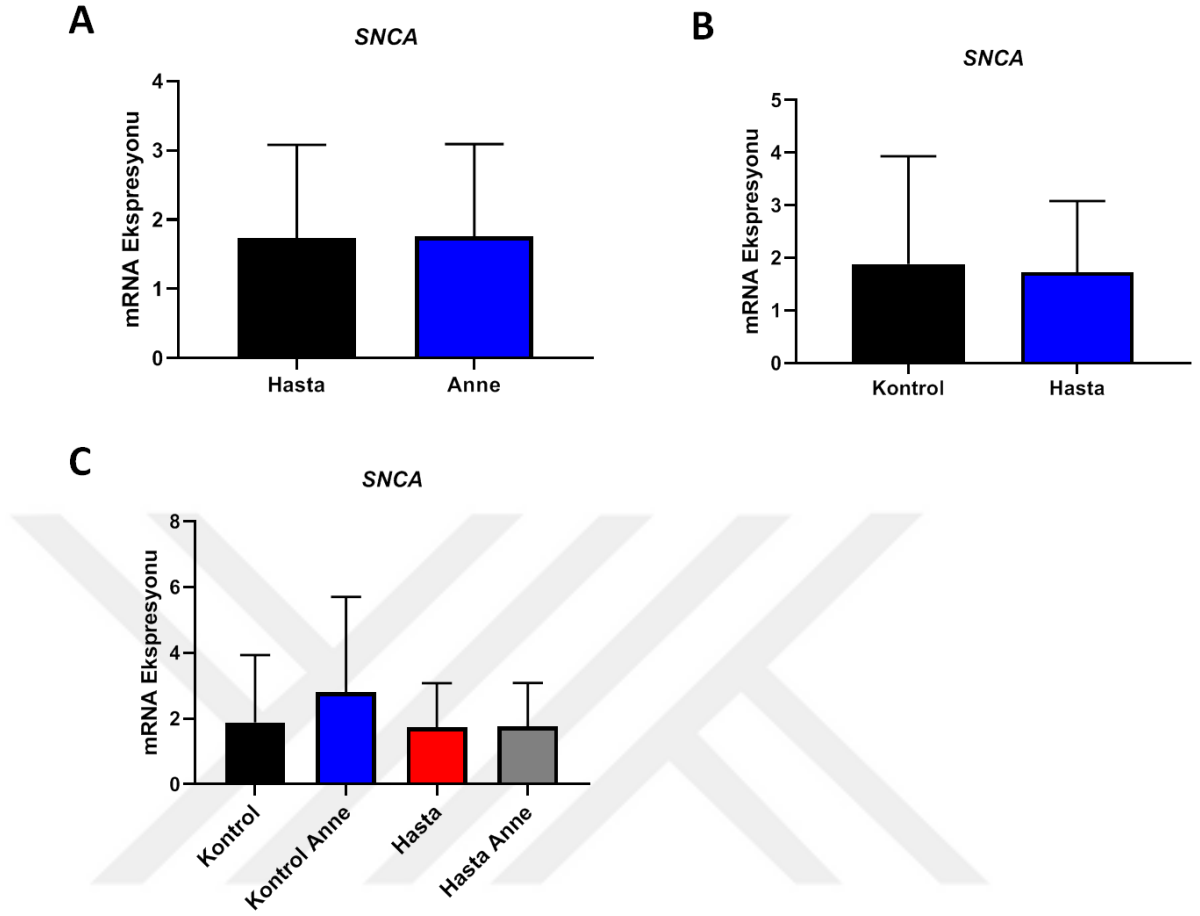
OSB tanılı çocuklarda ve sağlıklı kontrollerden alınan kan örneklerinde *SNCA* gen ekspresyon düzeyi belirlendi.

Tüm hasta ve kontrol grubunda *SNCA* gen ekspresyonu karşılaştırıldığında hastalarda kontrollere göre azaldığı görülse de bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma söz konusudur ($p=0.4017$) (Şekil 4.1A). OSB hastaların annelerinin kontrol annelerine göre *SNCA* gen ekspresyonu karşılaştırıldığında ise anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.0309$) (Şekil 4.1B).



Şekil 4.1. SNCA gen ekspresyonu. Hastaları gruplara ayırmadan 50 hasta ve 25 kontrolde *SNCA* gen ekspresyonu sonuçları. **A.** OSB hastaların ve kontrol grubunda *SNCA* gen ekspresyonunun karşılaştırılması **B.** Tüm OSB hastaların annelerinin kontrol annelerine göre *SNCA* gen ekspresyonunun karşılaştırılması * $p<0.05$

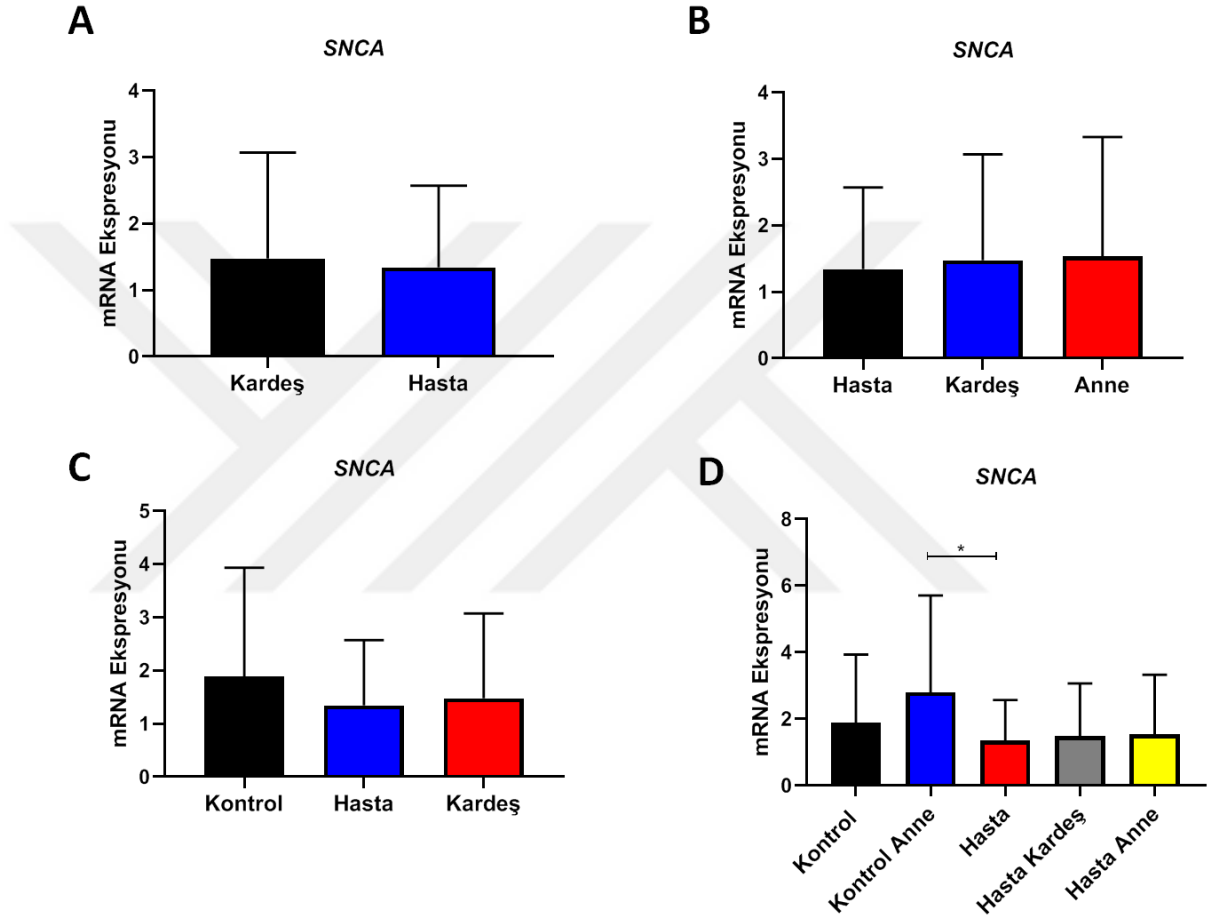
Hastaları gruplara ayırdığımızda 1. grupta (kardeşi olmayan) hasta çocuklar ile annelerinin gen ekspresyon sonuçları analiz edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p=0.9518$) (Şekil 4.2A). Hastalarda *SNCA* gen ekspresyonu kontrollere göre azaldığı görülse de bu farklılık anlamlı değildir ($p=0.7591$) (Şekil 4.2B). Hasta çocukların anneleri ile kontrol grubunun anneleri gen ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.1079$). Hasta çocuklar ile kontrol grubu annelerinde gen ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p=0.1011$) (Şekil 4.2C).



Şekil 4.2. Hastaları gruplara ayırdığımızda SNCA gen ekspresyonu. 1. grubun (kardeş olmayan grup) SNCA gen ekspresyonu sonuçları. **A.** Hasta çocuklar ile annelerinin gen ekspresyon sonuçlarının karşılaştırılması **B.** Hastalarda SNCA gen ekspresyonunun kontrollere göre karşılaştırılması. **C.** OSB Hasta çocukların anneleri ile kontrol grubunun annelerinin gen ekspresyonu karşılaştırılması.

2. grubun (kardeş olan) SNCA gen ekspresyonu sonuçlarına bakıldığında hasta çocuklar ile kardeşlerin gen ekspresyonu karşılaştırıldığında sonuçları istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0.7475$) (Şekil 4.3A). Hastaların kardeşleri ile annelerinin gen ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p=0.8448$). Hasta çocuklar ile annelerinin ekspresyonu karşılaştırıldığında sonuç anlamlı değildir ($p>0.9999$) (Şekil 4.3B). Hasta çocukların kardeşlerinin SNCA gen ekspresyonu kontrollere göre azaldığı görülse de bu farklılık anlamlı değildir ($p=0.4602$). Hasta çocukların SNCA gen ekspresyonunun kontrollere göre azaldığı görülse de bu farklılık anlamlı değildir ($p=0.2849$) (Şekil 4.3C). Hasta çocukların

anneleri ile kontrol grubunun annelerinin gen ekspresyonu karşılaştırıldığında sonucun anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p=0.0798$). Hasta çocukların gen ekspresyonunun kontrol grubu annelerine göre anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.0307$). Hasta kardeşlerin kontrol grubun annelerine göre gen ekspresyonunun azaldığı görülse de bu farklılık anlamlı değildir ($p=0.0599$) (Şekil 4.3D).

