

Otizm Spektrum Bozukluğu ile *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* ve *GABRA4* Genlerinin İlişkisinin Araştırılması

Investigation of the Relationship between Autism Spectrum Disorder and *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* and *GABRA4* Genes

Sinem YALÇINTEPE¹, Işık GÖRKER², Selma DEMİR¹, Emine İkbâl ATLI¹, Engin ATLI¹, Hilmi TOZKIR¹, Necdet SÜT³, Yasemin ÖZEN¹, Damla EKER¹, Çisem MAİL¹, Hazal SEZGİNER GÜLER¹, Drenushe ZHURI¹, Hakan GURKAN¹

¹Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

²Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

³Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

ÖZ

Amaç: Otizm spektrum bozukluğu genetik ve fenotipik olarak heterojen bir gruptur. Bugüne kadar yapılan genetik araştırmalar, bu hastalığın etiolojisinde hem yaygın hem de nadir genetik varyantların rol oynadığını ileri sürmüştür. Çalışmamızda *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* ve *GABRA4* genlerinin otizm spektrum bozukluğunun patogenezindeki rolünü araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Prospektif olarak planlanan çalışmamızda, otizm spektrum bozukluğu tanısı alan 96 hastada *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* ve *GABRA4* genlerinin tüm ekzonları, ekzon-intron bileşke bölgeleri, yeni nesil dizi analizi yöntemi ile dizilendi.

Bulgular: Çalışmamızda ortalama yaş 10.1 ve erkek/kadın oranı 75/21 idi. *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* ve *GABRA4* genlerinde patojenik, olası patojenik varyantlar saptanmazken, 50 olguda (%52) klinik önemi bilinmeyen 69 intronik varyant tespit edildi. Bunlar arasında 26'sı

GABRA4 geninde, 22'si *FOXP2* geninde, 13'ü *KATNAL2* geninde ve 8'i *GRIN2B* genindeydi. Bu 69 varyantın yirmi üçü, daha önce literatürde rapor edilmeyen, novel varyantlardı.

Sonuç: Çalışmamızda, otizm spektrum bozukluğu ile *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* ve *GABRA4* genleri arasında anlamlı bir ilişki saptamadık. Otizm spektrum bozukluğunun etiopatogenezinde rol oynayan genetik risk faktörlerinin belirlenmesi, hastalığın moleküler mekanizmalarının anlaşılmasına ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkı sağlayacaktır. Bu bağlamda, farklı popülasyonlarda daha fazla olgu ile tüm ekzom veya tüm genom dizileme gibi kapsamlı moleküler genetik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Otizm spektrum bozukluğu, yeni nesil dizileme, *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2*, *GABRA4*

ABSTRACT

Introduction: Autism spectrum disorder is a genetically and phenotypically heterogeneous group. Genetic studies carried out to date have suggested that both common and rare genetic variants play a role in the etiology of this disorder. In our study, we aimed to investigate the effect of *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* and *GABRA4* gene variants in the pathogenesis of autism spectrum disorder.

Method: In our prospectively planned study, all exons and exon-intron junctions of *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* and *GABRA4* genes were screened by next generation sequencing analysis in 96 patients who diagnosed with autism spectrum disorder.

Results: In our study, the average age was 10.1 and the male/female ratio was 75/21. Pathogenic or likely pathogenic variants were not detected in *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* and *GABRA4* genes, however, 69 intronic variants of unknown clinical significance were detected in 50 cases (52%).

Among those, 26 were in the *GABRA4* gene, 22 in the *FOXP2* gene, 13 in the *KATNAL2* gene, and 8 in the *GRIN2B* gene. Twenty three of these 69 variants were novel that were not previously reported in the literature.

Conclusion: In our study, we could not identify a relationship between the autism spectrum disorder and *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* and *GABRA4* genes. Identifying genetic risk factors that play a role in the etiopathogenesis of autism spectrum disorder will contribute significantly to understanding the molecular mechanisms of the disease and the development of new treatment strategies. In this context, comprehensive molecular genetic studies such as whole exome or whole genome sequencing are required with higher number of cases in different populations.

Keywords: Autism spectrum disorder, Next generation sequencing, *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2*, *GABRA4*

Cite this article as: Yalçıntepe S, Görker I, Demir S, Atlı E, Atlı E, Tozkır H, Süt N, Özen Y, Eker D, Mail Ç, Sezginer Güler H, Zhuri D, Gürkan H. Otizm Spektrum Bozukluğu ile *FOXP2*, *GRIN2B*, *KATNAL2* ve *GABRA4* Genlerinin İlişkisinin Araştırılması. Arch Neuropsychiatry 2021;58:171-175.

