

# Sendromik Olmayan Otizm Spektrum Bozukluğunda Pogz Gen Varyantlarının İncelenmesi

## Investigation of Pogz Gene Variants in Non-Syndromic Autism Spectrum Disorder

Jülide TOZKIR<sup>1</sup>, Gökberk YILDIRIM<sup>2</sup>, Selma DEMİR<sup>3</sup>, Orkide PALABIYIK<sup>1</sup>, Işık GÖRKER<sup>4</sup>, Hakan GÜRKAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Trakya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Edirne, Türkiye

<sup>2</sup>Atlasco Klinik Araştırma Koordinatörü, Edirne, Türkiye

<sup>3</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

<sup>4</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Otizm spektrum bozukluğunun (OSB) etiopatogenezinde genetik faktörler önemli rol oynamaktadır. Literatürde ZNF Alanı Proteinli Pogo Transposable Element (POGZ) geninin (MIM\*614787), OSB'de en sık mutasyona uğrayan genlerden biri olduğu rapor edilmiştir. Çalışmanın amacı, sendromik olmayan otizm spektrum bozukluğu (OSB) vakalarında POGZ geninin ekzonik bölgelerini detaylı bir şekilde analiz etmektir.

**Yöntem:** Çalışmaya DSM-V tanı kriterlerine göre OSB tanısı alan, yaşları 2–18 arasında değişen, sendromik olmayan 51 vaka dâhil edildi. Sağlıklı kontrol grubu ise benzer yaş grubunda, nörogelişimsel sorunu olmayan 50 çocuktan oluşturuldu. POGZ geninin en az 50 baz çiftinden mRNA kodlu bölgelerini kapsayan derin intronik primerler kullanılarak üretilen ampliconlar, Yeni Nesil Dizileme yöntemi ile analiz edildi.

**Bulgular:** OSB grubunda açık erişim veritabanlarında (ClinVar, HGMD

vb.) rapor edilen herhangi bir patojenik veya olası patojenik varyant tespit edilmedi. OSB ve sağlıklı kontrol gruplarında rs113396244, rs11204811, rs779479223, rs772352054, rs3831142, rs112072925, rs227453 ve rs142860188 varyantları belirlendi. OSB grubunda rs3831142, rs112072925, rs2274535, rs142860188 varyantları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Belirlenen varyantların olguların cinsiyetine göre dağılımı istatistiksel olarak anlamlı değildi.

**Sonuç:** OSB grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunan varyantlar proteinin HP1-ZNF ve DDE alanlarını kapsayan bölgelerde yer almaktadır. Özellikle DDE alanının fetal beyin gelişimi ve nörogenezde rol oynadığı göz önüne alındığında, bu dört varyantın OSB'de düzenleyici ve/veya predispozan etkilere sahip olabileceği düşünülebilir.

**Anahtar Sözcükler:** Otizm spektrum bozukluğu, POGZ, yeni nesil dizileme

### ABSTRACT

**Introduction:** Genetic factors play an important role in the etiopathogenesis of autism spectrum disorder (ASD). The Pogo Transposable Element with ZNF Domain protein (POGZ) gene (MIM\*614787) has been reported to be one of the most frequently mutated genes associated with ASD. This study aims to analyze the exonic regions of the POGZ gene in individuals diagnosed with non-syndromic ASD.

**Methods:** Fifty-one non-syndromic cases diagnosed with ASD according to the DSM-V diagnostic criteria, aged 2–18 years, were included in the study. The healthy control group consisted of 50 children of similar age groups without neurodevelopmental problems. Amplicons produced using deep intronic primers covering the mRNA-encoded regions of the POGZ gene from at least 50 base pairs were sequenced by Next Generation Sequencing Analysis.

**Results:** No pathogenic or likely pathogenic variants reported in open-

access databases (ClinVar, HGMD, etc.) were detected in the case group. In the ASD and healthy control groups, rs113396244, rs11204811, rs779479223, rs772352054, rs3831142, rs112072925, rs227453 and rs142860188 variants were determined. The rs3831142, rs112072925, rs2274535, rs142860188 variants were found statistically significant in the ASD group. The distribution of the cases with detected single nucleotide polymorphisms (SNPs) according to gender was not statistically significant.

**Conclusion:** The variants identified as statistically significant within the patient group are situated in regions that encompass both the HP1-ZNF and DDE domains of the protein. Given the crucial role that the DDE domain plays, particularly in fetal brain development and neurogenesis, these four variants may potentially possess modifying and/or predisposing effects in the context of ASD.

**Keywords:** Autism spectrum disorder, next generation sequencing, POGZ

**Cite this article as:** Tozkır J, Yıldırım G, Demir S, Palabiyık O, Görker I, Gürkan H. Sendromik Olmayan Otizm Spektrum Bozukluğunda Pogz Gen Varyantlarının İncelenmesi. Arch Neuropsychiatry 2024; 61:208–212.

