

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Makale No: 79

Bipolar Bozukluğu Olan ve Olmayan Otistik Çocuklarda Serum miRNA Düzeylerinin İncelenmesi: Vaka-Kontrol Çalışması**Investigating Serum miRNA Levels in Autistic Children with and without Bipolar Disorder: A Case-Control Study**Hüsna KAAAN¹, Ali KARAYAĞMURLU², Canan KÜÇÜKGERGİN³, İlknur BİNGÜL³, Nusret SOYLU²¹Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Giriş ve Amaç: Otizm spektrum bozukluğuna (OSB) eşlik eden bipolar bozukluk (BB), sosyal ve bilişsel işlev bozukluklarını ağırlaştırmakta, tanı ve tedavi süreçlerini karmaşılaştırılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, BB eş tanımlı OSB'li çocuklar ile BB eş tanımlı olmayan OSB'li çocuklar arasında belirli miRNA'ların serum düzeylerini karşılaştırmak ve bu miRNA düzeylerindeki farklılıkların OSB'de BB eş tanısı ile ilişkisini incelemektir.

Yöntem: Çalışmaya OSB ve BB tanısı olan 41 hasta (OSB+BB grubu) ile yalnızca OSB tanısı bulunan 47 hasta (BB olmayan OSB grubu) dâhil edilmiştir. Serum miRNA düzeyleri, kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) yöntemi ile ölçülmüş; miR-132-5p, miR-134-5p, miR-206 ve miR-126-5p düzeyleri analiz edilmiştir.

Bulgular: OSB+BB grubunda OSB şiddeti, BB olmayan OSB grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. OSB+BB grubunda

miR-134-5p, miR-206 ve miR-126-5p düzeyleri, BB olmayan OSB grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (sırasıyla $p=0,038$, $p=0,023$ ve $p=0,026$). Ancak miR-132-5p düzeyleri gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemiştir ($p=0,105$). Ayrıca, OSB+BB grubunda miR-134-5p düzeyleri ile manik atak sıklığı arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir ($p=0,007$).

Sonuç: Çalışma bulguları, miRNA'ların OSB'li çocuklarda eşlik eden BB'nin patofizyolojisinde rol oynayabileceğini ve erken tanı ve müdahaleye katkı sağlayabilecek aday biyobelirteçler olabileceğini göstermektedir. Bu sonuçların doğrulanması ve altta yatan mekanizmaların aydınlatılması amacıyla ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Otizm spektrum bozukluğu, bipolar bozukluk, miRNA, BDNF, VEGF.

ABSTRACT

Introduction: The presence of bipolar disorder (BD) in individuals with ASD exacerbates social and cognitive impairments, complicates diagnosis and treatment. The aim of this study was to compare the serum levels of specific miRNAs between children with ASD with and without BD, and to explore their association with BD comorbidity in ASD.

Method: A group of 41 pediatric patients with comorbid ASD + BD and a group of 47 pediatric patients with ASD without BD were included in the study. Serum miRNA levels were measured using quantitative real-time polymerase chain reactions, focusing specifically on miRNAs such as miR-132-5p, miR-134-5p, miR-206, and miR-126-5p.

Results: The ASD + BD group exhibited significantly greater ASD severity than the ASD without BD group. Serum levels of miR-134-5p, miR-206,

and miR-126-5p were all higher in the ASD + BD group than in the ASD without BD group ($p=0.038$, $p=0.023$, and $p=0.026$, respectively), while miR-132-5p levels were not significantly different ($p=0.105$). Furthermore, miR-134-5p levels were correlated with the frequency of manic episodes in the ASD + BD group ($p=0.007$).

Conclusion: The study findings suggest that miRNAs may be involved in the pathophysiology of comorbid BD in children with ASD and may potentially represent candidate biomarkers for early diagnosis and intervention, thus contributing to improved clinical outcomes in this population. Further research is now needed to validate these findings and to understand the underlying mechanisms.

Keywords: Autism, bipolar disorders, miRNA, BDNF, VEGF.

Cite this article as: Kaan H, Karayağmurlu A, Küçükgergin C, Bingül İ, Söylü N. Investigating Serum miRNA Levels in Autistic Children with and without Bipolar Disorder: A Case-Control Study. Arch Neuropsychiatry 2026;63:502-509. doi: 10.29399/npa.29202

GİRİŞ

Bipolar bozukluk (BB), otizm spektrum bozukluğu (OSB) olan çocuk ve ergenlerde tanınal değerlendirilmeyi, klinik seyri ve tedavi planlamasını karmaşılaştırabilen önemli bir psikiyatrik komorbiditedir (1). OSB'li çocuklarda komorbid bipolar bozukluk prevalansının, son çalışmalarda %5-7 aralığında olduğu tahmin edilmektedir (1-3). Nörotipik pediatrik popülasyonda ise BB prevalansının %1,8-3,8 olarak tahmin edilmekte ve BB'nin OSB olan hastalarda genel popülasyona göre daha yaygın

olduğu düşünülmektedir (4). Spesifik genetik faktörler az sayıda vakada tanımlanmış olsa da genetik kalıtım her iki bozuklukta da önemli bir rol oynamaktadır (5,6). Epigenetik, bu gen varyantlarının birikiminin belirli çevresel uyaranlarla birleşerek bozukluğun ortaya çıkmasına yol açabilecek potansiyel bir mekanizma olarak son zamanlarda gündeme gelmiştir (7). MikroRNA'lar (miRNA'lar), psikiyatrik bozukluklardaki epigenetik mekanizmalardan biri olarak araştırılmaktadır.

Öne Çıkan Noktalar

- OSB+BB grubunda serum miR-126-5p, miR-134-5p ve miR-206 düzeyleri yüksektir.
- miR-134-5p, manik atak sayısı ile ilişkili olup BB şiddetiyle bağlantılıdır.
- OSB ve BB birlikteliği, daha ağır OSB semptomları ile ilişkilidir.

miRNA'lar; proliferasyon, farklılaşma, büyüme kontrolü, homeostaz ve apoptoz gibi çeşitli hücrel süreçlerde yer alan, yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğundaki kısa, kodlamayan RNA'lardır (8). Araştırmalar, periferik kandaki belirli miRNA'ların, beyin omurilik sıvısındaki (BOS) miRNA seviyeleri ile korelasyon gösterdiğini ortaya çıkarmış ve periferik miRNA'ların merkezi sinir sistemi (MSS) süreçleri hakkında değerli bilgiler sağlayabileceğini belirtmiştir (9). Bu ilişki, miRNA'ların periferik ve merkezi sistemler arasında dinamik bir iletişim sağlayarak kan-beyin bariyerini geçme yeteneğiyle açıklanabilir. Bu korelasyonlar, periferik miRNA'ların MSS içinde meydana gelen moleküler değişikliklere açılan bir pencere işlevi görebileceğini ve hem hastalık mekanizmaları hem de hastalığın ilerleyiş hakkında içgörü sağlayabileceğini düşündürmektedir. Girişimsel bir süreç olan BOS'tan doğrudan örnek almanın zorlukları göz önüne alındığında, bu ilişki kritik bir öneme sahiptir. Bu perspektifle, periferik miRNA çalışmaları psikiyatrik bozukluklarda giderek artan bir ilgi görmektedir.

