

Araştırma / Original article**Otizm spektrum bozukluğu olan çocuklarda RELN gen polimorfizminin değerlendirilmesi****Nilfer ŞAHİN,¹ Murat KARA,² Bilge KARA,³ Hatice TOPAL⁴****Öz**

Amaç: Otizm spektrum bozukluğu (OSB) sıklığı son yıllarda giderek artmakla birlikte, henüz etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bozukluğun etiyolojisinde genetik, nörobiyolojik, ruhsal-toplumsal etkenler, çevresel veya iatrojenik nedenlerin rol oynadığına ilişkin birçok hipotez öne sürülmüştür. Bu çalışmada OSB ile RELN gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. **Yöntem:** Çalışmaya DSM-5 tanı ölçütlerine göre OSB tanısı konmuş olan 3-12 yaşları arasındaki 62 hasta ile yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuyla eşleştirilmiş 64 sağlıklı çocuk alındı. İki gruptaki olguları sorgulayan Sosyodemografik Veri Formu verildi ve otizm şiddetini değerlendirmek için Çocukluk Otizmini Değerlendirme Ölçeği uygulandı. Reelin geninin iki tek nükleotid polimorfizmi (rs1270519, rs362691), real-time PCR kullanılarak genotiplendi. **Bulgular:** Çalışmaya alınan 62 OSB'li olgunun 57'si erkek (%92), beşi kız (%8); kontrol grubuna alınan 64 olgunun 52'si erkek (%81), 12'si kız (%19) idi. Hasta grubunun yaş ortalaması 5.54±3.13, kontrol grubunun yaş ortalaması 6.43±4.04 yılı. Hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet ve yaş açısından anlamlı farklılık saptanmadı. OSB'li hastalarda rs1270519 polimorfizminde sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, rs362691 açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. **Tartışma:** Bu çalışmanın sonuçları RELN gen rs1270519 polimorfizminin Türk popülasyonunda OSB ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. OSB ile RELN arasındaki ilişkinin aydınlatılabilmesi için farklı polimorfizmlerin de çalışıldığı daha geniş çaplı çalışmalara gerek vardır. (Anadolu Psikiyatri Derg 2018; 19:xx-xx)

Anahtar sözcükler: Etiyoloji, gen, otizm spektrum bozukluğu, RELN

Evaluation of RELN gene polymorphism in children with autism spectrum disorder**ABSTRACT**

Objective: With increasing frequency of autism spectrum disorder (ASD) in recent years, etiology has not yet been fully elucidated. Multiple hypotheses have been proposed to explain autism etiology including genetic, neurobiological, psychosocial factors, environmental or iatrogenic causes. In this study, it was aimed to evaluate the relationship between OSB and RELN gene polymorphism. **Methods:** The present study included 62 children with ASD diagnosed by DSM-5 criteria, aged between 3 and 12 years and 64 age and gender-matched healthy controls. Sociodemographic Data Form was given in both groups and the Childhood Autism Rating Scale was administered to assess the severity of autism. Two single-nucleotide polymorphisms of reelin gene (rs1270519, rs362691) were genotyped using real-time PCR. **Results:** Of the 62 OSB cases included in the study, 57 were males (92%) and 5 were females (8%); of the 64 cases included in the control group, 52 were male (81%) and 12 were female (19%). The mean age of the patient group was 5.54±3.13, while the mean age of the control group was 6.43±4.04. There was no significant difference between the patient and control group in terms of sex and age. There was a statistically significant differ-

¹ Öğr. Üyesi Dr., Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları ABD; ² Öğr. Üyesi Dr., Tıbbi Genetik ABD; ³ Öğr. Üyesi Dr., Ruh Sağlığı ve Hastalıkları ABD; ⁴ Öğr. Üyesi Dr., Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Muğla, Türkiye

Yazışma adresi / Correspondence address:

Öğr. Üyesi Dr., Nilfer ŞAHİN, Muğla Sıtkı Koçman Üniv. Tıp Fak. Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Muğla, Türkiye
E-mail: nilfersahin@hotmail.com

Geliş tarihi: 02.03.2018, Kabul tarihi: 28.03.2018, doi: 10.5455/apd.292500

Anadolu Psikiyatri Derg 2018; 19:xx-xx

ence in rs1270519 polymorphism between ASD patients and healthy controls, but there was no significant difference in terms of rs362691 between the two groups. **Discussion:** The results of this study show that the RELN gene rs1270519 polymorphism may be associated with ASD in the Turkish population. In order to clarify the relationship between ASD and RELN, there is a need for further studies that is evaluate other polymorphisms. (Anatolian Journal of Psychiatry 2018; 19:xx-xx)