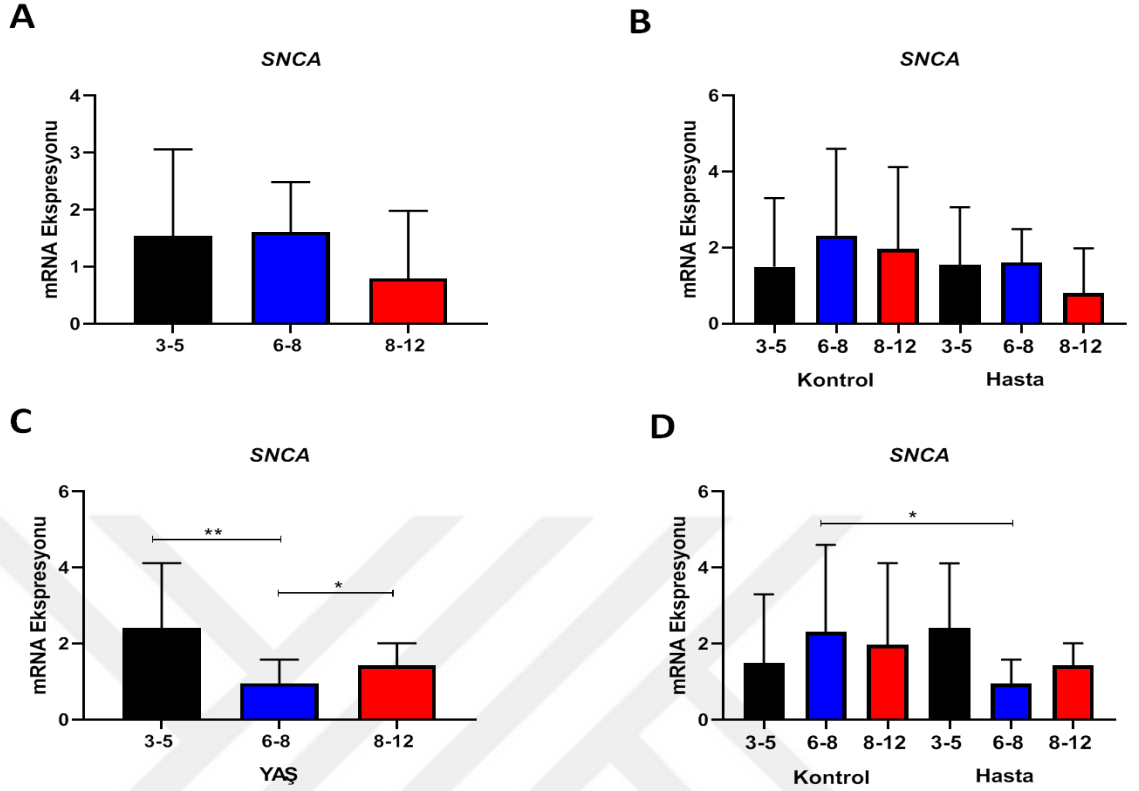


Şekil 4.3. SNCA gen ekspresyonu. 2. grubun (kardeş olan) SNCA gen ekspresyonu sonuçları. **A.** OSB Hasta çocuklar ile kardeşlerin gen ekspresyonu karşılaştırılması. **B.** OSB Hastaların kardeşleri ile annelerinin gen ekspresyonunun karşılaştırılması. **C.** Hasta çocukların kardeşlerinin SNCA gen ekspresyonunun kontrollere göre karşılaştırılması. **D.** OSB Hasta çocukların anneleri ile kontrol grubunun annelerinin gen ekspresyonunun karşılaştırılması. * $p<0.005$.

Hastaları yaş gruplarına göre ayırdığımızda 2. grubun (kardeşi olan) yaş gruplarına göre SNCA gen ekspresyon sonuçları kendi içinde karşılaştırılmıştır. 3-5 yaş grubu ile 6-8 yaş grubunun SNCA gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı

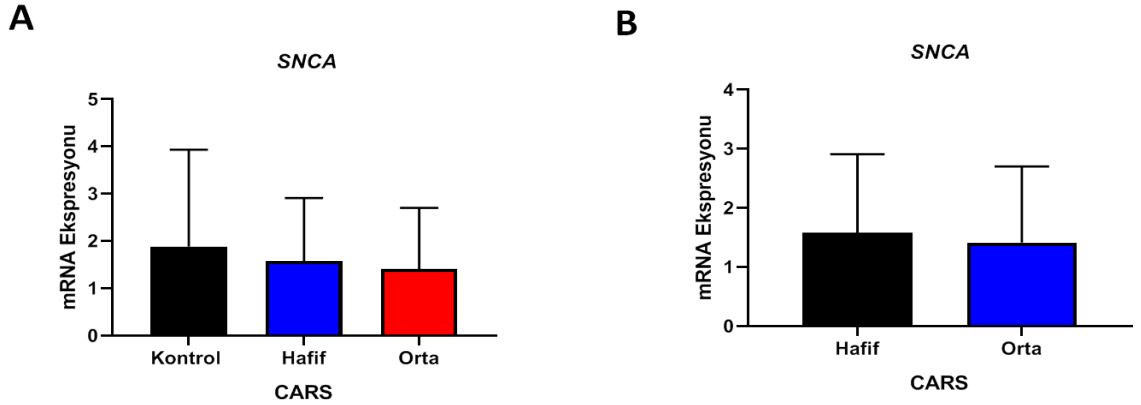
bulundu ($p=0.8989$). 3-5 yaş grubu ile 8-12 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı bulundu ($p=0.1615$). 3-5 yaş grubu ile 8-12 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı tespit edildi ($p=0.0911$) (Şekil 4.4A). Kardeşi olan grup aynı zamanda kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Hasta 3-5 yaş grubu ile kontrol 3-5 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı bulundu ($p=0.9455$). Hasta 6-8 yaş grubu ile kontrol 6-8 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı bulundu ($p=0.3875$). Hasta 6-8 yaş grubu ile kontrol 6-8 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı bulundu ($p=0.0921$) (Şekil 4.4B).

Aynı şekilde hastaları yaş gruplarına göre ayırdığımızda 1. grupta (kardeşi olmayan) kendi içerisinde *SNCA* gen ekspresyonu sonuçları. 6-8 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi 3-5 yaş grubuna göre anlamlı derece de azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.0067$). 8-12 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi 3-5 yaş grubuna göre azaldığı görülse de bu azalış anlamlı değildir ($p=0.0543$). 6-8 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi 8-12 yaş grubuna göre anlamlı derece de azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.0464$) (Şekil 4.4C). Aynı zamanda kontrol ile hasta gruplarında gen ekspresyonu karşılaştırılmıştır. Hasta 3-5 yaş grubu ile kontrol 3-5 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı bulundu ($p=0.2553$). Hasta 6-8 yaş grubunun *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi kontrol 6-8 yaş grubuna göre anlamlı derece de azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.00402$). Kontrol 8-12 ile hasta 8-12 yaş grubu gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı bulundu ($p=0.3776$) (Şekil 4.4D).



Şekil 4.4. Hastaları yaş gruplarına göre ayırdığımızda kardeşi olmayan ile kardeşi olan yaş gruplarına göre *SNCA* gen ekspresyonu sonuçları. **A.** kardeşi olan gruptaki hastaların yaş gruplarına göre gen ekspresyonunun karşılaştırılması **B.** kardeşi olan gruptaki gruptaki hastalar ile kontrol grubun gen ekspresyonunun karşılaştırılması. **C.** Kardeşi olmayan gruptaki hastaların yaş gruplarına göre gen ekspresyonunun karşılaştırılması. **D.** Kardeşi olmayan gruptaki hastalar ile kontrol grubun gen ekspresyonunun karşılaştırılması.

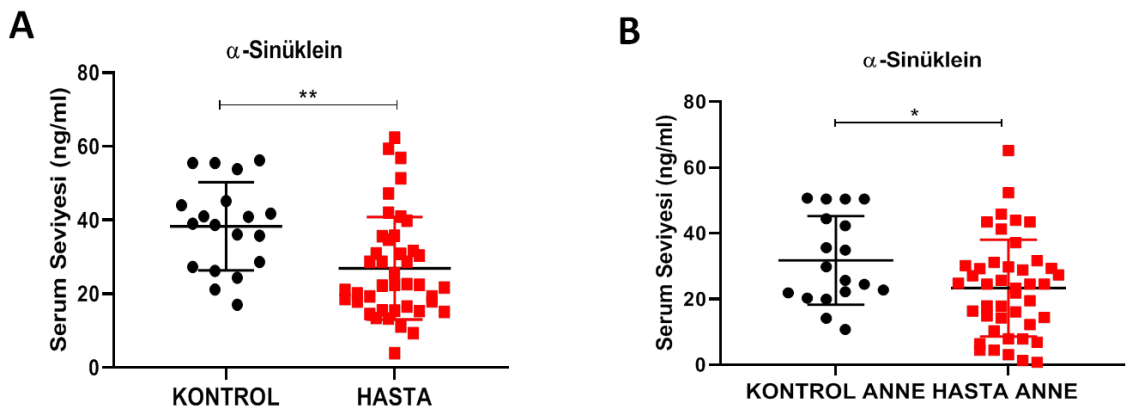
Hastalık fenotipinin belirlenmesi için CARS skoru kullanılmaktadır. Buna göre hastalar hafif orta ve ağır olarak nitelendirilmektedir. Kendi hasta grubumuz CARS skoruna göre değerlendirildiğinde kontrol grubu ile hafif düzeydeki hastaların, *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında azalma olsa da bu azalmanın anlamlı olmadığı bulundu ($p=0.4901$). Kontrol grubu ile orta düzeydeki hastaların CARS skoruna göre, *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında azalma olsa da bu azalmanın anlamlı olmadığı bulundu ($p=0.5307$) (Şekil 4.5A). Hafif ile orta düzeydeki hastaların CARS skoruna göre, *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi karşılaştırıldığında benzer düzeyde ekspresyon bulundu ($p=0.6950$) (Şekil 4.5B).



Şekil 4.5. CARS skoruna göre SNCA gen ekspresyonu. A. Kontrol grubu ile hafif düzeydeki hastaların, SNCA gen ekspresyonu düzeyinin karşılaştırılması **B.** Hafif ile orta düzeydeki hastaların CARS skoruna göre, SNCA gen ekspresyonu düzeyinin karşılaştırılması.

