

# Cinsiyet Açısından Dengelenmiş Otizm Simpleks Olgularında DUF1220 Kopya Sayısı ile Sosyal Bozukluğun Şiddeti Arasındaki İlişki

## Association Study between DUF1220 Copy Number and Severity of Social Impairment in Sex-balanced Simplex Autism

Mohammad EFTEKHAR<sup>1</sup>, Yasin PANAHI<sup>2</sup>, Mohammad Reza ESKANDARI<sup>3</sup>, Mehrdad PEDRAM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Genetik ve Moleküler Tıp Bölümü, Tıp Fakültesi, Zencan Tıp Bilimleri Üniversitesi, Zencan,

<sup>2</sup>Farmakoloji ve Toksikoloji Bölümü, Eczacılık Fakültesi, Erdebil Tıp Bilimleri Üniversitesi, Erdebil, İran

<sup>3</sup>Psikiyatri Bölümü, Tıp Fakültesi, Zencan Tıp Bilimleri Üniversitesi, Zencan, İran

### ÖZ

**Amaç:** İnsan evriminden sorumlu genetik faktörler olan kopya sayısı varyasyonlarındaki (CNVs) değişiklikler, otizm spektrum bozuklukları (OSB) gibi bir dizi hastalığın altında yatan patojenler olarak ortaya çıkmıştır. DUF1220 kodlama dizilerinin, ailesel/çoklu otizm formlarında semptom şiddeti ile pozitif olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu ilişki simpleks otizmde doğrulanmamıştır ve cinsiyetin potansiyel etkisi araştırılmamıştır.

**Yöntem:** Bu çalışmada, önceki çalışmalardan elde edilen farklı etnik/ırksal ve genetik kökene sahip İranlı sendromik olmayan simpleks otistik çocuklarından toplanan tükürük örneklerini kullanarak, DUF1220 CNVs ve Otizm Tanı Görüşmesi-gözden geçirilmiş hali (ADI-R) alan puanları arasındaki ilişkiyi hem erkeklerde hem de kızlarda değerlendirdik.

**Bulgular:** Erkek ve kız karışık otizm grubunda, daha önceki bildirimlerle

uyumlu bir şekilde, bulgularımız, DUF1220 CNVs ile toplam ADI-R puanı, sosyal, iletişim veya tekrarlayan tanı puanları arasında anlamlı bir ilişki olmadığını göstermiştir. İlginç bir şekilde, cinsiyete göre kategorize edilmiş gruplarda, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, otistik kızlardaki bulgularımız, DUF1220 CNVs ile etkileşim ve iletişim alanlarındaki semptom şiddeti arasında negatif yönde bir eğilim göstermiştir. Buna karşın, otistik erkek çocuklarda sonuçlar pozitif yönde bir eğilim göstermiştir.

**Sonuç:** Simpleks otizmi olan çocuklarda DUF1220 CNV'nin semptom şiddetiyle ilişkisinin, gelecekteki araştırmalarda yeniden ele alınması ve incelenmesi gereken bir cinsel dimorfik modelini takip ettiği görülmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Cinsiyet dengesi, DUF1220, kopya sayısı varyasyonları, otizm simpleks, otizm spektrum bozukluğu

### ABSTRACT

**Introduction:** Copy number variations (CNVs), which are genetic factors responsible for human evolution, have emerged as underlying pathogenic factors for a number of diseases such as autism spectrum disorders (ASD). DUF1220 coding sequences have been shown to be positively associated with the severity of symptoms in familial/multiplex cases of autism. However, this association has not been confirmed in simplex autism, and the potential impact of gender/sex has not been studied.

**Methods:** Using saliva samples taken from Iranian children with non-syndromic simplex autism, different ethnicity/race and genetic backgrounds from previous studies, we assessed the association between DUF1220 CNVs and Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) domain scores in both males and females.

**Results:** In the male and female combined group with autism, in line

with previous reports, our findings showed that there were no significant associations between DUF1220 CNVs with either total ADI-R score, social, communication, or repetitive diagnostic scores in simplex autism cases. Interestingly, however, in sex classified groups, despite the insignificant results, our findings in girls with autism showed a negative trend between DUF1220 CNVs and severity of symptoms for the social interaction and communication domains. By contrast, in male children with autism, the results showed a positive trend.

**Conclusion:** It seems that association of DUF1220 CNV with the severity of symptoms in simplex children with autism may follow a sexually dimorphic pattern that needs to be re-examined in prospective studies.

**Keywords:** Autism spectrum disorders, copy number variation, DUF1220, simplex autism, sex balance

**Cite this article as:** Eftekhar M, Panahi Y, Eskandari MR, Pedram M. Cinsiyet Açısından Dengelenmiş Otizm Simpleks Olgularında DUF1220 Kopya Sayısı ile Sosyal Bozukluğun Şiddeti Arasındaki İlişki. Arch Neuropsychiatry 2023;60:43-48.

