

Otizmlı Olgularda Moleküler Karyotipleme Yöntemi ile Genetik Etiyolojinin Aydınlatılması



Burcu ÖZBARAN¹, Bilçağ AKGÜN², Duygu KAÇAMAK³, Sezen KÖSE⁴,
Ayşenur KAVASOĞLU⁵, Hüseyin ONAY⁶

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, otizmlı olgularda moleküler karyotipleme yöntemiyle genom genelinde delesyon ve duplikasyonların araştırılması ve otizm etiyojisinin daha net olarak aydınlatılabilmesi amaçlanmaktadır.

Yöntem: Ege Üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniğine başvuran otizm tanısı almış, kromozom analizi ve Frajil X çalışması normal bulunmuş, 4 ile 18 yaşları arasındaki 31 hasta (20 erkek, 11 kız) çalışmaya alınmıştır. DSM-IV-TR tanı kriterlerine göre otizm tanısı alan, belirti şiddet değerlendirmesi Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (Childhood Autism Rating Scale) ile yapılan olgularda moleküler karyotipleme çalışması yapılmıştır. Bu örneklerden elde edilen DNA'larda Illumina IScan sisteminde 330.000 tek nükleotid polimorfizm (TNP) tarayabilen orta çözünürlükte çipler yardımıyla tüm genom taraması yapılmış ve 10 kb çözünürlükte yapısal anomaliler saptanmaya çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınan olguların tamamında 20 kb-3 mb büyüklüğünde çeşitli kopya sayısı değişiklikleri (KSD) saptanmıştır. KaryoStudio programında ve DGV veritabanı yapılan analizlerle tüm olgularda saptanan değişiklikler değerlendirilmiş ve hastalıkla ilişkili olabilecekler belirlenmiştir. Toplam 9 hastada (%29) klinikle ilişkili olduğu değerlendirilen kopya sayısı değişiklikleri saptanmıştır. Bunlardan 7 tanesi delesyon, 2 tanesi duplikasyondur.

Sonuç: Bu çalışma ile ülkemizde ilk defa otizmlı olgularda moleküler karyotipleme yöntemi başarıyla uygulanmıştır. Ayrıca orta çözünürlükteki 330.000 TNP içeren çipin, moleküler karyotipleme çalışması için uygun olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Otizm, moleküler, karyotipleme, tek nükleotid polimorfizmi, mikrodizilim

GİRİŞ

Otizm, çocukluk çağı nöropsikiyatrik bozukluklarından biridir. Karşılıklı sosyal etkileşim ve iletişim becerilerinde gecikme ve sapmalar, stereotipik davranışlar ve kısıtlı ilgi dağarcığı ve sınırlı aktiviteler ile karakterize bir bozukluktur (Bailey ve ark. 1995). Yazında, Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) prevalansının %

SUMMARY

The Role of Molecular Karyotyping in the Genetic Etiology of Autism

Objective: The aim of this study was to investigate the deletions and duplications with a molecular karyotyping technique and to elucidate the etiology of autism.

Method: A total of 31 patients (20 boys and 11 girls) between 4 to 18 years old with normal chromosomal analysis and no Fragile X mutation were diagnosed in the Ege University Child and Adolescent Psychiatry Clinic with autism (according to DSM-IV-TR criteria) and were enrolled in the study. Symptom severity of the patients was evaluated with a Childhood Autism Rating Scale. Blood samples (EDTA collected) were obtained in order to extract DNA. Whole genome molecular karyotyping analyses were performed with Illumina IScan system by chips, which can scan 330.000 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) to detect structural anomalies with a 10-kb resolution.

Results: All patients had copy number variations (CNV) that sized between 20-kb and 3-Mb. All detected CNVs were analyzed by the help of KaryoStudio software and DGV database. The ones which might be causal and pathogenic were selected. Pathogenic CNVs (7 deletions, 2 duplications) were detected in 9 patients (29%).

Conclusion: As a result, this is the first study whereby a molecular karyotyping technique was successfully used in autism patients in Turkey. Moreover, an intermediate resolution of 330.000 SNP chips were proven to be efficient for molecular karyotyping analysis.

Keywords: autism, molecular, karyotyping, single nucleotide polymorphism, microarray

0,6 ile % 2,64 arasında değiştiğini gösteren çalışmalara rastlanmaktadır (Fombonne 2009, Kim ve ark. 2011). Erkeklerde görülme sıklığı kızlara göre 5 kat fazladır (Fuentes ve ark. 2014). Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte çevresel ve genetik faktörlerin karmaşık bir etkileşiminin hastalığın ortaya çıkmasında etkili olabileceği öne sürülmektedir (Kim ve ark. 2011, Levy ve ark. 2009). OSB'da yapılan detaylı genetik çalışmalar,

Geliş Tarihi: 08.04.2016 - **Kabul Tarihi:** 28.07.2016

¹Prof., ³Asis., ⁴Doç., Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi AD., Ege Üniv. ^{2,5}Asis. ⁶Doç., Tıbbi Genetik AD., Ege Üniv. İzmir.