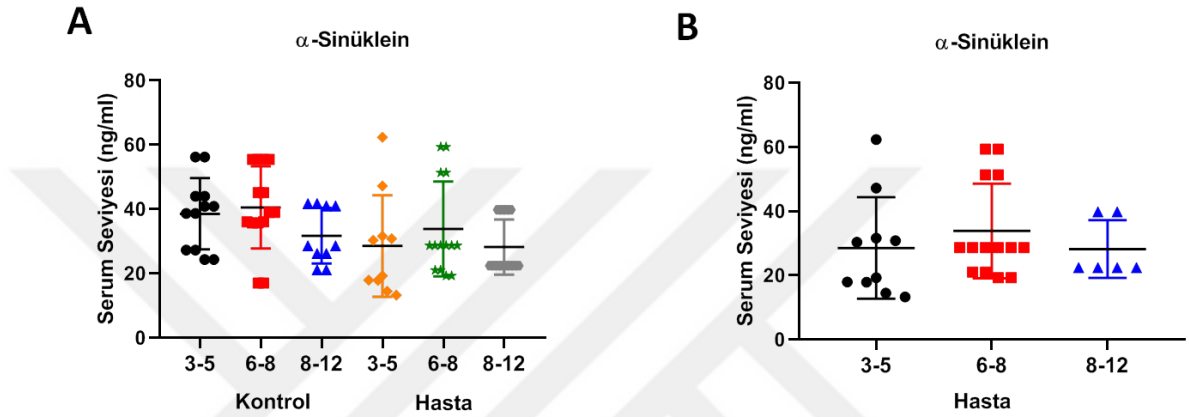
4.3. ELISA Sonuçları

Hastaları gruplara ayırmadan 50 hasta ve 25 kontrolde *alfa sinüklein* serum seviyesinin sonuçlarına bakıldığında hastalarda kontrol grubuna göre *alfa sinüklein* serum seviyesinin anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.0030$) (Şekil 4.6A). Tüm hastaların anneleri ile kontrol grubunun annelerinin *alfa sinüklein* serum seviyesi karşılaştırıldığında yine anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir ($p=0.0411$) (Şekil 4.6B).



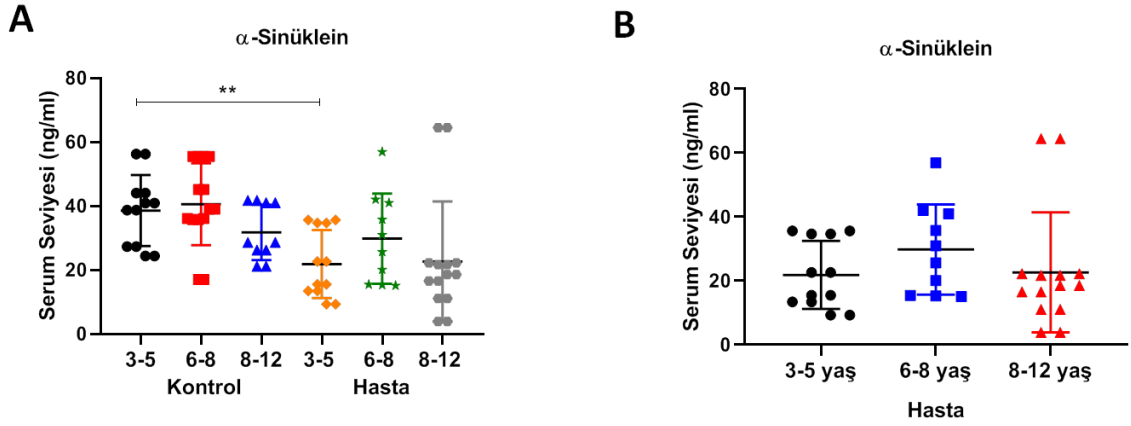
Şekil 4.6. Hastaları gruplara ayırmadan 50 hasta ve 25 kontrolde alfa sinüklein serum seviyesinin sonuçları. A. Tüm hastaların kontrol grubuna göre *alfa sinüklein* serum seviyesinin karşılaştırılması. **B.** Tüm hastaların anneleri ile kontrol grubunun annelerinin *alfa sinüklein* serum seviyesinin karşılaştırılması. * $p<0.05$, ** $p<0.001$.

karşılaştırıldığında azalma görülmektedir ($p=0.3501$) (Şekil 4.8A). Kardeşi olmayan grup aynı zamanda kendi içerisinde karşılaştırılmıştır. Hasta 3-5 ile 6-8 yaş grubunun serum *alfa sinüklein* seviyesi karşılaştırıldığında sonuç anlamlı değildir ($p=0.4062$). Hasta 3-5 ile 8-12 yaş grubunun serum *alfa sinüklein* seviyesi karşılaştırıldığında sonuç anlamlı değildir ($p=0.0543$). Hasta 6-8 ile 8-12 yaş grubunun serum *alfa sinüklein* seviyesi karşılaştırıldığında sonuç anlamlı yine anlamlı değildir ($p=0.9648$) (Şekil 4.8B).



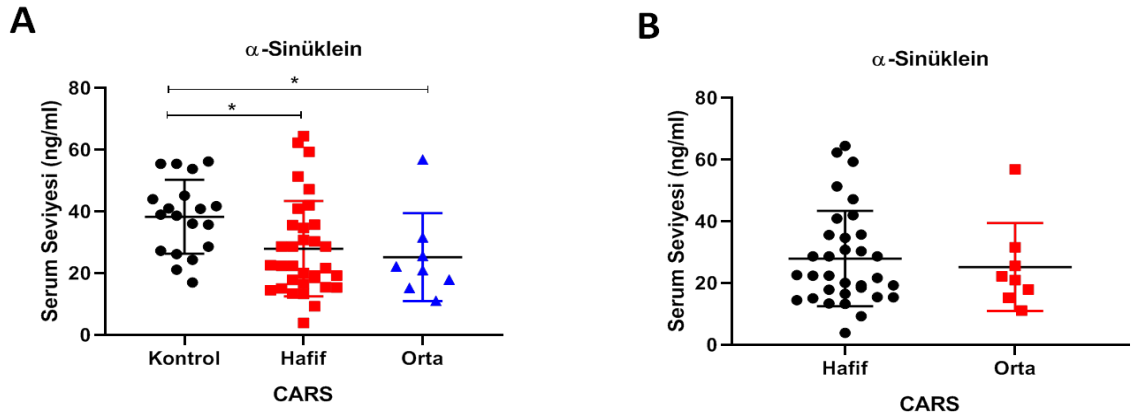
Şekil 4.8. Kardeşi olmayan grupta yaşlara göre serum seviyesinin analizi. **A.** Kontrol ve kardeşi olmayan hasta grubunda yaşlara göre serum seviyesinin karşılaştırılması. **B.** Kardeşi olmayan grubun kendi içerisinde serum seviyelerinin karşılaştırılması.

Kardeşi olan grup kontrol grubu ile yaşlarına göre ayrılarak serum seviyeleri açısından karşılaştırılmıştır. Kontrol 3-5 yaş grubunun hasta 3-5 yaş grubuna göre serum *alfa sinüklein* seviyesinin anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.0011$). Kontrol 6-8 ile hasta 6-8 yaş grubunun serum *alfa sinüklein* seviyesi karşılaştırıldığında azalma görülse de bu azalmanın anlamlı olmadığı tespit edildi ($p=0.0641$). Kontrol 8-12 ile hasta 8-12 yaş grubunun serum *alfa sinüklein* seviyesi karşılaştırıldığında sonuç anlamlı değildir ($p=0.1687$) (Şekil 4.9A). Hastalar ayrıca kendi yaş grubu içerisinde de karşılaştırılmıştır. Hasta 3-5 ile 6-8 yaş grubunun serum *alfa sinüklein* seviyesi karşılaştırıldığında sonuç anlamlı değildir ($p=0.1476$). Hasta 3-5 ile 8-12 yaş grubunun serum *alfa sinüklein* seviyesi karşılaştırıldığında sonuç anlamlı değildir ($p=0.8974$). Hasta 6-8 ile 8-12 yaş grubunun serum *alfa sinüklein* seviyesi karşılaştırıldığında azalma görülmektedir ($p=0.3212$) (Şekil 4.9B).



Şekil 4.9. Kardeşi olan grupta yaşlara göre serum seviyesinin analizi. **A.** Kontrol ve hastaların yaş grubuna göre serum seviyelerinin karşılaştırılması. **B.** Hastaların kendi içinde yaş gruplarına göre serum seviyelerinin karşılaştırılması. ** $p < 0.001$.

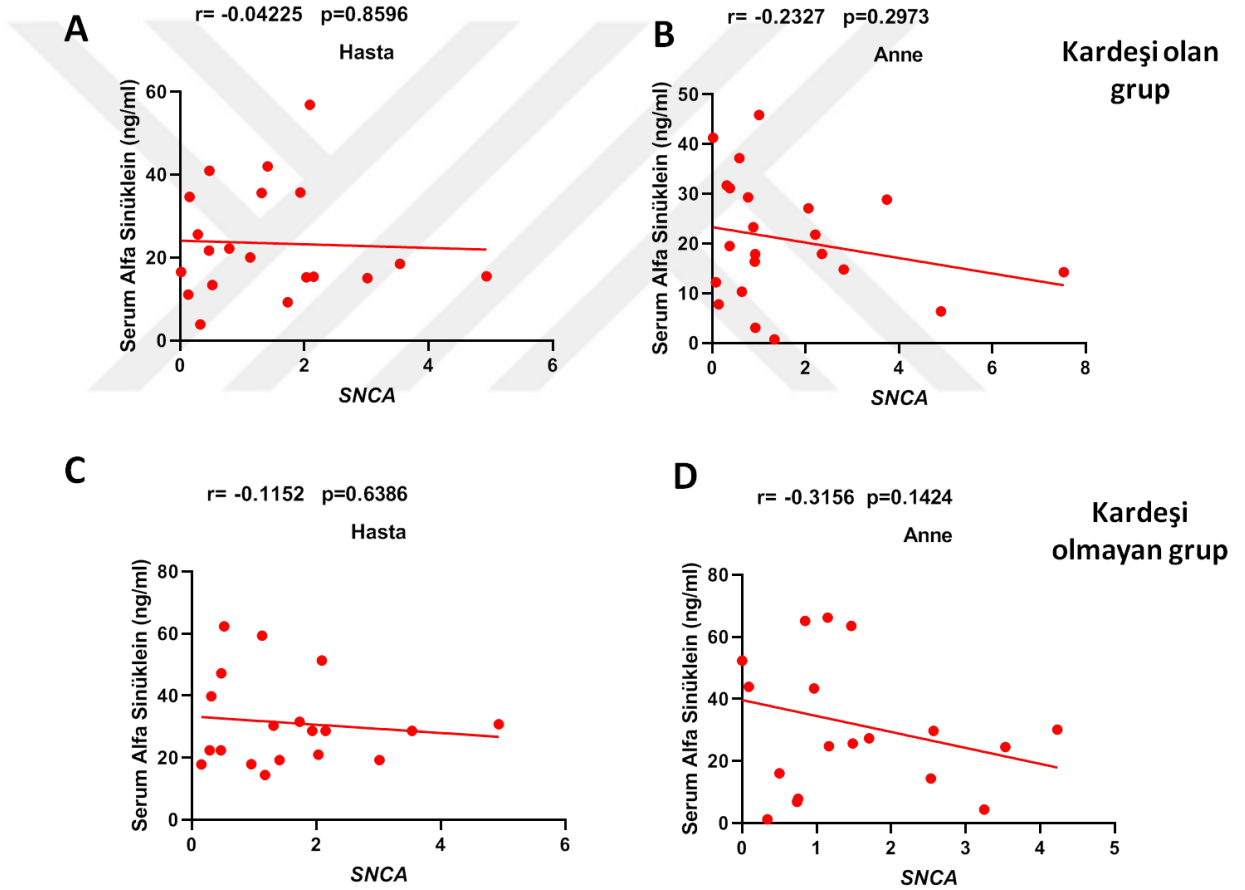
Hastaların tamamı CARS skoruna göre gruplandırıldığında serum seviyeleri karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu ile hafif düzeydeki hastaların CARS skoruna göre, serum düzeyi karşılaştırıldığında azalma görülmektedir ($p=0.0150$). Kontrol grubu ile orta düzeydeki hastaların CARS skoruna göre, serum düzeyi karşılaştırıldığında azalma görülmektedir ($p=0.0211$) (Şekil 4.10A). Hafif ile orta düzeydeki hastaların CARS skoruna göre, serum düzeyi karşılaştırıldığında sonucun benzer düzeyde olduğu tespit edildi şiddete göre alfa sinuklein seviyesi düşmektedir ($p=0.6519$) (Şekil 4.10B).