### GİRİŞ

Kopya sayısı varyasyonları (CNVs), DNA'nın belirli kısımlarındaki kopya sayısında delesyon ya da duplikasyon yaşanması anlamına gelmekte olup insanlarda evrim ve hastalıkların temelinde yatan faktördür (1,2). CNVs, otizm spektrum bozuklukları (OSB), dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu (DEHB) ve zihinsel yetersizlik (ZY) gibi birçok psikiyatrik

bozukluğa ilişkin patojen bir faktör olarak ortaya çıkmıştır (1,3,4). OSB'nin en şiddetli türü olan çocukluk otizmi genellikle üç yaşından önce başlayan ve ömür boyu süren, sosyal etkileşim ve iletişimde eksiklikler ile sınırlı ve tekrarlanan davranışlarla karakterize nörogelişimsel bir rahatsızlıktır (5). Otizmin sebebi tam olarak bilinmemektedir. Ancak genetik faktörler

## Öne Çıkan Noktalar

- Cinsiyetin otizm spektrum bozukluklarındaki (OSB) etkisi yeterince araştırılmamıştır.
- DUF1220 CNV'nin multipleks vakalarda OSB'nin ana fenotipleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir.
- Cinsiyet ile birlikte otizm vakalarını incelediğimizde böyle bir ilişki bulamadık.
- Ancak, erkek ve kadın otizm simpleks vakaları cinsiyete bağlı dimorfik bir model takip ediyor olabilir.

otizmin patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Yakın zamanda yapılan bir familial risk çalışması OSB'nin kalıtılabilirliğini %83 olarak öngörmüştür (6). OSB'ye neden olan genetik anomaliler heterojen olup yüksek penetrasyon gösteren tek gen mutasyonları ve CNV'lerden düşük penetrasyon gösteren risk alellere kadar çeşitlilik göstermektedir (7). Ayrıca, vakaların yaklaşık %30-39'unda çoğu nadir CNV'ler ile ilişkili olan *de novo* mutasyonlar gözlemlendiği düşünülmektedir (8).

Primatlarda göze çarpan, insan soyuna özgü, asıl adı DUF1220 olup işlevi bilinmeyen bir protein domaini olan (9) CNV'lerden biri, yakın zamanda Olduvai olarak adlandırılmıştır (10). DUF1220 aslen insan ve büyük insansı maymunlardaki genom düzeyinde CNV'lerin araştırıldığı bir çalışmada keşfedilmiştir (11). Bu protein domaininin kodlama dizisinin çoğunluğu 1q21.1 kromozomunun NBPF gen ailesinde yer almakta olup özellikle insanlarda kopya sayısında ciddi artışa neden olmaktadır (12). İnsanlarda DUF1220'yi kodlayan genom dizileri dizi benzerliğine göre altı kökene (clade) (CON1-3 ve HLS1-3) ayrılmaktadır (13). DUF1220 protein domaini insan beyninin boyutu, nöropatoloji ve primat soylarındaki nöron sayısı ile ilişkilendirilmiştir (14). Ayrıca, son edinilen bilgilere göre 1q21.1 kromozomunda görülen anormallik otizm fenotipleriyle anlamlı derecede ilişkilidir (15-17). CON1 alt türünün kopya sayısı ve gri madde hacmi ile OSB'li bireylerde görülen gri madde bozuklukları ve Otizm Tanı Görüşmesi-Gözden Geçirilmiş Form (ADI-R) puan türleri arasındaki ilişki düşünüldüğünde (18), Davis ve ark. DUF1220 domaininin CON1 kopyaları ile çoklu (multipleks)/ailel otizm vakalarındaki sosyal ve iletişimsel bozukluklar dahil olmak üzere (ancak simpleks vakalardakiler hariç) otizmin ana türlerinin şiddeti arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir (19-21). Bu çalışmalarda araştırmacılar geniş bir fenotip yelpazesine mensup ağırlıklı olarak verbal erkek bireylerle çalışmışlardır (19-21). Cinsiyet ve genetik arka planın CNV dağılımını etkileyebilme olasılığından dolayı DUF1220 kopya sayısı ile semptomların şiddeti arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için cinsiyet dengeli İranlı otizm simpleksli çocuklardan oluşan bağımsız bir grupta bir çalışma yürüttük.

## YÖNTEM

### Araştırma Grubu

Bu çalışmaya daha önce belirtilmiş olan iyi tanımlanmış kirterlerdeki 58 birey katılmıştır (22). Her otizmlilik çocuk, Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı, dördüncü baskı, gözden geçirilmiş (DSM-IV-TR) kriterlerine göre en az iki profesyonel klinisyen, bir çocuk nöroloğu ve uzman psikiyatrist tarafından tanılanmıştır. Otizm tanısını doğrulamak için ADI-R uygulaması da yapılmıştır (23,24). Diğer tıbbi veya genetik bozukluklar/sendromları olan bireyler araştırmaya dahil edilmemiştir. Ayrıca, otizmlilik olgularımız arasındaki heterojenlik kapsamını en aza indirmek için birden fazla otizmlilik (çoğunlukla orta-ağır şiddetli semptomlarla seyreden) çocuğu olan aileler (otizmin kalıtsal türleri) dahil edilmemiş ve indeks hastalar birbiriyile bağlantısız simpleks ailelerden seçilmiştir.

**Table 1.** Otizmlilik bireylerin demografik bilgisi

Değişkenler	
Cinsiyet, n (%)	
Erkek	14 (%58,3)
Kadın	10 (%41,6)
Yaş aralığı, ay (ortalama)	34-123 (61,6)
İletişim becerisi, s (erkek/kadın) *	
Verbal	15 (10/5)
Verbal olmayan	8 (3/5)
ADI-R Alan puanları, ortalama	
Sosyal etkileşim	35,5
Sosyal iletişim	42,7
Tekrarlanan davranışlar	14,1
ADI-R Toplam	95,9

ADI-R: Otizm Tanı Görüşmesi, Gözden Geçirilmiş Form

\*Bir otizmlilik erkeğin iletişim becerilerine yönelik ayrıntı barındırmayan ADI-R sonucu dahil edilmemiştir.

