

<b>F KR YE FULYA KAVAK</b>	<b>D CLE ÜN VERS TES SA . B L. ENST.</b>	<b>YÜKSEK L SANS TEZ</b>	<b>D YARBAKIR- 2019</b>
--------------------------------	--	------------------------------	-----------------------------



TÜRK YE CUMHUR YET  
D CLE ÜN VERS TES  
SA LIK B L MLER ENST TÜSÜ



**MENTAL RETARDASYONLU HASTALARDA  
FRAJ L X ANAL Z**

**Fikriye Fulya KAVAK  
YÜKSEK L SANS TEZ**

**TIBB B YOLOJ ANAB L M DALI**

**Dr. Ö r. Üyesi Diclehan ORAL**

**D YARBAKIR- 2019**

## ONAY



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



## ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Fikriye Fulya KAVAK'ın hazırladığı "Mental Retardasyonlu Hastalarda Frajil X Analizi" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 24/05/2019

Danışman Dr.Öğr.Üyesi.Diclehan ORAL

### Jüri Üyeleri

Jüri Başkanı Prof.Dr.Fatma SILAN

Üye Doç.Dr.Selahattin TEKEŞ

Üye Dr.Öğr.Üyesi.Diclehan ORAL

Üye .....

Üye .....

imza

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ....../20.. tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN  
Dicle Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



**TÜRK YE CUMHUR YET  
D CLE ÜN VERS TES  
SA LİK B L MLER  
ENST TÜSÜ**



**BEYAN**

Bu tez çalı masının kendi çalı mam oldu unu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dı ı davranı ımın olmadı ını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde etti imi, bu tez çalı masıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdi imi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldı ımı, yine bu tezin çalı ılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranı ımın olmadı ını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sa lık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir ekilde hazırladı ımı beyan ederim.

13/05/2019

Fikriye Fulya Kavak

mza

## **TE EKKÜR**

Tez konumun belirlenmesinde ve devamındaki süreçte yardım ve desteğini esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım Dr. Ö. r. Üyesi Diclehan ORAL'a

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, bana Çanakkale 18 Mart Üniversitesi'nin laboratuvar imkanlarından faydalanmamı sağlayan, tecrübe ve bilgisi ile katkı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Fatma SILAN'a,

Yine bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yanımda olan ve tezimde emeği geçen değerli hocam Doç. Dr. Selahattin TEKE'ye

Yüksek lisans baladım ilk günden beri eğitimime katkı sağlayan hocalarım Prof. Dr. Hilmi S , Prof. Dr. Kemal GÜVEN, Doç. Dr. Mahmut BALKAN ve Doç. Dr. Selda M EK'e

Tıbbi Biyoloji-Genetik Anabilim Dalı çalışanlarından, hasta kanlarının alınmasında bana yardımcı olan Laborant Gül Kılıç'a, kanların toplanmasında yardımcı olan Muhammed Akdemir, Mizgin Esmer, Beyaz Rehabilitasyon Kurumu, asistan hocalarım ve tüm Tıbbi Biyoloji-Genetik ekibine,

Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ekibinden başta Biyolog Gaye ACAR olmak üzere tüm laboratuvar ekibine,

DNA izolasyonlarımda yardımcı olan sevgili arkadaşım Deniz Durmu'a

Erasmus Örenim Hareketliliği kapsamında faydalanmamı sağlayan Ulusal Ajans'a ve gittiğim Sassari Üniversitesi'nde danışmanlığı yapan değerli hocam Klinik Genetik Anabilim Dalı Ord. Prof. Dr. Andrea MONTELLA'ya

Tez çalışmalarımı kullandığım yöntemleri bana sabırla öğreten değerli hocam. Dr. Fausto Pier'Angelo PODDIE ve örenimim boyunca bana destek olan Dr. Floris MATTEO'ya

İtalya'da kaldığım süre içerisinde bana her konuda yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Ass.Dr. Diego FALCI ve Laborant Antonella OGG ANO'ya,

Maddi ve manevi her konuda daima beni motive eden ve destek olan, hayatım boyunca örnek aldığım ve almaya çalıştığım sevgili annem ve babama,

Uzakta bile desteklerini esirgemeyen sevgili kardeşime ve bu süreçte bana destek olan arkadaşlarım ve ailemin diğer fertlerine çok teşekkür ederim

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından TIP.18.034 numaralı proje ile desteklenmiştir.