### GİRİŞ

Otizm spektrum bozukluğu (OSB) [MIM209850], sözlü iletişimin sınırlı olması veya olmaması, tepki verme eksikliği, sınırlı sosyal etkileşim, basmakalıp ve ritüelleştirilmiş tekrarlayan davranış kalıpları ile karakterize edilen, yaşam boyu süren ciddi bir nörogelişimsel bozukluktur (1,2). OSB hem genetik hem de fenotipik olarak heterojendir ve çocukların yaklaşık

%1'ini etkiler. Önceki yıllarda OSB görülme sıklığı 1/1000 iken, güncel raporlar bu oranın 1/50 civarında olduğunu göstermektedir. OSB erkek çocuklarda dört kat daha sık görülür. Kız çocuklara göre erkek çocuklarda daha erken başlar ve ortalama tanı yaşı dört olarak bildirilmektedir (3–5). OSB'nin kesin tedavisi henüz mümkün olmasa da, bozukluğa eşlik eden

## Öne Çıkan Noktalar

- POGZ geni, OSB'de en sık mutasyona uğrayan genlerden birisidir.
- POGZ'da rs3831142, rs112072925, rs2274535, rs142860188 varyantları OSB'de farklıdır.
- POGZ'da belirlenen varyantlar fonksiyonel bölgeleri kodlayan dizidedir.

diğer belirtilerin hafifletilmesi ve bireyin yaşam kalitesinin artırılması amacıyla özel eğitim alanında çalışmalar yapılmaktadır. Tedavinin etkinliğini artırmak için OSB'nin en erken teşhis edilmesi ve bireye özel eğitim planının hızla oluşturulması zorunludur (6).

OSB etiyopatogenezinde genetik faktörler önemli rol oynamaktadır (7). Çoklu genetik faktörler birbiriyle etkileşim halindeyken, hem doğum öncesi hem de doğum sonrası faktörler etiyopatogenezin karmaşıklığına katkıda bulunmaktadır (1). OSB'nin tahmini kalıtsallığı, yeni mutasyonların yanı sıra epigenetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak karmaşık risk mimarisine sahiptir (8). OSB'nin dikkat çekici heterojenliğine rağmen, bozukluğa bağlı genetik varyantların çoğu, sinaptik fonksiyon, nöronal aktivite, nöronal hücre yapışması, nörojenez sırasında Wnt sinyali ve kromatin yeniden yapılanması dâhil olmak üzere spesifik fonksiyonel ağlar içinde değerlendirilen genlerde bulunur (9-11). Önceki çalışmalar, pogo transposable element ile ZNF alan proteini (POGZ) (MIM\*614787) ve OSB arasında ilişki bildirilmiştir (12-17). POGZ'de az sayıda mutasyon OSB, entelektüel yetersizlik veya şizofreni vakalarının farklı kohortlarında rapor edilmiştir (12,13,16-20). OSB ve gelişimsel gecikmesi (DD) olan bireylerin olduğu ailelerde yapılan çalışmaların meta analizinde, POGZ'nin de novo mikrodelsyonlarının veya tek nükleotid polimorfizmlerinin (TNP) nörogelişimsel bozukluklar için muhtemel bir risk geni olabileceği bildirilmiştir (13,14,16,21).

POGZ geni, 1q21 kromozomunda lokalizedir. Daha önce kapsamlı bir şekilde araştırılmamış olan POGZ proteini, çeşitli fonksiyonel bölgeler içermektedir. Bu bölgeler arasında çinko parmak motifleri, sentromer proteini (CENP)-B'ye benzer DNA bağlanma alanları ve pogo transpozonlarından türetilmiş DDE bölgeleri bulunur. Özellikle, POGZ proteini içindeki 791-850 amino asit aralığı, insan heterokromatin proteini 1 (HP1) ile etkileşime giren çinko parmak motiflerini içeren bir çinko parmak kümesinin bir parçasıdır. Bu HP1 ile etkileşimde bulunan çinko parmak benzeri (HPZ) alan, POGZ'nin heterokromatin ile etkileşiminde kritik bir rol oynamaktadır. Ayrıca, POGZ proteini, kromatin yapısını değiştirerek DNA bölgelerinin paketlenmesini düzenleme kapasitesine sahip olabilir (22,23). 1117-1323 amino asitlerini kapsayan DDE alanı, fetal beyin gelişimine ve nörogeneze aktif olarak katkıda bulunduğu düşünülen proteinin başka bir fonksiyonel bölümünü oluşturur (24). POGZ geninin ifadesi insan hücresinde baskılandığında, hücre büyümesi ve bölünmesi sorunlarla karşılaşılabılır. POGZ proteini aracılığıyla gen ekspresyonunun düzenlenmesi, özellikle beyin gelişimi için kritik bir öneme sahiptir. Ayrıca, POGZ mutasyonlarına sahip bireylerde motor gelişim eksikliği ve koordinasyon sorunları gibi birçok anomali tespit edilmiştir. Pediatrik popülasyon içinde hipotalamus-hipofiz yapısındaki lezyonlar da sıkça gözlemlenen sorunlar arasındadır (15,21,24). POGZ proteininin fizyolojik ve patolojik bağlamdaki rolünün tam olarak anlaşılmasına rağmen, POGZ nakavt farelerde anormal beyin gelişimi, daha küçük mutlak beyin, embriyo ve yetişkin farelerde değişmiş nörogenez, büyüme gecikmesi ve anormal motor, bilişsel ve sosyal davranış görülmektedir (25).