Özetle 24 cinsiyet dengeli otizmlilik çocuğun, görünürde sağlıklı 10 kardeşin (8 erkek ve 2 kız) ve 24 cinsiyet, yaş ve yerleşim yeri açısından eşleştirilmiş sağlıklı kontrolün genomik DNA örnekleri kullanılmıştır. Otizmlilik deneklerin demografik bilgileri, ADI-R alan puanları ve verbal durumları Tablo 1'de verilmiştir. Bu araştırma Helsinki Bildirgesi ilkeleri doğrultusunda yürütülmüştür. Araştırma, Zencan Tıp Bilimleri Üniversitesi (ZUMS) Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (ZUMS.REC.1394.265, Tarih: 5 Ocak 2016).

### CON1 Kopya Sayısı Ölçümü

TaqMan gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) amplifikasyonu ABI StepOnePlus™ gerçek zamanlı sistemde (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) gerçekleştirilmiştir. PCR amplifikasyonları AmpliTaq Gold PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) kullanılarak yapılmıştır. 20-µl reaksiyon karışımı sırasıyla 10- µl AmpliTaq Gold PCR Master Mix, 200 nM primer, hedef dizilerin her biri için 100 nM TaqMan probu, CON1 ve referans gen RPP30'dan oluşmaktadır. Master mix hazırlanarak karıştırılmış (18 µl) ve 0,2 µl'lik optik sınıf 96 gözlü PCR plakalarına eklenmiştir (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Ardından, her bir genomik DNA örneğinden 2 µl, 20 µl'lik nihai hacme eklenmiştir. Tüm reaksiyonlar, negatif kontrollerle birlikte üç kopya halinde gerçekleştirilmiştir. Termal siklus koşulları: 95°C'de 10 dakika olmak üzere (Taq aktivasyonu) ilk siklus, sonrasında denatürasyon için 95°C'de 15 saniye, primer yapışması (annealing) ve uzama (ekstansiyon) için 60°C'de 30 saniye olmak üzere 40 siklus olarak belirlenmiştir. İlgili numunedeki CON1 kopyalarının mutlak miktarını için, 1/10 seyreltme faktörü kullanılarak her bir sentetik kalibratör için beş noktalı bir standart eğri oluşturulmuştur. Program 40 siklus boyunca tüm amplifikasyonu gözlemlemek üzere ayarlanmıştır. Tüm TaqMan PCR verileri StepOnePlus™ Yazılımı 2.3 sürümü ile kaydedilmiştir (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Primerlerin, problemler ve sentetik DNA oligomerlerinin dizileri Tablo 2'de sunulmuştur.

### Verilerin Analizi

Tüm istatistiksel testler iki yönlü olup 0,05'in altındaki P-değerleri ( $p < 0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analiz Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi (SPSS), sürüm 22.0 kullanılarak gerçekleştirilmiştir (IBM Corp., Armonk, NY, ABD). Dağılım grafikleri ve çubuk grafikler GraphPad Prism, sürüm 6.07 kullanılarak yapılmıştır (GraphPad Software Inc. La Jolla, CA, USA). DUF1220'nin CON1 alt türü

**Tablo 2.** Kalibrasyon, primer ve prob dizileri

Hedef	Dizi	mer	
CON1	Kalibrasyon oligomeri	5'-AAT GTG CCA TCA CTT ATT CAA ATA GCC ATG GCC CTT CTG ACT CCA ACC CGC CTC ACA AGA ACA TCA AAA TCA CAT CTG AGG AAG ACA AAG TC-3'	92
	Hibrit prob	5'-CAT GGC CCT TAT GAC TCC AAC CAG CC-3'	26
	Sağ primer	5'-GAC TTT GTC TTC CTC AAA TGT GAT TTT-3'	27
	Sol primer	5'-AAT GTG CCA TCA CTT GTT CAA ATA G-3'	25
RPP30	Kalibrasyon oligomeri	5'-GAT TTG GAC CTG CGA GCG GGT TCT GAC CTG AAG GCT CTG CGC GGA CTT GTG GAG ACA GCC GC-3'	62
	Hibrit prob	5'-TTC TGA CCT GAA GGC TCT GCG C-3'	22
	Sağ primer	5'-GCG GCT GTC TCC ACA AGT-3'	18
	Sol primer	5'-GAT TTG GAC CTG CGA GCG-3'	18

Bu çalışmada hedef dizi (CON1) ve referans gen (RPP30) için sentetik kalibratörler tasarlanmıştır. Tüm primerler ve probalar Davis ve ark. 2014'ten uyarlanmıştır (21).

kopya sayısı klinik gruplar arasında Gauss dağılımı göstermiş olup bu durum Shapiro-Wilk testleri ve ilgili histogramlarının ve grafiklerinin görsel olarak incelenmesiyle teyit edilmiştir. Çalışma grupları arasında CON1 kopya sayılarının ortalama değerini karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve student t-testi kullanılmıştır. CON1 kopya sayısı ve ADI-R alan puanları arasındaki ilişki çoklu doğrusal regresyon modeli kullanılarak test edilmiştir. Bu testte sosyal etkileşim, iletişim ve tekrarlayan davranış alanları yaş ve biyolojik cinsiyete göre uyarlanarak bağımsız değişken olarak alınmıştır. Bağımsız değişkenler arasındaki olası korelasyonları incelemek için eş doğrusallık testi kullanılmıştır.