Dr. Burcu Özbaran, e-posta: drbbeker@yahoo.com

doi:10.5080/u18239

bu çocukların %15-40'ında kromozomal ya da Mendeliyan bir neden ya da bir yatkınlık durumu saptanabildiğini göstermektedir (Schaefer ve ark. 2008).

Otizm olgularını sendromik (kompleks) ve esansiyel (sendromik olmayan) olarak iki grupta incelemek otizm genetiğinin anlaşılması açısından oldukça önemlidir (Miles ve ark. 2005). Esansiyel otizm, olguların %75'inde görülmektedir ve bu olgularda belirgin bir dismorfik bulgu yoktur. Erkek/kadın oranı 6:1 olup, normalden daha yüksektir. Ayrıca bu grupta kardeşte tekrar oranı daha yüksek olup (%35'e kadar), aile öyküsü pozitifliği daha fazladır (%20'ye kadar) (Gurrieri 2012). Sendromik (kompleks) otizm olgularında ise tanımlanabilir dismorfik bozukluklar hastalığa eşlik eder ve 3.5:1 gibi bir erkek/kadın oranı vardır. Kardeşlerde tekrar riski %4-6 arasındadır ve pozitif aile öyküsü olguların en fazla %9'unda mevcuttur (Miles 2011). Prognoz ve tekrar riski iki grup arasında belirgin farklılık gösterdiği için bu iki grubu birbirinden ayırmak oldukça önemlidir (Miles 2011).

Genel olarak OSB'deki genetik değişiklikler üç grup altında incelenebilir. Standart karyotip analizi ile saptanabilen sitogenetik değişiklikler (%5), karşılaştırmalı genomik hibridizasyon dizini (array comparative genomic hybridization-aCGH), tek nükleotid polimorfizm (TNP) mikrodizin gibi yöntemlerle saptanabilen kopya sayısı değişiklikleri (KSD) (copy number variations-CNV) (%10-35) ve tek gen mutasyonlarıdır (%5) (Miles 2011). Sendromik otizmliler, yani bir sendromun parçası görünümünde otizm bulunan grupta genetik etiyojijiyi saptamak, dismorfik bulguların yardımıyla görece daha kolaydır. Frajil X sendromu, Angelman sendromu ya da Rett sendromu, sendromik otizme örnektir.

Esansiyel otizmde, yani bir sendromun parçası olarak değil, tek başına otizmi olan grupta yapılması gereken ilk genetik analiz tüm genomda kopya sayısı değişikliklerinin araştırılmasıdır (Shen ve ark. 2010). Bu analiz esansiyel tanılı olgularda %10-20 oranında bir tanı başarısı getirmektedir (Miles 2011). Moleküler karyotipleme testi, klasik karyotipleme çalışması ile saptanamayan boyuttaki kromozomal kayıp, kazanç ve yeniden düzenlenmelerin moleküler olarak tanınabildiği yeni bir testtir. Bu test ile aynı zamanda klasik karyotipleme ile görülen bozukluklar da tanımlanabilmektedir. Uzun yıllardır yapılan çalışmalardan sonra test rutine girmiştir ve dünyada belli hastalıklarda birinci basamak test olarak uygulanmaktadır (Shen Y ve ark. 2010). Yönteme kabaca bakılırsa, kromozom üzerinde özel olarak seçilmiş toplam 300.000 tek nükleotid polimorfizminin genotipi araştırılarak, o kromozom parçasının kaç kopya olduğu (normalde iki olması gerekmektedir) değerlendirilmektedir. Kromozom başına yaklaşık olarak ortalama 15.000 TNP analiz edildiği için insan gözünün mikroskopla analiz edebildiğinden yaklaşık 3000 kat daha detaylı bir şekilde kromozomal kayıp ya da kazançlar bu sistemle saptanabilmektedir.

Mental retardasyon/çoklu konjenital anomaliler, otizm spektrum bozuklukları gibi bazı hastalık gruplarında ve tanımlanmış mikrolelesyon sendromlarının taranmasında, moleküler karyotipleme testinin, birinci basamak test olarak kullanılması dünyada kabul görmüştür (Miller ve ark. 2010). Otizm ve mental retardasyon/çoklu konjenital anomalilerden oluşan hastalık gruplarının özelliği etiyojijide yüksek oranda kromozomal bozukluk beklenmesine rağmen ışık mikroskobu ile yapılan kromozomal analizde yeterince pozitif sonuç elde edilememesidir. Yıllar içinde bu hastalıklarda yapılan moleküler karyotipleme çalışmaları, bu hasta gruplarında klasik karyotiplemenin üzerine ek %15-20 tanısız başarı getirmektedir ki bu oldukça yüksek bir orandır (Miller ve ark. 2010). Ayrıca bilinen mikrolelesyon sendromlarının tanısında başarı oranı %100'e yakındır. Ülkemizde otizm genetiği konusunda bugüne kadar sınırlı sayıda çalışma yapılmış, bazı derlemelerle konuya dikkat çekilmiştir (Caglayan 2010). Bunun yanında Çöp ve arkadaşlarının (2015) yaptıkları çalışmada, otizmlilerde klasik karyotipleme yöntemi ile kromozomal anomaliler değerlendirilmiş, ayrıca MECP2 mutasyonlarına ve Frajil X hastalığı için üçlü tekrar sayısına bakılmıştır. Ayrıca hastalığın ana mekanizması dışında hastalığa yatkınlıkta önemli olduğu düşünülen MTHFR C677T polimorfizmi araştırılmıştır (Sener ve ark. 2014) Ancak ülkemizde, otizmlilerde birinci basamak test olarak yapılması önerilen moleküler karyotipleme yönteminin araştırıldığı başka bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