Keywords: etiology, gene, autism spectrum disorders, RELN

GİRİŞ

Otizm spektrum bozuklukları (OSB), sözel ve sözel olmayan iletişimde bozulmanın yanı sıra, toplumsallaşma ve davranışsal alanlarda bozulmayla giden bir grup nöropsikiyatrik bozukluktur.¹ OSB sıklığı son yıllarda giderek artmakla birlikte, henüz etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olup genetik, nörobiyolojik, ruhsal-toplumsal etkenler, çevresel veya iyatrojenik nedenlerin bozukluğun etiyolojisinde rol oynadığına ilişkin birçok hipotez öne sürülmüştür.^{2,3} Çalışmalarda bozukluğun etiyolojisinde genetiğin önemli bir rolünün olduğu gösterilmiş olmakla birlikte, olguların sadece %10'unda Frajil X sendromu veya tuberoskleroz gibi tanımlanmış monogenetik bozuklukların rol oynadığı belirtilmiştir.⁴ Benzer şekilde OSB'li olguların yaklaşık %10'unda karyotip anormalliğinin olduğu gösterilmiştir.⁵ OSB'nin etiyolojisini aydınlatmaya yönelik genetik çalışmalarda 1000'den fazla genetik lokusun bozukluğun etiyolojisinde rol oynayabileceği gösterilmiştir.⁶ Aday gen çalışmaları ise, özellikle RELN, NRXN1, SHANK3, NLGN3, NLGN4, MeCP2, EN2, CNTNAP2, OXTR, GABRB3, GABRA5, GABRG3 başta olmak üzere yüzlerce gen bozukluğun etiyolojisiyle ilişkilendirilmiştir.^{7,8}

İnsanlarda 7. kromozomda (7q22) lokalize olan reelin geni (RELN), santral sinir sisteminin gelişiminde önemli bir rol oynayan ekstraselüler bir makriks proteinini sentezler.⁹ Reelin hem gelişim sürecinde, hem de erişkin dönemde nöroenezis sürecini olumlu yönde etkilemektedir. Reelinin sinyal aktivasyonunun uzun dönem potansiyalizasyon regülasyonu, hücre proliferasyonu, hücre migrasyonu ve dentritik omurga morfogenez gibi beyin gelişimi ve erişkin nöroenezisinde önemli etkileri vardır. Nöronal gelişim sürecinde esansiyel bir role sahip olan reelin genindeki herhangi bir mutasyon veya ekspresyon değişikliğinin nöropsikiyatrik hastalıklara temel hazırladığı bilinmektedir. Reelin sinyalizasyonunun özellikle nükleus akumbensteki dopamin reseptörlerinin ekspresyonu olmak üzere dopaminerjik sistem içinde görev aldığı belirtilmiştir.^{10,11} Lokomotor aktivitenin düzenlenmesinde nükleus akumbensteki dopaminerjik aktivitenin

rol aldığına ilişkin önemli kanıtlar ortaya konmuştur.^{12,13} Ek olarak son dönemdeki çalışmalar reelin sinyalizasyonunun hipokampal sinaptik işlevler, memeli belleğinin bazı formlarının oluşumu ve bilişsel işlevler açısından gerekliliğini göstermiştir.^{14,15}

Reelin defisitinin başta şizofreni ve bipolar bozukluk olmak üzere, otizm, majör depresyon, lizensefali, Alzheimer hastalığı ve epilepsi gibi birçok hastalıkta bilişsel defisite hizmet eden yaygın bir fenomen olduğu gösterilmiştir.^{16,17} OSB'nin genetik nedenlerini belirlemek için yapılan erken bağını analizi çalışmaları 7q22'yi ilk otizm yatkınlık yeri olarak saptamışlardır.^{18,19} RELN'in nörogelişimdeki rolü ve 7q22 kromozomundaki konumu göz önüne alındığında, RELN hızlı bir şekilde otizm için aday bir gen olarak ortaya çıkmış ve çok sayıda çalışma (>15) yapılarak RELN'de tek nükleotid polimorfizmin (SNP) OSB riskiyle ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmalarda lokus heterojenitesini gösteren pozitif ve negatif sonuçlar bulunmuştur.⁸ Biz bu çalışmamızda Türk popülasyonunda OSB riskiyle ve şiddetiyle RELN arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

YÖNTEM

Çalışmaya araştırma grubu olarak Muğla Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na Temmuz 2014- Temmuz 2015 tarihleri arasında başvuran olgular arasında çocuk psikiyatri uzmanı tarafından DSM-5 tanı ölçütlerine göre yapılan klinik görüşme ve psikiyatrik değerlendirme sonucunda OSB tanısı konan 3-12 yaşları arasındaki 62 çocuk alındı. Herhangi bir kronik hastalığı olanlar, tıbbi tedavi kullananlar, zihinsel engellilik dışında ek bir psikiyatrik bozukluğu olanlar çalışmaya alınmadı. Kontrol grubu olarak hastanemiz çocuk hastalıkları polikliniğine rutin kontroller için başvuran, yaş ve cinsiyet açısından hasta grubuyla eşleştirilmiş 64 sağlıklı olgu çalışmaya alındı. Herhangi bir psikiyatrik veya kronik fiziksel hastalığı olmayanlar çocuk psikiyatri uzmanı tarafından DSM-5'e dayalı klinik görüşmeyle değerlendirildi; herhangi bir ruhsal hastalık belirtisi göstermeyenler kontrol grubunu oluşturdu.