Şekil 4.10. Hastaların tamamı CARS skoruna göre gruplandırıldığında serum seviyesinin analizi. **A.** Kontrol grubu hastaların serum seviyelerinin karşılaştırılması. **B.** Hastaların CARS skorlarına göre serum seviyelerinin birbiri ile karşılaştırılması. * $p < 0.05$.

4.4. Korelasyon Sonuçları

Hastaların gen ve serum düzeyleri arasındaki korelasyona da bakılmıştır. Kardeşi olan grupta hastalar ($r=-0.04225$, $p=0.8596$) (Şekil 4.11A) ve annelerinin gen-serum düzeylerinin düşük negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir ($r=-0.2327$, $p=0.2973$) (Şekil 4.11B). Kardeşi olmayan grupta hastalar ($r=-0.1152$, $p=0.6386$) (Şekil 4.11C) ve annelerinin gen-serum düzeylerinin düşük negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir ($r=-0.3156$, $p=0.1424$) (Şekil 4.11D).



Şekil 4.11. Korelasyon Sonuçları. A. Kardeş olan grupta hastaların korelasyon sonuçları. B. Kardeş olan grupta annelerin korelasyon sonuçları. C. Kardeşi olmayan grupta hastaların korelasyon sonuçları. D. Kardeş olmayan grupta annelerin korelasyon sonuçları.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), bir grup karmaşık nörogelişimsel bozukluk içinde yer almaktadır ve son yıllarda OSB'nin yaygınlığı artmaktadır (Canitano ve Palumbi, 2021). OSB tanılarındaki bu etkileyici artış, kısmen tanı kriterlerindeki değişikliklerle açıklanabilir. Bu değişikliklerin etkisi tartışılmaz olsa da, bu keskin artışı tam olarak açıklayamamaktadır (Biosca-Brull ve ark., 2021). Literatürde yapılan çalışmalar, dış faktörlerin insidansının, OSB gelişimi ve/veya ciddiyet derecesi ile bağlantılı fizyolojik ve fonksiyonel anormallikleri indükleyerek gelişimsel merkezi sinir sistemi (MSS) ile etkileşime girebileceğini öne sürmüşlerdir (Takumi ve ark., 2020). Birçok gen varyantı, ortak biyolojik yollar veya etkileşimler üzerinde etkilidir ve otizmde potansiyel bir rol oynayabilir. Ancak OSB'nin genetik etiyolojisi ve patogenezi büyük ölçüde belirsiz kaldığından, otizm genetiğini klinik uygulamaya çevirmedeki mevcut zorlukları ele almak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Otizm gibi nörogelişimsel bozuklukların genetiğiyle ilgili araştırmalar, yüzlerce genin bu bozukluklar için olası risk faktörleri olduğunu göstermektedir (Choi ve An, 2021). *Alfa sinüklein*, Lewy cisimciklerinin ana bileşeni olduğundan Parkinson başta olmak üzere sinükleinopatiler olarak gruplandırılan çeşitli nörodejeneratif durumların patolojisinde anahtar bir rol oynadığı gösterilmiştir (Sriwimol ve Limprasert, 2018). Hatta fosforile *alfa sinüklein* Parkinson için umut verici tanısal biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir (Surguchov, 2016). *Alfa sinüklein*, *SNCA* geni tarafından kodlanmaktadır. Bu gendeki mutasyonların, birçok nörodejeneratif koşul tipinde ortaya çıkan *alfa sinüklein* agregasyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Baena-Montes, Avazzadeh ve Quinlan, 2021). *Alfa sinüklein* (*SNCA*) fizyolojik işlevleri kesin olarak bilinmemekle beraber, proteinin presinaptik yerleşimi, membran yapıları ve çeşitli sinaptik proteinlerle etkileşimi sinaptik aktivitede rolü olabileceğini düşündürmektedir (Loureiro Campêlo ve Silva,

2017). Literatürde OSB’li hastalarda serum *alfa sinüklein* seviyesinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Literatürde yapılan bir çalışmada *alfa sinüklein* ve *γ-sinüklein*’in plazma düzeylerini, OSB’nin patogeneze olası katkılarını aydınlatmak ve hastalığın şiddeti ile ilişkileri araştırılmıştır. Çalışmaya OSB tanısı konan 38 erkek çocukta ve 40 sağlıklı erkek çocukta *alfa sinüklein* ve *γ-sinüklein* plazma seviyeleri ölçülmüştür. OSB’li çocuklarda plazma *alfa sinüklein* düzeyinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Çalışmada yüksek plazma *alfa sinüklein* seviyesinin nedeninin aşırı *alfa sinüklein* merkezi sinir sisteminden hücre dışı ortama akışı olduğu düşünülmektedir (Al-Mazidi ve Al-Ayadhi, 2021). Yapılan yakın dönemli bir başka çalışma, OSB’li çocukların ve annelerinin serumundaki nöronal ve glial proteinlere karşı gelişen otoantikolar da yaş eşleştirilmiş kontrol ve annelerine kıyasla önemli bir artış olduğunu bildirmektedir. Artış gösterdiği bildirilen glial proteinlerden birisi de SNCA’dır. Çalışmada 10 hasta ile anneleri ve yaş-cinsiyet eşleştirilmiş kontroller kullanılmıştır. Hem hasta hem de annelerinde kontrollere göre SNCA serum seviyeleri yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, nöral proteinlere karşı periferik otoantikoların profilinin, diğer beyin bozukluklarında bulunan profillerle karşılaştırıldığında OSB’li çocuklara özgü olduğunu göstermektedir (Abou-Donia ve ark., 2019). 2020 yılında yapılan başka bir çalışmada OSB’den etkilenen çocukların tükürük örneklerinde *alfa sinüklein* monomeri ve *alfa sinüklein* oligomer seviyeleri incelenmiştir. Çalışmaya OSB tanısı alan 40 çocuk ile yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 40 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Spesifik anti-alfa-sinüklein monomerleri (anti-a-syn-mono) ve anti-alfa-sinüklein oligomerleri (anti-a-syn-oligo) analizi sonucunda OSB’li çocukların tükürük örneklerinde hem *alfa sinüklein* monomer hem de *alfa sinüklein* oligomer düzeylerinin sağlıklı çocuklara göre düşük olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada OSB’li hastalarda *alfa sinüklein* -mono seviyesindeki düşüşün, *alfa sinüklein*’in nöronların hücre gövdelerinden aksonlar yoluyla tükürük bezlerinin epitel hücrelerinin etrafındaki sinaptik terminallere ve tükürüğe yayılabileceği belirtilmiştir. OSB’li hastaların tükürüğünde saptanan azalmış *alfa sinüklein* konsantrasyonu, gangliyon nöronlarında *alfa sinüklein*’nin hücre içi ve aksonal polimerizasyonu nedeniyle olabileceği sonucuna varılmıştır (Siddique ve ark., 2020). Literatürde OSB’li hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise otizmde *alfa sinüklein* serum düzeyine bakılmıştır. Bu çalışmaya toplam 56 çocuk (28 OSB vakası ve 28 yaş ve cinsiyet uyumlu kontrol) dahil

edilmiştir. Çalışmanın sonucunda ise OSB'li çocukların serum *alfa-sinüklein* düzeyinin sağlıklı çocuklara göre düşük seviyede olduğu bulunmuştur. Çalışmada düşük serum *alfa sinüklein* düzeyinin sinaptik aktivite ile otizm arasındaki ilişkide rol oynayabileceğini düşündürmektedir ve bu durum, nöronal veya sinaptik işlev bozukluğuna veya nörodejenerasyona katkıda bulunabilir (Kadak ve ark., 2015). Literatürde yapılan başka bir çalışmada *alfa-sinüklein* (α -sinüklein) ve beta-sinüklein (β - sinüklein), bu iki proteinin OSB ile ilişkisini değerlendirmek için, OSB'li 39 erkek çocukta plazma *alfa sinüklein* ve β -sinüklein düzeyleri cinsiyet ve yaş uyumlu 29 kontrol ile karşılaştırılmıştır. Ortalama plazma *alfa sinüklein* seviyesi OSB'li çocuklarda kontrollere göre önemli ölçüde daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Çalışma sonucunda *alfa sinüklein* ve β -sinüklein proteinlerinin anormal plazma seviyeleri, OSB'nin patogenezinde sinaptik işlev bozukluklarında yer aldığını gösterebilir (Sriwimol ve Limprasert, 2018). Literatürde yapılan başka bir çalışmada OSB'li 40 erkek çocuk ile yaş ve cinsiyet uyumlu 40 kontrol çocukta *alfa sinüklein* serum seviyeleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada, kontrollere kıyasla OSB'li çocukların plazmasındaki anlamlı olmayan ancak yine de kayda değer daha düşük *alfa sinüklein* seviyesi belirlenmiştir. Araştırmacılar, plazmada rapor edilen daha düşük *alfa sinüklein* seviyesinin OSB'li katılımcıların beyinlerinde daha yüksek seviyelerde olabileceğini çünkü *alfa sinüklein* 'in beyinden kana taşınmasındaki kusurların, OSB'li bir bireyin beyinde inflamatuvar belirteç olan *alfa sinüklein*'in artan yüküne yol açabileceğini düşünmüşlerdir (El-Ansary ve ark., 2021). Bu sonuçları doğrulamak ve otizmlili çocuklar ve annelerinde *alfa sinüklein* varlığının hem biyobelirteç olarak hem de otizmin etki mekanizmasındaki ve belki de tedavisindeki rolünü anlamak için daha geniş çapta çalışmaya ihtiyaç vardır. Literatürde otizm ile ilişkilendirilebilecek bu çalışmalar dışında (bu çalışmalar sınırlı sayıda hasta içeren ve sadece serum, plazma veya tükürük düzeyini yansıtan araştırmalardır) *alfa sinüklein* ile ilgili başka bir araştırma bulunmamaktadır.