GİRİŞ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB) nüfusun yaklaşık 1/100'ünü etkiler ve etiolojide genetik faktörlerin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. OSB, çocuklarda davranışsal ve psikolojik sorunlar ve tekrarlayan davranış

kalıpları ile karakterize karmaşık bir nörolojik bozukluktur. Semptomlar erken çocukluktan itibaren mevcuttur ve günlük işleyişi etkiler. OSB tanılı çocuklar, genel nüfusa kıyasla daha yüksek oranda dil sorunları,

Yazışma Adresi: Sinem Yalçıntepe, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye • **E-posta:** sinemyalcintepe@gmail.com

Geliş Tarihi: 07.09.2020, **Kabul Tarihi:** 07.02.2021, **Çevrimiçi Yayın Tarihi:** 28.08.2021

©Telif Hakkı 2021 Türk Nöropsikiyatri Derneği • Makale metnine www.noropsikiyatrisi.com web sayfasından ulaşılabilir

entelektüel yetersizlik ve epilepsiye sahiptir. OSB söz konusu olduğunda geniş bir davranış bozuklukları yelpazesi üç başlık altında toplanabilir: 1) Sosyal etkileşim bozukluğu, 2) Dil ve iletişim bozukluğu, 3) İlgi alanları ve aktivite çeşitliliği (1). Hastalarda entelektüel yetersizlik, epilepsi ve dismorfik özellikler görülebilir. Otizm spektrum bozukluğu tanısı ile takip edilen çocuklar daha sonra konuşma ve iletişim becerilerini geliştirebilir ve okul çağında farklı seviyelerde akranlarıyla sosyalleşebilirler. Ancak bu hastaların çoğu yaşam boyu özel eğitime ihtiyaç duymaktadır (2).

Otizmin etiyolojisine yönelik çalışmalarda kromozom anomalileri ve moleküler patolojiler bildirilmektedir. Geleneksel sitogenetik analizle belirlenebilen bazı kromozomal anomaliler ve moleküler yöntemlerle gözlemlenebilen çeşitli kopya sayısı değişiklikleri otizm ile ilişkilendirilir. Otizm bulgularına çoğu genetik sendromda olduğu gibi tek gen mutasyonları da neden olabilmektedir. OSB, tanı ve morbidite oranlarının artması açısından önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Tıbbi ve sosyal ortamlarda farkındalığın artması olumlu bir gelişme olsa da henüz istenilen seviyelere ulaşamamıştır. Otizmin erken dönemde teşhis edilmesi, eğitim programlarına erken başlanması, mevcut becerilerin artırılması ve zenginleştirilmesi ve yeni becerilerin kazandırılması, bunun sonucunda hastaların yaşam kalitesinde kalıcı ve önemli gelişmelerin sağlanması önemlidir. Etiyopatogenezin açıklığa kavuşturulması, uygun tedavinin planlanmasında, hastalığın seyri ile ilgili genetik danışmanlık sağlanmasında büyük önem taşımaktadır (3, 4).

OSB vakalarının %10'unda bu tür diğer hastalıklarda görüldüğü gibi tek gen mutasyonları mevcuttur. İdiyopatik otizmin genetik kökenli olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar otizm spektrum bozukluklarının sıklığını 1-2/100 ve erkek/kadın oranını 4-5/1 olarak bildirmektedir (5).

Otizmin genetik etiyolojisinin anlaşılmasına büyük katkı sağlayan yeni nesil dizi analizi teknolojisi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar otizmin genetiği hakkında üç önemli ipucu ortaya çıkarmıştır: Nadir *de novo* mutasyonlar otizm genetiğinde önemlidir, mutasyona uğramış genler uyarıcı sinapslarda bulunan proteinleri kodlar ve aynı gendeki aynı mutasyon farklı fenotiplere yol açabilir (6).

OSB olgularının kardeşleri, genel popülasyona kıyasla %2-8 oranında OSB'ye yakalanma riskine sahiptir. Monozigotik ikiz çalışmalarında, %60 uyum olduğu raporlanmıştır. OSB tanısı için tüm genom analizi, bağlantı analizi (ailede birden fazla etkilenen bireyin varlığında) ve bilinen nedensel genlerin taranması dahil olmak üzere farklı genetik yaklaşımlar kullanılabilir (7-9).