Hasta ve kontrol grubuna yaş, cinsiyet, eğitim durumu, anne yaşı, baba yaşı, anne ve baba eğitim düzeyleri, prenatal, natal ve postnatal sorunları sorgulayan Sosyodemografik Veri Formu verildi; otizm şiddetini değerlendirmek için Çocukluk Otizmini Değerlendirme Ölçeği (ÇODÖ) uygulandı.²⁰

ÇODÖ otizmin diğer gelişimsel bozukluklarla ayırıcı tanısı için geliştirilmiş bir ölçektir. Ölçek, 15 maddeden oluşmakta olup, çocuğun gözlenmesi ve aile ile görüşme sonucunda elde edilen bilgiler ışığında puanlanır. Ölçekteki maddeler insanlarla ilişki, taklit davranış, duygusal tepki, beden kullanımı, nesne kullanımı, değişime uyum, görsel tepki, dinleme tepkisi, algılanan tepki, korku veya endişe, sözlü iletişim, sözsüz iletişim, etkinlik düzeyi, entelektüel ilişkilerin düzeyi ve tutarlılığı, genel izlenimler kategorilerini içerir; bu bölümler için verilen puanlar toplanarak toplam puan elde edilir. Toplam puan 15-29 arasında ise olguda otizm olmadığı düşünülmekte, 30-36 puanları arası hafif-orta, 37-60 puanları arası ağır derecede otizmliler olarak değerlendirilmektedir. Ölçeğin Türkçe geçerlilik ve güvenilirlik çalışması İncekaş tarafından yapılmıştır.²¹

Çalışma için Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ve Yayın Etiği Kurulu'ndan onay alındı. Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak tüm aileler çalışma hakkında bilgilendirilip aydınlatılmış onam formu alındı. Hasta ve kontrol grubundaki olgulardan EDTA'lı (Etilenediaminetetraasetik asit) tüplere 2 cc kan alındı. Kanlar DNA saflaştırması yapıncaya kadar -20°C'de saklandı. Alınan kanlardan, DNA izolasyon protokolleri kullanılarak (PureLink® Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen, Carlsbad, CA 92008 USA) DNA'lar izole edildi ve hedef DNA polimorfizmleri, SNP ID rs362691, rs12705169, TaqMan problemleri kullanılarak ABI Prism StepOnePlus Real Time System (Applied Biosystems, Foster City, CA) cihazında çalışıldı.

Her PCR reaksiyon miksi için TaqMan genotyping master miks 5 µl, TaqMan genotyping assay (40X) 0.25 µl, DNase-free, RNase-free su 2.75 µl'den oluşan toplam 8 µl miks hazırlandı. Plate, StepOnePlus Real Time cihazında, programa göre 40 döngü olacak şekilde PCR programı çalıştırıldı. 60°C'de 30 sn, 95°C'de 10 dak, 95°C'de 15 sn, 60°C'de 1 dak, 60°C'de 30 sn, aygıtın software sistemi kullanılarak alel 1 ve alel 2 ayırımına göre homozigot mutant, heterozigot ve homozigot normal genotipler belirlendi.

Verilerin analizi

İstatistiksel analizler için Statistical Package for Social Science (SPSS) 20.0 programı kullanıldı. Genetik dağılımın Hardy-Weinberg dengesine uyumu χ^2 goodness-of-fit testi ile analiz edildi. Hastalar ve kontroller arasındaki genotipik ve allel dağılımlarının farklılıkları χ^2 testi ile değerlendirildi. Dağılımı normal olan numerik değerler ile genotipik ve alel gen dağılımlarının farklılıkları bir yönlü ANOVA testi kullanılarak değerlendirildi. Tüm istatistik testlerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 62 OSB'li olgunun 57'si erkek (%92), beşi kız (%8); kontrol grubuna alınan 64 olgunun 52'si erkek (%81), 12'si kız (%19) idi. Hasta grubunun yaş ortalaması 5.54 ± 3.13 , kontrol grubunun yaş ortalaması 6.43 ± 4.04 yılı. Hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet ve yaş açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

İki grup arasında anne yaşı, baba yaşı, kardeş sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Olguların sosyodemografik verileri Tablo 1'de özetlenmiştir.