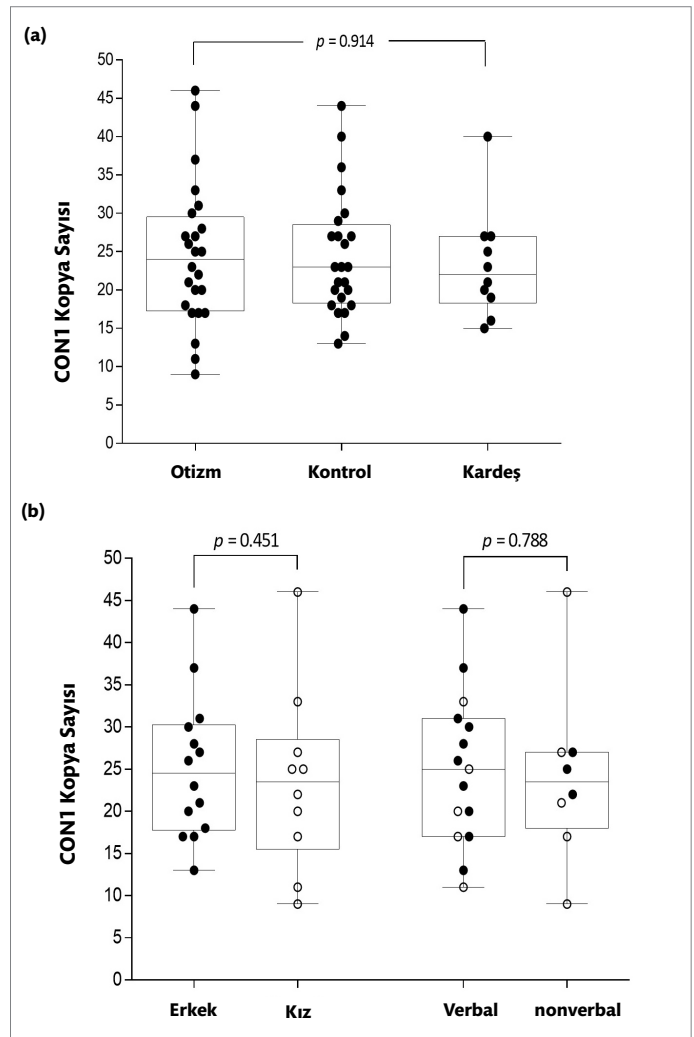
## BULGULAR

### CON1 Kopya Sayısı, Çalışma Gruplarının Ortalama Analizi

Otizimli bireyler, sağlıklı kontroller ve kardeşlerden oluşan deneklerin bulunduğu çalışma gruplarında CON1 kopya sayısı belirlenmiştir (Şekil 1a). CON1 kopya sayıları sırasıyla 9-46, 13-44 ve 15-40 arasında değişim göstermiştir. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi, CON1 kopya sayılarının ortalama değerlerinin [F (55, 2)=0,076 p=0,92] otizm grubu (24,46±9,32), sağlıklı kontrol grubu (24,42±7,90) ve kardeş çiftleri grubunda (23,30±7,19) istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediğini ortaya koymuştur (Şekil 1a). Otizm prevalansındaki cinsiyet yanlılığından dolayı otizm grubu cinsiyete göre bölünmüştür. Erkek olgularda CON1 kopya sayısı 13-44, kız olgularda 9-46 arasında değişiklik göstermiştir. Bu sınıflandırmaya karşın erkek (23,94±8,39) ve kız (24,73±8,27) olguların CON1 kopya sayılarında anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,451). Aynı şekilde, verbal (25,00±9,11) ve verbal olmayan olguların (24,25±10,62) CON1 kopya sayılarının ortalamaları incelendiğinde farklılık gözlenmemiştir (p=0,788) (Şekil 1b).

### Cinsiyete Dayalı Sınıflandırmada CON1 Kopya Sayısı ile ADI-R Alan Puanları Arasındaki İlişki Analizi

CON1 kopya sayısı ile otizimli çocukların ADI-R alan puanlarının her biri arasındaki olası ilişkiyi bulmak için çoklu doğrusal regresyon testi yapılmıştır [Panahi ve ark.'nın (22) ek Tablo S2'sine bakınız]. Davis ve ark.'nın 64 otizm simpleks vakasını incelediği yakın tarihli bir çalışmanın sonuçlarıyla (19) uyumlu olarak bulgularımız, ADI-R ana alan puanları ve simpleks vakalardaki CON1 kopya sayısının anlamlı benzerlik göstermediğini ortaya koymuştur (Tablo 3). Ancak, çocuklar cinsiyete göre sınıflandırıldığında farklı bir tablo oluşmuştur. Şekil 2'de görüldüğü üzere, erkeklerde toplam ADI-R puanı CON1 kopya sayısının artışıyla pozitif eğilim sergilemiştir (Şekil 2a). Buna karşın kızlarda, CON1 kopya sayısı arttıkça ADI-R puanlarının düşmesiyle bu eğilim kısmen negatif yönlü olmuştur (Şekil 2b). Ancak zıt eğilimler istatistiksel anlam taşımamaktadır (erkek, p=0,11; kız, p=0,69). Davis ve ark.'nın kalıtsal (örneğin çoklu) otizm türlerine yönelik gözlemleriyle doğrultulu olarak, özellikle erkek olgularda



**Şekil 1. a,b.** DUF1220 CON1 kopya sayısı sıklığı. Çalışma gruplarının CON1 kopya sayısı karşılaştırması. Otizimli olgular, sağlıklı kontroller ve kardeş çiftleri (a). Cinsiyete (solda) ve iletişim becerisi/sözel duruma (sağda) göre sınıflandırılmış otizimli hastalar (b). Her kutunun altı 25. üstü 75'inci persentili temsil etmektedir. Her kutuyu ortadan ikiye bölen çizgi ortalama değeri göstermektedir. B panelindeki içi boş daireler kız olguları göstermektedir.