Bu çalışmada FOXP2, GRIN2B, KATNAL2 ve GABRA4 genleri, santral sinir sistemindeki fonksiyonları ve literatürde OSB ile anlamlı ve/veya anlamsız ilişki bildiren çalışma sonuçları dikkate alınarak belirlenmiştir. Bu dört gen, bildiğimiz kadarıyla aynı OSB çalışmasında ilk kez birlikte değerlendirildi. Kromozom analizi, array-CGH ve Frajl X mutasyon analizi, OSB'li hastalarda bir algoritmaya göre rutin olarak analiz edilir. Bu testlerde patojenik sonuç elde edilemediğinde genetik etiyoloji netleştirilemez. Bu hastalar, daha pahalı olan ve sonuçların değerlendirilmesi daha zor olabilen tüm ekzom veya tüm genom dizileme analizine yönlendirilir. Bu çalışmada, OSB etiyolojisinde etkili olabilecek ve ekzom ve genom dizileme analizi kullanılmadan önce taranabilen genlerin, maliyet etkin ve emek dostu genetik testlere imkan verecek şekilde belirlenmesi amaçlanmıştır. Birçok ailede yapılan tüm genom analizi sonuçları ışığında, OSB etiyolojisinde farklı genlerin rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Farklı disiplinlerden (Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı, Çocuk Nörolojisi, Genel Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Aile Hekimliği vb.) OSB ön tanılı hastaların tıbbi genetik polikliniğine yönlendirilmesi, klinik tanının desteklenmesi ve doğrulanması açısından önemli katkılar sağlayacaktır. Yapılan genetik testler, etiyopatogenezin aydınlatılmasına ve genetik danışmanlığa katkı

sağlayacaktır. Çalışmamızda FOXP2, GRIN2B, KATNAL2 ve GABRA4 genleri ile OSB arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

YÖNTEM

Çalışmamıza Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Bölümünde DSM-V kriterlerine göre OSB tanısı alan 96 hasta dahil edildi. Tüm vakaların yasal vasilerinden yazılı bilgilendirilmiş onam alındı. Çalışmamız için etik kurul onayı Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 06/09 karar numarası ile alınmıştır.

Otizm bulguları Çocuk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (CARS) ile değerlendirildi. Tanı alan olguların CARS puanları 30'un üzerindeydi (tanı için bu puan sınırı kabul edildi), CARS, otizmin semptomlarını saptamak ve ölçmek ve diğer gelişimsel engellerden ayırmak için tasarlanmış 15 maddelik bir davranış değerlendirme ölçeğidir. CARS'taki her bir madde 1'den (otizm belirtisi yok) 4'e (şiddetli semptomlar) kadar Likert ölçeğinde puanlanır. Maksimum CARS puanı 60, otizm teşhisi için puan sınırı 30'dur. Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) bulgularını değerlendirmek için Conners Ebeveyn Derecelendirme Ölçeği-Kısa Revizyon (CPRS-RS) kullanıldı.

Kohortumuzda kromozom analizi, array-CGH analizi ve Frajl X analizlerinde patoloji saptanmadı. Array-CGH, Agilent 4x180K ISCA CGH + SNP platformu kullanılarak gerçekleştirildi ve ortalama 25,3 kb aralıkla yerleştirilen 170,359 kopya sayısı değişikliği test edildi. Genomik DNA, EDTA'lı tüpe alınan 2 ml periferik kan örneğinden izole edildi. Bu amaçla EZ1 DNA Blood 200 µl Kit (Qiagen, Hilden, Germany) ve EZ1 Advanced XL (Qiagen, Hilden, Germany) nükleik asit izolasyon cihazı kullanılmıştır. DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop'ta (Nanodrop 2000C, Thermo Scientific, ABD) ölçüldü ve DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

FOXP2, GRIN2B, KATNAL2 ve GABRA4 genlerine özgü primerler NCBI primer blast kullanılarak tasarlandı. Yeni nesil dizi analizi için gerekli kütüphaneleri oluşturmak üzere Nextera XT Library Preparation Kit kullanıldı. Bu amaçla, polimeraz zincir reaksiyonu ile elde edilen ampikonlar Nextera XT Library Preparation Kit (Illumina) yönergelerine göre barkodlama sonrasında Illumina MiSeq (Illumina) sisteminde dizilendi. MiSeq Reporter Software kullanılarak elde edilen Fastq verilerinden Genomize Seq Software (Genomize, Turkey) programı ile varyantlar belirlendi ve analiz edildi. Varyantların görsel analizi için IGV_2.4.8 (<http://software.broadinstitute.org/software/igv/>) kullanıldı. Varyantların patojenitesi ACMG-2015 yönergeleri doğrultusunda veri tabanları (HGMD, NCBI dbSNP Database, PubMed) ve *in silico* analiz yöntemleri (MutationTaster, PolyPhen, SIFT gibi) kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR

96 OSB olgusunun %21,87'si (21) kadın, %78,12'si (75) erkekti. Hastaların ortalama yaşı 10,17 ve yaş aralığı 1-17 arasında idi. Yüksek bir oranla 96 olgusunun 87'sinde (%90,6) ek hastalık vardı. OSB tanılarında ek olarak, otuz altı hastada dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, otuz hastada entelektüel yetersizlik, on altı hastada epilepsi ve beş hastada anksiyete bozukluğu vardı.

FOXP2, GRIN2B, KATNAL2 ve GABRA4 genlerinde patojenik veya olası patojenik varyantlar tespit edilmemiştir, ancak 50 (%52) olguda bu dört gende klinik önemi bilinmeyen toplam 69 intronik varyant saptandı (Tablo 1). Bu varyantların 26'sı GABRA4'te, 22'si FOXP2'de, 13'ü KATNAL2'de ve 8'i GRIN2B genindeydi. Literatürde daha önce rapor edilmemiş olan 23 varyantın patojenitesini değerlendirmek amacıyla yapmış olduğumuz *in silico* analizlerde minör allel frekansı <0,01 olarak kabul edildi. 46 varyant ise dbSNP veri tabanında tanımlı varyantlardı.

Tablo 1. Çalışmamızda saptanan, klinik önemi bilinmeyen, intronik varyantlar

Oligu	GABRA4 genindeki varyantlar	FOXP2 genindeki varyantlar	GRIN2B genindeki varyantlar	KATNAL2 genindeki varyantlar	dbSNP
1	ENST00000264318.3:c.494+96C>T				rs1264333940
2		ENST00000408937.3:c.1341+95G>A			novel
3				ENST00000356157.7:c.726-298A>G	novel
4			ENST00000609686.1:c.1655-1367G>A		rs919981461
5	ENST00000264318.3:c.494+98C>T				rs1375850828
6	ENST00000264318.3:c.721+1048T>C				rs959718699
7	ENST00000408937.3:c.258+636G>C		ENST00000609686.1:c.412-149dupA		novel
8	ENST00000356157.7:c.332+110_332+114delCTGCAinsTTGGC				rs146008986
9	ENST00000264318.3:c.721+1273C>T				novel
9		ENST00000408937.3:c.1845-339T>C			rs575429966
9		ENST00000408937.3:c.1258-71A>C			rs558810304
10	ENST00000264318.3:c.722-1145T>G				novel
11		ENST00000408937.3:c.672+398T>C			novel
11		ENST00000408937.3:c.1257+499A>G			rs1026602298
12	ENST00000264318.3:c.721+849C>A				novel
13		ENST00000408937.3:c.1844+182T>G			rs904385057
14				ENST00000356157.7:c.648-104G>T	novel
14		ENST00000408937.3:c.1844+52T>C			rs868704771
15					novel
16			ENST00000609686.1:c.2171+475T>C		rs1347932942
17				ENST00000356157.7:c.726+453G>A	rs973729545
18	ENST00000264318.3:c.494+98C>T				rs1375850828
19	ENST00000264318.3:c.87-11_87-10delTT	ENST00000408937.3:c.258+100A>G			novel
20		ENST00000408937.3:c.1258-404C>A			rs1491165832
21		ENST00000408937.3:c.1257+783G>A			rs568878424
22		ENST00000408937.3:c.258+444T>A			rs868815969
23			ENST00000609686.1:c.1329-259C>T		novel
24		ENST00000408937.3:c.2079-776T>A			novel
25		ENST00000408937.3:c.334-612_334-609delACAC			novel
26		ENST00000408937.3:c.*201_*205delTTCTT		ENST00000356157.7:c.451-12C>G	rs753840739
27			ENST00000609686.1:c.1010+101G>A		rs1428369445
27				ENST00000356157.7:c.549+316G>A	rs1009486080
28				ENST00000356157.7:c.1374+243G>A	rs1048953933
29		ENST00000408937.3:c.687_695dupGCAGCAGCA (p.Gln232_Gln234dup)			novel
30		NM_148898.4:c.687_695dupGCAGCAGCA (p.Gln232_Gln234dup)			novel
30	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A			NM_031303.3:c.1158+109G>A	rs896891365
31					novel
32	ENST00000264318.3:c.875-86T>A				novel
32			NM_000834.5:c.1654+1089_1654+1097delTTTTTTTTTT		rs7527098
32	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A				rs896891365
33	ENST00000264318.3:c.875-86T>A	NM_148898.4:c.-10-616C>T			rs552379438
33	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A				novel
34				NM_031303.3:c.1158-339G>A	rs896891365
35				NM_031303.3:c.1159-224C>T	novel
36	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A				rs1019098597
					rs896891365