OSB ve kontrol grubundaki olgular reelin gen polimorfizmleri açısından değerlendirildiğinde, reelin rs12705169 gen polimorfizmi genotip ve alel dağılımı açısından ortaya çıkan fark istatis-

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubundaki olguların demografik verileri

	OSB grubu	Kontrol grubu	p
Yaş (Ort±SS)	5.54±3.13	6.43±4.04	0.188
Cinsiyet			
Kız (sayı, %)	57 91.9	52 81.2	0.071
Erkek (sayı, %)	5 8.1	12 18.8	
Anne yaşı (Ort.±SS)	35.20±6.78	33.45±4.89	0.097
Baba yaşı (Ort.±SS)	38.12±6.24	36.17±4.85	0.051
Kardeş sayısı (Ort.±SS)	1.06±0.85	1.25±0.43	0.128

tiksel olarak anlamlı bulunurken ($r=0.02$), rs326691 gen polimorfizmi açısından ortaya çıkan fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grupları arasında reelin rs362691 (G/C), ve rs12705169 (T/G) gen polimorfizmlerinin genotip ve alel dağılımları Tablo 2'de özetlenmiştir.

İki tek nükleotid polimorfizmi için SNP analyze software kullanılarak yapılan haplotip analizinde gözlenen haplotipler Tablo 3'te gösterilmiştir. Bu üç SNP için yapılan haplotip analizinde TG ve GG haplotipleri için gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.001$).

Tablo 2. OSB ve kontrol gruplarında reelin rs362691 ve rs12705169 gen polimorfizmlerinin genotip ve ael dağılımları

Alel	Genotip	OSB grubu		Kontrol grubu		χ^2	p
		Sayı	%	Sayı	%		
rs362691	GG	51	0.836	56	0.875	0.38	0.535
	GC	10	0.163	8	0.125		
	G	112	0.918	120	0.937	0.35	0.551
	C	10	0.081	8	0.062		
rs12705169	TT	40	0.666	60	0.937	14.93	0.001
	TG	17	0.283	4	0.062		
	GG	3	0.049	0	0		
	T	97	0.808	124	0.968	16.43	<0.001
	G	23	0.191	4	0.031		

C: Sitozin; G: Guanin; T: Timin.

Tablo 3. OSB ve kontrol grupları arasındaki haplotip analiz

Genotip	OSB grubu		Kontrol grubu		χ^2	p
	Sayı	%	Sayı	%		
TG	87	0.725	116	0.906	16.84	<0.001
TC	10	0.083	8	0.062	0.31	0.63
GG	23	0.191	4	0.031	15.66	<0.001

C: Sitozin; G: Guanin; T: Timin.

Tablo 4. OSB grubundaki olguların otizm şiddetine göre reelin rs362691 ve rs12705169 gen polimorfizmleri

Alel	Genotip	Hafif-orta otizm		Ağır otizm OSB grubu		χ^2	p
		Sayı	%	Sayı	%		
rs362691	GG	17	0.809	34	0.85	0.16	0.684
	GC	4	0.19	5	0.15		
	G	38	0.904	74	0.925	0.14	0.698
	C	4	0.095	6	0.075		
rs12705169	TT	17	0.809	23	0.589	3.58	0.166
	TG	4	0.19	13	0.33		
	GG	0	0	3	0.076		
	T	38	0.904	59	0.756	3.87	0.054
	G	4	0.095	19	0.243		

C: Sitozin; G: Guanin; T: Timin.

OSB grubundaki olgular cinsiyet, ailede ruhsal bozukluk öyküsü, ailede benzer hastalık öyküsü, anne-baba arasında akrabalık olup olmadığına göre değerlendirildiğinde gruplar arasında reelin rs326691 (G/C) ve rs12705169 (T/G) gen polimorfizmleri açısından ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). OSB grubundaki olgular ÇODÖ puanlarına göre hafif-orta ve ağır otizm olarak ayrıldığında her iki grup arasında reelin rs326691 (G/C) ve rs12705169 (T/G) gen polimorfizmleri açısından ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4).

TARTIŞMA

OSB'li olgularda RELN polimorfizminin sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığı bu çalışmada OSB'li hastalarda rs1270519 polimorfizminde sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, rs326691 açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. OSB'li grupta cinsiyet, ailede ruhsal bozukluk öyküsü, ailede benzer hastalık öyküsü, anne-baba arasında akrabalık olup olmadığı ve otizm şiddetine göre polimorfizmler incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