CON1 kopya sayısı arttıkça sosyal etkileşim ve iletişim tanı puanlarında artan eğilim saptanmıştır (19-21). Buna karşın kızlarda, sosyal etkileşim ve iletişim tanı puanları azalan eğilim göstermiştir. Bir diğer dikkat çekici sonuç, CON1 kopya sayısının artışıyla erkeklerde tekrarlanan davranış puanı azalırken kızlarda pozitif eğilim göstermiştir (Tablo 4). Son olarak,

**Tablo 3.** ADI-R alan puanları ve CON1 kopya sayısı arasındaki ilişki

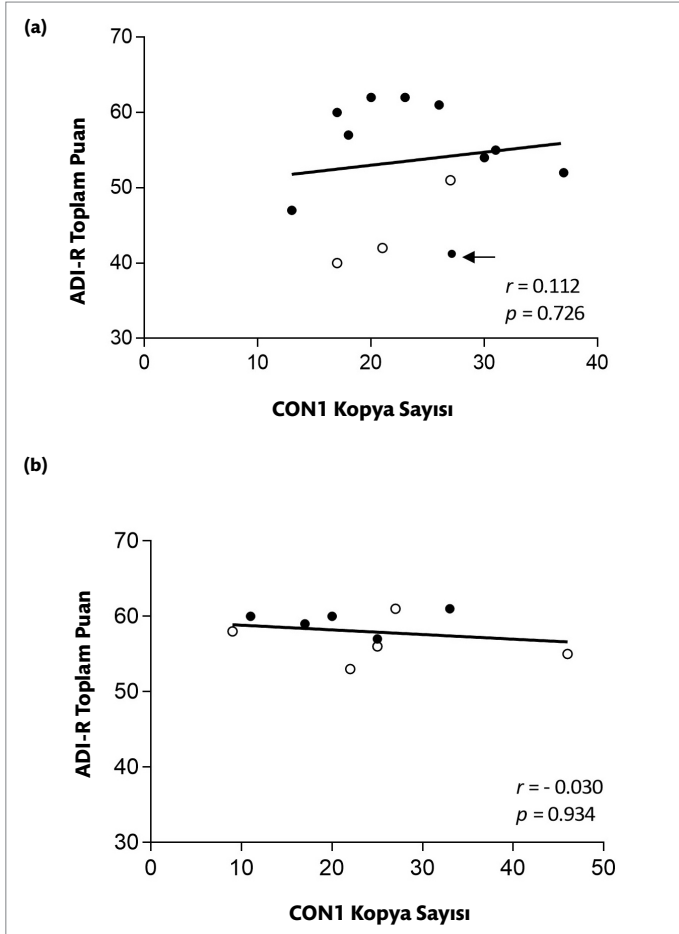
Sonuç	Beta	SH	P-değeri
ADIR-toplam	CON1 kopya artışı başına 0,107 puan artışı	0,002	0,626
Sosyal etkileşim	CON1 kopya artışı başına 0,082 puan artışı	0,002	0,692
Sosyal iletişim	CON1 kopya artışı başına 0,039 puan artışı	0,006	0,856
Tekrarlanan davranış	CON1 kopya artışı başına 0,052 puan artışı	0,003	0,816

ADI-R: Otizm Tanı Görüşmesi - Gözden Geçirilmiş Form; SH: Standart hata.  
Beta tahminleri, standart hata ve P-değerleri çok değişkenli regresyon analizlerinden alınmıştır.

**Tablo 4.** Çok değişkenli regresyon analizlerin sonuçları

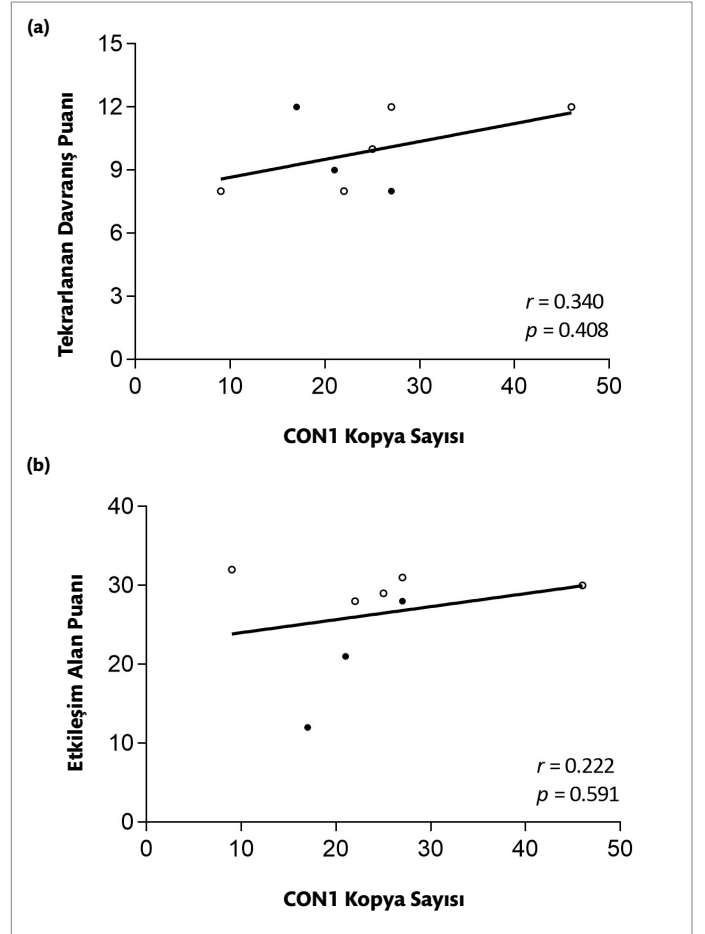
Cinsiyet	Sonuç	Beta	SH	P-değeri
Erkek	Etkileşim	CON1 kopya artışı başına 0,306 puan artışı	0,005	0,348
	İletişim	CON1 kopya artışı başına 0,272 puan artışı	0,009	0,376
	Tekrarlanan davranış	CON1 kopya artışı başına 0,089 puan düşüşü	0,006	0,786
Kadın	Etkileşim	CON1 kopya artışı başına 0,700 puan düşüşü	0,001	0,074
	İletişim	CON1 kopya artışı başına 0,229 puan düşüşü	0,008	0,570
	Tekrarlanan davranış	CON1 kopya artışı başına 0,539 puan artışı	0,003	0,183

SH: standart hata.  
Beta tahminleri, standart hata ve P-değerleri çok değişkenli regresyon analizlerinden alınmıştır.