POGZ geni, OSB'de en yüksek mutasyon sıklığına sahip genlerden biri olarak kayıtlara geçmiştir (14,17,18). Bu genin de novo mutasyonlarının, proteinin DNA'ya bağlanma yeteneğini bozarak gen ifadesini etkileyebileceği düşünülmektedir (26,27). Bu çalışma, OSB teşhisi konmuş vakalarda POGZ geninin ekzonik bölgelerinin yeni nesil dizi analizi (next generation sequencing-NGS) yöntemiyle incelenmesi yoluyla potansiyel varyantların fenotip üzerindeki etkisini araştırmayı hedeflemektedir.

## YÖNTEM

### Çalışma Grubu

Çalışmaya, Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı A. D. polikliniğine OSB ön tanısı ile başvuran vakalardan DSM-V tanı kriterlerine göre OSB tanısı alan, 2-18 yaşları arasında 51 vaka dâhil edildi. Sağlıklı kontrol grubu, nörogelişimsel sorunu olmayan benzer yaş aralığındaki 50 çocuktan oluşturulmuştur. OSB vakalarının 14'ü 1-3 yaş aralığında, 37'si 4-18 yaş aralığındadır. 1-3 yaş aralığındaki 14 vaka Değiştirilmiş Erken Çocukluk Dönemi Otizm Tarama Ölçeği (M-CHAT: Modified Checklist for Autism in Toddlers) ile otizm riskli grup olarak değerlendirilmiştir. M-CHAT, 2001 yılında Robins ve ark. tarafından geliştirilmiştir (28). Türkiye'de geçerlilik çalışması 2005 yılında Yıkgeç tarafından yapılmıştır (29). Yirmi üç sorudan oluşan testte tüm sorular ebeveynler tarafından "Evet" ya da "Hayır" şeklinde cevaplandırılmaktadır. 4-18 yaş aralığındaki 37 vaka Çocukluk Otizmini Derecelendirme Ölçeği (CARS: The Childhood Autism Rating Scale) ile değerlendirilmiştir. CARS, Schopler ve meslektaşları tarafından geliştirilen 15 bölümden oluşan bir davranışsal değerlendirme ölçeğidir (30). Türkçe geçerlilik çalışması bulunmakta olup, otistik çocukları diğer gelişimsel gecikme yaşayan çocuklardan ayırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (31). Her öge için: 1 otistik değil; 2 hafif otistik; 3 orta düzeyde otistik; ve 4 şiddetli otistik anlamına gelir. Toplam puan aralığı 15 ile 60 arasındadır. Genel toplamda, 15-29 puan aralığı "otistik değil", 30-36 hafif-orta düzeyde otistik'i ve 37-60 ise şiddetli otizmi ifade eder. Çalışmaya dâhil edilen vakaların kromozom analizi, Fajril X sendromu ilişkili FMR1 gen analizi ve Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (arrayCGH) analizi sonuçları normaldi.

Araştırmanın etik onayı Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2016-185 onay numarasıyla alındı. Çalışma Helsinki Bildirgesi II'de belirtilen yönergeleri takip etti (32). Araştırmaya katılan tüm vakaların bilgilendirilmiş onam formları ebeveynleri tarafından imzalandı.

Genomik DNA (gDNA) izolasyonu periferik kan örneklerinden kullanılan kiti protokolüne göre (Qiagen, Hilden, Almanya), QIAGEN EZ1 Advanced XL (Seri No: L122A1010) izolasyon cihazında yapıldı. İzole edilen gDNA'ların konsantrasyonları NanoDrop (ThermoScientific, ABD) cihazında 260nm ve 280nm dalga boyunda ölçüldü ve 260/280 oranı 1,8-2 arasında olan örnekler çalışmaya dâhil edildi. POGZ geninin mRNA'ya kodlanan bölgelerini en az 50 baz çift içeriden kapsayan derin intronik primerler NCBI primer blast programı kullanılarak tasarlandı (Tablo 1). Primer tasarımı veri tabanlarında en uzun transkript olan NM\_015100,4 dizisine uygun olarak yapıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu ile üretilen ampikonlar NGS ile dizilendi. Elde edilen veriler. Binary Alignment Map (BAM) BAM Index (BAI) formatında analiz için korunaklı dijital ortamda saklandı. Veriler Integrative Genomics Viewer (IGV) 2.3.91 programı ile değerlendirildi ve varyantların patojenitesinin belirlenmesi American College of Medical Genetics 2015 (ACMG 2015) kriterlerine göre yapıldı.

### İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin gruplar arası istatistiksel karşılaştırması IBM Sosyal Bilimlerde İstatistik Paket (SPSS) sürüm 22 programıyla ki-kare testi kullanılarak yapıldı. P değeri 0,05'ten küçük olduğunda sonuçlar anlamlı kabul edildi.

**Tablo 1.** POGZ Eksonları için tasarlanan primerler ve yapışma sıcaklıkları

| Ekson (lar) | Primer   | Yapışma Sıcaklığı              |
|-------------|----------|--------------------------------|
| 2           | Primer F | TTGGAAATGGAGGAAGGCTAGAGGATATG  |
|             | Primer R | GGATGAGGAAAAGTGGGTTTTACAGAC    |
| 3           | Primer F | TAGGAGGAGAAAATCACATGAACAGTTGG  |
|             | Primer R | GAAACACCAGTACCGAGTCAGCA        |
| 4           | Primer F | GGTCACTAAATCATGAGAGTCAGGGTG    |
|             | Primer R | GTCATCTTCTTGCTCCCAAAGGTC       |
| 5           | Primer F | CCCCACCCCACTTCTGTTCATTTA       |
|             | Primer R | TGTCTCTGGCTCAACTGTAGACAATTC    |
| 6,7         | Primer F | GCTGCCCAGGTTATTTGTCAACAT       |
|             | Primer R | CTCAACCTGAAGATCTCTACCAATCC     |
| 8           | Primer F | TGGTAGCTGGGCTGGATTGATCTGT      |
|             | Primer R | CATTTTAGAGCCCTGCTTACAAGCTTCC   |
| 9,10        | Primer F | ACCTAAGACAGGCAGGAGGGAGAAAT     |
|             | Primer R | CGCCCTAACAAATTCAGGATCTAACACT   |
| 11,12       | Primer F | TGGTAAGACAGGAGGATGCTGAATTAGG   |
|             | Primer R | AGCCTTACTAGGCACCCAGAATAGC      |
| 13,14,15    | Primer F | CAAGTCAGGAAAGGATGATTTGAGAACTT  |
|             | Primer R | TACTTGAATAGCAAGGCCCTATGAAATTAG |
| 16,17       | Primer F | GTATTAGTGGGAGCTTGTAGAAATGCTG   |
|             | Primer R | TCAACAGTGAATGAGTGAGGCCAAGTAG   |
| 18,19       | Primer F | GTTGAGATGTGCTGGACCTAATTAGAAACC |
|             | Primer R | AGCTCCTGGCTCAGACGTGATTACTATT   |

POGZ; Pogo transposable element ile ZNF alan proteini.

**Tablo 2.** POGZ geninde tanımlanan varyantların sağlıklı kontrol ve OSB gruplarındaki dağılımı

| POGZ geni varyantlar | Sağlıklı kontrol n/N (%) | OSB n/N (%)  | p      | OR (%95 GA)       |
|----------------------|--------------------------|--------------|--------|-------------------|
| rs113396244          | 45/48 (93,8)             | 50/51 (98)   | 0,279  | 3,33 (0,33-33,2)  |
| rs11204811           | 47/50 (94)               | 44/51 (86,3) | 0,194  | 0,4 (0,09-1,64)   |
| rs779479223          | 2/50 (4)                 | 0/51         | 0,149  | 0,96 (0,9-1,01)   |
| rs772352054          | 46/50 (92)               | 45/51 (88,2) | 0,527  | 0,65 (0,17-2,46)  |
| rs3831142            | 28/50 (56)               | 48/51 (94,1) | 0,0001 | 12,5 (3,45-45,81) |
| rs112072925          | 24/50 (48)               | 47/51 (92,2) | 0,0001 | 12,73 (3,98-40,6) |
| rs2274535            | 0/50                     | 8/51 (15,7)  | 0,004  | 1,186 (1,05-1,33) |
| rs142860188          | 0/50                     | 5/51 (9,8)   | 0,023  | 1,10 (1,01-1,21)  |

POGZ; Pogo transposable element ile ZNF alan protein, OSB; Otizm Spektrum Bozukluğu.

## BULGULAR

Vakalarımızın 31'i ağır düzeyde otistik, altısı hafif düzeyde otistik bulunmuştur. Kırk altı vakada mental retardasyon eşanısı belirlenmiş olup, üç vaka ağır mental retardasyon, 33 vaka orta mental retardasyon, 10 vaka hafif mental retardasyon eş tanıları almıştır. Beş vakada zekâ düzeyi normal sınırlarda bulunmuştur. OSB tanısı alan 51 vakanın 37'si (%72,5) erkek, 14'ü (%27,5) kız çocuğu; sağlıklı kontrol grubunun 20'si (%40) erkek, 30'u (%60) kız çocuğu.