Çalışmamızda 31 sendromik olmayan, kromozom ve Frajil X çalışması normal olan otizmlilerde, ülkemizde ilk defa moleküler karyotipleme yöntemiyle genom genelinde delesyon ve duplikasyonlar araştırılmıştır. Bu çalışmanın, moleküler karyotiplemenin rutin analiz basamakları arasına girmesini sağlayan ilk çalışma olacağı düşünülmekte ve bu hasta grubunda yapılacak ileriki çalışmaların da önünü açacağı düşünülmektedir.

YÖNTEM

Ege Üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniğine başvuran DSM-IV-TR tanı kriterlerine göre otizm tanılı, klasik karyotip analizi ve Frajil X testi normal olan, 4 ile 18 yaşları arasındaki 31 hasta (20 erkek, 11 kız) çalışmaya alınmıştır (Amerikan Psikiyatri Birliği 1994). Ege Üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği "0-6 yaş polikliniği" ve "Gelişim Polikliniği" olarak özel alt birimlere ayrılmıştır. Bu alt birimlerde tüm otizm tanılı çocukların, gelişim öyküsü, gelişim düzeyi ve testi alabilen düzeydeki çocukların zeka değerlendirmeleri gibi detaylı bilgi kayıtları mevcuttur. Bu çalışma kapsamında, bu kayıtlı verilerden yararlanılmıştır. Çocukluk otizmi derecelendirme ölçeği (Childhood Autism Rating Scale - CARS) bu çalışmadaki tüm hastalara uygulanarak otizm belirti şiddeti not edilmiştir (Succoğlu ve ark. 1996). Olguların mental kapasiteleri,

TABLO 1. Olguların Sosyodemografik Özellikleri, Mental Kapasiteleri, CARS Değerlendirmeleri.

Olguların özellikleri		n	%
Cinsiyet	Kız	10	32,3
	Erkek	21	67,7
Eğitim durumu	Özel eğitim	10	32,3
	Özel eğitim ve örgün eğitim	21	67,7
Aile yapısı	Çekirdek	24	77,4
	Parçalanmış	7	22,6
CARS derecesi	Hafif otizm	14	45,2
	Ağır otizm	17	54,8
Mental kapasite	Normal zeka	7	22,6
	Hafif mental retardasyon	11	35,4
	Orta mental retardasyon	13	41,9
Geçmiş öyküde regresyon varlığı	Var	2	6,5
	Yok	29	93,5

yaşlarına ve testi alabilirliklerine göre Ankara Gelişim Tarama Testi ve Wechsler Çocuklar İçin Zeka Ölçeği-Yeniden Gözden Geçirilmiş Formu kullanılarak değerlendirilmiştir (Şahin ve Savaşır 1995, Savaşır ve ark. 1998).

CARS, otistik çocukları tanımak ve otistik olmayan diğer gelişme geriliği olan çocuklardan ayırt etmek için Schopler ve arkadaşları tarafından 1980 yılında geliştirilmiş ve Türkçe geçerlik ve güvenilirlik çalışması yapılmış olan, 15 bölümlük davranış değerlendirme ölçeğidir (Schopler ve ark. 1980, Sucuoğlu ve ark. 1996). Ölçek ayrı birer alt ölçek görünümünde olan 15 maddeden oluşmaktadır. Ölçek insanlarla ilişki, taklit, duygusal tepkiler, bedeninin kullanımı, nesne kullanımı, değişikliğe uyum, görsel tepki, dinleme tepkisi, tatma, koklama, dokunma tepkisi, korku ya da sınırlılık, sözel iletişim, etkinlik düzeyi, zihinsel tepkilerin düzeyi ve tutarlılığı ve genel izlenim alt ölçeklerinden oluşmaktadır. Her madde 1 ile 4 arasında yarım derecelik puanlama ile derecelendirilmektedir. 15. madde diğerlerinden farklı bir özellik taşımaktadır. Çünkü diğer maddelerde çocuğun davranışları değerlendirilirken, bu maddede çocuğun davranışları genel olarak değerlendirilir. Her madde için 1, otizmin olmadığını (otistik değil); 2, hafif otistik; 3, orta derecede otistik; 4 ise ağır derecede otistik olduğunu ifade eder. Ölçeğin toplam puanı 15 ile 60 arasındadır. Genel toplamda 15–29: Otizm yok, 30–36: Hafif-Orta Derecede Otistik, 37–60: Aşırı Derecede Otistik olarak değerlendirilmektedir.