Tablo 1'in devamı

36	ENST00000264318.3:c.722-1451C>A			NM_031303.3:c.234+298T>G	novel
37	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A				novel
37	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A			NM_031303.3:c.996-370_996-369delTCinsAG	rs896891365
37	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A			NM_031303.3:c.73+489G>A	rs386802918
37	ENST00000264318.3:c.273+479A>T				novel
38	ENST00000264318.3:c.273+479A>T				novel
39	ENST00000264318.3:c.273+479A>T				novel
39	ENST00000264318.3:c.273+479A>T			NM_000834.5:c.411+356C>G	rs542341184
40	ENST00000264318.3:c.273+479A>T				novel
40	ENST00000264318.3:c.273+479A>T			NM_148898.4:c.1543+308A>G	rs1037106109
41	ENST00000264318.3:c.273+479A>T				novel
41	ENST00000264318.3:c.273+479A>T			NM_000834.5:c.1655-1014A>G	novel
42	ENST00000264318.3:c.273+479A>T				novel
42	ENST00000264318.3:c.273+479A>T			NM_148898.4:c.334-603_334-600delCACCA	novel
43	ENST00000264318.3:c.875-86T>A				novel
44	ENST00000264318.3:c.273+573A>T				novel
44	ENST00000264318.3:c.273+573A>T				novel
44	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A				rs896891365
45	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A				rs896891365
45	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A				rs896891365
46	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A				rs896891365
47	ENST00000264318.3:c.1135-284G>A			NM_148898.4:c.258+634G>C	rs549604838
47	ENST00000264318.3:c.722-1002T>A				novel
48	ENST00000264318.3:c.722-1002T>A				novel
48	ENST00000264318.3:c.86+79C>T			NM_148898.4:c.1170-68T>C	rs772814187
49	ENST00000264318.3:c.273+479A>T				rs745319657
49	ENST00000264318.3:c.273+479A>T				novel
50	ENST00000264318.3:c.273+479A>T			NM_148898.4:c.471+28C>A	rs750342181

GABRA4, gamma-aminobutyric acid receptor, alpha-4; FOXP2, forkhead box P2; GRIN2B, glutamate receptor, ionotropic, n-methyl-D-aspartate, subunit 2b; KATNAL2, katanin, P60 subunit, A-like protein 2; dbSNP, the single nucleotide polymorphism database.

TARTIŞMA

FOXP2, GRIN2B, KATNAL2 ve GABRA4 genlerinin tüm ekzonları ekzon-intron bileşkeleri 96 OSB hastasında hedefli sekanslama ile analiz edildi. Kohortumuzda bu genlerde patojenik ve/veya olası patojenik varyantlar tespit edilmemiştir. 23'ü yeni olan 50 vakada klinik önemi bilinmeyen çeşitli intronik varyantlar tespit edilmiştir.

Son yıllarda gelişen teknoloji, genetik/epigenetik düzenleyici ağlar, kromatin yapısı, nükleer yapılanma ve genom varyasyonları hakkında bilgi üretilmesini sağlayan önemli bir araç haline gelmiştir. Bu çalışmada FOXP2, GRIN2B, KATNAL2 ve GABRA4 genlerinde yeni nesil dizileme yöntemi ile tüm ekzonları, ekzon-intron bileşke noktalarının dizi analizleri yapılmış olup, kısa sürede dört genin analizi tamamlanmıştır.