**Fikriye Fulya Kavak**

**Diyarbakır- 2019**

## Ç NDEK LER

ONAY .....	III
BEYAN.....	IV
Ç NDEK LER.....	VI
EK LLER D Z N .....	VIII
TABOLAR D Z N .....	IX
S MGELER VE KISALTMALAR.....	X
1. ÖZET.....	1
1.1. Türkçe Özet .....	1
2.1. İngilizce Özet- Abstract .....	3
2. G R VE AMAÇ .....	5
3. GENEL B LG LER.....	6
3.1. Full Mutasyon.....	6
3.2. Premutasyon .....	15
3.3. FMR1 Geni.....	18
2.3.1. FMR1 Geni Mutasyonu .....	19
3.4. Frajil X Geneti i.....	20
3.5. FMR1 Geni Proteini (FMRP).....	21
3.6. Frajil X ve Otizm li kisi .....	24
3.7. AGG Serpilmeleri ve Farjil X li kisi.....	24
3.8. İnsan Kromozomlarında Kırılğan Bölgeler .....	26
3.8.1. Sık Kırılğan Bölgeler .....	27
3.8.2. Nadir Kırılğan Bölgeler .....	27
3.9. Frajil X Analiz Yöntemleri.....	28
3.9.1. Trinükleotid Tekrarlar.....	28

3.9.2.	Sitogenetik Çalışmalar	29
3.9.3.	Moleküler Yöntemler	31
<b>4.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>33</b>
<b>4.1.</b>	<b>GEREÇLER</b>	<b>33</b>
<b>4.2.</b>	<b>YÖNTEMLER</b>	<b>33</b>
4.2.1.	Kanların Alınması	33
4.2.2.	DNA izolasyonu	33
4.2.3.	Hücre Preperasyonu	33
4.2.4.	Asuragen FMR1 Kit Uygulaması	35
4.2.5.	AmplideX™FMR1 PCR Kit protokolü	36
4.2.6.	POP 7 ile kapiller elektroforez	37
<b>5.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>39</b>
<b>6.</b>	<b>TARTI MA</b>	<b>47</b>
<b>7.</b>	<b>SONUÇ</b>	<b>52</b>
<b>8.</b>	<b>KAYNAKÇA</b>	<b>54</b>
<b>9.</b>	<b>ÖZGEÇM</b>	<b>64</b>
<b>10.</b>	<b>EKLER</b>	<b>66</b>
10.1.	Orjinallik Raporu	66
10.2.	Etik Kurul Onayı	67

## EK LLER D Z N

EK L 1: DÖRT FMR1 ALEL SINIFI: .....	9
EK L 2:ERKEKLERDE FMR1 PROMOTORUNDA DNA MET LASYONU VE Ç FT YÖNLÜ TRANSKR PS YON .....	19
EK L 3:FMRP'N N SAH P OLDU U DOMA NLER. ....	22
EK L 4: S NAPT K PLAST S TEN N MODÜLE ED LMES NDE KIRILGAN X MENTAL RETARDASYON PROTE N N N (FMRP) ROLÜ.....	23
EK L 5: K KADIN PREMUTASYON TA IYICISI Ç N CGG-TEKRAR ÇEREN PCR ÜRÜNLER N N ELEKTRO-FEROGRAM MODELLER N N ÖRNEKLER , .....	25
EK L 6: 26 TEKRARLI NORMAL ARALIKTAK ERKEK ÇOCU UN GENMAPPER RAW DATA ANAL Z GÖRÜNTÜSÜ.....	42
EK L 7: 20/30 TEKRARLI KIZ ÇOCU UN GENMAPPER RAW DATA ANAL Z GÖRÜNTÜSÜ .....	42
EK L 8: 74 TEKRARLI D HASTANIN GENMAPPER RAW DATA ANAL Z GÖRÜNTÜSÜ .....	42
EK L 9: 281 TEKRARLI ERKEK ÇOCU UN GENMAPPER RAW DATA ANAL Z GÖRÜNTÜSÜ .....	42