RELN geninde meydana gelen mutasyonlar reelin ekspresyonunda azalma veya kaybolma şeklinde sonuçlanabilmektedir. RELN genin promotor bölgesinin hipermetilasyonu veya bilinmeyen bir düzenekle oluşan mutasyonlar sonucunda oluşan ekspresyon değişikliklerinin, nöropsikiyatrik hastalıklara temel hazırlayan etken olduğu düşünülmektedir.²² Reelin beyin gelişim sürecindeki önemli rolleri nedeniyle otizm için de potansiyel bir belirteç olarak incelenmiş ve çalışmalarda reelin gen mutasyonu ve ekspresyon bozuklukları ile otizm arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir.¹⁷ Birçok çalışma, SNP analizi sonucunda OSB ile RELN'deki heterozigot mutasyonlar arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir, ancak bu mutasyonların OSB'ye nasıl katkıda bulunduğu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.⁸

Reelin beyin gelişim sürecinde kortikal laminasyon, nöral migrasyonun regülasyonu gibi birçok önemli süreçte rol alır. Reelinin sadece gelişim sürecinde değil, erişkin dönemde de nörogenezis sürecini olumlu yönde modüle ettiği gösterilmiştir. Erişkin dönemde reelin nöroplastisitede önemli bir rol oynayan hipokampüsün GABAerjik internöronlarından salgılanır. Ayrıca reelin proteini nöronal hücrelerin yüzeyinden eksprese edilen apolipoprotein E reseptör 2 (ApoER2) ve çok düşük dansiteli lipoprotein reseptörü (VLDL-R) gibi integrin reseptörlerinin alfa-3 alt ünitele-

rini bağlar. Bu bağlanma tirozin kinaz yolunu aktive etmek suretiyle fosforilasyon kaskadını başlatır. Reelin sinyal aktivasyonunun uzun dönem potansiyalizasyon regülasyonu, hücre proliferasyonu, hücre migrasyonu ve dentritik omurga morfogenez gibi beyin gelişimi ve erişkin nörogenezinde önemli etkileri vardır.²³ Bununla birlikte, VDRL'nin OSB riskiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür; ancak VDRL ve ApoER2'nin OSB ile doğrudan ilişkili olduğuna ilişkin kanıtların zayıf olduğu belirtilmiştir.⁸

Reelin'in nöronal göç, laminar organizasyon, dendritik dallanma ve nörotransmisyonu düzenleyerek nörogelişimde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir.²⁴ Hayvan çalışmaları, iki aleli yok edilmiş (double knock-out) RELN genlerinin hipokampüsün laminasyonunda eksikliklere ve amigdala dezorganizasyonuna neden olduğunu göstermiştir.^{25,26} Önceki çalışmalar, reelinin N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör sinyali de dahil olmak üzere, sinaptik işlevlerin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir.²⁷ Prefrontal kortekste glutamergik transmisyonun, prefrontal korteks işlevlerinin belirlenmesinde önemli bir rolünün olduğu belirtilmiştir.²⁸ Çalışmalarda NMDA reseptör bozukluklarının DEHB ve otizm gibi nörogelişimsel bozukluklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir.^{29,30} Buna ek olarak reelin sinyalizasyonunun özellikle nükleus akübensteki dopamin reseptörlerinin ekspresyonu olmak üzere dopaminerjik sistem içinde görev aldığı belirtilmiştir.^{10,11} Birçok çalışmada dopamin sisteminin OSB ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.^{31,32}

Gelişmekte olan serebellumda, reelin ilk önce dış granül tabakasını doldurmak için göç eden ve Purkinje nöronlarının pozisyonunu düzenleyen rombik dudağın hücreleri tarafından ifade edilir.⁸ OSB'de en tutarlı anatomik bulgulardan biri, serebellar Purkinje hücrelerinin azalması ve vermis volümündeki azalmadır.^{33,34} Skefos ve arkadaşları³⁵ çalışmalarında OSB bireylerinde Purkinje hücrelerinin azaldığını bulmuşlardır. Önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında, bu grup bilişsel gecikme ve epilepsisi olan hastaları da çalışmaya almış ve OSB'de bu eksikliğin yaygın olduğunu göstermiştir. Tsai ve arkadaşları,³⁶ fare serebellar Purkinje hücrelerinde hem heterozigot, hem de homozigot Tsc1 (Tuberous sclerosis complex) kaybının, anormal sosyal etkileşim, yineleyen davranış gibi otistik benzeri davranışlarla sonuçlandığını göstermişlerdir.