Literatürdeki bu bilgilerin ve yapılan çalışmaların ışığında bizde bu çalışma ile SNCA geninin rolünü aydınlatabilmek için hasta çocukları hem sağlam kardeşleri hem anneleri ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırmayı, diğer grupta da sadece hasta çocuklar ve annelerini kontrolleri ile karşılaştırarak bu genin ekspresyon profilindeki değişimleri

belirlemeyi ve otizme katkısını incelemeyi amaçladık. Bunun için 3 farklı grup tasarımı yaptık. İlk grupta 25 hasta çocuk ve anneleri, 2. grupta ise 25 hasta çocuk, sağlam kardeşleri ve anneleri yer almıştır. 3. grupta ise 25 sağlıklı birey ve anneleri çalışmaya dahil edilerek kontrol grubu oluşturulmuştur.

Hastaları gruplara ayırmadan 50 hasta ile 25 kontrolün *SNCA* gen ekspresyon sonuçları karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0.4017$). Hasta anneleri ile kontrol annelerine göre *SNCA* gen ekspresyonunda anlamlı bir azalış olduğu bulundu. ELISA sonuçlarına baktığımızda, hastaları gruplara ayırmadan 50 hasta ile 25 kontrolün *alfa sinüklein* serum seviyesi karşılaştırıldığında hastalarda kontrollere göre **anlamlı** derecede düşük olduğu tespit edildi ($p=0.0030$). Genel hasta annelerinin kontrol annelerine göre serum *alfa sinüklein* seviyesinde anlamlı azalış olduğu bulundu ($p=0.0411$). Çalışmaya dahil edilen hastaların sayısının az olmasından dolayı *SNCA* genin ekspresyonu anlamlı bulunmamış olabilir. Ancak hasta annelerinin kontrol annelerine göre *SNCA* geninin ekspresyonundaki anlamlı azalışın otizm için olası risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir ve bu azalışın nedenini daha iyi anlayabilmek için hem daha fazla sayısıyla hem de cinsiyet bazında yapılacak araştırmalar, *SNCA* ekspresyonundaki azalışın otizm etiyojisine nasıl yansıdığına dair daha detaylı bilgi verebileceği düşünülmektedir. Genel hasta grupları ile kontrol *alfa sinüklein* serum düzeyindeki anlamlı azalışın nedeni *alfa sinüklein*'nin translasyon sürecine etki edebileceğini ve sinaptik aktivite ile otizm arasındaki ilişkide rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

1. grubun (kardeşi olmayan) hasta annelerinin kontrol annelerine göre *SNCA*'nın daha az eksprese olduğu bulundu ($p=0.1079$). Hastalarda kontrol annelerine göre daha az *SNCA* ekspresyonu olduğu bulundu. Hasta ile kontrol serum *alfa sinüklein* düzeyi karşılaştırıldığında hastalarda daha düşük protein seviyesi tespit edildi. OSB'li Hastaların annelerinin *alfa sinüklein* serum düzeyi kontrol anneleri ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu bulundu.

2. grubun (kardeşi olan) gen ekspresyon sonuçlarına baktığımızda; hasta ve kardeşin kontrole göre daha düşük *SNCA* gen ekspresyonuna sahip olduğu tespit edildi. Benzer şekilde anneler de kontrol annelere göre ekspresyonun düşük düzeyde olduğu tespit

edildi. 2. grubun ELISA sonuçlarına baktığımızda ise, hasta serum *alfa sinüklein* seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük seviyede olduğu bulundu ($p=0.0006$). Aile genelinde serum *alfa sinüklein* seviyesi düşük ancak bir çocuk hasta diğer çocuğun hasta olmaması sebebini en iyi şekilde anlayabilmek için detaylı çalışmaların yapılması ve hasta sayısının daha çok olması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda, *alfa sinüklein*'in sitoplazmik agregasyonunun nükleer translokasyonunu azalttığını, dolayısıyla DNA hasarını arttırdığını ve bu nükleer fonksiyon kaybının pro-apoptotik sinyali tetikleyebileceği öne sürülmektedir. İlginç bir şekilde, *alfa sinüklein*'in kendi mRNA'sını otojen bir şekilde bağladığı da tahmin edilmiştir, bu da negatif bir geri besleme mekanizması yoluyla protein translasyonunun düzenlenmesi için araç olabileceği düşünülebilir. Polinükleotidlere doğrudan bağlanmanın aksine, *alfa sinüklein*, DNA metilasyonunu değiştirerek gen ekspresyonunu etkileyebilir. DNA ve histonların translasyon sonrası modifikasyonu, sinaptik plastisite ve gelişimde rol oynamanın yanı sıra çoklu nörodejeneratif bozukluklarda rol oynayan gen ekspresyonunun epigenetik kontrolünün anahtar mekanizmalarıdır (Somayaji ve ark., 2021).

Hasta grupları yaşa bağlı olarak sınıflandırıldığında kontrol grubuna göre yaşın artışıyla ekspresyonun düştüğü tespit edilmiştir. Serum düzeyi de gen ekspresyonuna benzer durum göstermektedir.

Çalışmamızda yaş gruplarındaki sonuçlarda yaşın artmasıyla beraber *SNCA* gen ekspresyonu ve *alfa sinüklein* serum düzeyleri düşüş göstermektedir. Hasta gruplarında yaşa bağlı olarak azalma olduğu görülmektedir. Sonuçlarımızın OSB'li çocuklarda farklı yaş gruplarında doğrulanması gerektiği düşünülmektedir.

Hastaların tamamı CARS skoruna göre gruplandırıldığında *SNCA* gen ekspresyonu düzeyi, OSB şiddeti arttıkça düşüş göstermektedir. Hastaların tamamı CARS skoruna göre gruplandırıldığında; *alfa sinüklein* serum seviyesi incelendiğinde, kontrol grubu ile hafif ve orta şiddetteki OSB hastaları CARS skoruna göre serum seviyesi karşılaştırıldığında hastalarda azalma tespit edilmiştir ($p=0.0150$). Bu durumda OSB özellikleri hafif ile şiddetli arasında değişebilir ve zaman içinde veya koşullardaki değişikliklere yanıt olarak dalgalanabilir (Murphy ve ark., 2016). OSB, klinik, genetik ve gelişimsel olmak üzere birçok düzeyde oldukça heterojen bir

bozukluktur. Heterojenliği daha da ayırtırmak için OSB ile ilgili genler, sinaptik fonksiyonda yer alan genler gibi ortak fonksiyonlara dayalı olarak farklı alt gruplara ayrılabilir (Riemersma, Havekes ve Kas, 2022). Ayrıca, bu gen alt grubu tarafından modüle edilen ortak biyolojik süreçleri bulmak, olası hasta sınıflandırması ve kişiselleştirilmiş erken tedavilerin geliştirilmesi için esas olacaktır.

1. grup ve 2. grupta olan hastalardan alınan kan örneklerinden *SNCA* gen ve protein ekspresyonlarının korelasyonlarına baktığımızda 2. gruptaki hastalar ve hastaların anneleri arasında *SNCA* ekspresyon miktarları arasında düşük negatif korelasyon görülmektedir. 1. grupta ise hastalar ile anneleri arasında *SNCA* ekspresyon miktarları arasında düşük negatif korelasyon görülmektedir. Çalışmamızdaki anneler ile çocuklar arasındaki düşük negatif korelasyonun olması *SNCA*'nın otizmde bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Alfa sinüklein, sağlıklı beyinde normal seviyeleri korumak için kan-beyin ve kan-BOS bariyerleri yoluyla merkezi sinir sistemi (CNS) dışında düzenlendiğine ve salındığına inanılmaktadır (Bates ve Zheng 2014). Bu çalışma OSB'li ailelerin *shem* gen hem de serum protein düzeyinde araştırıldığı ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Literatürde düşük bulunan diğer OSB çalışmaları gibi bizim sonuçlarımızda da hem gen hem serum düzeyleri düşük bulunmuştur. Diğer önceki bazı çalışmalar, *alfa sinüklein*'nin sinaptik işlevlerde önemli bir rol oynadığını, sağlıklı beynin normal nöronal ağ aktivitesine ve bağlantısına katkıda bulunduğunu bulmuştur (Marquez ve Ouitario 2012). Bu nedenle, OSB patogenezinde bildirilen nöronal aşırı bağlantı ve sinaps değişikliğinin anormal *alfa sinüklein* seviyelerinden kaynaklanabileceğini varsaymaktayız. *Alfa sinüklein* proteini, insan *alfa sinüklein* geninden (*SNCA*) eksprese edilmektedir ve bir dizi çalışma, Parkinsondaki *alfa sinüklein* ekspresyonunun, *SNCA* geninin nokta mutasyonlarından, duplikasyonlarından veya triplikasyonundan etkilenebileceğini göstermiştir (Oczkowska ve ark., 2013). Bu nedenle, *SNCA* geninin bazı anormalliklerinden protein ekspresyonunun azalması, plazma *alfa sinüklein* düzeylerinin azalmasının nedeni olabilir. Ek olarak, gen triplikasyonu ve aşırı ekspresyonu *alfa sinüklein* proteininin agregasyonunu indükleyebilir (Flagmeier ve ark., 2016) ve bu agregasyon, bazı nörodejenerasyon bozukluklarında monomerik *alfa sinüklein* seviyesini azaltabilir. Düşük *alfa sinüklein* seviyeleri, parankimden BOS ve

kana bozuk taşıma mekanizmaları ile açıklanabilir. Alternatif olarak, nörodejeneratif bozukluklarda BOS'tan nöronlara ve oligodendrogliaya *alfa sinüklein* alım oranında bir artış olabilir (Li ve ark., 2007). Son zamanlarda, önemli sayıda OSB'li çocukta, OSB'de nörodejenerasyonu düşündüren, gelişim gerilemesi ve önceden edinilmiş beceri ve yeteneklerde kayıp olduğuna dair kanıtlar olmuştur (Kern ve ark., 2013); bununla birlikte, OSB patogeneğinde *alfa sinüklein* agregasyonunun plazma seviyesinin azalmasına yol açıp açmayacağı hala açık uçlu bir soru işaretidir.