## TABOLAR D Z N

TABLO 1: FXS'DA GÖZLENEN FENOT P K ÖZELL KLER N GÖRÜLME YÜZDELER (15, 17). .....	7
TABLO 2: FXS'DA GÖZLENEN 10 F Z KSEL ÖZELL K (15, 24).....	9
TABLO 3: 1992-2006 YILLARI ARASINDA GERÇEKLE T R LEN FMR1 TEST N N ÖZET STROM, CROSSLEY (28).....	11
TABLO 4: ANNE TEKRARI BOYUTUNA GÖRE TAM MUTASYON AÇILIMLARI (29). .....	11
TABLO 5: DNA TABANLI TEKN KLERLE BEL RLENEN ERKEKLERDE FRAJ L X SENDROMUNUN PREVALANSI (30, 31).....	12
TABLO 6: PREMUTASYON YAYGINLI I ÜZER NE YAYINLANMI ÇALI MALAR (41).....	17
TABLO 7: MATERNAL CGG TEKRAR NUMARASI ALEL NE VE AGG KES NT LER N N VARLI INA/YOKLU UNA GÖRE B R FM'YE GEN LEME R SK (29, 132, 133).....	26
TABLO 8: TR NUKLEOT D TEKRARLAYAN HASTALIKLARIN SINIFLANDIRILMASI (139-141).....	28
TABLO 9: AMPL DEX <sup>TM</sup> PCR K T ÇER KLER (P/N 76008) .....	35
TABLO 10: AMPL DEX <sup>TM</sup> PCR K T ÇER KLER (P/N 76008) .....	36
TABLO 11: CGG RP PCR .....	37
TABLO 12: D CLE ÜN VERS TES TIP FAKÜLTES HASTANELER TIBB B YOLOJ ANAB L M D CLE ÜN VERS TES TIP FAKÜLTES HASTANELER TIBB B YOLOJ ANAB L M DALI GENET K LABORATUVARINA FRAJ L X SENDROMU ÖN TANISI LE GELEN 3-15 YA ARASI ÇOCUKLARIN FMR1 GEN NDEK CGG TEKRAR SAYISINA GÖRE MUTASYON YÜZDELER .....	40
TABLO 13: HASTALARIN, MOLEKÜLER ANAL Z BULGULARI .....	41
TABLO 14: MOLEKÜLER VE KL N K KORELASYON (169, 170).....	50
TABLO 15: GR ZONE, PREMUTASYON VE TAM MUTASYON FMR1 ALELLER N N DO AL AKTARIMLARI (128).....	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>Bç</b>	: Baz çifti
<b>CGG</b>	: Sitozin, Guanin, Guanin
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>FM</b>	: Full mutasyon
<b>FMR1</b>	: Frajil X Mental Retardasyon 1 geni
<b>FMRP</b>	: Frajil X Mental Retardasyon 1 proteini
<b>FXS</b>	: Frajil X sendromu
<b>GABA</b>	: Gamma-aminobütirik asit
<b>GZ</b>	: Gri zone
<b>IQ</b>	: Intelligence Quotient
<b>KH1</b>	: hnRNP K-protein homoloji domainleri
<b>Mb</b>	: Mega baz
<b>MR</b>	: Mental retardasyon
<b>mRNA</b>	: Mesajcı ribonükleik asit
<b>NES</b>	: Nükleer export sinyali
<b>NLS</b>	: Nükleer lokalizasyon dizisi
<b>PCR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>PM</b>	: Premutasyon
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>UTR</b>	: Translate olmayan bölge