Yapılan biyoinformatik analiz sonucunda, vaka grubunda açık erişimli veritabanlarında (ClinVar, HGMD, vb.) bildirilmiş olan patojenik ve/veya muhtemel patojenik varyant saptanmadı. Elli bir vaka ve 50 sağlıklı kontrolden oluşan çalışma grubunda, rs113396244, rs11204811, rs779479223, rs772352054, rs3831142, rs112072925, rs227453 ve rs142860188 TNP ve indel varyantları belirlendi. Saptanan TNP ve indel varyasyonlarının çalışma gruplarındaki dağılımlarında (Tablo

2), rs113396244 TNP'nin yer aldığı intronik bölge, iki sağlıklı bireyde istenilen derinlikte dizilenemediği için istatistiklere dâhil edilmemiştir. Bu nedenle rs113396244 TNP'sinin dağılımı 48 sağlıklı ve 51 OSB vakasında karşılaştırıldı. rs3831142, rs112072925, rs2274535, rs142860188 varyantları OSB grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu varyantlara ait genotipik dağılımlar Tablo 3'de verilmiştir. Saptanan TNP ve indel varyantların dağılımında cinsiyetler arasında fark bulunmamaktadır.

## TARTIŞMA

OSB yüksek oranda kalıtsaldır ve OSB'nin tanı sürecinde klinik bulguların kullanılması ve bu bulguların derecesinin vakalar arasında farklılık göstermesi nedeniyle bozukluğun genetik temelini aydınlatılması, erken tanıyı mümkün kılması ve tedavi seçeneklerini değiştirebilecek parametreleri ortaya koyması açısından önemlidir. OSB ile ilişkili yüzlerce farklı gende varyantlar bildirilmiştir. Bu varyantlar tek baz çiftinin

**Tablo 3.** OSB Grubunda anlamlı farklılıkla belirlenen varyantların genotipik dağılımı

| POGZ geni varyantlar ve genotipler | Sağlıklı kontrol n/N (%) | OSB n/N (%)  | p      | OR (%95GA)        |
|------------------------------------|--------------------------|--------------|--------|-------------------|
| rs3831142                          |                          |              |        |                   |
| AA                                 | 22 (44)                  | 3 (5,9)      | 0,0001 | 12,5 (3,45–45,81) |
| A/-                                | 27 (54)                  | 20 (39,2)    |        |                   |
| -/-                                | 1 (2)                    | 28 (54,9)    |        |                   |
| Toplam                             | 28/50 (56)               | 48/51 (94,1) |        |                   |
| rs112072925                        |                          |              |        |                   |
| AA                                 | 26 (52)                  | 4 (7,9)      | 0,0001 | 12,73 (3,98–40,6) |
| A/-                                | 24 (48)                  | 12 (23,5)    |        |                   |
| -/-                                | 0                        | 35 (68,6)    |        |                   |
| Toplam                             | 24/50 (48)               | 47/51 (92,2) |        |                   |
| rs2274535                          |                          |              |        |                   |
| GG                                 | 50                       | 43 (84,3)    | 0,004  | 1,186 (1,05–1,33) |
| GA                                 | 0                        | 5 (9,8)      |        |                   |
| AA                                 | 0                        | 3 (5,9)      |        |                   |
| Toplam                             | 0/50                     | 8/51 (15,7)  |        |                   |
| rs142860188                        |                          |              |        |                   |
| AA                                 | 50                       | 46 (90,2)    | 0,023  | 1,10 (1,01–1,21)  |
| AC                                 | 0                        | 3 (5,9)      |        |                   |
| CC                                 | 0                        | 2 (3,9)      |        |                   |
| Toplam                             | 0/50                     | 5/51 (9,8)   |        |                   |

POGZ; Pogo transposable element ile ZNF alan protein, OSB; Otizm Spektrum Bozukluğu.

değişikliklerinden (SNV'ler), mikrodelsiyon veya mikroduplicasyonlara (kopya numarası varyantları (CNV'ler) kadar geniş bir mutasyon spektrumunu kapsar (33).

POGZ, geniş vaka gruplarını tarayan tüm ekzom dizileme çalışmalarında yüksek güvenilirlik sergileyen OSB risk genlerinden biri olarak sınıflandırılmıştır (14,16,17,21). HGMD Professional 2023.2 veri tabanında POGZ ilişkili 173 mutasyon bildirilmiş olup, bunların 163'ü kodlayan bölgede, 10'u kodlamayan (non-coding) bölgede yer almaktadır. Yüz yetmiş üç mutasyonun 89'u missense-nonsense, 8'i splicing, 46'sı küçük (small) delesyon, 23'ü küçük (small) insersiyon/duplikasyon olarak rapor edilmiştir (<http://www.hgmd.org>). Literatürde lossifov ve ark.nın, OSB tanılı vakaların sağlıklı kardeşleriyle karşılaştırıldığı iki ayrı aile çalışmasında POGZ, OSB için aday genlerden birisi olarak bildirilmiştir (13,16).