RELN ve OSB arasındaki ilişkiyi değerlendiren birçok çalışma yapılmış, ancak bu çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmuştur. Persico ve arkadaş-

ları,³⁷ RELN üzerinde yer alan 5'UTR lokasyonundaki polimorfik GGC yinelemelerinin otistik bozuklukla ilişkili olduğunu bildirmişler ve bu bulgu daha sonra üç çalışmada yinelenmiştir.^{17,38,39} Serajee ve arkadaşları, aile temelli ilişki analizinde RELN geni intron 59'da rs736707 ve exon 22'de rs362691 ile OSB arasında ilişki olduğunu belirtmişlerdir.⁴⁰ Fu X ve arkadaşlarının Çin'de yaptıkları bir çalışmada RELN g.296596G >A genetik varyantının otizme yatkınlıkta potansiyel etkisinin olduğu gösterilmiştir.⁴¹ Wang Z ve arkadaşlarının meta-analiz çalışmalarında rs362269 polimorfizminin otizm riskine rs736707 veya GGC yineleyen varyantına göre daha fazla katkı sağladığı belirtilmiştir.⁴² Chen ve arkadaşlarının meta-analiz çalışmasında ise RELN gene ait 12 SNP (rs736707, rs362691, rs607755, rs2229864, rs7341475, rs262355, rs362719, rs11496125, g.-888G >C, rs2299356, rs528528, rs4298437) değerlendirilmiş ve sadece rs736707 ile psikiyatrik bozukluklar (OSB, şizofreni ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu) arasında ilişki bulunduğu belirtilmiştir.⁴³ Bizim çalışmamızda ise, OSB'li olgularda rs362269 polimorfizminde sağlıklı kontrollere göre anlamlı farklılık saptanmadı. Çalışmamızda elde edilen bu sonuç yukarıda söz edilen bazı çalışmalarla farklılık gösterirken, rs362269 polimorfizmi ile OSB arasında herhangi bir ilişki saptanamayan çalışmalarla da benzerlik göstermektedir.

RELN, şizofreni hastalarında en fazla çalışılan aday genlerden biridir ve bulgular hastalık etiolojisinde RELN'in rol oynadığını göstermektedir. Postmortem şizofreni beyinlerinde RELN promotor bölge hipermetilasyonu ve RELN selektif down regülasyonu olduğu saptanmıştır.⁴⁴ Şizof-

reni hastalarında yapılan iki çalışmada kadın şizofreni hastalarında rs7341475 ve rs362719 ile şizofreni arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir.^{45,46} Başka bir çalışmada ise, rs12705169 ile şizofreni arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirtilmiştir.⁴⁷ Şizofreni ve OSB poligenik nörogelişimsel bozukluklar olup iki bozukluk ortak etiyolojik, klinik ve biyolojik özelliklere sahiptir. Akraba yaygınlığı ve nüks riskleri neredeyse aynıdır ve her bozukluk için kalıtım derecesinin en az %80 olduğu tahmin edilmektedir. Çalışmalarda iki bozukluk için ortak genetik düzeneklerin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür.⁴⁸ Bizim çalışmamızda da OSB'li hastalarda, daha önce yapılan çalışmalarda şizofreni ile ilişkili olduğu belirlenmiş olan rs1270519 polimorfizminde sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

Sonuç olarak, bu çalışmada OSB'li hastalarda rs1270519 polimorfizminde sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, rs362691 açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Çalışmamızda hasta sayısının az olması ve kesitsel deseni çalışmanın sınırlılıklarından biri olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, RELN geniyle ilgili sadece iki SNP'nin değerlendirilmiş olması, daha önce yapılan bazı çalışmalarda OSB ile ilişkisi saptanmış olan diğer polimorfizmlerin çalışılmaması da çalışmanın önemli sınırlılıklarından biri olarak değerlendirilmiştir. Bunun yanında çalışmamız, Türk popülasyonunda OSB'li olgularda RELN gen polimorfizminin değerlendirildiği ilk çalışmadır. OSB ile RELN arasındaki ilişkinin aydınlatılabilmesi için daha fazla polimorfizmin değerlendirildiği büyük ölçekli çalışmalara gerektirir.

Yazarların katkıları: N.Ş.: Sorumlu araştırmacı, konuyu bulma, literatür tarama, araştırmayı yürütme, makaleyi yazma; M.K.: Planlama, literatür tarama, araştırmayı yürütme, istatistik; B.K.: İstatistiksel analiz, planlama, makale yazma; H.T.: Planlama, araştırmayı yürütme, makaleyi yazma.

KAYNAKLAR

1. American Psychiatric Association and American Psychiatric Association DSM-5 Task Force. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5*. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2013.
2. Geier DA, Kern JK, Geier MR. *The biological basis of autism spectrum disorders: Understanding causation and treatment by clinical geneticists*. *Acta Neurobiol Exp* 2010; 70:209-226.
3. Herbert MR. *Contributions of the environment and environmentally vulnerable physiology to autism spectrum disorders*. *Curr Opin Neurol* 2010; 23:103-110.
4. Persico AM, Napolioni V. *Autism genetics*. *Behav Brain Res* 2013; 251:95-112.
5. Çöp E, Yurtbaşı P, Öner Ö, Münir KM. *Genetic testing in children with autism spectrum disorders*. *Anatolian Journal of Psychiatry* 2015; 16:426-432.
6. Sener EF. *Association of copy number variations in autism spectrum disorders: a systematic review*. *Chinese Journal of Biology* 2014; doi: org/10.1155/2014/713109.