Aile temelli planladığımız bu çalışmada azalan sinüklein seviyelerini tespit ettik. Elde ettiğimiz bulgular literatür için de bir ilktir. Ancak düşük seviye literatürdeki bazı çalışmalar ile uyumlu olarak bulunsada özellikle bu sonuçlar ailede kardeşler ile hastaların farklılıklarını daha net ortaya koyabilmek için daha fazla veriye ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Yeni yapılacak çalışmalarda SNCA gen ekspresyonun ve *alfa sinüklein* serum düzeyinin daha fazla otizm hastasında ve ailelerinde özellikle de ek olarak hastaların babalarında araştırılması ve elde edilen sonuçların bu hastalarda belirlenen diğer klinik bulgularla da karşılaştırılması, OSB etiolojisinde bu gen ile ilgili bilinmezliklerini ortadan kaldırabileceği düşünülebilir. Bu nedenlerle bu konuda daha fazla veri sağlamak için daha büyük ve farklı vaka kontrol çalışmalarına ihtiyaç olduğu aşikârdır. Bulgularımızı netleştirmek için özellikle bir OSB fare modeli kullanılarak çeşitli beyin bölgelerinde SNCA mRNA düzeylerini inceleyen çalışmalar başta olmak üzere, *a*-sinüklein ve ilgili yolaklarının araştırılması bu konuda farklı bakış açıları sağlayabilir. Ayrıca bu çalışma sonuçlarını desteklemek ve gelecek yıllardaki ekspresyon profilini net olarak açıklayabilmek adına aynı hasta grubunda bu çalışmayı devam ettirmeyi planlamaktayız. Yıllar sonraki değişimlerin gösterilmesi bu çalışmayı daha da anlamlı kılacaktır. Sonuç olarak, bu proteinin OSB hastalarında nörodavranışsal eksiklik için potansiyel bir terapötik hedef olabileceği, gelecekte OSB'nin erken teşhisi ve tedavisi için potansiyel bir hedef olarak umut vaat ettiği düşünülmektedir.

6.KAYNAKÇA

- Abou-Donia MB, Suliman HB, Siniscalco D, Antonucci N, ElKafrawy P, Brahmajothi M V. De novo blood biomarkers in autism: Autoantibodies against neuronal and glial proteins. *Behav Sci (Basel)*. 2019;9(5):1-17. doi:10.3390/bs9050047
- Al-Mazidi S, Al-Ayadhi LY. Plasma Levels of Alpha and Gamma Synucleins in Autism Spectrum Disorder: An Indicator of Severity. *Med Princ Pract*. 2021;30(2):160-167. doi:10.1159/000513935
- Arinda A, Nakasujja N, Odokonyero R. *South African Journal of Psychiatry*. Published online 2021. doi:10.4102/sajpsychiatry.v27i0.1548
- Ayhan F, Konopka G. Regulatory genes and pathways disrupted in autism spectrum disorders. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2019;89:57-64. doi:10.1016/j.pnpbp.2018.08.017
- Baena-Montes JM, Avazzadeh S, Quinlan LR. α -synuclein pathogenesis in hiPSC models of Parkinson's disease. *Neuronal Signal*. 2021;5(2):1-10. doi:10.1042/ns20210021
- Bagni C, Zukin RS. A Synaptic Perspective of Fragile X Syndrome and Autism Spectrum Disorders. *Neuron*. 2019;101(6):1070-1088. doi:10.1016/j.neuron.2019.02.041
- Banerjee A, Miller MT, Li K, Sur M, Kaufmann WE. Towards a better diagnosis and treatment of Rett syndrome: A model synaptic disorder. *Brain*. 2019;142(2):239-248. doi:10.1093/brain/awy323

- Baranova J, Dragunas G, Botellho MCS, et al. Autism Spectrum Disorder: Signaling Pathways and Prospective Therapeutic Targets. Vol 41. Springer US; 2021. doi:10.1007/s10571-020-00882-7
- Bengoa-Vergniory N, Roberts RF, Wade-Martins R, Alegre-Abarrategui J. Alpha-synuclein oligomers: a new hope. *Acta Neuropathol.* 2017;134(6):819-838. doi:10.1007/s00401-017-1755-1
- Bennett AE, Miller JS, Stollon N, Prasad R, Blum NJ, Bennett AE. Autism Spectrum Disorder and Transition-Aged Youth. Published online 2018:1-9.
- Biosca-Brull J, Pérez-Fernández C, Mora S, et al. Relationship between autism spectrum disorder and pesticides: A systematic review of human and preclinical models. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(10):1-30. doi:10.3390/ijerph18105190
- Bjørklund G, Meguid NA, El-Bana MA, et al. Oxidative Stress in Autism Spectrum Disorder. *Mol Neurobiol.* 2020;57(5):2314-2332. doi:10.1007/s12035-019-01742-2
- Blesson A, Cohen JS. Genetic counseling in neurodevelopmental disorders. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020;10(4). doi:10.1101/cshperspect.a036533
- Bludau A, Royer M, Meister G, Neumann ID, Menon R. Epigenetic Regulation of the Social Brain. *Trends Neurosci.* 2019;42(7):471-484. doi:10.1016/j.tins.2019.04.001
- Bozelli JC, Kamski-Hennekam E, Melacini G, Epan RM. α -Synuclein and neuronal membranes: Conformational flexibilities in health and disease. *Chem Phys Lipids.* 2021;235(December 2020). doi:10.1016/j.chemphyslip.2020.105034
- Bölte S, Girdler S, Marschik PB. The contribution of environmental exposure to the etiology of autism spectrum disorder. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(7):1275-1297. doi:10.1007/s00018-018-2988-4
- Bralten J, Van Hulzen KJ, Martens MB, et al. Autism spectrum disorders and autistic traits share genetics and biology. *Mol Psychiatry.* 2018;23(5):1205-1212. doi:10.1038/mp.2017.98

- Brundin P, Dave KD, Kordower JH. Therapeutic approaches to target alpha-synuclein pathology. *Exp Neurol.* 2017;298(October):225-235. doi:10.1016/j.expneurol.2017.10.003
- Burré J, Sharma M, Südhof TC. Cell biology and pathophysiology of α -synuclein. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018;8(3). doi:10.1101/cshperspect.a024091
- Canitano R, Palumbi R. Excitation/Inhibition Modulators in Autism Spectrum Disorder: Current Clinical Research. *Front Neurosci.* 2021;15. doi:10.3389/FNINS.2021.753274/FULL
- Chahrour M, Kleiman RJ, Manzini MC. Translating genetic and preclinical findings into autism therapies. *Dialogues Clin Neurosci.* 2017;19(4):335-343. doi:10.31887/dcns.2017.19.4/cmanzini
- Cheroni C, Caporale N, Testa G. Autism spectrum disorder at the crossroad between genes and environment: Contributions, convergences, and interactions in ASD developmental pathophysiology. *Mol Autism.* 2020;11(1):1-18. doi:10.1186/s13229-020-00370-1
- Cheung PPP, Lau BWM. *Neurobiology of Sensory Processing in Autism Spectrum Disorder.* Vol 173. 1st ed. Elsevier Inc.; 2020. doi:10.1016/bs.pmbts.2020.04.020
- Chiarotti F, Venerosi A. Epidemiology of autism spectrum disorders: A review of worldwide prevalence estimates since 2014. *Brain Sci.* 2020;10(5). doi:10.3390/brainsci10050274
- Choi L, An JY. Genetic architecture of autism spectrum disorder: Lessons from large-scale genomic studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;128:244-257. doi:10.1016/j.neubiorev.2021.06.028
- Christensen D, Zubler J. CE: From the CDC: Understanding Autism Spectrum Disorder. *Am J Nurs.* 2020;120(10):30-37. doi:10.1097/01.NAJ.0000718628.09065.1b

- Como DH, Duker LIS, Polido JC, Cermak SA. Oral health and autism spectrum disorders: A unique collaboration between dentistry and occupational therapy. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(1):1-10. doi:10.3390/ijerph18010135
- Crawford H, Moss J, Oliver C, Riby D. Differential effects of anxiety and autism on social scene scanning in males with fragile X syndrome. *J Neurodev Disord*. 2017;9(1):1-10. doi:10.1186/s11689-017-9189-6
- D’gama AM. Somatic mosaicism and autism spectrum disorder. *Genes (Basel)*. 2021;12(11). doi:10.3390/genes12111699
- D’onofrio M, Munari F, Assfalg M. Alpha-synuclein—nanoparticle interactions: Understanding, controlling and exploiting conformational plasticity. *Molecules*. 2020;25(23). doi:10.3390/molecules25235625
- Duffney LJ, Valdez P, Tremblay MW, et al. Epigenetics and autism spectrum disorder: A report of an autism case with mutation in H1 linker histone HIST1H1E and literature review. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet*. 2018;177(4):426-433. doi:10.1002/ajmg.b.32631
- Dułał D, Gadzała M, Banach M, Konieczny L, Roterman I. Alternative structures of α -synuclein. *Molecules*. 2020;25(3):1-22. doi:10.3390/molecules25030600
- Ecker C, Schmeisser MJ, Loth E, Murphy DG. Neuroanatomy and neuropathology of autism spectrum disorder in humans. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 2017;224:27-48. doi:10.1007/978-3-319-52498-6_2
- El-Ansary A, Alhakhbany M, Aldbass A, et al. Alpha-Synuclein, cyclooxygenase-2 and prostaglandins-EP2 receptors as neuroinflammatory biomarkers of autism spectrum disorders: Use of combined ROC curves to increase their diagnostic values. *Lipids Health Dis*. 2021;20(1):1-12. doi:10.1186/s12944-021-01578-7
- Eshraghi AA, Liu G, Kay SIS, et al. Epigenetics and autism spectrum disorder: Is there a correlation? *Front Cell Neurosci*. 2018;12(March):1-5. doi:10.3389/fncel.2018.00078
- Fakhoury M. Imaging genetics in autism spectrum disorders: Linking genetics and brain imaging in the pursuit of the underlying neurobiological mechanisms. *Prog*

- Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry. 2018;80:101-114. doi:10.1016/j.pnpbp.2017.02.026
- Faridi F, Khosrowabadi R. Behavioral, cognitive and neural markers of asperger syndrome. Basic Clin Neurosci. 2017;8(5):349-360. doi:10.18869/NIRP.BCN.8.5.349
- Forsberg SL, Ilieva M, Maria Michel T. Epigenetics and cerebral organoids: Promising directions in autism spectrum disorders. Transl Psychiatry. 2018;8(1). doi:10.1038/s41398-017-0062-x
- Freitag CM. Genetic findings in autism spectrum disorders. Nervenarzt. 2017;88(7):760-764. doi:10.1007/s00115-017-0351-x
- Frye RE. Mitochondrial Dysfunction in Autism Spectrum Disorder: Unique Abnormalities and Targeted Treatments. Semin Pediatr Neurol. 2020;35:100829. doi:10.1016/j.spen.2020.100829
- Frye RE. Social Skills Deficits in Autism Spectrum Disorder: Potential Biological Origins and Progress in Developing Therapeutic Agents. CNS Drugs. 2018;32(8):713-734. doi:10.1007/s40263-018-0556-y
- Genovese A, Butler MG. Clinical assessment, genetics, and treatment approaches in autism spectrum disorder (ASD). Int J Mol Sci. 2020;21(13):1-18. doi:10.3390/ijms21134726
- Graf WD, Miller G, Epstein LG, Rapin I. The autism epidemic Ethical, legal, and social issues in a developmental spectrum disorder. Neurology. 2017;88(14):1371-1380. doi:10.1212/WNL.0000000000003791
- Green RM, Travers AM, Howe Y, McDougale CJ. Women and Autism Spectrum Disorder: Diagnosis and Implications for Treatment of Adolescents and Adults. Curr Psychiatry Rep. 2019;21(4). doi:10.1007/s11920-019-1006-3
- Griesi-Oliveira K, Sertié AL. Autism spectrum disorders: an updated guide for genetic counseling. Einstein (Sao Paulo). 2017;15(2):233-238. doi:10.1590/S1679-45082017RB4020