Bipolar bozuklukta (BB) hem postmortem beyin dokusunda hem de periferik kanda değişen miRNA ekspresyonları bildirilmiş olup, bu durum miRNA disregülasyonunun hastalık mekanizmalarıyla ilgili olabileceğini ve biyobelirteç araştırmalarında kullanılabileceğini düşündürmektedir (10). Genetik çalışmalar ayrıca, miRNA ilişkili bazı genlerin BB duyarlılık lokusları içinde yer aldığını göstermiştir (11). Çok sayıda miRNA araştırılmış olsa da nispeten az sayıda miRNA –en dikkat çekici olanları miR-34a ve miR-137– bağımsız çalışmalarda tutarlı bir şekilde tekrarlanabilirlik göstermiştir. Ayrıca, lityum ve valproat gibi duygu durum düzenleyici tedavilerin miRNA profillerini modüle ettiği ve bazı değişikliklerin klinik iyileşme ile paralellik gösterdiği bildirilmiştir (12). OSB'de ise kanıt tabanı BB'ye kıyasla nispeten daha zayıftır. Yakın zamanda yapılan bir derleme, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında OSB'de birkaç miRNA'da (örneğin miR-28, miR-151, miR-148 ve miR-125) önemli değişiklikler olduğunu vurgulamıştır (13). Deneyel veriler ayrıca miRNA'lar ve OSB ile ilgili yollar arasındaki bağlantılara işaret etmektedir: hayvan modellerinde miR-132'nin baskılanması, artmış MECP2 ekspresyonu ve tekrarlayıcı davranışlarla ilişkilendirilmiş; miR-137'nin inhibisyonu ise artmış SHANK2 ekspresyonu ile bağlantılı bulunmuştur (14,15). Psikiyatrik bozukluklarda miRNA'ların rolünün daha fazla araştırılması, psikiyatrik bozukluklardaki biyolojik korelasyonlar ve tedaviyle ilişkili değişiklikler hakkındaki anlayışımızı geliştirebilir (11).

Bipolar bozukluk ve OSB arasında bir dizi genetik bağlantı olduğu ve bu iki durumun genel nüfusa kıyasla daha yüksek oranlarda birlikte görüldüğü bilinmesine rağmen, OSB'li bireylerde BB komorbiditesinin altında yatan biyolojik mekanizmaları inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır (16,17). Literatürde OSB ve BB olan hastalarda ayrı ayrı miRNA çalışmaları olmakla birlikte OSB ve BB komorbiditesi olan hastalarda miRNA profilleri ile ilgili az sayıda bilgi mevcuttur (11,13). Bu çalışma, OSB ve BB komorbiditesi olan çocuklarla BB olmayan OSB'li çocuklar arasında belirli serum miRNA'ların düzeylerini karşılaştırmayı ve belirlenen miRNA seviyelerin BB'nin klinik belirtileriyle olan ilişkisini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

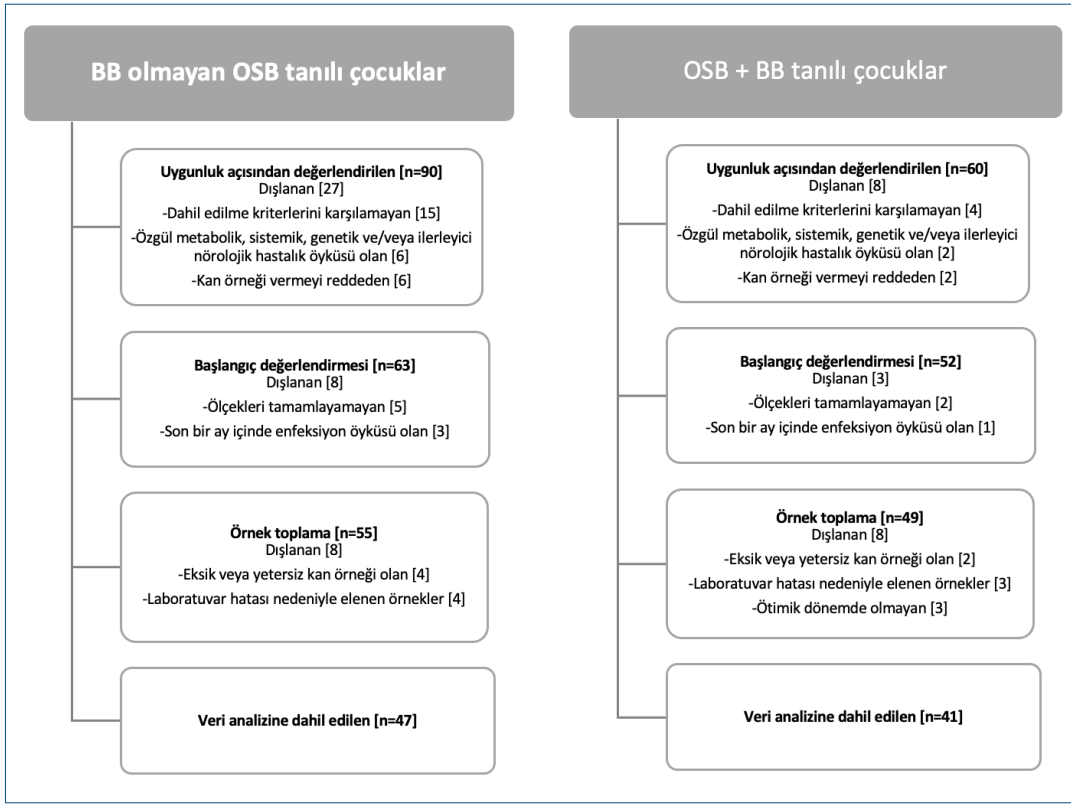
Bipolar bozukluk olan OSB hastalarda, BB olmayanlara kıyasla beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) düzeylerinin azaldığı ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (16,17). Deneyel ve klinik veriler, nörotrofinlerin hücre içi sinyal molekülleri aracılığıyla miRNA ekspresyonunu modüle edebildiğini ve miRNA'ların nörotrofik faktörler aracılığıyla düzenlenebileceğini göstermektedir (18). Bu çalışmada, VEGF ve BDNF ile ilişkili miRNA'ları seçilerek daha önce tanımlanmış bu parametrelerin bir adım daha ileri götürülmesi planlanmıştır. Bu amaçla, PubMed'de "mikro-RNA", "Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör" ve "Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü" terimleri ile bunların yaygın kısaltmaları kullanılarak bir literatür taraması yapılmıştır. miR 132'nin yetişkin nöral kök hücre nörojenez ve sinaptik plastisite ile ilişkilendirilmiş olduğu ve CREB döngüsü ve MAPK/ERK1/2 aktivasyonu üzerinden BDNF düzeylerini artırabileceği bildirilmiştir (18). miR-134'ün dendritik diken olgunlaşması ve sinaptik gelişimde görevli olduğu, BDNF gen ekspresyonunu negatif olarak düzenleyebileceği, bununla birlikte BDNF'ye maruz kalmanın miR-134'ün Limk1 üzerindeki inhibe edici etkisini azaltabileceği bildirilmektedir (19). miR-206'nın BDNF ekspresyonunu baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca, geniş çaplı bir klinik çalışmada, miR-206 ile BB duyarlılığı ve tedaviye yanıtla ilişkili BDNF polimorfizmleri arasında bir etkileşim olduğu bildirilmiştir (20). Vasküler endotelial büyüme faktörü ile ilişkili olarak nörovasküler mekanizmalarla defalarca ilişkilendirilen bir endotel miRNA olan miR-126-5p seçilmiştir (21). Bu çalışmanın amacı, BB olan ve olmayan OSB tanılı çocuklarda spesifik miRNA'ların serum düzeylerini karşılaştırmak ve bunların OSB'de BB komorbiditesi ile ilişkisini araştırmaktır. Çalışmanın hipotezi, OSB ve BB olan çocuklarda serum miRNA düzeylerinin, BB olmayan OSB tanılı çocuklara kıyasla daha yüksek olacağı yönündedir.

YÖNTEM

Bu çalışma, Kasım 2023 ile Nisan 2024 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğinde yapılmıştır. Katılımcılar, poliklinikte düzenli takip altında olan hastalar arasında gönüllü katılım yoluyla seçilmiştir. Tüm katılımcılara ve ebeveynlerine çalışma hakkında bilgi verilmiştir. Ebeveynlerden yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Çalışma iki grup olarak tasarlanmıştır: OSB ve BB komorbiditesi olan pediatrik hastalardan oluşan 'OSB + BB' grubu ve BB komorbiditesi olmayan OSB hastalarından oluşan 'OSB (BB-)' grubu. Serum miRNA düzeylerini etkileyebileceği düşünüldüğünden her iki grup için de aşağıdaki dışlama kriterleri uygulanmıştır: metabolik, genetik ve/veya ilerleyici nörolojik hastalıkların varlığı, son bir ay içerisinde geçirilmiş enfeksiyon öyküsü veya besin takviyesi kullanımı öyküsü. Ayrıca OSB + BB grubu için kan alımı sırasında ötimik olmayan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır. Ötimik durum, K-SADS-PL'nin (Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi) duygudurum modülleri ve çocuk ve ergen psikiyatristleri tarafından yapılan klinik değerlendirme kullanılarak belirlenmiştir. Kan örnekleri, son manik/hipomanik veya depresif epizottan en az bir ay sonra alınmıştır.