Wechsler Çocuklar İçin Zeka Ölçeği-Yeniden Gözden Geçirilmiş Formu (WÇZÖ-R); Wechsler (1974) tarafından çocuklarda zihinsel becerileri test etmek üzere geliştirilmiştir. WÇZÖ-R'de sözel ve performans olmak üzere iki bölüm bulunmaktadır. Sözel ve performans puanlarının toplamından da toplam zeka puanı (IQ) hesaplanmaktadır. WÇZÖ-R'nin Türk çocukları üzerindeki standardizasyonu Savaşır ve Şahin (1995) tarafından 6-16 yaş grubunda gerçekleştirilmiştir.

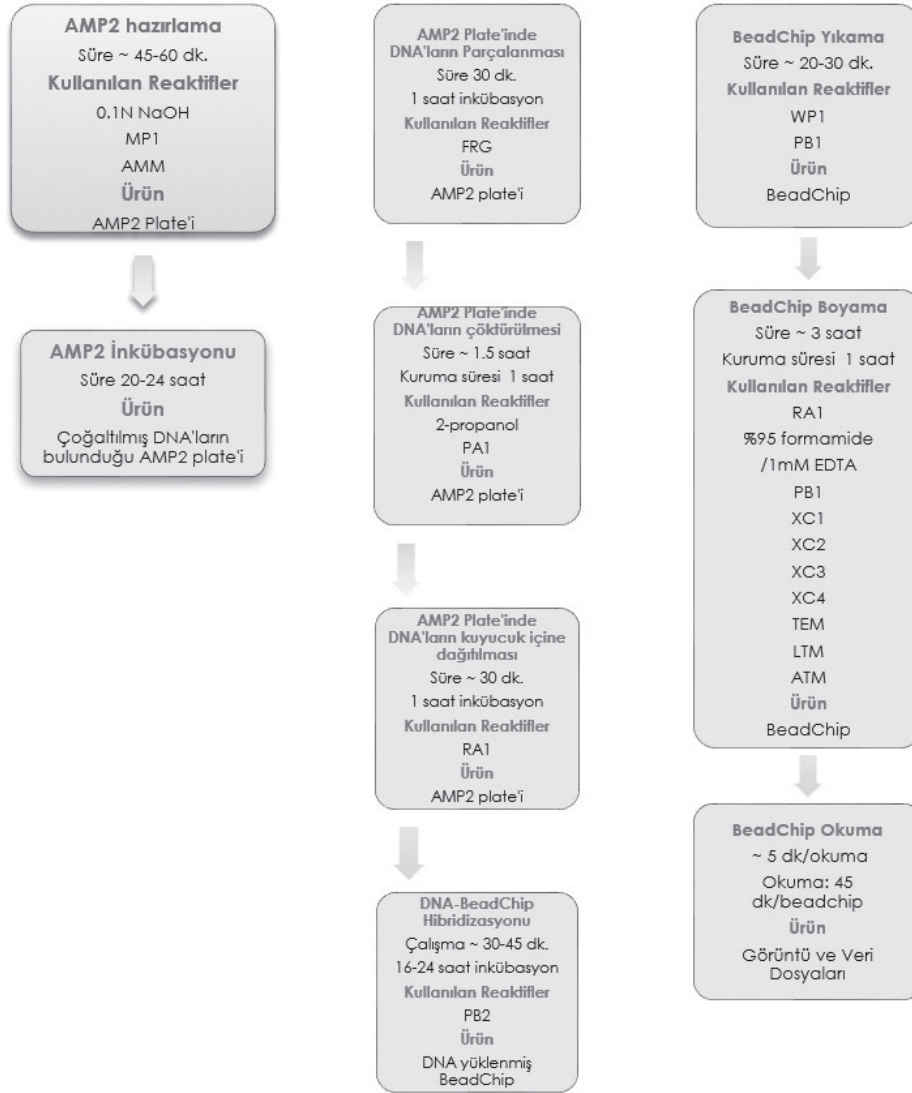
Ankara Gelişim Tarama Envanteri (AGTE); Savaşır ve arkadaşları (1998) tarafından Türk Çocukları için geliştirilmiştir. AGTE 0-6 yaş grubundaki çocukların sosyal, motor, bilişsel ve iletişimsel gelişim düzeylerini değerlendirmek amacıyla annelerine sorularak, "Evet-Hayır-Bilmiyorum" şeklinde yanıtlanan 154 maddeden oluşmuştur. Sorular gelişimin farklı ancak birbiriyle ilişkili alanlarını (Dil-Bilişsel, İnce Motor, Kaba Motor, Sosyal Beceri-Özbakım) temsil edecek biçimde düzenlenmiştir. Envanterin güvenilirliğinin ve geçerliliğinin yeterli olduğu bildirilmiştir (Savaşır ve ark. 1998).