İleri teknoloji, OSB'deki karmaşıklığı ve heterojenliği daha iyi anlamak için kapsamlı bir çerçeve oluşturan çok sayıda genin tanımlanmasını sağlamıştır (10). Bugüne kadar, otizmin gelişiminde farklı patojenik rollerle yüzlerce OSB geni tanımlanmıştır. Dominant, resesif ve gen-çevre mekanizmalarının yanı sıra OSB hastalarında poligenik mekanizmalar son yıllarda daha fazla araştırılmıştır (11, 12, 13). Hedeflenen gen analizinin kullandığı çalışmalarda, NLGN3, NLGN4 (14), NRXN1 (15), CNTNAP2 (16), SHANK2 (17) ve SHANK3 (18) gibi birkaç sinaptik hücre yapışma molekülü ve diğer moleküllerin OSB ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) veya tüm ekzom dizileme çalışmaları da bazı nokta mutasyonlarının, küçük insersiyonların veya delesyonların tanımlanmasını sağlamıştır (19, 20). Bu çalışmada analiz edilen dört gen ve OSB arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. FOXP2 genindeki mutasyonların konuşma ve dil bozukluğuna neden olduğu bildirilmiştir (21). FOX ailesinin bir üyesi olan FOXP2'nin OSB ve konuşma geriliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (22). GABRA4, GABA-A reseptör ailesinin bir üyesidir ve santral sinir sistemindeki nörotransmisyonla ilgilidir (23). GRIN2B, otozomal dominant kalıtımla geçen erken infantil epileptik ensefalopati ve mental retardasyondan sorumludur (24). GRIN2B genindeki varyantlar ve de novo mutasyonlar, OSB dâhil olmak üzere çeşitli nörogelişimsel ve psikiyatrik bozukluklarda tanımlanmıştır (25). GRIN2B, prenatal dönemde yüksek oranda ifade edilir ve farelerde doğumdan sonra azalmaya başlar, bu da nöronal göç, farklılaşma ve sinaptogenezde önemli bir rol oynadığını düşündürür (26). KATNAL2, merkezi sinir sisteminde yüksek oranda ifade edilir ve OSB ile ilişkisi daha önce bildirilmiştir (27).

Çalışmamızdaki cinsiyet oranları literatür ile uyumludur; kohortumuzda erkek/kadın oranı 3,57 (75/21) olup, literatürde OSB tanısı alan erkek çocuk sayısının kızlardan daha fazla olduğu bildirilmektedir (28).

Genomik test teknolojisinin, biyoinformatik yaklaşımların ve yapay zekânın hızlı gelişimi, tanı için başvuran hastaları test etmede daha fazla deneyim kazandıkça genetik test sonuçlarının yorumlanmasını kolaylaştıracaktır. OSB'deki klinik heterojenite ve tanısal belirsizlik nedeniyle, genetik testler ve tedavi yaklaşımlarında daha fazla deneyim kazanmak için birçok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

OSB'de genetik risk faktörlerini araştırmak için aday gen yaklaşımını kullandığımız çalışmamızın birkaç kısıtlılığı vardı. Birincisi, aday gen yaklaşımı, yalnızca sınırlı sayıda geni analiz etmemizi sağladı ve ikincisi, tüm vakalar izole olduğu için, yalnızca de novo kalıtımı saptayabildik. Üçüncü olarak, kohortumuz nispeten küçük bir örneklem boyutuna sahipti. OSB'deki genetik katkı ve buna bağlı nörodavranışsal durumlar için farkındalığın artması, tedavi hizmetlerinin sağlanması için bir gerekliliktir. Doğru teşhis, doğru genetik danışmanlık ile ailenin doğru yönlendirilmesi OSB vakalarının yaşam kalitesini artıracak ve toplum düzeyinde genetik testlerin yararlılığını artıracaktır.

SONUÇ

Çalışmaya dahil edilen 96 olgunun 50'sinde ACMG-2015 kriterlerine göre klinik önemi bilinmeyen, intronik varyantlar saptandı. Klinik önemi bilinmeyen bu varyantların zaman içerisinde sınıflandırılmasında farklılıklar olabileceği dikkate alınarak, belirli zaman aralıkları ile ilgili varyantlar tekrar değerlendirilecektir. Çalışmamızda FOXP2, GRIN2B, KATNAL2 ve GABRA4 genlerinde patojenik/olası patojenik varyant saptanmaması sebebiyle kohortumuzda OSB ile ilişkili herhangi bir varyant belirlenemedi. OSB ile ilişkili genetik etiyopatogenezin aydınlatılabilmesi için farklı populasyonlarda, olgu sayılarının artırılarak tüm ekzom veya tüm genom dizileme gibi kapsamlı moleküler genetik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Etik Komite Onayı: Çalışmamız için etik kurul onayı Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 06/09 karar numarası ile alınmıştır.

Hasta Onamı: Tüm vakaların yasal vasilerinden yazılı bilgilendirilmiş onam alındı.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağlımsız.