**Şekil 2. a,b.** DUF1220 CON1 kopya sayısı ve Otizm Tanı Görüşmesi - Gözden Geçirilmiş Form (ADI-R) toplam puanlarının ilişki analizi. CON1 kopya sayısı ve ADI-R toplam puanlarının cinsiyet bazında korelasyonu, otizmliler erkek (a) ve kız (b) çocuklar farklı eğilimler göstermiştir. İçi boş daireler verbal olmayan denekleri göstermektedir. Değerlendirmeye dahil edilmeyen diğer ok ile gösterilmiştir.

verbal olmayan deneklerin sosyal ve tekrarlanan davranış puanları ile CON1 kopya sayısı arasındaki ilişki incelendiğinde bu alanların doğru orantılı olduğu saptanmıştır (Şekil 3a ve b).



**Şekil 3. a, b.** DUF1220 CON1 kopya sayısı ve verbal olmayan deneklerin Otizm Tanı Görüşmesi - Gözden Geçirilmiş Form (ADI-R) alan puanlarının ilişki analizi. CON1 kopya sayısı ve tekrarlanan hareket (a), ve etkileşim alan puanları (b) arasındaki ilişki. İçi boş daireler kadın denekleri göstermektedir.

## TARTIŞMA

Birçok çalışma, CNV'lerin farklı etnik kökenlere sahip çeşitli popülasyonlarda genetik çeşitlilik sağladığını göstermiştir (25-27). Davis

ve ark. tarafından yapılan çalışmalara kıyasla, bu çalışma farklı genetik geçmişleri ve özellikleri olan İranlı aileler üzerinde gerçekleştirilmiştir (19-21). Çalışmanın katılımcıları "orta şiddetli - şiddetli" aralığına giren sendromik olmayan, simpleks/ailesel olmayan çocukluk otizmi görülen cinsiyet dengeli bir gruptur. Buna karşın Davis'in çalışmasındaki olgu grubu ağırlıklı olarak çoğu çoklu otizm görülen ailelerden gelen verbal OSB'li erkeklerden oluşmuştur (19). Davis'in çalışmasıyla arasındaki farklılıklara rağmen bu çalışmanın karma cinsiyet analizleri sonuçları Davis'in bulgularını destekler niteliktedir. Ancak Davis ve ark.'ın sunduğu çoklu otizm olgularına benzer şekilde, cinsiyete dayalı sınıflandırmada otizmliler erkek çocukların sosyal etkileşim ve iletişim puanları CON1 kopya sayısının artmasıyla birlikte pozitif eğilim sergilemiştir. Buna karşın, otizmliler kız çocuklarının sosyal etkileşim ve iletişim puanları negatif eğilim sergilemiştir. Bu durum simpleks ailelerin otizmliler kız çocuklarında CON1 kopyalarının koruyucu bir rol üstlendiğini gösteriyor olabilir (Tablo 3). Bazı çalışmalar CNV farklılıklarının bu bölümleri kapsayan genlerin ekspresyonlarını (4); etnik köken/ırk farklılıkları ve cinsiyetin ise CNV sayısını etkileyebileceğini (28) göstermiştir. Bununla birlikte, her iki cinsiyetten karşılaştırılabilir sayıda kişiden oluşan daha büyük bir örneklemde bulgularımızın yeniden incelenmesi gerekmektedir.

İstatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşmamış olmamız çeşitli nedenlerden kaynaklanmış olabilir. Öncelikle, Davis'in çalışması ile benzer şekilde, simpleks hastaların ADI-R puanları ve otizm şiddeti arasında bir ilişki saptanmamıştır. Bu sonuç, genellikle kalıtsal olguları içeren çoklu otizm olgularının ağırlıklı olarak (%52-%67) de novo durumlardan doğan simpleks olgulardan fenotipik ve genetik açıdan farklı olmalarından (29-31) kaynaklanıyor olabilir (8,32,33). İkinci olarak, örneklemimiz özellikle kızlar için istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edecek kadar büyük olmayabilir. Ancak, yakın zamanda yapılan büyük ölçekli bir genom çalışmasında bile simpleks otizmde motor nöronların işlev bozukluğuyla ilişkili genler bulunmuş ancak OSB'nin temel özellikleriyle ilişkili genler bulunmamıştır.

ADI-R soru puanlarının birbirlerine kıyasla farklılık göstermesi, değerlendirme uzmanlarının beceri düzeylerinin farklı olması, ebeveynler/bakıcılar tarafından verilen cevapların doğruluğunun değişkenlik göstermesi ve otizm fenotiplerinin heterojenliği gibi farklı sebeplerden ötürü, ADI-R gibi tanılabilir algoritmaların kullanılmasının farklı araştırmalarda çeşitli sonuçlar alınmasına sebep olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Otizmin heterojen özelliğinden ötürü, otizmin şiddetini etkileyen faktörlerin incelenmesi ilk olarak hastalığın küresel olarak ciddiyetinin değerlendirilmesi için standart bir protokol izlenmesini gerektirmektedir. Bunun sebebi otizm semptomlarının şiddetini doğru bir şekilde değerlendirmek için kapsamlı bir protokolün bulunmaması ve bu nedenle hastalığın ciddiyetinin çoğunlukla klinik göstergelere dayandırılarak belirlenmesidir. Dolayısıyla semptomların şiddetinin değerlendirilmesi için DUF1220 CNV gibi markörlerin bulunması faydalı olabilir. Otizmde semptom şiddetinin klinik dışavurumuna yönelik net bir tablo çizilmesi adına cinsiyet ve çeşitli çevresel faktörler gibi karıştırıcı etkilerin de hesaba katılması gerekmektedir.