7. Goldani AA, Downs SR, Widjaja F, Lawton B, Hendren RL. Biomarkers in autism. *Front Psychiatry* 2014; 5:100.
8. Lammert DB, Howell BW. RELN mutations in autism spectrum disorder. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 2016; 10:84. doi:10.3389/fncel.2016.00084.
9. DeSilva U, D'Arcangelo G, Braden VV, Chen J, Miao GG, Curran T, et al. The human reelin gene: isolation, sequencing and mapping on chromosome 7. *Genome Res* 1997; 7:157-164. doi:10.1101/gr.7.2.157.
10. Ballmaier M, Zoli M, Leo G, Agnati L, Spano P. Preferential alterations in the mesolimbic dopamine pathway of heterozygous reeler mice: an emerging animal-based model of schizophrenia. *Eur J Neurosci* 2002; 15:1197-1205.
11. Matsuzaki H, Minabe Y, Nakamura K, Suzuki K, Iwata Y, Sekine Y, et al. Disruption of reelin signaling attenuates methamphetamine-induced hyperlocomotion. *Eur J Neurosci* 2007; 25:3376-3384.
12. Gong W, Neill D, Lynn M, Justice JJ. Dopamine D1/D2 agonists injected into nucleus accumbens and ventral pallidum differentially affect locomotor activity depending on site. *Neuroscience* 1999; 93:1349-1358.
13. Hemby S, Jones G, Justice JJ, Neill D. Conditioned locomotor activity but not conditioned place preference following intra-accumbens infusions of cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 1992; 106:330-336.
14. Barr A, MacLaurin S, Semenova S, Fish K, Markou A. Altered performance of reelin-receptor ApoER2 deficient mice on spatial tasks using the Barnes maze. *Behav Neurosci* 2007; 121:1101-1105.
15. Beffert U, Weeber E, Durudas A, Qiu S, Masiulis I, Sweatt J, et al. Modulation of synaptic plasticity and memory by Reelin involves differential splicing of the lipoprotein receptor Apoer2. *Neuron* 200; 47:567-579.
16. Torrey EF, Barci BM, Webster MJ, et al. Neurochemical markers for schizophrenia, bipolar disorder, and major depression in postmortem brains. *Biol Psychiatry* 2005; 57:252-260.
17. Skaar DA, Shao Y, Haines JL et al. Analysis of the RELN gene as a genetic risk factor for Autism. *Molecular Psychiatry* 2005;10:563-571.
18. IMGSAC. Further characterization of the autism susceptibility locus AUTS1 on chromosome 7q. *Hum Mol Genet* 2001; 10:973-982. doi:10.1093/hmg/10.9.973.
19. IMGSAC. A genome wide screen for autism: strong evidence for linkage to chromosomes 2q, 7q and 16p. *Am J Hum Genet* 2001; 69:570-581. doi:10.1086/323264.
20. 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.
21. İncekaş S. Çocukluk Otizmini Derecelendirme Ölçeği Geçerlik ve Güvenirlilik Çalışması. Yayımlanmamış Uzmanlık Tezi, İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları ABD, 2009.
22. Fatemi SH, Earle JA, McMenomy T. Reduction in Reelin immunoreactivity in hippocampus of subjects with schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Mol Psychiatry* 2000; 5:654-663.
23. Barr A, Fish K, Markou A. The reelin receptors VLDLR and ApoER2 regulate sensorimotor gating in mice. *Neuropharmacology* 2007; 52:1114-1123.
24. Senkov O, Andjus P, Radenovic L, Soriano E, Dityatev A. Neural ECM molecules in synaptic plasticity learning, and memory, *Prog Brain Res* 2014; 214:53-80.
25. Boyle MP, Bernard A, Thompson CL, Ng L, Boe A, Mortrud M, Hawrylycz MJ, Jones AR, Hevner RF, Lein ES. Cell-type-specific consequences of Reelin deficiency in the mouse neocortex hippocampus, and amygdala. *J Comp Neurol* 2011; 519:2061-2089.
26. Tissir F, Goffinet AM. Reelin and brain development. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4:496-505.
27. Ishii K, Kubo KI, Nakajima K. Reelin and Neuropsychiatric Disorders. *Front Cell Neurosci* 2016; 10:229.
28. Yuen EY, Liu W, Karatsoreos IN, Ren Y, Feng J, McEwen BS, et al. Mechanisms for acute stress-induced enhancement of glutamatergic transmission and working memory. *Molecular Psychiatry* 2011; 16:156-170. [PubMed: 20458323].
29. Chang JP, Lane HY, Tsai GE. Attention deficit hyperactivity disorder and N-methyl-D-aspartate (NMDA) dysregulation. *Curr Pharm Des* 2014; 20:5180-5185. [PubMed: 24410567].
30. Duffney LJ, Zhong P, Wei J, Matas E, Cheng J, Qin L, et al. Autism-like deficits in Shank3-deficient mice are rescued by targeting actin regulators. *Cell reports* 2015; 11:1400-1413.
31. Lee Y, Kim H, Kim JE, Park JY, Choi J, Lee JE, et al. Excessive D1 dopamine receptor activation in the dorsal striatum promotes autistic-like behaviors. *Mol Neurobiol* 2017; doi: 10.1007/s12035-017-0770-5.
32. Hettinger JA, Liu X, Hudson ML, Lee A, Cohen IL, Michaelis RC, et al. DRD2 and PPP1R1B (DARPP-32) polymorphisms independently confer increased risk for autism spectrum disorders and additively predict affected status in male-only affected sib-pair families. *Behav Brain Funct* 2012; 8:19.