Yazar Katkısı: Fikir - SY, IG, HG; Tasarım - SY, SD, EA; Denetleme - SY, HG; Kaynaklar - HG, IG, HT; Material: SY, HG, IG; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - DE, ÇA, HSG, DZ, EA, SY; Analiz ve/veya Yorum - SY, SD, HG; Literatür Taraması - SY, YÖ, NS; Yazılı Yazan - SY, HG, IG; Eleştirel İnceleme - HG, SY.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Bu çalışma, 2018/340 proje numarası ile Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından finanse edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Woodbury-Smith M, Paterson AD, O'Connor I, Zarrei M, Yuen RKC, Howe JL, Thompson A, Parlier M, Fernandez B, Piven J, Scherer SW, Vieland V, Szatmari P. A genome-wide linkage study of autism spectrum disorder and the broad autism phenotype in extended pedigrees. *J Neurodev Disord* 2018;10:20. [Crossref]
- Kalsner L, Twachtman-Bassett J, Tokarski K, Stanley C, Dumont-Mathieu T, Cotney J, Chamberlain S. Genetic testing including targeted gene panel in a diverse clinical population of children with autism spectrum disorder: Findings and implications. *Mol Genet Genomic Med* 2018;6:171-185. [Crossref]
- Ayhan F, Konopka G. Genomics of autism spectrum disorder: approach to therapy. *F1000Res* 2018;7:627. [Crossref]
- Varghese M, Keshav N, Jacot-Descombes S, Warda T, Wicinski B, Dickstein DL, Harony-Nicolas H, De Rubeis S, Drapeau E, Buxbaum JD, Hof PR. Autism spectrum disorder: neuropathology and animal models. *Acta Neuropathol* 2017;134:537-566. [Crossref]
- Muhle RA, Reed HE, Stratigos KA, Veenstra-VanderWeele J. The Emerging Clinical Neuroscience of Autism Spectrum Disorder: A Review. *JAMA Psychiatry* 2018;75:514-523. [Crossref]
- Turner LM, Stone WL, Pozdol SL, Coonrod EE. Follow-up of children with autism spectrum disorders from age 2 to age 9. *Autism* 2006;10:243-265. [Crossref]
- Narita A, Nagai M, Mizuno S, Ogishima S, Tamiya G, Ueki M, Sakurai R, Makino S, Obara T, Ishikuro M, Yamanaka C, Matsubara H, Kuniyoshi Y, Murakami K, Ueno F, Noda A, Kobayashi T, Kobayashi M, Usuzaki T, Ohseto H, Hozawa A, Kikuya M, Metoki H, Kure S, Kuriyama S. Clustering by phenotype and genome-wide association study in autism. *Transl Psychiatry* 2020;10:290. [Crossref]
- Yin J, Chun CA, Zavadenko NN, Pechatnikova NL, Naumova OY, Doddapaneni HV, Hu J, Muzny DM, Schaff CP, Grigorenko EL. Next Generation Sequencing of 134 Children with Autism Spectrum Disorder and Regression. *Genes (Basel)* 2020;11:E853. [Crossref]
- Imamura A, Morimoto Y, Ono S, Kurotaki N, Kanegae S, Yamamoto N, Kinoshita H, Tsujita T, Okazaki Y, Ozawa H. Genetic and environmental factors of schizophrenia and autism spectrum disorder: insights from twin studies. *J Neural Transm (Vienna)* 2020;127:1501-1515. [Crossref]
- de la Torre-Ubieta L, Won H, Stein JL, Geschwind DH. Advancing the understanding of autism disease mechanisms through genetics. *Nat Med* 2016;22:345-361. [Crossref]
- Chahrouh M, O'Roak BJ, Santini E, Samaco RC, Kleiman RJ, Manzini MC. Current perspectives in autism spectrum disorder: from genes to therapy. *J Neurosci* 2016;36:11402-11410. [Crossref]
- Tordjman S, Cohen D, Anderson GM, Botbol M, Canitano R, Coulon N, Roubertoux PL. Repint of "Reframing autism as a behavioral syndrome and not a specific mental disorder: Implications of genetic and phenotypic heterogeneity". *Neurosci Biobehav Rev* 2018;89:132-150. [Crossref]
- Butler MG, Rafi SK, Manzardo AM. High-resolution chromosome ideogram representation of currently recognized genes for autism spectrum disorders. *Int J Mol Sci* 2015;16:6464-6495. [Crossref]
- Jamain S, Quach H, Betancur C, Rastam M, Colineaux C, Gillberg IC, Soderstrom H, Giros B, Leboyer M, Gillberg C, Bourgeron T. Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nat Genet* 2003;34:27-29. [Crossref]