DNA'nın POGZ gibi kromatin düzenleyiciler aracılığı ile paketlemesi, bir hücrenin transkripsiyonel potansiyelini belirleyen dinamik bir süreçtir. Kromatin düzenleyici genlerdeki işlevi bozabilecek genetik varyantların, OSB ve gelişimsel gecikme dâhil olmak üzere nörogelişimsel bozukluklarla bağlantılı olduğu bildirilmiştir. POGZ'nin DNA bağlama alanındaki OSB ile ilişkili varyantlarının POGZ-DNA bağlama dinamiğini bozduğu gösterilmiştir (27). POGZ homozigot silinmesi, farelerde embriyonik olarak öldürücüdür; heterozigot ve koşullu nakavt farelerde ise, kortikal nöron gelişimi, sosyal ve kaygıyla ilişkili kaçınma davranışları sergiledikleri bildirilmiştir (14,15,21,34). Literatürde bildirilmiş olan OSB- POGZ ilişkili verileri dikkate alarak çalışmamızda, POGZ'nin ekzonik, ekzon-intron (splicing) ve derin intronik bölgelerindeki olası varyantları saptayabilmek amacıyla derin intronik primerler tasarlayarak NGS yöntemi ile vaka ve kontrol grubunda POGZ analiz edildi. Yapılan biyoinformatik analiz sonucunda rs113396244, rs11204811, rs779479223, rs772352054, rs3831142, rs112072925, rs227453 ve rs142860188 TNP ve indel varyantları saptandı.

Stessman ve ark.nın (17) entelektüel yetersizlik ve OSB tanılı vakalarda POGZ ilişkili varyantları araştırdıkları çalışmalarında mutasyon saptanan vakaların klinik tanıların ID/DD olduğu, OSB'nin bu vakalarda eş tanı olduğu görülmektedir. White ve ark. (35) çalışmalarında POGZ ilişkili trunkasyon mutasyonlarının sendromik entelektüel yetersizliğe neden olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda POGZ'de patojenik (P), muhtemel patojenik (LP) ve klinik önemi belirsiz (VUS) varyant saptamadık. Bu sonucun, vaka grubumuza DSM-V kriterlerine göre sadece OSB tanısı

almış olan, ID/DD ve/veya sendromik OSB tanılı vakaların dâhil edilmemiş olması ile ilişkili olabileceği öngörülmüştür.

OSB grubunda istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olan rs3831142, rs112072925, rs2274535, rs142860188 varyantları proteinin HPZ ve DDE domainlerini kapsayan bölgeler içinde yer almaktadır. Literatürde rs3831142 ve rs142860188 varyantları ile entellektüel yetersizlik-mikrorefali-strabismus (şaşıklık)-davranışsal anomali sendromu arasında fenotip-genotip ilişkisi araştırılmış ancak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (36,37). Diğer varyantların (rs112072925 ve rs2274535) neden olabileceği biyolojik etkiler ve/veya diğer hastalıklardaki sıklığına dair veriye rastlanmamıştır. Özellikle DDE domaininin fetal beyin gelişimi ve nörogenezde rol oynadığı düşünüldüğünde bu dört varyant OSB'da modifiye edici ve/veya yatkınlık oluşturuca etkilere sahip olabilir (23).

Zhao ve ark. (24) POGZ'nin nadir missense varyantlarını 2926 OSB tanılı vakada araştırdıkları çalışmalarında; ekzonik, kalıtılan, de novo olmayan 66 patojenik varyant bildirmişlerdir. Çalışmamızda POGZ'de OSB ilişkili patojenik varyant saptanmamış olmasının bir diğer nedeninin de örneklem hacminin küçük olması ile ilişkili olabileceği kanısındayız. Bu nedenle popülasyonumuzda örneklem büyüklüğünün artırılarak ileri çalışmalar yapılması durumunda POGZ ilişkili P, LP varyantlar saptanabilir.

Yalçın-tepe ve ark.'nın OSB tanısı alan Türk çocuk ve ergenlerde yapmış oldukları çalışmalarında, literatürde OSB ile anlamlı bir ilişki bildirilen *FOX2P*, *GRIN2B*, *KATNAL2* ve *GABRA4* genlerini 96 vakada araştırmışlar ve 50 vakada klinik önemi bilinmeyen farklı intronik varyantlar bildirmişlerdir (38).

Görker ve ark.'nın 53 OSB tanılı vakada genomdaki CNV'leri araştırdıkları çalışmalarında, iki patojenik ve yedi belirsiz öneme sahip varyant (VUS) saptadıklarını rapor etmişlerdir (39).

Çalışma sonuçlarımızın POGZ için literatürde bildirilmiş olan diğer çalışma sonuçlarından farklı olmasının temel nedeninin, vaka grubumuzun sendromik olmayan OSB vakalarından oluşması ile ilgili olabilir. Popülasyonlar arasındaki etnik farklılıkların, vakaların çalışmalara dâhil edilme kriterlerinin ve kullanılan moleküler genetik analiz yöntemlerinin farklı olması da kısıtlayıcı diğer nedenler olabilir. Çalışmamızda OSB grubunda istatistiksel olarak anlamlı saptanan rs3831142, rs112072925,

rs2274535 ve rs142860188 varyantlarının fenotipe etkisi fonksiyonel çalışmalar ile araştırılmaktadır.