Çalışmaya alınan tüm otizimli olgularda moleküler karyotiplendirme çalışması Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır. Periferik kan lenfosit hücrelerinden protokole uygun olarak, QIACube AllPrep DNA/RNA FFPE kit (Product No:80234; QIAGEN, Germany) kiti kullanılarak QIACube Robotik DNA izolasyon cihazı ile DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu örneklerden elde edilen DNA'larda Illumina IScan sisteminde (Şekil 1). 330.000 TNP tarayabilen çipler yardımıyla tüm genom taraması yapılmış ve 10 kb rezolüsyonda yapısal anomaliler saptanmaya çalışılmıştır. TNP mikrodizin çalışmasına ait bir akış şeması aşağıda verilmiştir (Şekil 1).

BULGULAR

Çalışmaya, DSM-IV-TR tanı kriterlerine göre "Asperger Sendromu; Yaygın Gelişimsel Bozukluk, Başka Türü Adlandırılmayan; Rett Sendromu ve Dezintegratif Bozukluk" olan olgular alınmamış, yalnızca otizm tanısı olan, 4-18 yaş aralığında 31 otizimli olgu alınmıştır. Olguların yaş ortalaması 8,52 (SD: 3,87); erkek/kız oranı 2.1/1 olarak saptanmıştır. Olguların hiçbirinde ek bir fiziksel hastalık bulunmamaktadır. Yapılan klinik genetik değerlendirme sonucunda olgular dismorfolojik açıdan normal olarak değerlendirilmiştir.

ŞEKİL 1. TNP Mikrodizin Çalışmasına Ait Akış Şeması.



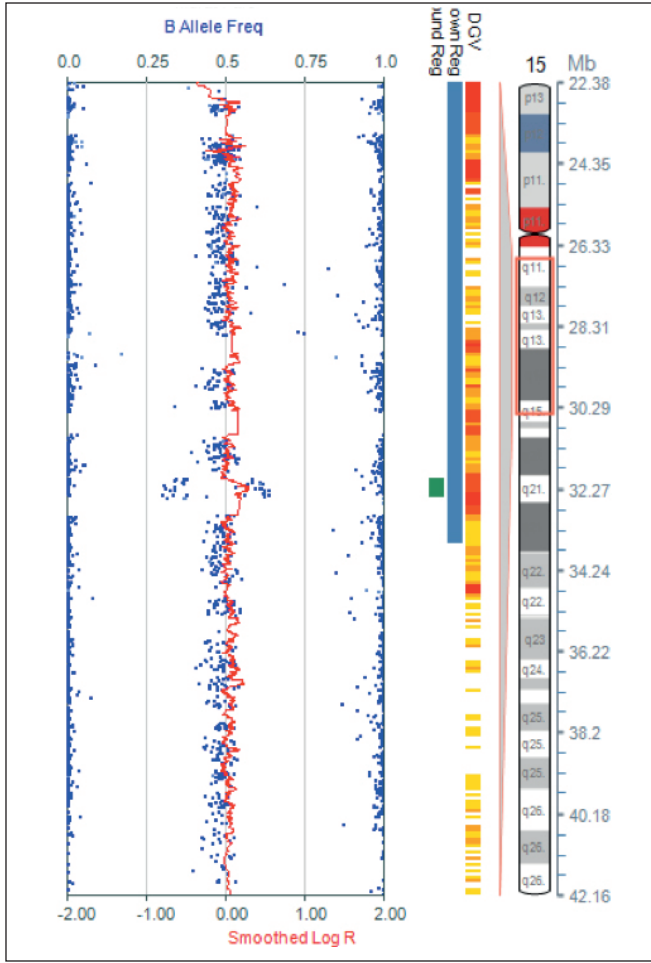
Olguların nörolojik muayeneleri, EEG ve kraniyal MRG'leri, klasik karyotipleme ve Frajil X tarama sonuçları normaldir. Tablo 1'de çalışma olgularının eğitim, aile yapısı gibi sosyodemografik verileri ve regresyon öyküsü olup olmadığı, mental kapasiteleri ve CARS puanları gösterilmiştir.

Çalışmaya alınan olguların tamamında 20 kb-3 mb büyüklüğünde çeşitli KSD'ler saptanmıştır. KaryoStudio programında ve DGV veritabanında yapılan analizlerle tüm olgularda saptanan değişiklikler değerlendirilmiş ve hastalıkla ilişkili olabilecekler belirlenmiştir. Toplam 9 hastada