Bipolar bozukluğu olan hastalar ve sağlıklı kontrollerde serum miR-134-5p ekspresyonunu değerlendiren Tekdemir ve ark.'nın çalışması, örneklem büyüklüğü tahmini için birincil ampirik veri kaynağı olarak kullanılmıştır. Özellikle, bu çalışmada bildirilen serum miR-134-5p değerleri, mevcut çalışmada beklenen grup farklılıklarının büyüklüğü ve yönü hakkında bilgi sağlamak amacıyla kullanılmıştır (23). Güç analizi, G*Power versiyon 3.1 kullanılarak, iki kuyruklu Mann-Whitney U testi için; $\alpha=0,05$, güç $(1-\beta)=0,80$, 1:1 dağılım oranı ve varsayılan orta düzeyde planlama değeri olarak Cohen's $d=0,65$ kabul edilerek yapılmıştır (24,25). Bu varsayımlar altında, gerekli minimum örneklem büyüklüğü 80 katılımcı olarak hesaplanmıştır (grup başına 40 katılımcı). Çalışmaya, komorbid OSB ve BB tanısı olan 41 hasta ile BB tanısı olmayan OSB'li 47 hasta dâhil edilmiştir. Şekil 1 akış şemasını göstermektedir.



Şekil 1. Örneklem seçimine ilişkin akış şeması.

Çalışma, 3 Kasım 2023 tarihinde, 22 numaralı toplantıda İstanbul Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Proje, TTU-2024-40621 proje kodu kapsamında İstanbul Üniversitesi tarafından verilen destek ile finanse edilmiştir.

Değerlendirme

Hem OSB hem de BB tanıları, Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı 5. baskı (DSM-5) kriterlerine göre konulmuştur. Katılımcılara, sosyodemografik ve klinik verileri elde etmeye yönelik sorulardan oluşan bir anket formu verilmiştir. Tüm katılımcıların psikiyatrik tanıları, KSADS-PL kullanılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmelerde BB tanısı olmayan OSB grubu için yaşam boyu herhangi bir duygudurum bozukluğu tanı kriterlerini karşılamadığı doğrulanmıştır. Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (CARS), her iki grupta OSB belirtilerinin şiddetini değerlendirmek için kullanılmıştır. Davranışsal sorunlar, ebeveyn tarafından bildirilen Sorun Davranış Kontrol Listesi (SDKL) aracılığıyla değerlendirilmiştir.

Sosyodemografik Veri Formu

Araştırmacılar, çalışmadaki tüm hastaların sosyodemografik özelliklerine ilişkin bilgi toplamak amacıyla bir veri formu tasarlamıştır. Bu form; sosyodemografik veri, gelişimsel öykü, hastaların tıbbi kayıtları ve ailelerin demografik özellikleri gibi bireysel özellikleri içermektedir. OSB+BB grubunda ayrıca BB'nin başlangıç ve tanı yaşı, hastalık süresi ve atak sıklığı gibi fenomenolojik özellikleri de değerlendirilmiştir.

Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi -Şimdi ve Yaşam Boyu Versiyonu (K-SADS-PL)

K-SADS-PL, çocuk ve ergenlerde DSM-5 kriterlerine dayalı olarak yaşam boyu ve mevcut psikopatolojiyi taramak için yaygın olarak kullanılan yarı yapılandırılmış bir görüşme formudur (26). Belirtilerin varlığı ve şiddeti; çocuk/ergen, ebeveynler ve klinisyenin bakış açıları birleştirilerek değerlendirilir. Ölçeğin Türkçe versiyonunun geçerlilik ve güvenilirliği Ünal ve ark. tarafından araştırılmıştır (27).

Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (CARS)

Schopler ve ark. tarafından geliştirilen CARS, OSB'li çocukları diğer gelişimsel bozuklukları olan çocuklardan ayırt etmek için kullanılan bir davranışsal derecelendirme ölçeğidir (28). Ölçek, çocuğun klinisyen tarafından gözlemlenmesine ve aileden alınan bilgilere dayanır. CARS, otizmle ilişkili bozulmaların etkileyebileceği 15 alanı değerlendirir. Bu ölçek, bireyleri normalden ağıra uzanan bir spektrumda derecelendiren ve otistik olmayan, hafif, orta veya ağır düzeyde otistik olarak sınıflandırmaya olanak sağlayan birleşik bir puan sunan tanısal bir değerlendirme aracı olarak işlev görür. Ölçeğin Türkçe uyarlaması İncekas ve ark. tarafından yapılmıştır (29).

Sorun Davranış Kontrol Listesi (SDKL)

Kaat ve ark. tarafından OSB'de geçerliliği gösterilen SDKL, okul çağındaki OSB olan çocuklarda psikiyatrik belirtileri ve davranışsal sorunları ölçmek amacıyla tasarlanmıştır (30). Beş alandan oluşur: hiperaktivite, atalet, tekrarlayıcı davranışlar, zarar verici davranışlar ve diğer davranışlar. Ölçeğin orijinal İngilizce versiyonu 58 maddeden, Türkçe versiyonu ise 46 maddeden oluşmaktadır. SDKL, ebeveynler veya öğretmenler tarafından dört puanlı Likert tipi bir ölçek kullanılarak puanlanır. Türkçe versiyonun geçerlilik ve güvenilirlik çalışması 2009 yılında Karabekiroğlu ve ark. tarafından yapılmıştır (31).

miRNA Ekspresyonlarının Örneklenmesi ve Değerlendirilmesi

Venöz kan örnekleri, Aralık 2023 ile Ocak 2024 tarihleri arasında Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ndeki çalışma kriterlerine uyan ve çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan alınmıştır. Örnekler, alındıktan sonraki on beş dakika içerisinde Biyokimya Anabilim Dalı'na transfer edilmiş; santrifüj edilmiş ve ileri işlem yapılana kadar -80°C'de saklanmıştır. Total RNA, üreticinin talimatları doğrultusunda miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit kullanılarak örneklerden saflaştırılmıştır (Qiagen, ABD, Kat. no 217204). cDNA sentezi miRCURY™ LNA RT Kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Qiagen, ABD, Kat. no 339346). miR-132-5p, miR-134-5p, miR-126-5p ve miR-206 ekspresyonları, Qiagen

Rotor-Gene Q kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) cihazında kantifiye edilmiştir. Çalışmada kullanılan primerler Qiagen Technologies'den (ABD) temin edilmiştir. Primerler şu şekildedir: miRCURY LNA™ miRNA PCR Assay U6 (Qiagen, ABD, Kat. no YP02119464); miRCURY LNA™ miRNA PCR Assay miR-132-5p (Qiagen, ABD, Kat. no YP00204552); miRCURY LNA™ miRNA PCR Assay miR-134-5p (Qiagen, ABD, Kat. no YP00205989); miRCURY LNA™ miRNA PCR Assay miR-126-5p (Qiagen, ABD, Kat. no YP00206010); miRCURY LNA™ miRNA PCR Assay miR-206 (Qiagen, ABD, Kat. no YP00206073). Ekspresyon düzeyleri 2- $\Delta\Delta CT$ yöntemi kullanılarak hesaplanmış ve her bir genin göreceli ekspresyonu U6'ya normalize edilmiştir. U6'nın endojen kontrol olarak seçimi yayımlanmış literatüre dayandırılmıştır (32).