- Guhathakurta S, Bok E, Evangelista BA, Kim YS. Deregulation of α -synuclein in Parkinson's disease: Insight from epigenetic structure and transcriptional regulation of SNCA. *Prog Neurobiol.* 2017;154:21-36. doi:10.1016/j.pneurobio.2017.04.004
- Gürsoy G, Andaç Öztürk S. Otizm Spektrum Bozukluklarında Beslenme Yaklaşımı. *Aydın Sağlık Derg.* 2019;5(2):111-119. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/asder/issue/48693/619356>
- Haakonsen Smith C, Turbitt E, Muschelli J, et al. Feasibility of Coping Effectiveness Training for Caregivers of Children with Autism Spectrum Disorder: a Genetic Counseling Intervention. *J Genet Couns.* 2018;27(1):252-262. doi:10.1007/s10897-017-0144-1
- Harris J. Leo Kanner and autism. 75-year perspective. *Int Rev Psychiatry.* 2018;30(1):3-17. doi:10.1080/09540261.2018.1455646
- Hodges H, Fealko C, Soares N. Autism spectrum disorder: Definition, epidemiology, causes, and clinical evaluation. *Transl Pediatr.* 2020;9(8):S55-S65. doi:10.21037/tp.2019.09.09
- Hyman SL, Levy SE, Myers SM. CLINICAL REPORT Guidance for the Clinician in Rendering Pediatric Care Identification, Evaluation, and Management of Children With Autism Spectrum Disorder. doi:10.1542/peds.2019-3447
- Ijomone OM, Olung NF, Akingbade GT, Okoh COA, Aschner M. Environmental influence on neurodevelopmental disorders: Potential association of heavy metal exposure and autism. *J Trace Elem Med Biol.* 2020;62(August):126638. doi:10.1016/j.jtemb.2020.126638
- Imamura A, Morimoto Y, Ono S, et al. Genetic and environmental factors of schizophrenia and autism spectrum disorder: insights from twin studies. *J Neural Transm.* 2020;127(11):1501-1515. doi:10.1007/s00702-020-02188-w
- Kadak MT, Cetin I, Tarakçoğlu MC, Özer ÖF, Kaçar S, Çimen B. Low Serum Level α -Synuclein and Tau Protein in Autism Spectrum Disorder Compared to Controls. *Neuropediatrics.* 2015;46(6):410-415. doi:10.1055/s-0035-1565273

- Kimura R, Nakata M, Funabiki Y, et al. An epigenetic biomarker for adult high-functioning autism spectrum disorder. *Sci Rep.* 2019;9(1):1-7. doi:10.1038/s41598-019-50250-9
- Krishnan MC. Sex differences in autism spectrum disorder. *Complex Autism Spectr Disord.* Published online 2018:69-86. doi:10.4324/9780429454646
- Loureiro C, Campêlo C, Silva RH. Genetic Variants in SNCA and the Risk of Sporadic Parkinson's Disease and Clinical Outcomes: A Review. Published online 2017. doi:10.1155/2017/4318416
- Masi A, DeMayo MM, Glozier N, Guastella AJ. An Overview of Autism Spectrum Disorder, Heterogeneity and Treatment Options. *Neurosci Bull.* 2017;33(2):183-193. doi:10.1007/s12264-017-0100-y
- Masini E, Loi E, Vega-Benedetti AF, et al. An overview of the main genetic, epigenetic and environmental factors involved in autism spectrum disorder focusing on synaptic activity. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):1-22. doi:10.3390/ijms21218290
- Mehra S, Sahay S, Maji SK. α -Synuclein misfolding and aggregation: Implications in Parkinson's disease pathogenesis. *Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics.* 2019;1867(10):890-908. doi:10.1016/j.bbapap.2019.03.001
- Meltzer A, Van De Water J. The Role of the Immune System in Autism Spectrum Disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2017;42(1):284-298. doi:10.1038/npp.2016.158
- Mirkovic B, Gérardin P. Asperger's syndrome: What to consider? *Encephale.* 2019;45(2):169-174. doi:10.1016/j.encep.2018.11.005
- Modabbernia A, Velthorst E, Reichenberg A. Environmental risk factors for autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. *Mol Autism.* 2017;8(1):1-16. doi:10.1186/s13229-017-0121-4
- Moons R, van der Wekken-de Bruijne R, Maudsley S, Lemièrre F, Lambeir AM, Sobott F. Effects of detergent on α -synuclein structure. A native ms-ion mobility study. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):1-23. doi:10.3390/ijms21217884

- Mostafavi M, Gaitanis J. Autism Spectrum Disorder and Medical Cannabis: Review and Clinical Experience. *Semin Pediatr Neurol.* 2020;35:100833. doi:10.1016/j.spen.2020.100833
- Mukherjee SB. Autism Spectrum Disorders — Diagnosis and Management. *Indian J Pediatr.* 2017;84(4):307-314. doi:10.1007/s12098-016-2272-2
- Murphy CM, Ellie Wilson C, Robertson DM, et al. Autism spectrum disorder in adults: Diagnosis, management, and health services development. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016;12:1669-1686. doi:10.2147/NDT.S65455
- Niu M, Han Y, Dy ABC, et al. Autism Symptoms in Fragile X Syndrome. *J Child Neurol.* 2017;32(10):903-909. doi:10.1177/0883073817712875
- Ottolini D, Calí T, Szabò I, Brini M. Alpha-synuclein at the intracellular and the extracellular side: Functional and dysfunctional implications. *Biol Chem.* 2017;398(1):77-100. doi:10.1515/hsz-2016-0201
- Peng C, Gathagan RJ, Lee VMY. Distinct α -Synuclein strains and implications for heterogeneity among α -Synucleinopathies. *Neurobiol Dis.* 2018;109:209-218. doi:10.1016/j.nbd.2017.07.018
- Pensado-López A, Veiga-Rúa S, Carracedo Á, Allegue C, Sánchez L. Experimental models to study autism spectrum disorders: Hipsocs, rodents and zebrafish. *Genes (Basel).* 2020;11(11):1-45. doi:10.3390/genes11111376
- Peretti S, Mariano M, Mazzocchetti C, et al. Diet: the keystone of autism spectrum disorder? *Nutr Neurosci.* 2019;22(12):825-839. doi:10.1080/1028415X.2018.1464819
- Persico AM, Ricciardello A, Cucinotta F. The Psychopharmacology of Autism Spectrum Disorder and Rett Syndrome. Vol 165. 1st ed. Elsevier B.V.; 2019. doi:10.1016/B978-0-444-64012-3.00024-1
- Pozo Devoto VM, Falzone TL. Mitochondrial dynamics in Parkinson's disease: A role for α -synuclein? *DMM Dis Model Mech.* 2017;10(9):1075-1087. doi:10.1242/dmm.026294

- Ramaswami G, Geschwind DH. Genetics of Autism Spectrum Disorder. Vol 147. 1st ed. Elsevier B.V.; 2018. doi:10.1016/B978-0-444-63233-3.00021-X
- Ramaswami G, Geschwind DH. Genetics of autism spectrum disorder. *Handb Clin Neurol*. 2018;147:321-329. doi:10.1016/B978-0-444-63233-3.00021-X
- Ravaccia D, Ghafourian T. Critical role of the maternal immune system in the pathogenesis of autism spectrum disorder. *Biomedicines*. 2020;8(12):1-21. doi:10.3390/biomedicines8120557
- Riemersma IW, Havekes R, Kas MJH. Spatial and temporal gene function studies in rodents: Towards gene-based therapies for autism spectrum disorder. *Genes (Basel)*. 2022;13(1). doi:10.3390/genes13010028
- Rylaarsdam L, Guemez-Gamboa A. Genetic Causes and Modifiers of Autism Spectrum Disorder. *Front Cell Neurosci*. 2019;13. doi:10.3389/fncel.2019.00385
- Sahin M, Sur M. Genes, circuits, and precision therapies for autism and related neurodevelopmental disorders. *Science* (80-). 2015;350(6263):1-14. doi:10.1126/science.aab3897
- Schepici G, Cavalli E, Bramanti P, Mazzon E. Autism spectrum disorder and mirna: An overview of experimental models. *Brain Sci*. 2019;9(10):1-16. doi:10.3390/brainsci9100265
- Sener EF, Cıkılı Uytun M, Korkmaz Bayramov K, et al. The roles of CC2D1A and HTR1A gene expressions in autism spectrum disorders. *Metab Brain Dis*. 2016;31(3):613-619. doi:10.1007/s11011-016-9795-0
- Shattuck PT, Garfield T, Roux AM, et al. Services for Adults With Autism Spectrum Disorder: a Systems Perspective. *Curr Psychiatry Rep*. 2020;22(3). doi:10.1007/s11920-020-1136-7
- Shen L, Zhao Y, Zhang H, et al. Advances in Biomarker Studies in Autism Spectrum Disorders. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol 1118. Springer New York LLC; 2019:207-233. doi:10.1007/978-3-030-05542-4_11

- Shulman C, Esler A, Morrier MJ, Rice CE. Diagnosis of Autism Spectrum Disorder Across the Lifespan. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2020;29(2):253-273. doi:10.1016/j.chc.2020.01.001
- Siddique A, Khan HF, Ali S, Abdullah A, Munir H, Ariff M. Estimation of Alpha-Synuclein Monomer and Oligomer Levels in the Saliva of the Children With Autism Spectrum Disorder: A Possibility for an Early Diagnosis. *Cureus*. 2020;12(8):8-15. doi:10.7759/cureus.9936
- Smith A, Kaufman F, Sandy MS, Cardenas A. Cannabis Exposure During Critical Windows of Development: Epigenetic and Molecular Pathways Implicated in Neuropsychiatric Disease. *Curr Environ Heal Reports*. 2020;7(3):325-342. doi:10.1007/s40572-020-00275-4
- Somayaji M, Lanseur Z, Choi SJ, Sulzer D, Mosharov E V. Roles for α -synuclein in gene expression. *Genes (Basel)*. 2021;12(8). doi:10.3390/genes12081166
- Srinivasan E, Chandrasekhar G, Chandrasekar P, et al. Alpha-Synuclein Aggregation in Parkinson's Disease. *Front Med*. 2021;8(October). doi:10.3389/fmed.2021.736978
- Srivastava S, Sahin M. Autism spectrum disorder and epileptic encephalopathy: Common causes, many questions. *J Neurodev Disord*. 2017;9(1):1-11. doi:10.1186/s11689-017-9202-0
- Sriwimol W, Limprasert P. Significant Changes in Plasma Alpha-Synuclein and Beta-Synuclein Levels in Male Children with Autism Spectrum Disorder. *Biomed Res Int*. 2018;2018. doi:10.1155/2018/4503871
- Strunecka A, Strunecky O. Chronic fluoride exposure and the risk of autism spectrum disorder. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(18). doi:10.3390/ijerph16183431
- Surguchev AA, Emamzadeh FN, Surguchov A. Cell responses to extracellular α -synuclein. *Molecules*. 2019;24(2):1-8. doi:10.3390/molecules24020305