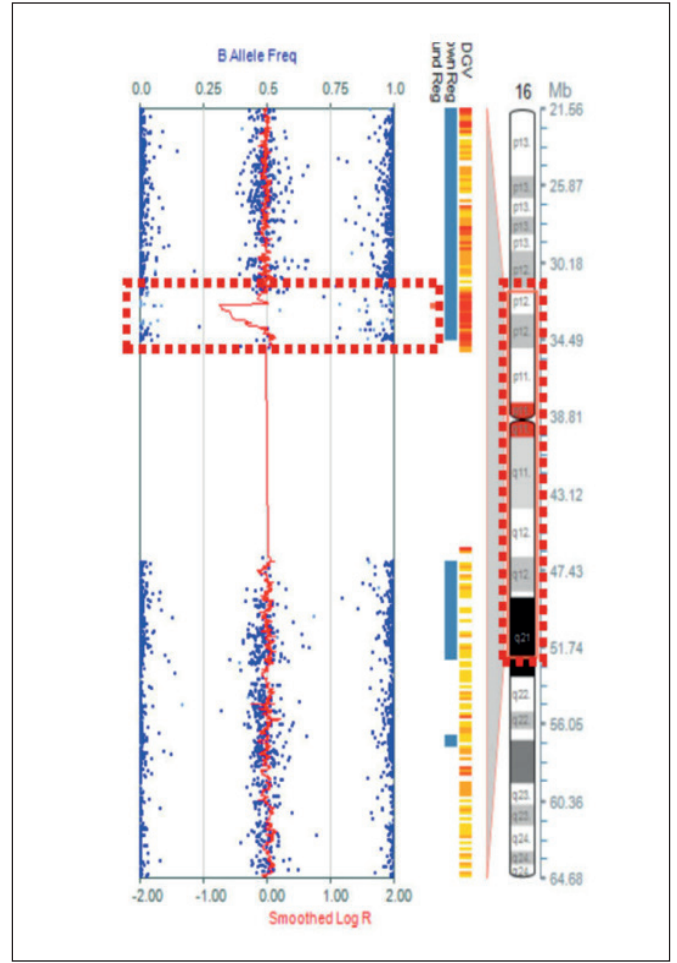
TABLO 2. Çalışmaya Katılan Olgularda Saptanan Patojenik Değişiklikler.

Olgu no	Delesyon duplikasyon	Heterozigot homozigot	Kromozom	CNV boyutu	CARS puanı	Zeka düzeyi	Regresyon
AUT-1	Delesyon	Hemizigot	Xq11	2 Mb	33,5	Orta MR	Yok
AUT-9	Delesyon	Homozigot	17q12	153 kb	31	Normal	Yok
AUT-11	Delesyon	Heterozigot	12q23	126 kb	32,5	Hafif MR	Yok
AUT-12	Delesyon	Heterozigot	16p11.2	350 kb	39	Hafif MR	Yok
AUT-15	Delesyon	Hemizigot	Xq11	2 Mb	35	Orta MR	Yok
AUT-19	Duplikasyon	Heterozigot	16p11.2	620 kb	34,5	Orta MR	Yok
AUT-21	Delesyon	Heterozigot	16p11.2	1,1 Mb	32,5	Orta MR	Yok
AUT23	Delesyon	Homozigot	16p11.2	417 kb	30	Normal	Yok
AUT-24	Duplikasyon	Heterozigot	15q13.3	494 kb	37	Normal	Yok

ŞEKİL 2. AUT-24 Numaralı Olguda Saptanan Duplikasyon.



ŞEKİL 3. AUT-23 Numaralı Olguda Saptanan Delesyon.



(%29) klinikle ilişkili olduğu değerlendirilen kopya sayısı değişiklikleri saptanmıştır. Bunlardan 7 tanesi delesyon, 2 tanesi duplikasyondur (Tablo 2) (Şekil 2 ve 3).

TARTIŞMA

Çalışmamızda, otizm etiyojisini daha net olarak aydınlatılabilmek amacıyla, esansiyel otizmlili olgularda moleküler karyotipleme yöntemiyle genom genelinde delesyon ve duplikasyonlar araştırılmıştır. Çalışmaya alınan olguların tamamında 20 kb-3 mb büyüklüğünde çeşitli KSD'ler saptanmış, olgularda saptanan değişiklikler değerlendirilmiş ve hastalıkla ilişkili olabilecekler belirlenmiştir. Toplam 9 hastada (%29) (7 delesyon, 2 duplikasyon) klinikle ilişkili olduğu değerlendirilen kopya sayısı değişiklikleri saptanmıştır. Ülkemizde bu alanda yapılmış başka bir çalışma bulunmamaktadır. Ülkemizde bugüne kadar yapılan çalışmalar moleküler karyotipleme yöntemi dışında ya klasik karyotipleme yöntemiyle yapılmış (Çöp ve ark. 2015) ya da belli polimorfizmlerin araştırıldığı (Sener ve ark. 2014) çalışmalardır. Dünyada ise, OSB'de moleküler karyotipleme ile yapılmış çalışmalar mevcuttur. Cappuccio ve arkadaşları (2016) tarafından yapılan çalışmada OSB'de

moleküler karyotipleme yöntemi ile kopya sayısı değişikliği %17,3 oranında saptanmıştır. Kanduri ve arkadaşları (2016) tarafından yapılan çalışmada 83 OSB ailesi değerlendirilmiş ve olguların %22,5'inden kopya sayısı değişikliği saptanmıştır. Oikonomakis ve arkadaşlarının (2016) 195 OSB'li olguyu değerlendirdiği çalışmada ise olguların %26,1'inde kopya sayısı değişikliği saptanmıştır. Bu güncel çalışmalara bakıldığında sonuçlarımızın literatürle uyumlu olduğu gözlenmektedir.