İstatistiksel Analiz

Tüm analizler IBM Sosyal Bilimlerde İstatistik Paket Programı (SPSS) [Statistical Package for the Social Sciences] sürüm 26.0 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler, sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan ile 25. -75. persentiller; kategorik değişkenler için ise frekans dağılımları olarak raporlanmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkileri değerlendirmek için Pearson Ki-kare testi (χ^2) ve Fisher'in kesin testi uygulanmıştır. miRNA düzeylerinin dağılımının normalliğini değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi kullanılmıştır. Tüm miRNA düzeyleri normal dağılmadığından Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. p değerinin <0,05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya, komorbid OSB ve BB tanısı olan 41 pediatrik hasta (OSB+BB grubu; ortalama yaş=13,5 $\pm$ 2,9 yıl) ve BB komorbiditesi olmayan OSB tanılı 47 hasta (OSB (BB-) grubu, ortalama yaş=13,2 $\pm$ 3,2 yıl) dâhil edilmiştir.

Her iki grupta da dört kız hasta bulunmakta olup, kalan katılımcılar erkektir. OSB+BB grubunun akrabalarında BB ve şizofreni prevalansının daha yüksek olduğu belirlenmiş, ancak anksiyete ve depresif bozukluklar açısından iki grup arasında farklılık saptanmamıştır. Annede depresyon öyküsü OSB+BB grubunda daha yaygın bulunmuştur (p=0,012). OSB+BB grubunun CARS ve SDKL puanları, OSB (BB-) grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,004 ve p=0,008). K-SADS değerlendirmelerine göre, OSB (BB-) grubundaki bir hasta dışında tüm hastalarda OSB'ye eşlik eden en az bir komorbidite saptanmıştır. Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu her iki grupta da en yaygın komorbidite olarak bulunmuştur (p=0,276). Karşıt olma karşıt gelme bozukluğu ve tik bozukluğu, OSB+BB grubunda OSB (BB-) grubuna göre daha yaygın bulunmuştur (sırasıyla p=0,018 ve p=0,001). OSB+BB grubundaki tüm hastaların psikiyatrik tedavi aldığı (%73'ü birden fazla psikofarmakolojik ajan kullanıyordu), OSB (BB-) grubundakilerin %15'inin tedavisiz olarak takip edildiği belirlenmiştir. OSB+BB grubunda tüm hastalar antipsikotik tedavi almaktayken, OSB (BB-) grubunun %56,5'inin antipsikotik ilaç kullandığı saptanmıştır. Antidepresanlar ve duyudurum düzenleyiciler – ağırlıklı olarak valproat ve daha seyrek olarak lityum – OSB+BB grubunda daha yaygın olarak belirlenmiştir. Tablo 1 ve Tablo 2, katılımcıların sosyodemografik ve klinik özelliklerini göstermektedir.

OSB+BB grubunun %63,4'üne Bipolar I bozukluk, %34,1'ine ise Bipolar II bozukluk tanısı konulmuştur. Ortalama başlangıç yaşı 10,58 $\pm$ 2,62 yıl olarak bulunmuştur. Son duyudurum epizodundan bu yana geçen ortalama süre 5,64 $\pm$ 7,17 aydır. OSB+BB grubundaki hastaların %61'i ataklar arasında stabil bir seyir gösterirken, diğerlerinde ataklar arası dönemde eşik altı belirtiler mevcuttur. Duyudurum değişikliği ve enerji artışı dışında en sık görülen belirti ve bulgular dikkat dağınıklığı, artmış aktivite ve uyku ihtiyacında azalma olarak belirlenmiştir (sırasıyla %92,7, %87,8 ve %85,4). En az görülen belirti ve bulgular ise olumsuz sonuçları

Tablo 1. Çalışma gruplarının demografik ve klinik özellikleri

Değişkenler	OSB + BB [n=41]	OSB (BB-) [n=47]	p değeri	t / z değeri
Yaş, yıl, ortalama $\pm$ SS	13,5 $\pm$ 2,9	13,2 $\pm$ 3,2	0,646 ^a	-0,461
VKI [kg/m ²], ortalama $\pm$ SS	25,05 $\pm$ 5,0	23,05 $\pm$ 6,8	0,026^b	-2,22
BB aile öyküsü [n, %]	36,6% (15)	2,1% (1)	<0,001^c	17,478
Şizofreni aile öyküsü [n, %]	29,3% (12)	8,5% (4)	0,004^c	8,111
Perinatal anne depresyonu [n, %]	29,3% (12)	8,5% (4)	0,012^c	6,343
CARS-toplam skor, ortalama $\pm$ SS	42,37 $\pm$ 6,36	38,04 $\pm$ 7,13	0,004^a	-2,990
SDKL-toplam skor, ortalama $\pm$ SS	74,63 $\pm$ 31,0	59,70 $\pm$ 27,1	0,008^b	-2,639
Çoklu ilaç kullanımı [n, %]	73,2% (30)	27,7% (13)	<0,001^a	14,438

SS: standart sapma; VKİ: vücut kitle endeksi; OSB: otizm spektrum bozukluğu; BB: bipolar bozukluk; CARS: çocukluk otizmi derecelendirme ölçeği; SDKL: sorun davranış kontrol listesi; BB (-): BB olmayan; ^a: Student t testi; ^b: Mann-Whitney U testi; ^c: Pearson ki-kare testi; ^d: Fisher'in kesin testi; p <0,05 değerleri koyu yazılmıştır.

Tablo 2. Çalışma gruplarına göre psikiyatrik tanıların dağılımı

Psikiyatrik tanıları	OSB + BB [n=41]	OSB (BB-) [n=47]	p değeri	z/t değeri
Psikoz	2,4% (1)	0%	0,466 ^b	
Anksiyete	43,9% (18)	27,7% (13)	0,112 ^a	2,532
OKB	31,7% (13)	27,7% (13)	0,678 ^a	0,172
DEHB	95,1% (39)	87,2% (41)	0,276 ^b	
KOKGB	24,4% (10)	6,4% (3)	0,018^a	5,640
Enürezis	24,4% (10)	8,5% (4)	0,042 ^a	4,127
Enkoprezis	17,1% (7)	8,5% (4)	0,226 ^a	1,468
Tik bozukluğu	29,3% (12)	4,3% (2)	0,001^a	10,241
TSSB	2,4% (1)	0%	0,466 ^b	

a: Ki-kare testi; b: Fisher'in kesin testi; OSB: otizm spektrum bozukluğu; BB: bipolar bozukluk; OKB: obsesif kompulsif bozukluk; DEHB: dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu; KOKGB: karşıt olma karşı gelme bozukluğu; TSSB: travma sonrası stres bozukluğu; BB (-): bipolar bozukluk olmayan; p <0,05 değerleri koyu yazılmıştır.

Tablo 3. OSB+BB grubunun klinik özellikleri

Değişken	Değerler
BB-I (n, %)	63,4%
BB-II (n, %)	34,1%
Başlangıç yaşı, yıl, ortalama $\pm$ SS	10,58 $\pm$ 2,62
Atak sıklığı, atak/yıl, ortalama $\pm$ SS	1,55 $\pm$ 0,87
Toplam manik/hipomanik atak sayısı, yıl, ortalama $\pm$ SS	2,60 $\pm$ 1,80
Toplam depresif atak sayısı, yıl, ortalama $\pm$ SS	2,20 $\pm$ 2,16
Ataklar arası tam iyileşme olmaması (n, %)	37,5%

SS: Standart sapma; OSB: Otizm spektrum bozukluğu; BB: Bipolar bozukluk.

Tablo 4. Çalışma gruplarında miR-132-5p, miR-134-5p, miR-126-5p ve miR-206'nın göreceli ekspresyon düzeyleri

Değişken	OSB + BB [n=41]	OSB (BB-) [n=47]	Mann-Whitney U-Testi	
			p değeri	z değeri
miR-126-5p	49,31 $\pm$ 24,5	37,39 $\pm$ 12,31	0,026	-2,223
miR-132-5p	42,03 $\pm$ 13,28	33,86 $\pm$ 4,54	0,105	-1,622
miR-134-5p	45,44 $\pm$ 9,63	34,70 $\pm$ 4,72	0,038	-2,079
miR-206	48,41 $\pm$ 9,09	36,32 $\pm$ 4,54	0,023	-2,281

p <0,05 değerleri koyu yazılmıştır; OSB: otizm spektrum bozukluğu; BB: bipolar bozukluk; BB (-): bipolar bozukluk olmayan.