**Etik Komite Onayı:** Araştırmanın etik onayı Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2016-185 onay numarasıyla alındı.

**Hasta Onamı:** Araştırmaya katılan tüm vakaların bilgilendirilmiş onam formları ebeveynleri tarafından imzalandı.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- JT, GY, SD, OP, IG, HG; Tasarım- JT, GY, SD, OP, IG, HG; Denetleme- JT, GY, SD, OP, IG, HG; Kaynaklar- JT, GY; Malzemeler- JT, GY, SD, IG, HG; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- JT, GY, SD, OP, IG, HG; Analiz ve/veya Yorum- JT, GY, SD, OP, IG, HG; Literatür Taraması- JT, GY, SD, OP, HG; Yazıyı Yazan- JT, GY, SD, OP, IG, HG; Eleştirel İnceleme- JT, GY, SD, OP, IG, HG.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu tarafından TÜBAP-2016/251 proje numarasıyla desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Lord C, Elsabbagh M, Baird G, Veenstra-Vanderweele J. Autism spectrum disorder. *Lancet*. 2018;392(10146):508-520. [Crossref]
- Emre O, Eshraghi RS, Danesh A, Mittal R, Eshraghi AA. Central auditory processing disorders in individuals with autism spectrum disorders. *Balkan Med J*. 2018;35(5):367-372. [Crossref]
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine; Institute of Medicine; Board on the Health of Select Populations; Board on Children, Youth, and Families; Committee to Evaluate the Supplemental Security Income Disability Program for Children with Mental Disorders; Boat TF and Wu JT, editors. *Mental Disorders and Disabilities Among Low-Income Children*. Washington, DC: The National Academies Press; 2015. [Crossref]
- Hyman, S. L., Levy, S. E., Myers, S. M. Council On Children With Disabilities, Section On Developmental And Behavioral Pediatrics. Identification, Evaluation, and Management of Children With Autism Spectrum Disorder. *Pediatrics* 2020;145:1. [Crossref]
- 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. [Crossref]
- Genovese A, Butler MG. Clinical assessment, genetics, and treatment approaches in autism spectrum disorder (ASD). *Int J Mol Sci*. 2020;21(13):4726. [Crossref]
- Manoli DS, State MW. Autism spectrum disorder genetics and the search for pathological mechanisms. *Am J Psychiatry*. 2021;178(1):30-38. [Crossref]
- Du X, Gao X, Liu X, Shen L, Wang K, Fan Y, et al. Genetic diagnostic evaluation of trio-based whole exome sequencing among children with diagnosed or suspected autism spectrum disorder. *Front Genet*. 2018;9:594. [Crossref]
- Kumar S, Reynolds K, Ji Y, Gu R, Rai S, Zhou CJ. Impaired neurodevelopmental pathways in autism spectrum disorder: a review of signaling mechanisms and crosstalk. *J Neurodev Disord*. 2019;11(1):10. [Crossref]
- Murtaza N, Cheng AA, Brown CO, Meka DP, Hong S, Uy JA, et al. Neuron-specific protein network mapping of autism risk genes identifies shared biological mechanisms and disease-relevant pathologies. *Cell Rep*. 2022;41(8):111678. [Crossref]
- Lasser M, Sun N, Xu Y, Wang S, Drake S, Law K, et al. Pleiotropy of autism-associated chromatin regulators. *Development*. 2023;150(14). [Crossref]
- Neale BM, Kou Y, Liu L, Ma'ayan A, Samocha KE, Sabo A, et al. Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature*. 2012;485(7397):242-245. [Crossref]
- Iossifov I, Ronemus M, Levy D, Wang Z, Hakker I, Rosenbaum J, et al. De novo gene disruptions in children on the autistic spectrum. *Neuron*. 2012;74(2):285-299. [Crossref]
- Sanders SJ, He X, Willsey AJ, Ercan-Sencicek AG, Samocha KE, Cicek AE, et al. Insights into autism spectrum disorder genomic architecture and biology from 71 risk loci. *Neuron*. 2015;87(6):1215-1233. [Crossref]
- De Rubeis S, He X, Goldberg AP, Poulitney CS, Samocha K, Cicek AE, et al. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*. 2014;515(7526):209-215. [Crossref]
- 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]
- Stessman HAF, Willemsen MH, Fenckova M, Penn O, Hoischen A, Xiong B, et al. Disruption of POGZ is associated with intellectual disability and autism spectrum disorders. *Am J Hum Genet*. 2016;98(3):541-552. [Crossref]
- Bruno LP, Daddato G, Valentino F, Baldassarri M, Tita R, Fallerini C, et al. New candidates for autism/intellectual disability identified by whole-exome sequencing. *Int J Mol Sci*. 2021;22(24). [Crossref]