- Kim HG, Kishikawa S, Higgins AW, Seong IS, Donovan DJ, Shen Y, Lally E, Weiss LA, Najm J, Kutsche K, Kutsche K, Descartes M, Holt L, Braddock S, Troxell R, Kaplan L, Volkmar F, Klin A, Tsatsanis K, Harris DJ, Noens I, Pauls DL, Daly MJ, MacDonald ME, Morton CC, Quade BJ, Gusella JF. Disruption of neurexin 1 associated with autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet* 2008;82:199-207. [Crossref]
- Alarcon M, Abrahams BS, Stone JL, Duvall JA, Perederiy JV, Bomar JM, Sebat J, Wigler M, Martin CL, Ledbetter DH, Nelson SF, Cantor RM, Geschwind DH. Linkage, association, and gene-expression analyses identify CNTNAP2 as an autism-susceptibility gene. *Am J Hum Genet* 2008;82:150-159. [Crossref]
- Berkel S, Marshall CR, Weiss B, Howe J, Roeth R, Moog U, Endris V, Roberts W, Szatmari P, Pinto D, Bonin M, Riess A, Engels H, Sprengel R, Scherer SW, Rappold GA. Mutations in the SHANK2 synaptic scaffolding gene in autism spectrum disorder and mental retardation. *Nat Genet* 2010;42:489-491. [Crossref]
- Durand CM, Betancur C, Boeckers TM, Bockmann J, Chaste P, Fauchereau F, Nygren G, Rastam M, Gillberg IC, Anckarsater H, Sponheim E, Goubran-Botros H, Delorme R, Chabane N, Mouren-Simeoni MC, de Mas P, Bieth E, Rogé B, Héron D, Burglen L, Gillberg C, Leboyer M, Bourgeron T. Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet* 2007;39:25-27. [Crossref]
- Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, Troge J, Lese-Martin C, Walsh T, Yamrom B, Yoon S, Krasnitz A, Kendall J, Leotta A, Pai D, Zhang R, Lee YH, Hicks J, Spence SJ, Lee AT, Puura K, Lehtimäki T, Ledbetter D, Gregersen PK, Bregman J, Sutcliffe JS, Jobanputra V, Chung W, Warburton D, King MC, Skuse D, Geschwind DH, Gilliam TC, Ye K, Wigler M. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science* 2007;316:445-449. [Crossref]
- Sanders SJ, Murtha MT, Gupta AR, Murdoch JD, Raubeson MJ, Willsey AJ, Ercan-Sencicek AG, DiLullo NM, Parikhshak NN, Stein JL, Walker MF, Ober GT, Teran NA, Song Y, Fishaw PE, Murtha RC, Choi M, Overton JD, Bjornson RD, Carriero NJ, Meyer KA, Bilguvar K, Mane SM, Sestan N, Lifton RP, Günel M, Roeder K, Geschwind DH, Devlin B, State MW. De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature* 2012;485:237-241. [Crossref]
- Tiwarly BK. The cognitive and speech genes are jointly shaped by both positive and relaxed selection in the human lineage. *Genomics* 2020;112:2922-2927. [Crossref]
- Vargha-Khadem F, Gadian DG, Copp A, Mishkin M. FOXP2 and the neuroanatomy of speech and language. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:131-138. [Crossref]
- Carlson SL, Bohnsack JP, Morrow AL. Ethanol Regulation of Synaptic GABAA α 4 Receptors Is Prevented by Protein Kinase A Activation. *J Pharmacol Exp Ther* 2016;357:10-16. [Crossref]
- Taylor MJ, Rosenqvist MA, Larsson H, Gillberg C, D'Onofrio BM, Lichtenstein P, Lundström S. Etiology of Autism Spectrum Disorders and Autistic Traits Over Time. *JAMA Psychiatry* 2020;77:936. [Crossref]
- Hu C, Chen W, Myers SJ, Yuan H, Traynelis SF. Human GRIN2B variants in neurodevelopmental disorders. *J Pharmacol Sci* 2016;132:115-121. [Crossref]
- Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 1994;12:529-540. [Crossref]
- Dunleavy JEM, Okuda H, O'Connor AE, Merriner DJ, O'Donnell L, Jamsai D, Bergmann M, O'Bryan MK. Katanin-like 2 (KATNAL2) functions in multiple aspects of haploid male germ cell development in the mouse. *PLoS Genet* 2017;13:e1007078. [Crossref]
- Merikangas AK, Almasly L. Using the tools of genetic epidemiology to understand sex differences in neuropsychiatric disorders. *Genes Brain Behav* 2020;19:e12660. [Crossref]