Sonuç olarak preklinik araştırmalarda iki cinsiyetin de dahil edilmesi vurgulandığı halde ne yazık ki şimdiye kadarki klinik çalışmalar bu durumu göz ardı etmiştir (35, 36). Yakın zamanda sendromik olmayan simpleks çocukluk otizmde telomer uzunluğunun cinsiyet bazında dimorfik bir model takip ettiğini her iki cinsiyetten dengeli sayıda dahil ederek gösterdik (22). Bu çalışmada aynı örneklem kullanılarak CON1 kopya sayısının otizmliler erkek ve kız çocukların semptom şiddeti ile ters orantılı olduğu görülmüştür. Ancak, sunulan istatistiksel analiz (Tablo 3) göz önünde bulundurulduğunda CON1 kopya sayısı ve simpleks ailelerin otizmliler çocuklarının semptom şiddeti arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. Bir diğer yorum ise DUF1220 kopya sayısının kalıtsal

olmayan otizm olgularının semptom şiddeti ile ilişkisinin cinsiyet bazında dimorfik bir model izlediğidir. Ancak bu durum, her iki cinsiyetten karşılaştırılabilir sayıda kişiden oluşan daha büyük bir örneklemde yeniden incelenmelidir.

**Teşekkür:** Doktor Reza Shervin Badv (Pediyatrik Nöroloji Bölümü, Tıp Fakültesi, Tahrân Tıp Bilimleri Üniversitesi) ve Doktor Mohammad Vafae-Shahi'ye (Büyüme ve Gelişme Araştırma Merkezi, Endokrinoloji ve Metabolizma Enstitüsü, İran Tıp Bilimleri Üniversitesi) çalışma olgularının klinik tanısı için teşekkür ederiz. Ayrıca Dr. Hamid Pezeshk'e (Matematik, İstatistik ve Bilgisayar Bilimleri Okulu, Fen Fakültesi, Tahrân Üniversitesi) istatistiksel analizdeki yardımları için teşekkür ederiz.

**Etik Kurulu Onayı:** Bu araştırma Helsinki Bildirgesi ilkeleri doğrultusunda yürütülmüştür. Çalışma ZUMS Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (ZUMS. REC.1394.265, date: Jan. 05, 2016).

**Bilgilendirilmiş Onam:** Tüm çocukların ebeveynleri veya bakıcıları tarafından imzalı bilgilendirilmiş onamları alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Konsept- MP; Tasarım- MP; Denetim- MP; Kaynak- Zanjan Tıp Bilimleri Üniversitesi; Materyaller- ME, MRE; Veri Toplama ve/veya İşleme- ME, YP; Analiz ve/veya Yorumlama- MP, YP; Literatür Taraması- ME, YP; Yazma- ME, YP; Eleştirel Değerlendirmeler- MP.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çalışması olmadığını belirtmiştir.

**Finansal Açıklama:** Bu çalışma Zencan Tıp Bilimleri Üniversitesi tarafından A-12-534-9 numaralı hibe ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Thapar A, Cooper M. Copy number variation: what is it and what has it told us about child psychiatric disorders? *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2013;52(8):772-774. [Crossref]
2. Hastings PJ, Lupski JR, Rosenberg SM, Ira G. Mechanisms of change in gene copy number. *Nat Rev Genet*. 2009;10(8):551-564. [Crossref]
3. Shaikh TH. Copy number variation disorders. *Curr Genet Med Rep*. 2017;5(4):183-190. [Crossref]
4. Torres F, Barbosa M, Maciel P. Recurrent copy number variations as risk factors for neurodevelopmental disorders: critical overview and analysis of clinical implications. *J Med Genet*. 2016;53(2):73-90. [Crossref]
5. Lord C, Elsabbagh M, Baird G, Veenstra-Vanderweele J. Autism spectrum disorder. *Lancet*. 2018;392(10146):508-520. [Crossref]
6. Sandin S, Lichtenstein P, Kuja-Halkola R, Hultman C, Larsson H, Reichenberg A. The heritability of autism spectrum disorder. *JAMA*. 2017;318(12):1182-1184. [Crossref]
7. Ramaswami G, Geschwind DH. Genetics of autism spectrum disorder. *Handb Clin Neurol*. 2018;147:321-329. [Crossref]
8. Seungtae Yoon et al. Rates of contributory de novo mutation in high and low-risk autism families. *Communications Biology*. 2021;4(1):1026. [Crossref]
9. Popesco MC, Maclaren EJ, Hopkins J, Dumas L, Cox M, Meltesen L, et al. Human lineage-specific amplification, selection, and neuronal expression of DUF1220 domains. *Science*. 2006;313(5791):1304-1307. [Crossref]
10. Sikela JM, van Roy F. Changing the name of the NBPF/DUF1220 domain to the Olduvai domain. *F1000Res*. 2017;6:2185. [Crossref]
11. Fortna A, Kim Y, MacLaren E, Marshall K, Hahn G, Meltesen L, et al. Lineage-specific gene duplication and loss in human and great ape evolution. *PLoS Biol*. 2004;2(7):e207. [Crossref]
12. Vandepoele K, Van Roy N, Staes K, Speleman F, van Roy F. A novel gene family NBPF: intricate structure generated by gene duplications during primate evolution. *Mol Biol Evol*. 2005;22(11):2265-2274. [Crossref]
13. O'Bleness MS, Dickens CM, Dumas LJ, Kehrer-Sawatzki H, Wyckoff GJ, Sikela JM. Evolutionary history and genome organization of DUF1220 protein domains. *G3(Bethesda)*. 2012;2(9):977-986. [Crossref]
14. Dumas LJ, O'Bleness MS, Davis JM, Dickens CM, Anderson N, Keeney JG, et al. DUF1220-domain copy number implicated in human brain-size pathology and evolution. *Am J Hum Genet*. 2012;91(3):444-454. [Crossref]
15. Crespi BJ, Crofts HJ. Association testing of copy number variants in schizophrenia and autism spectrum disorders. *J Neurodev Disord*. 2012;4(1):15. [Crossref]