- Takumi T, Tamada K, Hatanaka F, Nakai N, Bolton PF. Behavioral neuroscience of autism. *Neurosci Biobehav Rev.* 2020;110(May 2018):60-76. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.04.012
- Tavares F da S, Azevedo YJ, Fernandes L da MM, et al. Cochlear implant in patients with autistic spectrum disorder—a systematic review. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2021;87(5):601-619. doi:10.1016/j.bjorl.2020.11.020
- Taylor MJ, Rosenqvist MA, Larsson H, et al. Etiology of autism spectrum disorders and autistic traits over time. *JAMA Psychiatry.* 2020;77(9):936-943. doi:10.1001/jamapsychiatry.2020.0680
- Thapar A, Rutter M. Genetic Advances in Autism. *J Autism Dev Disord.* 2021;51(12):4321-4332. doi:10.1007/s10803-020-04685-z
- Tremblay MW, Jiang YH. DNA methylation and susceptibility to autism spectrum disorder. *Annu Rev Med.* 2019;70:151-166. doi:10.1146/annurev-med-120417-091431
- Trinh S, Arnett A, Kurtz-Nelson E, Beighley J, Picoto M, Bernier R. Transcriptional subtyping explains phenotypic variability in genetic subtypes of autism spectrum disorder. *Dev Psychopathol.* 2020;32(4):1353-1361. doi:10.1017/S0954579420000784
- Ugalde CL, Lawson VA, Finkelstein DI, Hill AF. The role of lipids in α -synuclein misfolding and neurotoxicity. *J Biol Chem.* 2019;294(23):9016-9028. doi:10.1074/jbc.REV119.007500
- Upadhyay J, Patra J, Tiwari N, Salankar N, Ansari MN, Ahmad W. Dysregulation of multiple signaling neurodevelopmental pathways during embryogenesis: A possible cause of autism spectrum disorder. *Cells.* 2021;10(4). doi:10.3390/cells10040958
- Varghese M, Keshav N, Jacot-Descombes S, et al. Autism spectrum disorder: neuropathology and animal models. *Acta Neuropathol.* 2017;134(4):537-566. doi:10.1007/s00401-017-1736-4

- Vicari S, Napoli E, Cordeddu V, et al. Copy number variants in autism spectrum disorders. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2019;92(June 2018):421-427. doi:10.1016/j.pnpbp.2019.02.012
- Virolainen S, Hussien W, Dalibalta S. Autism spectrum disorder in the United Arab Emirates: Potential environmental links. *Rev Environ Health*. 2020;35(4):359-369. doi:10.1515/reveh-2020-0025
- Wagner KE, McCormick JB, Barns S, Carney M, Middleton FA, Hicks SD. Parent Perspectives Towards Genetic and Epigenetic Testing for Autism Spectrum Disorder. *J Autism Dev Disord*. 2020;50(9):3114-3125. doi:10.1007/s10803-019-03990-6
- Williams Buckley A, Hirtz D, Oskoui M, et al. Practice guideline: Treatment for insomnia and disrupted sleep behavior in children and adolescents with autism spectrum disorder: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2020;94(9):392-404. doi:10.1212/WNL.00000000000009033
- Wiśniowiecka-Kowalnik B, Nowakowska BA. Genetics and epigenetics of autism spectrum disorder—current evidence in the field. *J Appl Genet*. 2019;60(1):37-47. doi:10.1007/s13353-018-00480-w
- Won H, Mah W, Kim E. Autism spectrum disorder causes, mechanisms, and treatments: Focus on neuronal synapses. *Front Mol Neurosci*. 2013;6(JULY):1-26. doi:10.3389/fnmol.2013.00019
- Wong H, Hoeffler C. Maternal IL-17A in autism. *Exp Neurol*. 2018;299:228-240. doi:10.1016/j.expneurol.2017.04.010
- Wong YC, Krainc D. α -synuclein toxicity in neurodegeneration: Mechanism and therapeutic strategies. *Nat Med*. 2017;23(2):1-13. doi:10.1038/nm.4269
- Yamada K, Iwatsubo T. Extracellular α -synuclein levels are regulated by neuronal activity. *Mol Neurodegener*. 2018;13(1):4-11. doi:10.1186/s13024-018-0241-0
- Yeniçeri M. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Otizm. *Sak Med J*. Published online 2020. doi:10.31832/smj.618624

Yoon SH, Choi J, Lee WJ, Do JT. Genetic and epigenetic etiology underlying autism spectrum disorder. *J Clin Med*. 2020;9(4). doi:10.3390/jcm9040966

Zhou J, Park CY, Theesfeld CL, et al. Whole-genome deep-learning analysis identifies contribution of noncoding mutations to autism risk. *Nat Genet*. 2019;51(6):973-980. doi:10.1038/s41588-019-0420-0

Zhou Y, Hu Y, Sun Q, Xie N. Non-coding RNA in fragile X syndrome and converging mechanisms shared by related disorders. *Front Genet*. 2019;10(MAR):1-11. doi:10.3389/fgene.2019.00139



EKLER

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011- KA EK-30)

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuklar ve Ailelerinde Alfa Sinükleinin Araştırılması						
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU							
DEĞERLEN DİRİLEN BELGELER	BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe	☐	İngilizce	☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe	☐	İngilizce	☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe	☐	İngilizce	☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe	☐	İngilizce	☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	BELGE ADI	Açıklama					
	SIGORTA						
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ						
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU						
	İLAN						
	YILLIK BİLDİRİM						
	SONUÇ RAPORU						
	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ						
	DİĞER						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2020/569		Tarih : 03.11.2020				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Sema Kader KÖSE

Unvanı / Adı Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma İle İlişki	Katılım (*)
Prof. Dr. Sema Kader KÖSE	Tıbbi Biyokimya	E.Ü. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H
Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Doç. Dr. Yusuf SEVİM	Genel Cerrahi	Kayseri Eğitim Hast.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Doç. Dr. Emin Murat CANGER	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	E.Ü. Diş Hek.Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Doç. Dr. Mehmet DOLANBAY	Kadın Hast. ve Doğum	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Doç. Dr. Fatih KARDAŞ	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Doç. Dr. Serpil TAHERİ	Tıbbi Biyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H
Doç. Dr. Zafer SEZER	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Doç. Dr. Adnan BAYRAM	Anest ve Rean.	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Dr. Öğr. Üyesi Oktay BOZKURT	iç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Dr. Öğr. Üyesi Hakan İMAMOĞLU	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H
Av. Tuğba TANRIVERDİ	Avukat	E.Ü. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H
Sevta KOÇER	Sivil Üye	Serbest	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011 - KA EK-80)

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Otizm Spektrum Bozukluğu Tanılı Çocuklar ve Ailelerinde Alfa Sinükleinin Araştırılması		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
	AÇIK ADRES	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Melikgazi/KAYSERİ		
	TELEFON	0 352 437 49 10 - 11		
	FAKS	0 352 437 52 85		
	E-POSTA	serifeserim@erciyes.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI / ADI / SOYADI	Doç. Dr. Elif Funda ŞENER		
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji AD.		
	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD., Kayseri		
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ ADI SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMCİLÇİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
FAZ 4		☐		
Gözlemsel ilaç çalışması		☐		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐		
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐		
İlaç dışı klinik araştırma		☐		
Diğer ise belirtiniz	Yüksek Lisans Tezi			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ ☒	ÇOKMERKEZ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Mukaddes tez yüksek lisans

ORIGINALITY REPORT

14%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet	1109 words — 11%
2	docplayer.biz.tr Internet	116 words — 1%
3	dergipark.org.tr Internet	46 words — < 1%
4	9lib.net Internet	31 words — < 1%
5	Usuk, Sinem. "Sicanlarda Yaniga bagli Uzak Organ Hasarinda Gilaburu'nun (Viburnum opulus L.) Olasi Tedavi Edici ve Koruyucu Etkilerinin Arastirilmesi", Marmara Universitesi (Turkey), 2020 ProQuest	30 words — < 1%
6	studylibtr.com Internet	26 words — < 1%
7	hdl.handle.net Internet	20 words — < 1%
8	KOÇ, Hürmüz, TAMER, Kemal and ÇOKSEVİM, Bekir. "Devamlı ve aralı (interval) koşu programlarının plazma üre ve kreatin düzeyleri üzerine etkisi", Fırat Üniversitesi, 2007.	18 words — < 1%

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Mukaddes BADILLI KARACA

Uyruğu: Türkiye (T.C.)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet
Tarihi		
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi	
Lisans	Bartın Üniversitesi	2018
Lise	Şanlıurfa Anadolu Lisesi	2013

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2020 -2022	TÜSEB	Moleküler Biyolog
2017 (2 Ay)	Harran Üniv. Tıbbi Genetik ABD	Stajyer Biyolog
2015 (2 Ay)	Özel Edessa Hastanesi	Stajyer Biyolog

YABANCI DİL

İngilizce

KURS VE SERTİFİKALAR

-Pozitif Bilimlerde Yenilikçi Araştırmalar Üzerine Uluslararası İCONTECH Sempozyumu katılım belgesi Şanlıurfa/05-06 Şubat

-10.ulusal Molbiotech kongresi 11 Aralık 2021 online katılım

-Abdullah Gül Üniversitesi 5. Yaşam Bilimleri Kongresi/ 21-22 Şubat 2020

-Erzurum Teknik Üniversitesi Uluslararası Nobelyum Bilim Kongresi /Erzurum 14-15 Nisan 2018

-Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü 6. Moleküler Tıpta Kullanılan Teknikler Kursu /İstanbul 25-27 Ocak 2018

-Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü 6. Moleküler Tıpta Kullanılan Teknikler Kursu /İstanbul 23-24 Aralık 2017

-Bilgisayar Kursu Şanlıurfa Halk Eğitim Merkezi /10 Şubat- 15 Mart 2019

-İşaret Dili kursu sertifikası /Şanlıurfa Gençlik Merkezi/ 28 Ekim- 17 Aralık 2018

ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA BASILAN BİLDİRİLER

Şener E.F., **Badıllı M.**, Tahtasakal R, Demirci E, Şahin M., Dal F., Pirencioğlu Ş., Tuğhan E., “Otizm ve Alfa Sinüklein’in İlişkisi “, 5. Uluslararası Pozitif Bilimlerde Yenilikçi Araştırmalar Üzerine İCONTECH Kongresi. ŞANLIURFA, TÜRKİYE, 05-06 Şubat.