33. Fatemi SH, Aldinger KA, Ashwood P, Bauman ML, Blaha CD, Blatt GJ, et al. Consensus paper: pathological role of the cerebellum in autism. *Cerebellum* 2012; 11:777–807.
34. Hampson DR, Blatt GJ. Autism spectrum disorders and neuropathology of the cerebellum. *Front Neurosci* 2015; 9:420.
35. Skefos J, Cummings C, Enzer K, Holiday J, Weed K, Levy E, et al. Regional alterations in purkinje cell density in patients with autism. *PLoS One* 2014; 9:e81255. doi:10.1371/journal.pone.0081255.
36. Tsai PT, Hull C, Chu Y, Greene-Colozzi E, Sadowski AR, Leech JM, et al. Autistic-like behaviour and cerebellar dysfunction in Purkinje cell Tsc1 mutant mice. *Nature* 2012; 488:647–651.
37. Persico AM, D'Agruma L, Maierano N, Totaro A, Militeri R, Bravaccio C, et al. Reelin gene alleles and haplotypes as a factor predisposing to autistic disorder. *Mol Psychiatry* 2001; 6(2):150-159.
38. Zhang H, Liu X, Zhang C, Mundo E, Maciardi F, Grayson, et al. Reelin gene alleles and susceptibility to autism spectrum disorders. *Mol Psychiatry* 2002; 7:1012-1017. doi:10.1038/sj.mp.4001124.
39. Dutta S, Guhathakurta S, Sinha S, Chatterjee A, Ahmed S, Ghosh S, et al. Reelin gene polymorphisms in the Indian population: a possible paternal 5'UTR-CGG-repeat-allele effect on autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144B:106-112. doi:10.1002/ajmg.b.30419.
40. Serajee FJ, Zhong H, Mahbubul Huq AH. Association of Reelin gene polymorphisms with autism. *Genomics* 2006; 87:75-83. doi:10.1016/j.ygeno.2005.09.008.
41. Fu X, Mei Z, Sun L. Association between the g.296596G > A genetic variant of RELN gene and susceptibility to autism in a Chinese Han population. *Genet Mol Biol* 2013; 36(4):486-489. doi: 10.1590/S1415-47572013005000037.
42. Wang Z, Hong Y, Zou L, et al. Reelin gene variants and risk of autism spectrum disorders: an integrated meta-analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2014; 165B(2):192-200. doi: 10.1002/ajmg.b.32222.
43. Chen N, Bao Y, Xue Y, Sun Y, Hu D, Meng S, et al. Meta-analyses of RELN variants in neuropsychiatric disorders. *Behav Brain Res* 2017; 332:110-119. doi: 10.1016/j.bbr.2017.05.028.
44. Abdolmaleky HM, Cheng KH, Russo A, Smith CL, Faraone SV, Wilcox M, et al. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: A preliminary report. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics* 2005; 134:60-66.
45. Shifman S, Johannesson M, Bronstein M, Chen SX, Collier DA, Craddock NJ, et al. Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet* 2008; 4:28.
46. Kuang WJ, Sun RF, Zhu YS, Li SB. A new single-nucleotide mutation (rs362719) of the reelin (RELN) gene associated with schizophrenia in female Chinese Han. *Genet Mol Res* 2011; 10:1650-1658. doi: 10.4238/vol10-3gmr1343.
47. Li WQ, Song XQ, Zhang HX, Yang YF, Jiang C, Xiao B, et al. Association study of RELN polymorphisms with schizophrenia in Han Chinese population. *Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011; 35:1505-1511. doi: 10.1016/j.pnpbp.2011.04.007.
48. Ishizuka K, Fujita Y, Kawabata T, Kimura H, Iwayama Y, Inada T, et al. Rare genetic variants in CX3CR1 and their contribution to the increased risk of schizophrenia and autism spectrum disorders. *Transl Psychiatry* 2017; 7(8):e1184. doi: 10.1038/tp.2017.173.