Tablo 5. OSB+BB grubunda klinik özellikler ile miRNA düzeyleri arasındaki korelasyon analizi

Klinik özellikler	miR-132-5p		miR-134-5p		miR-206		miR-126-5p	
	p değeri	r	p değeri	r	p değeri	r	p değeri	r
Başlangıç yaşı	0,787	-0,046	0,798	0,043	0,658	-0,046	0,970	0,006
Toplam depresif atak sayısı	0,788	-0,046	0,521	0,107	0,768	0,049	0,733	0,057
Toplam manik/hipomanik atak sayısı	0,079	-0,292	0,007	-0,432	0,186	-0,219	0,572	-0,093
CARS total skor	0,124	0,179	0,372	0,102	0,521	0,072	0,863	0,019
SDKL total skor	0,233	0,139	0,168	0,157	0,498	0,075	0,639	0,052

Koyu yazılan değerler p<0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlıdır; r, Spearman rho katsayısını göstermektedir; OSB: otizm spektrum bozukluğu; BB: bipolar bozukluk; CARS: çocukluk otizmi derecelendirme ölçeği; SDKL: sorun davranış kontrol listesi.

olan etkinliklerde bulunma ve fikir uçuşması olarak görülmüştür (sırasıyla %31,7 ve %29,3). Hastaların %63,4'ünde mevsimsel döngülerle tetiklenen epizotlar saptanmıştır. Hastaların %19,5'i ilk epizot öncesinde psikososyal bir stres faktörü tanımlarken, %51,2'sinde psikofarmakolojik ajanlarla epizot alevlenmesi öyküsü mevcuttur. OSB+BB grubunun klinik özellikleri Tablo 3'te sunulmuştur.

miR-132-5p, miR-134-5p, miR-206 ve miR-126-5p düzeyleri çalışma grupları arasında karşılaştırılmıştır. Bu seçim, BB komorbiditesi olmayan OSB tanılı bireylerle, OSB+BB komorbiditesi olan bireylere göre BDNF ve VEGF düzeylerinde farklılıklar olduğunu vurgulayan önceki çalışmalara dayandırılmıştır. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör ve VEGF yolları ile ilişkili olduğu bilinen bu miRNA'ları seçerek, bu özgül moleküler farklılıkları daha ayrıntılı olarak araştırmayı amaçladık. miR-134-5p, miR-206 ve miR-126-5p düzeylerinin tümü, OSB (BB-) grubuna kıyasla OSB+BB grubunda anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,038, z=-2,07; p=0,023, z=-2,281; ve p=0,026, z=-2,223), miR-132-5p düzeyleri ise gruplar arasında benzer olarak belirlenmiştir. İncelenen miRNA'lar birbirleriyle yüksek düzeyde korelasyon göstermiştir (miR-126-5p - miR-132-5p p<0,001; miR-126-5p - miR-134-5p p<0,001; miR-126-5p - miR-206 p<0,001; miR-132-5p - miR-134-5p p=0,006; miR-132-5p - miR-206 p=0,004; miR-134-5p - miR-206 p=0,002) (Tablo 4).

miRNA'ların hiçbirinde yaş ile anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (miR-126-5p p=0,378; miR-132-5p p=0,134; miR-134-5p p=0,422; miR-206 p=0,310). Bu bulgu, bu çalışma popülasyonunda yaştan miRNA ekspresyon düzeyleri üzerinde ölçülebilir bir etkisi olmadığını düşündürmektedir. OSB+BB grubunda miRNA düzeyleri ile BB tipleri arasındaki karşılaştırmalar, Bipolar I tanısı olan hastalarda miR-132-5p ve miR-134-5p düzeylerinin Bipolar II tanısı olan hastalara kıyasla daha düşük olduğunu göstermiştir (sırasıyla p=0,014, z=-2,452 ve p=0,005, z=-2,795). Bununla birlikte, serum miR-206 ve miR-126-5p düzeyleri ile bipolar tipler arasında benzer farklılıklar gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,476, p=0,355 ve p=0,824). Klinik özelliklerin analizi, miR-134-5p düzeylerinin toplam manik epizot sayısı ile negatif korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur (p=0,007, r=-0,432).

miRNA düzeyleri ile diğer klinik parametreler arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Klinik özellikler ile miRNA düzeyleri arasındaki ilişkiler Tablo 5'te gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Son yıllarda, miRNA ekspresyonundaki değişikliklerin psikiyatrik bozuklukların patogeneze katkısı bulunabileceği ve hastalığın terapötik yanıt belirteçleri olarak işlev görebileceğine dair anlayış giderek artmıştır (10,11). Çok sayıda çalışma miRNA'ların OSB ve BB'deki rolünü ayrı ayrı araştırmış olsa da OSB ve komorbid BB tanısı olan hastalarda miRNA düzeylerini inceleyen araştırmalarda belirgin bir eksiklik bulunmaktadır (11,13). Önceki araştırmalarda komorbid BB olan OSB hastalarda BB komorbiditesi olmayan OSB'li hastalara göre BDNF ve VEGF düzeylerinde anlamlı farklılık görüldüğü bildirildiğinden, mevcut çalışmada bu nörotrofik faktörlerle ilişkili olduğu bilinen miRNA'lar üzerine çalışılmıştır. Özellikle, BDNF ve VEGF ile daha önce bildirilmiş ilişkileri nedeniyle miR-132-5p, miR-134-5p, miR-206 ve miR-126-5p incelenmiştir. Bulgular, miR-134-5p, miR-206 ve miR-126-5p düzeylerinin OSB'li pediatrik hastalarda BB komorbiditesi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

Sinaptik gelişim ve plastisitedeki önemli rolüyle bilinen miR-134-5p, BB ve şizofreni çalışmalarında sıklıkla araştırılmaktadır (11). miR-134-5p, dendritik diken büyümesini olumsuz etkileyen LIM domain kinaz (Limk1) sentezini inhibe ederek dendritik yapıyı düzenler. BDNF'ye maruz kalan nöronlarda miR-134-5p'nin Limk1 üzerindeki baskılayıcı etkisi azalır ve bunun sonucunda dendritik diken büyümesi artar (19). miR-134-5p ayrıca CREB ekspresyonunu transkripsiyonel olarak aşağı düzenleyerek BDNF gen ekspresyonunu inhibe eder (33). BDNF, nörotransmitter modülasyonu, sinaptogenez ve nöroplastisite için kritik öneme sahiptir ve BDNF ekspresyonu, salınımı ve aktivitesindeki anormallikler nörolojik ve psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (34). Çok sayıda çalışma, düşük BDNF düzeylerinin tedaviye yanıt, başlangıç yaşı ve epizotların şiddeti ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (35,36). BB'de azalmış BDNF düzeyleri gözlenmesine rağmen, yakın tarihli bir meta-analiz, OSB'li çocuklarda nörotipik kontrollere kıyasla BDNF düzeylerinin arttığını

bildirmiştir (37). Bu bulguyla tutarlı olarak, Yıldız Bayındır ve ark. da (17), hem OSB hem de BB tanısı olan hastalarda, BB tanısı olmayanlara kıyasla BDNF düzeylerinin azaldığını bildirmiştir. Mevcut çalışmada, miR-134-5p düzeyleri OSB'li BB grubunda, BB olmayan OSB grubuna göre daha yüksekti; bu bulgu, düşük BDNF düzeylerini yüksek miR-134-5p düzeyleri ve BB ile ilişkilendiren önceki bulgularla uyumludur. Buna karşılık, genel popülasyonu içeren çalışmalarda, miR-134-5p düzeylerinin BB'nin manik epizotları ve unipolar depresyon sırasında azaldığı ve tedavi sonrasında arttığı bildirilmiştir (22). miR-134-5p ile BDNF arasındaki ilişki klinik durum, gelişimsel dönem ve örneklem özelliklerine göre değişiklik gösterebilir. Serum miR-134-5p düzeylerinde gözlenen artışın, dendritik gelişimde miR-134-5p'nin etkilerine zıt etkiler gösteren BDNF düzeylerindeki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Mevcut çalışmanın sonuçlarına göre, OSB'li hastalarda BB komorbiditesinde, nörotipik popülasyona kıyasla farklı mekanizmaların rol oynayabileceği düşünülmektedir.