- Nagy D, Verheyen S, Wigby KM, Borovikov A, Sharkov A, Slegesky V, et al. Genotype-phenotype comparison in POGZ-related neurodevelopmental disorders by using clinical scoring. *Genes (Basel)*. 2022;13(1):154. [Crossref]
- Balakrishna T, Curtis D. Assessment of potential clinical role for exome sequencing in schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2020;46(2):328-335. [Crossref]
- Deciphering Developmental Disorders S. Large-scale discovery of novel genetic causes of developmental disorders. *Nature*. 2015;519(7542):223-228. [Crossref]
- Nozawa RS, Nagao K, Masuda HT, Iwasaki O, Hirota T, Nozaki N, et al. Human POGZ modulates dissociation of HP1alpha from mitotic chromosome arms through Aurora B activation. *Nat Cell Biol*. 2010;12(7):719-727. [Crossref]
- Bartholomeeusen K, Christ F, Hendrix J, Rain JC, Emiliani S, Benarous R, et al. Lens epithelium-derived growth factor/p75 interacts with the transposase-derived DDE domain of PogZ. *J Biol Chem*. 2009;284(17):11467-11477. [Crossref]
- Zhao W, Tan J, Zhu T, Ou J, Li Y, Shen L, et al. Rare inherited missense variants of POGZ associate with autism risk and disrupt neuronal development. *J Genet Genomics*. 2019;46(5):247-257. [Crossref]
- Suliman-Lavie R, Title B, Cohen Y, Hamada N, Tal M, Tal N, et al. Pogz deficiency leads to transcription dysregulation and impaired cerebellar activity underlying autism-like behavior in mice. *Nat Commun*. 2020;11(1):5836. [Crossref]
- Matsumura K, Nakazawa T, Nagayasu K, Gotoda-Nishimura N, Kasai A, Hayata-Takano A, et al. De novo POGZ mutations in sporadic autism disrupt the DNA-binding activity of POGZ. *J Mol Psychiatry*. 2016;4:1. [Crossref]
- Matsumura K, Seiriki K, Okada S, Nagase M, Ayabe S, Yamada I, et al. Pathogenic POGZ mutation causes impaired cortical development and reversible autism-like phenotypes. *Nat Commun*. 2020;11(1):859. [Crossref]
- Robins DL, Fein D, Barton ML, Green JA. The modified checklist for autism in toddlers: an initial study investigating the early detection of autism and pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord*. 2001;31:131-144. [Crossref]
- Yıkgeç A. A validity study of the modified checklist for autism in toddlers (M-CHAT) on a Turkish sample. *Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi*. İstanbul: Boğaziçi Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü; 2005.
- Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Toward objective classification of childhood autism: childhood autism rating scale (CARS). *J Autism Dev Disord*. 1980;10(1):91-103. [Crossref]
- Sucuoğlu B, Öktem F, Akkık F, Gökler B. Otistik çocukların değerlendirilmesinde kullanılan ölçeklere ilişkin bir çalışma. *3P Psikiyatri Psikoloji Psikofarmakoloji Dergisi* 1996;4(2):116-121
- General Assembly of the World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *J Am Coll Dent*. 2014;81(3):14-8.
- Vorstman JAS, Parr JR, Moreno-De-Luca D, Anney RJL, Nurnberger JI Jr, Hallmayer JF. Autism genetics: opportunities and challenges for clinical translation. *Nat Rev Genet*. 2017;18(6):362-376. [Crossref]
- Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, De Rubeis S, An J-Y, et al. Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism. *Cell*. 2020;180(3):568-584. e23. [Crossref]
- White J, Beck CR, Harel T, Posey JE, Jhangiani SN, Tang S, et al. POGZ truncating alleles cause syndromic intellectual disability. *Genome Med*. 2016;8(1):3. [Crossref]
- ClinVar. Genomic variation as it relates to human health 25/04/2022. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/1327429/?oq=\(\(1317941\[AlleleID\]\)\)&m=NM\\_015100.4\(POGZ\):c.1927-17del](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/1327429/?oq=((1317941[AlleleID]))&m=NM_015100.4(POGZ):c.1927-17del)
- National Library of Medicine MedGen. Intellectual disability-microcephaly-strabismus-behavioral abnormalities syndrome (MRD37; WHSUS): Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/medgen/C4225351/>
- Yalcintepe S, Görker I, Demir S, Atlı E, Engin A, Tozkır H, et al. Investigation the relationship of autism spectrum disorder and FOXP2, GRIN2B, KATNAL2, GABRA4 genes. *Noro Psikiyatr Ars*. 2021;58(3):171-175. [Crossref]
- Görker I, Gürkan H, Ulusal S, Atlı E, Ayaz G, Ceylan C, et al. Investigation of copy number variation by array CGH in Turkish children and adolescents diagnosed with autism spectrum disorders. *Arch Neuropsychiatry* 2018;55:215-219.