16. Girirajan S, Dennis MY, Baker C, Malig M, Coe BP, Campbell CD, et al. Refinement and discovery of new hotspots of copy-number variation associated with autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet.* 2013;92(2):221–237. [\[Crossref\]](#)
17. Dumas L, Sikela JM. DUF1220 domains, cognitive disease, and human brain evolution. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2009;74:375–382. [\[Crossref\]](#)
18. Rojas DC, Peterson E, Winterrowd E, Reite ML, Rogers SJ, Tregellas JR. Regional gray matter volumetric changes in autism associated with social and repetitive behavior symptoms. *BMC Psychiatry.* 2006;6:56. [\[Crossref\]](#)
19. Davis JM, Heft I, Scherer SW, Sikela JM. A third linear association between Olduvai (DUF1220) copy number and severity of the classic symptoms of inherited autism. *Am J Psychiatry.* 2019;176(8):643–650. [\[Crossref\]](#)
20. Davis JM, Searles Quick VB, Sikela JM. Replicated linear association between DUF1220 copy number and severity of social impairment in autism. *Hum Genet.* 2015;134(6):569–575. [\[Crossref\]](#)
21. Davis JM, Searles VB, Anderson N, Keeney J, Dumas L, Sikela JM. DUF1220 dosage is linearly associated with increasing severity of the three primary symptoms of autism. *PLoS Genet.* 2014;10(3): e1004241. [\[Crossref\]](#)
22. Panahi Y, Salasar Moghaddam F, Babaei K, Eftekhar M, Shervin Badv R, Eskandari MR, et al. Sexual dimorphism in telomere length in childhood autism. *J Autism Dev Disord.* 2022. [\[Crossref\]](#)
23. Lord C, Rutter M, Le Couteur A. Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord.* 1994;24(5):659–685. [\[Crossref\]](#)
24. Steinhausen HC, Erdin A. Abnormal psychosocial situations and ICD-10 diagnoses in children and adolescents attending a psychiatric service. *J Child Psychol Psychiatry.* 1992;33(4):731–740. [\[Crossref\]](#)
25. Li J, Yang T, Wang L, Yan H, Zhang Y, Guo Y, et al. Whole genome distribution and ethnic differentiation of copy number variation in Caucasian and Asian populations. *PLoS One.* 2009;4(11):e7958. [\[Crossref\]](#)
26. Jakobsson M, Scholz SW, Scheet P, Gibbs JR, VanLiere JM, Fung HC, et al. Genotype, haplotype and copy-number variation in worldwide human populations. *Nature.* 2008;451(7181):998–1003. [\[Crossref\]](#)
27. Zhuo C, Hou W, Lin C, Hu L, Li J. Potential value of genomic copy number variations in schizophrenia. *Front Mol Neurosci.* 2017;10:204. [\[Crossref\]](#)
28. Shadravan F. Sex bias in copy number variation of olfactory receptor gene family depends on ethnicity. *Front Genet.* 2013;4:32. [\[Crossref\]](#)
29. Zhao X, Leotta A, Kustanovich V, Lajonchere C, Geschwind DH, Law K, et al. A unified genetic theory for sporadic and inherited autism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(31):12831–12836. [\[Crossref\]](#)
30. Virkud YV, Todd RD, Abbacchi AM, Zhang Y, Constantino JN. Familial aggregation of quantitative autistic traits in multiplex versus simplex autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2009;150B(3):328–334. [\[Crossref\]](#)
31. Constantino JN, Zhang Y, Frazier T, Abbacchi AM, Law P. Sibling recurrence and the genetic epidemiology of autism. *Am J Psychiatry.* 2010;167(11):1349–1356. [\[Crossref\]](#)
32. Yuen RK, Thiruvahindrapuram B, Merico D, Walker S, Tammimies K, Hoang N, et al. Whole-genome sequencing of quartet families with autism spectrum disorder. *Nat Med.* 2015;21(2):185–191. [\[Crossref\]](#)
33. Iossifov I, O’Roak BJ, Sanders SJ, Ronemus M, Krumm N, Levy D, et al. The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature.* 2014;515(7526):216–221. [\[Crossref\]](#)
34. Buja A, Volfovsky N, Krieger AM, Lord C, Lash AE, Wigler M, et al. Damaging de novo mutations diminish motor skills in children on the autism spectrum. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(8):e1859–e1866. [\[Crossref\]](#)
35. Heidari S, Babor TF, De Castro P, Tort S, Curno M. Sex and gender equity in research: rationale for the SAGER guidelines and recommended use. *Res Integr Peer Rev.* 2016. [\[Crossref\]](#)
36. Clayton JA, Collins FS. Policy: NIH to balance sex in cell and animal studies. *Nature.* 2014;509(7500):282–283. [\[Crossref\]](#)