miR-206, bu karmaşık ağın bir diğer önemli ögesi olup, kas dokusunda yüksek düzeyde eksprese edilir ve kas gelişimi ile yeniden yapılanmasında kritik bir rol oynar (38). Beyin kaynaklı nörotrofik faktör ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), histon deasetilaz 4 (HDAC4) ve siklin D1 dâhil olmak üzere çeşitli proteinlerin sentezini düzenler. Wang ve ark. (20), BB tanılı 288 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, miR-206 ile BDNF polimorfizmi arasında BB'ye yatkınlık ve tedaviye yanıt ile ilişkili bir etkileşim saptamıştır. Bu bulgularla uyumlu olarak, mevcut çalışmada da BB komorbiditesi olan grupta miR-206 düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. Birlikte değerlendirildiğinde, miR-134-5p ve miR-206'ya ilişkin veriler, özellikle OSB'li hastalarda BB patogenezinde bu mikroRNA'lar ile BDNF arasındaki karmaşık etkileşimleri vurgulamaktadır. Bu etkileşimler, OSB'li hastalarda BB komorbiditesinde rol alan mekanizmaların nörotipik popülasyondan nasıl farklılaştığını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Bu mekanizmaların anlaşılması, OSB bağlamında BB'nin yönetiminde hedefe yönelik terapötik stratejiler konusunda var olan anlayışımızın artmasına katkıda bulunabilir.

Literatürde, BB ve şizofreni tanısı olan hastaların postmortem beyin dokusunda, BB olan hastaların akrabalarında ve şizofreni hastalarının periferik kan örneklerinde miR-132-5p düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (39). Li ve ark. (40), depresyon hastalarında BDNF ile miR-132-5p düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmış ve sağlıklı kontrollere kıyasla BDNF düzeylerinin azaldığını, miR-132-5p ve miR-182 düzeylerinin ise arttığını bulmuştur. Ayrıca, miR-132-5p uygulanmasının BDNF düzeylerinde azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, literatürde BDNF ile miR-132-5p arasındaki ilişkiye dair tutarsız sonuçlar bulunmaktadır. Bazı deneysel çalışmalar miR-132-5p'nin CREB aracılığıyla BDNF düzeylerini artırdığını bildirirken, diğerleri miR-132-5p uygulanmasıyla BDNF düzeylerinde azalma olduğunu göstermiştir (12,18). Bazı çalışmalar ayrıca BDNF'nin, MAP/kinaz ve CREB'i içeren geri bildirim mekanizmaları yoluyla miR-132-5p düzeylerinde azalma ile ilişkili olabileceğini öne sürmüştür (18). Literatürde miR-132-5p'ye ilişkin çelişkili bulgular, miRNA'lar ile çeşitli biyokimyasal parametreler arasındaki karmaşık etkileşimlerin yanı sıra miRNA'ların birbirleriyle olan etkileşimlerinden kaynaklanıyor olabilir (41). Mevcut çalışmada gruplar arasında miR-132-5p düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Benzer şekilde BB olan hastalarda miR-132-5p'yi araştıran farklı çalışmalarda da sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin farklılık görülmediği bildirmiştir (11). miR-132-5p ile BDNF arasındaki karmaşık ilişkilerin ve psikopatolojiye bağlı olarak gelişen kompensatuvar mekanizmaların bu çelişkili sonuçlarda etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Endotel hücreleri ve hematopoietik progenitör hücrelerde özgül olarak eksprese edilen miR-126-5p'nin anjiyogenez ve VEGF ekspresyonu ile ilişkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (42). VEGF'nin, nöronal plastisite ve nörojenizdeki rolü bilinmekte olup, sinaptik iletimi potansiyel olarak

etkileyebilir (43). Bipolar bozukluk hastalarında, özellikle depresif epizotlar sırasında, artmış VEGF düzeyleri bildirilmiştir (44). 2017 yılında yayımlanan bir çalışmada, psikotik depresyon hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla miR-126-5p ve VEGF düzeylerinin arttığı ve elektrokonvülsif tedavi sonrasında bu düzeylerin sağlıklı kontrollere benzer seviyelere düştüğü bildirilmiştir (45). Çalışmamızın hipotezi OSB+BB grubunda miR-126-5p düzeylerinin BB olmayan OSB grubuna kıyasla daha yüksek olacağı yönündeydi. Hem hipotezimiz hem de önceki literatür ile uyumlu olarak, serum miR-126-5p düzeyleri OSB ve komorbid BB tanısı olan grupta daha yüksek olarak bulunmuştur. Güldiken ve ark. (16) da komorbid OSB ve BB olgularında kontrollere kıyasla daha yüksek VEGF düzeyleri bildirmiştir. Bu sonuçlar, komorbid OSB'li hastalarda BB'de miR-126-5p ve VEGF'nin rollerini, terapötik müdahalelerle olası ilişkileri de dâhil olmak üzere açıklığa kavuşturmak için daha büyük örneklemlemlerle yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.

Mevcut çalışmada ayrıca belirlenen miRNA'ların BB'nin klinik özellikleri ile korelasyon gösterip göstermediği araştırılmıştır. Analizler, serum miRNA düzeylerinin BB hastalarında ilk tanı yaşı, belirti sayısı, hastalık süresi, karma/psikotik özellikler ve mevsimsel özellik gibi klinik değişkenlerle ilişkili olmadığını ortaya koymuştur. Buna karşılık, miR-134-5p düzeyleri toplam manik/hipomanik epizot sayısı ile ilişkili bulunmuştur. Benzer şekilde, çalışma örneklemimizde miR-132-5p ve miR-134-5p düzeyleri, BB I tanısı alan hastalara kıyasla BB II tanısı alan hastalarda daha yüksek bulunmuştur. Bipolar bozukluk II'de daha yüksek miR-134-5p düzeyleri gözlemlememiz, miR-134-5p düzeylerindeki azalmanın mani şiddeti ile ilişkili olabileceğini öne süren Rong ve ark. (22) çalışmasından farklılık göstermektedir. Buna karşın miR-134-5p düzeylerinin hem toplam manik/hipomanik epizot sayısı ile ilişkili olarak hem de BB II olan grupta artmış bulunması, BB II'de BB I'e kıyasla toplam epizot sayısının daha yüksek olduğunu bildiren çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (46). miRNA düzeyleri ile BB'nin klinik özellikleri arasındaki korelasyonu doğrulamak için daha büyük örneklemlemlerle ve daha fazla sayıda miRNA'yi inceleyen ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, OSB'li olan hastalarda BB varlığında değişen klinik özellikler de ele alınmaktadır. Önceki araştırmalar, BB ve OSB'nin birlikte görülmesinin yalnızca duygudurum bozukluğu ile karakterize bozulmalara değil, aynı zamanda temel OSB belirtilerinde de bozulmalara yol açabileceğini öne sürmüştür (2,47). Önceki araştırmalarla uyumlu olarak, mevcut çalışma komorbid BB tanısı olan çocukların daha şiddetli OSB belirtileri gösterme olasılığının daha yüksek olduğunu göstermektedir (47). Bulgularımız ayrıca komorbid BB grubunda kendine zarar verme davranışı öyküsü ve uyku güçlükleri prevalansının arttığını göstermiştir. Bipolar bozukluk semptomatolojisi tipik olarak ötimik dönemlerde bile artmış saldırganlık, iritabilite ve kalıcı uyku bozukluğunu içerir. Erken başlangıçlı BB ve nörolojik gelişimsel sorunları olan bireyler sıklıkla epizotlar arasında eşik altı belirtiler gösterir (48). Bu durum, komorbid BB grubunda bu klinik özelliklerin daha sık görülmesine katkıda bulunabilir. Ayrıca, komorbid BB tanısı olan hastalarda genel psikiyatrik bozukluk yükü daha fazladır. Önceki araştırmalar da OSB ve BB olgularında komorbid psikiyatrik tanı prevalansının daha yüksek olduğunu göstermiştir; bu durum, bu komorbiditenin klinik karmaşıklığını yansıtmaktadır (48,49). Bu klinik bulgular, OSB popülasyonunda BB'nin doğru tanılanmasının ve erken müdahalenin kritik önemini vurgulamaktadır.