Etiyolojik ve klinik olarak heterojen bir grup olan Otizm Spektrum Bozuklukları için giderek yüksek oranda bildirilen yaygınlık oranları mevcuttur ve halen etiyojide en önemli etmenler genetik faktörlerdir (Xu ve ark. 2012, Gurrieri 2012). OSB'nin heterojen bir grup olması hastalık tanısını zorlaştırırken, fenotipik farklılıklar ve eşlik eden hastalıklar (epilepsi, mental retardasyon vb.) da hastalığın altında yatan etiyojik nedenin aydınlatılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenler arasında en önemli bölümü genetik hastalıklar oluşturmaktadır. Otizmin genetik kökenine ilişkin çok önemli deliller bulunmaktadır. Bunlardan ilki ikiz çalışmalarıdır. İkiz çalışmalarında otizmin kalıtsallık katsayısının 0,85-0,92 arasında olduğu saptanmıştır. Tek yumurta ikizlerinde konkordans %64 iken, çift yumurta ikizlerinde bu oran %9 olarak

bulunmuştur (Xu ve ark. 2012). Aile çalışmaları genetik kökenin etkisinin gösterilmesi açısından ikinci önemli çalışma grubudur (Schaaf ve ark. 2011). Geniş ailelerde yapılan çalışmalarda bir tane etkilenmiş çocuğu bulunan ailelerde yeni doğacak çocuk için hastalık riski %8,6 olarak saptanmışken, bu risk ailede iki ya da daha fazla otizmlili çocuk varsa %35'e kadar çıkmaktadır (Dhillon ve ark. 2011). Üçüncü olarak OSB'de yapılan detaylı genetik çalışmalar, bu çocukların %15-40'ında kromozomal ya da Mendeliyan bir neden ya da bir yatkınlık durumu saptanabildiğini göstermektedir. Tüm bu deliller genetik ve otizm arasındaki güçlü bağı ortaya koymakta olsa da otizmin genetiği, hala alanın uzmanları için anlaşılması zor ve araştırmalara açık bir konudur. Prognoz ve tekrar riski iki grup arasında belirgin farklılık gösterdiği için, otizm olgularını sendromik (kompleks) ve esansiyel olarak iki grupta incelemek otizm genetiğinin anlaşılması açısından oldukça önemlidir (Miles 2011).

Çalışmamızda mutasyon bulunan hastaların hiçbirinde regresyon öyküsü bulunmamıştır. Mutasyon olan olguların zeka kapasiteleri hafif ve orta mental retardasyon olarak değişmektedir. Bu klinik verilerin mutasyon bulunan ve bulunmayan olgulardaki dağılımı karşılaştırıldığında, verilerde anlamlı bir yığılım olmadığı gözlenmiştir. Bu da klinik verilerin dağılımında genetik mutasyonun etkisinin sınırlı olduğu şeklinde yorumlanabilir.

OSB genetiği, diğer psikiyatrik hastalıklarda olduğu gibi son derece heterojendir. Bu hastalık grubunda olan değişikliklere baktığımızda tek başına moleküler karyotipleme testi %10-35 oranında tanı başarısı sağlamaktadır. Klasik karyotiplemede ise bu oran yaklaşık %5 civarındadır (Miles 2011). İki yöntem arasında çözünürlük açısından yaklaşık 1000 kat kadar fark bulunmaktadır. Klasik karyotipleme yöntemiyle kromozomlar mikroskop ile değerlendirilirken, moleküler karyotipleme yönteminde kromozomlar, kromozomların üzerine yayılmış bulunan 330.000 adet TNP yardımıyla çok daha

detaylı bir şekilde incelenmektedir. Çalışma sonuçlarımız, bildiği kadarıyla Türkiye'de OSB'de ilk kez uygulanan bir yöntem olması bakımından önemlidir. Mikrodizin analizi ile yapılan moleküler karyotipleme çalışmasında farklı çözünürlükte çipler kullanılabilir. Çok yüksek çözünürlükteki çipler (1 milyon ve üzeri TNP içeren) ile yapılan çalışmalarda çok fazla değişiklik saptanmakta ve bunların klinik olarak değerlendirilmesi çok zorlayıcı olmaktadır. Düşük çözünürlükte olan çipler (100.000 TNP ve altı) ile yapılan çalışmalarda ise hastalığa neden olabilen varyasyonlar saptanamamaktadır. Bu çalışmanın tercih edilen 330.000 TNP'lik orta çözünürlükteki çipin, kopya sayısı değişikliği saptama oranına bakıldığında çok uygun olduğu görülmektedir. Bu sonuç da bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutabilecektir.

Sonuç olarak bu çalışma, ülkemizde OSB olgularında mikrodizin temelli moleküler karyotipleme yöntemi ile yapılmış ilk çalışmadır. Çalışma sonunda kopya sayısı değişikliği saptama oranı başka ülkelerden yapılan çalışmalarla uyumludur.

ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

Çalışmanın başlıca kısıtlılığı olgu sayısının az olmasıdır. Daha fazla olgu sayısı ile verilerin genişletilebileceği düşünülmektedir. Çalışmadaki bir diğer kısıtlılık ise, olguların geçmiş regresyon öyküsü verilerinin standart bir ölçek kullanılarak değil, ailelerin verdiği anamnez verilerine dayanarak elde edilmesidir, bu konunun standardize edilmiş ölçeklerle kayıt edilmesi gelecek çalışmalar için planlanmıştır. Bir diğer kısıtlılık henüz bütçe nedeniyle anne baba değerlendirmelerinin yapılamamasıdır; anne baba değerlendirmeleri sonrasında bulguların de novo olup olmadığına dair veriler de sunulabilecektir.

Bu çalışma Ege Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 12-8/22 numaralı karar ile 05.09.2012 tarihinde onaylanmıştır.

KAYNAKLAR

- Amerikan Psikiyatri Birliği (1994) Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı, Dördüncü Baskı (DSM-IV) (Çev. ed.: E Köroğlu) Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1995.
- Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I ve ark. (1995) Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol Med* 25:63-77.
- Çağlayan AO. (2010) Genetic causes of syndromic and non-syndromic autism. *Dev Med Child Neurol* 52:130-138.
- Cappuccio G, Vitiello F, Casertano A ve ark. (2016) New insights in the interpretation of array-CGH: autism spectrum disorder and positive family history for intellectual disability predict the detection of pathogenic variants. *Ital J Pediatr* 42:39.
- Çöp E, Yurtbaşı P, Öner Ö, Münir KM (2015) Genetic testing in children with autism spectrum disorders. *Anadolu Psikiyatri Derg* 16:426-432.
- Dhillon S, Hellings JA, Butler MG (2011) Genetics and mitochondrial abnormalities in autism spectrum disorders: a review. *Curr Genomics* 12:322-332.

- Fombonne E (2009) Epidemiology of pervasive developmental disorders. *Pediatr Res* 65:591-598.
- Fuentes J, Bakare M, Munir K ve ark. (2014) Autism spectrum disorder. IACAPAP e-Textbook of Child and Adolescent Mental Health, Rey JM(Ed), Geneva, International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, C.2. 1-35.
- Gurrieri F (2012) Working up autism: The practical role of medical genetics. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 160C:104-110.
- Kanduri C, Kantojärvi K, Salo PM ve ark. (2016) The landscape of copy number variations in Finnish families with autism spectrum disorders. *Autism Res* 9:9-16.
- Kim YS, Leventhal BL, Koh YJ ve ark. (2011) Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry* 168:904-912.
- Levy SE, Mandell DS ve Schultz RT (2009) Autism. *Lancet* 374:1627-1638.
- Miles JH (2011) Autism spectrum disorders—a genetics review. *Genet Med* 13:278-94.
- Miles JH, Takahashi TN, Bagby S ve ark. (2005) Essential versus complex autism: definition of fundamental prognostic subtypes. *Am J Med Genet* 135A:171-80.

- Miller DT, Adam MP, Aradhya S ve ark. (2010) Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 86:749-64.
- Oikonomakis V, Kosma K, Mitrakos A ve ark. (2016) Recurrent copy number variations as risk factors for Autism Spectrum Disorders: analysis of the clinical implications. *Clin Genet* 89:708-18.
- Savaşır I, Sezgin N, Erol N (1998) Ankara Gelişim Envanteri El Kitabı. Türk Psikologlar Derneği, Ankara.
- Savaşır I, Şahin N (1995) Wechsler Çocuklar İçin Zeka Ölçeği (WISC-R) El Kitabı. Türk Psikologlar Derneği Yayınları, Ankara.
- Schaaf CP, Sabo A, Sakai Y ve ark. (2011) Oligogenic heterozygosity in individuals with high-functioning autism spectrum disorders. *Hum Mol Genet* 20:3366-75.
- Schaefer GB, Mendelsohn NJ, Professional Practice and Guidelines Committee (2008) Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders. *Genet Med* 10:301-5.
- Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF ve ark. (1980) Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism Dev Disord* 10:91-103.
- Sener EF, Oztop DB, Ozkul Y (2014) MTHFR Gene C677T polymorphism in autism spectrum disorders. *Genet Res Int* 698574.
- Shen Y, Dies KA, Holm IA ve ark. Autism Consortium Clinical Genetics/DNA Diagnostics Collaboration (2010) Clinical genetic testing for patients with autism spectrum disorders. *Pediatrics* 125:e727-35.
- Sucuoglu B, Oktem F, Akkok F ve ark. (1996) Otistik Çocukların Değerlendirilmesinde Kullanılan Ölçeklere İlişkin Bir Çalışma. *3P Dergisi* 4:116-21.
- Xu LM, Li JR, Huang Y ve ark. (2012) Autism KB: an evidence-based knowledgebase of autism genetics. *Nucleic Acids Res* 40:D101622.