Çalışmanın bulguları yorumlanırken bazı sınırlılıkların dikkate alınması gerekmektedir. İlk olarak, çalışmanın kesitsel tasarımı, gözlenen ilişkilerden nedensellik çıkarımı yapma olanağımızı sınırlamaktadır; bu nedenle serum miRNA düzeyleri ile klinik özellikler arasındaki tüm ilişkiler, doğrudan nedensel etkilerin kanıtı olarak değil, korelasyonlar olarak yorumlanmalıdır. OSB+BB grubundaki bireyler veri toplama sırasında ötimik durumdaydı; bu durum, manik ve depresif epizotlar sırasında miRNA düzeylerindeki dalgalanmalar hakkında bilgi edinmeyi sınırlamaktadır.

miRNA ekspresyon paternleri ile komorbid OSB ve BB'nin başlangıcı ve ilerlemesi arasındaki zamansal ilişkileri aydınlatmak için longitudinal çalışmalara ihtiyaç vardır. İkinci olarak, OSB'de komorbidite yaygındır ve OSB'li bireylerde sıklıkla birden fazla eşlik eden psikiyatrik bozukluk mevcuttur. Çalışmamızda komorbiditeleri olan katılımcıların dışlanması sonuçlarımızın yorumlanabilirliğini artırabilecek olsa da bu olguları dışlamadık. Bu dâhil etme durumu, ek değişkenlik oluşturabileceğinden çalışmamızın bir sınırlılığıdır; ancak aynı zamanda BB komorbiditesi olan OSB tanılı hastalarda gerçek yaşam klinik karmaşıklığını yansıtmaktadır. Ayrıca, gruplar arasındaki psikotrop ilaç maruziyeti farklılıkları serum miRNA düzeylerini etkilemiş olabilir ve potansiyel bir karıştırıcı değişken olarak dikkate alınmalıdır. Bu tedavi farklılıkları kısmen, polifarmasi ve uzun süreli farmakoterapinin sıklıkla kaçınılmaz olduğu BB'li OSB hastalarının klinik gerçekliğini yansıtmaktadır; bununla birlikte, standartlaştırılmış ilaç rejimlerinin olmaması çalışmamızın önemli bir sınırlılığıdır. Üçüncü olarak hem BB I hem de BB II tanılarını içeren görece küçük ve klinik olarak heterojen örneklem, bulgularımızın daha geniş popülasyona genellenebilirliğini sınırlayabilir. Ayrıca, BB biyobelirteç çalışmalarından elde edilen etki büyüklükleri, OSB ve eşlik eden BB için beklenenlerden daha büyük olabileceğinden mevcut çalışma yetersiz güce sahip olabilir; bu nedenle klinik uygulamaya aktarım için önce daha büyük örneklem büyüklükleriyle ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Dördüncü olarak, periferik kan örneklerinin kullanılması, psikiyatrik bozuklukların patofizyolojisinin esas olarak ortaya çıktığı beyindeki miRNA ekspresyon paternlerini tam olarak yansıtmayabilir. Postmortem beyin dokusu veya nörogörüntüleme teknikleri kullanan gelecekteki çalışmalar, komorbid OSB ve BB'nin altında yatan moleküler mekanizmalar hakkında daha fazla bilgi sağlayabilir. Buna ek olarak, nörotipik bir kontrol grubunun bulunmaması, serum miRNA düzeyleri ve BB'ye özgü klinik özellikler açısından daha geniş karşılaştırmalar yapılmasını güçleştirmektedir. Bu sınırlılıklar, komorbid OSB ve BB tanısı olan bireylerde serum miRNA düzeylerindeki değişiklikleri araştırmak için sağlıklı kontrolleri de içeren daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulamaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma etkilenen bireylerde belirli miRNA düzeylerini araştırarak OSB ve BB komorbiditesinin biyolojik temeline ilişkin değerli bilgiler sağlamıştır. Bulgular, yalnızca OSB tanısı olan hastalarla karşılaştırıldığında, OSB ve BB komorbiditesi olan hastalarda serum miR-126-5p, miR-134-5p ve miR-206 düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığını göstermektedir. Bu sonuçlar, özellikle BDNF ve VEGF ile ilişkili olan bu miRNA'ların, OSB bağlamında BB'nin patofizyolojisinde rol oynayabileceği hipotezini desteklemektedir.

Etik Komite Onayı: Çalışma, 3 Kasım 2023 tarihinde, 22 numaralı toplantıda İstanbul Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Bilgilendirilmiş Onam: Tüm katılımcılara ve ebeveynlerine çalışma hakkında bilgi verilmiştir. Ebeveynlerden yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağlıdır.

Yazar Katkıları: Fikir- HK, AK, NS; Tasarım- HK, AK, NS; Denetleme- AK, NS; Kaynaklar- AK, NS; Malzemeler- HK, CK, İB; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- HK, CK, İB; Analiz ve/veya Yorum- HK, AK, NS; Literatür Taraması- HK, AK, NS; Yazıyı Yazan- HK; Eleştirel İnceleme- NS, AK.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışmanın finansmanı, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından sağlanan bir proje desteği ile karşılanmıştır (Proje No: TTU-2024-40621).

KAYNAKLAR

- Rosen TE, Mazefsky CA, Vasa RA, Lerner MD. Co-occurring psychiatric conditions in autism spectrum disorder. *Int Rev Psychiatry*. 2018;30:40-61. [Crossref]
- Skokauskas N, Frodl T. Overlap between autism spectrum disorder and bipolar affective disorder. *Psychopathology*. 2015;48:209-216. [Crossref]
- Hossain MM, Khan N, Sultana A, Ma P, McKyer ELJ, Ahmed HU, et al. Prevalence of comorbid psychiatric disorders among people with autism spectrum disorder: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Psychiatry Res*. 2020;287:112922. [Crossref]
- Van Meter A, Moreira ALR, Youngstrom E. Updated meta-analysis of epidemiologic studies of pediatric bipolar disorder. *J Clin Psychiatry*. 2019;80:18r12180. [Crossref]
- Ruderfer DM, Ripke S, McQuillin A, Boocock J, Stahl EA, Pavlides JMW, et al. Genomic dissection of bipolar disorder and schizophrenia, including 28 subphenotypes. *Cell*. 2018;173:1705-1715. [Crossref]
- Chaste P, Leboyer M. Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions. *Dialogues Clin Neurosci*. 2012;14:281-292. [Crossref]
- Mahgoub M, Monteggia LM. Epigenetics and psychiatry. *Neurotherapeutics*. 2013;10:734-741. [Crossref]
- Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell*. 2006;11:441-450. [Crossref]
- Burgos K, Malenica I, Metpally R, Courtright A, Rakela B, Beach T, et al. Profiles of extracellular miRNA in cerebrospinal fluid and serum from patients with Alzheimer's and Parkinson's diseases correlate with disease status and features of pathology. *PLoS One*. 2014;9:e94839. [Crossref]
- Van den Berg MMJ, Krauskopf J, Ramaekers JG, Kleinjans JCS, Prickaerts J, Briedé JJ. Circulating microRNAs as potential biomarkers for psychiatric and neurodegenerative disorders. *Prog Neurobiol*. 2020;185:101732. [Crossref]
- Fries GR, Carvalho AF, Quevedo J. The miRNome of bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2018;233:110-116. [Crossref]
- Zhou R, Yuan P, Wang Y, Hunsberger JG, Elkahlon A, Wei Y, et al. Evidence for selective microRNAs and their effectors as common long-term targets for the actions of mood stabilizers. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34:1395-1405. [Crossref]
- Li J, Xu X, Liu J, Zhang S, Tan X, Li Z, et al. Decoding microRNAs in autism spectrum disorder. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2022;30:535-546. [Crossref]
- Klein ME, Liyo DT, Ma L, Impey S, Mandel G, Goodman RH. Homeostatic regulation of MeCP2 expression by a CREB-induced microRNA. *Nat Neurosci*. 2007;10:1513-1514. [Crossref]
- de Sena Cortabitarte A, Berkel S, Cristian FB, Fischer C, Rappold GA. A direct regulatory link between microRNA-137 and SHANK2: implications for neuropsychiatric disorders. *J Neurodev Disord*. 2018;10:15. [Crossref]
- Guldiken G, Karayagmurlu A, Kucukgergin C, Coskun M. VEGF, IGF-1 and FGF-2 serum levels in children and adolescents with autism spectrum disorder with and without bipolar disorder. *J Autism Dev Disord*. 2023. [Crossref]
- Yıldız Bayındır B, Coskun M, Kucukgergin C, Karayagmurlu A. A case-controlled study of serum BDNF, GDNF, and NGF levels in autistic youth with and without bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2026;399:121042. [Crossref]
- Remenyi J, Hunter CJ, Cole C, Ando H, Impey S, Monk CE, et al. Regulation of the miR-212/132 locus by MSK1 and CREB in response to neurotrophins. *Biochem J*. 2010;428:281-291. [Crossref]
- Schmitt GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature*. 2006;439:283-289. [Crossref]
- Wang Z, Zhang C, Huang J, Yuan C, Hong W, Chen J, et al. MiRNA-206 and BDNF genes interacted in bipolar I disorder. *J Affect Disord*. 2014;162:116-119. [Crossref]
- Sabry D, El-Deek SE, Maher M, El-Baz MA, El-Bader HM, Amer E, et al. Role of miRNA-210, miRNA-21 and miRNA-126 as diagnostic biomarkers in colorectal carcinoma: impact of HIF-1 α -VEGF signaling pathway. *Mol Cell Biochem*. 2019;454:177-189. [Crossref]
- Rong H, Liu TB, Yang KJ, Yang HC, Wu DH, Liao CP, et al. MicroRNA-134 plasma levels before and after treatment for bipolar mania. *J Psychiatr Res*. 2011;45:92-95. [Crossref]
- Tekdemir R, Selvi Y, Altınbaş K, Koçak N. Decreased miR-15b-5p/miR-155-5p levels and increased miR-134-5p/miR-652-3p levels among BD patients under lithium treatment. *J Affect Disord*. 2022;317:6-14. [Crossref]
- Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*, 2nd ed. New York: Routledge; 2013. [Crossref]
- Kang H. Sample size determination and power analysis using the G* Power software. *J Educ Eval Health Prof*. 2021;18. [Crossref]
- Kaufman J, Birmaher B, Brent D, Rao U, Flynn C, Moreci P, et al. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1997;36:980-988. [Crossref]

27. Unal F, Oktem F, Cetin Cuhadaroglu F, Cengel Kültür SE, Akdemir D, Foto Özdemir D, et al. Reliability and validity of the Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version, DSM-5. November 2016 -Turkish adaptation (K-SADS-PL-DSM-5-T). *Turk J Psychiatry*. 2019;30:1-9. [\[Crossref\]](#)
28. Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism Dev Disord*. 1980;10:91-103. [\[Crossref\]](#)
29. Incekas Gassaloglu S, Baykara B, Avcil S, Demiral Y. Validity and reliability analysis of Turkish version of Childhood Autism Rating Scale. *Turk J Psychiatry*. 2016;27:266-274. [\[Crossref\]](#)
30. Kaat AJ, Lecavalier L, Aman MG. Validity of the Aberrant Behavior Checklist in children with autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord*. 2014;44:1103-1116. [\[Crossref\]](#)
31. Karabekiroglu K, Aman MG. Validity of the Aberrant Behavior Checklist in a clinical sample of toddlers. *Child Psychiatry Hum Dev*. 2009;40:99-110. [\[Crossref\]](#)
32. Duan ZY, Cai GY, Li JJ, Bu R, Wang N, Yin P, et al. U6 can be used as a housekeeping gene for urinary sediment miRNA studies of IgA nephropathy. *Sci Rep*. 2018;8:10875. [\[Crossref\]](#)
33. Gao J, Wang WY, Mao YW, Gräff J, Guan JS, Pan L, et al. A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature*. 2010;466:1105-1109. [\[Crossref\]](#)
34. Grande I, Fries GR, Kunz M, Kapczinski F. The role of BDNF as a mediator of neuroplasticity in bipolar disorder. *Psychiatry Investig*. 2010;7:243-250. [\[Crossref\]](#)
35. Fernandes BS, Gama CS, Cereser KM, Yatham LN, Fries GR, Colpo G, et al. Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: a systematic review and meta-regression analysis. *J Psychiatr Res*. 2011;45:995-1004. [\[Crossref\]](#)
36. Brunoni AR, Baeken C, Machado-Vieira R, Gattaz WF, Vanderhasselt MA. BDNF blood levels after electroconvulsive therapy in patients with mood disorders: a systematic review and meta-analysis. *World J Biol Psychiatry*. 2014;15:411-418. [\[Crossref\]](#)
37. Liu SH, Shi XJ, Fan FC, Cheng Y. Peripheral blood neurotrophic factor levels in children with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2021;11:15. [\[Crossref\]](#)
38. McCarthy JJ. MicroRNA-206: the skeletal muscle-specific myomiR. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*. 2008;1779:682-691. [\[Crossref\]](#)
39. Kim AH, Reimers M, Maher B, Williamson V, McMichael O, McClay JL, et al. MicroRNA expression profiling in the prefrontal cortex of individuals affected with schizophrenia and bipolar disorders. *Schizophr Res*. 2010;124:183-191. [\[Crossref\]](#)
40. Li YJ, Xu M, Gao ZH, Wang YQ, Yue Z, Zhang YX, et al. Alterations of serum levels of BDNF-related miRNAs in patients with depression. *PLoS One*. 2013;8:e63648. [\[Crossref\]](#)
41. Huang YWA, Ruiz CR, Eyler EC, Lin K, Meffert MK. Dual regulation of miRNA biogenesis generates target specificity in neurotrophin-induced protein synthesis. *Cell*. 2012;148:933-946. [\[Crossref\]](#)
42. Alhasan L. MiR-126 modulates angiogenesis in breast cancer by targeting VEGF-A mRNA. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019;20:193-199. [\[Crossref\]](#)
43. Ruiz de Almodovar C, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. *Physiol Rev*. 2009;89:607-648. [\[Crossref\]](#)
44. Castillo MFR, Cohen A, Edberg D, Hoppensteadt D, Fareed J, Martin B, et al. Vascular endothelial growth factor in bipolar depression: a potential biomarker for diagnosis and treatment outcome prediction. *Psychiatry Res*. 2020;284:112781. [\[Crossref\]](#)
45. Kolshus E, Ryan KM, Blackshields G, Smyth P, Sheils O, McLoughlin DM. Peripheral blood microRNA and VEGFA mRNA changes following electroconvulsive therapy: implications for psychotic depression. *Acta Psychiatr Scand*. 2017;136:594-606. [\[Crossref\]](#)
46. Vieta E, Gasto C, Otero A, Nieto E, Vallejo J. Differential features between bipolar I and bipolar II disorder. *Compr Psychiatry*. 1997;38:98-101. [\[Crossref\]](#)
47. Ghaziuddin M, Ghaziuddin N. Bipolar disorder and psychosis in autism. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2020;29:433-441. [\[Crossref\]](#)
48. Sapmaz D, Baykal S, Akbaş S. The clinical features of comorbid pediatric bipolar disorder in children with autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord*. 2018;48:2800-2808. [\[Crossref\]](#)
49. Gedik CU, Karayagmurlu A, Kucukgergin C, Bingul I, Coskun M. Peripheral markers of nitrosative stress in children with autism spectrum disorder and bipolar disorder comorbidity during euthymic phase. *Res Autism Spectr Disord*. 2023;109:102259. [\[Crossref\]](#)