# MENTAL RETARDASYONLU HASTALARDA FRAJİL X ANALİZİ

**Örrencinin Adı ve Soyadı:** Fikriye Fulya KAVAK

**Danışmanı:** Dr. Ömer Üyesi Diclehan ORAL

**Anabilim Dalı:** Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı), Yüksek Lisans Tezi, Diyarbakır, 2019

## 1. ÖZET

### 1.1. Türkçe Özet

#### Amaç:

Frajlil X sendromu, Down sendromundan sonra ikinci sırada yer alan ve toplumda kalıtsal zekâ geriliğine neden olan genetik bir hastalıktır. FMR1 trinükleotid tekrar uzunluğu için referans aralığı dört kategoriye sahiptir. <45 CGG tekrarları normal, 45-54 aralığında tekrarlar "gri bölge", 55-200 aralığında tekrarlar "premutasyon", son olarak en az 200 CGG tekrarlar "full mutasyon" olarak adlandırılır. FM'lu bireylerde, FMR1 geni ilevsizdir ve Frajlil X Mental Retardasyon Proteinin (FMRP) üretimi yapılamaz. Bu çalışmada; FXS ön tanısı ile gelen çocuklarda moleküler analizler ile hastalık oranını tayin etmek amaçlandı.

#### Gereç ve Yöntemler:

Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Hastaneleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Genetik Laboratuvarına Frajlil X Sendromu ön tanısı ile gelen 3-15 yaş arası çocuklardan alınan periferik kandan izole ettiğimiz DNA örnekleriyle gerçekleştirilmiştir.

#### Bulgular:

Araştırılan 53 çocuğun, 21 (%39,6) tanesi erkek ve 32 (%60,4) tanesi kız olup, Frajlil X tespit edilen kız çocuğu oranı %4,7, erkek çocuklarda %15,6 olarak bulunmuştur. Analizlerde 53 çocuktan 2 tanesi gri zon aralığında tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre totalde 53 çocuk hastanın %11,3'i FXS full mutasyon, %3,7'si gri zone ve %85'i normal aralıkta tespit edilmiştir.

## **Sonuç:**

Nedeni bilinmeyen MR'lı, gelişme bozukluğu, konuşma güçlüğü ve otizmi olan çocuklarda ve MR aile hikayesi olan hastalarda, FXS'na yönelik moleküler genetik incelemeler yapılmalıdır. Full mutasyona sahip olgular tespit edildiğinde ailedeki diğer bireylerin premutasyon taşıyıcılığı açısından araştırılması ve risklerinin belirlenmesi gerekmektedir. Böylece, gerekli bireylere uygun genetik danışmanlık verilerek kişinin kendisinin, ailesinin ve gelecek kuşakların hastalık hakkında farkındalık oluşturulması ve genel popülasyonda Frajil X frekansının azalması sağlanabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Frajil X, Otizm, Mental Retardasyon, FMR1, Trinükleotid Tekrar Hastalıkları

# ANALYSIS OF FRAGIL X IN PATIENTS WITH MENTAL RETARDATION

**Student's Surname and name:** KAVAK Fikriye Fulya

**Adviser of Thesis:** Dr. Diclehan ORAL

**Department:** Institutes of Health Sciences, Medicine Biology, Master Thesis, Diyarbakır, 2019

## 2.1. İngilizce Özet- Abstract

### **Aim:**

Fragile X syndrome is a genetic disease that is the second most common cause of Down's syndrome. The reference range for FMR1 trinucleotide repeat length has four categories. CGG repeats are normal, repetitions in the 45-54 range are in the "gray zone", repetitions in the 55-200 range are "premutations", at least 200 CGG repeats are called "full mutations".

### **Materials and Methods:**

This study was carried out with DNA samples from peripheral blood taken from 3-15 years old children who were diagnosed as Fragile X Syndrome in Dicle University Medical Faculty Hospitals Medical Biology Department Genetic Laboratory.

### **Result:**

Of the 53 children, 21 (39.6%) were males and 32 (60.4%) were females. In the analysis, 2 out of 53 children were identified in the gray zone. According to our results, 11.3% of the 53 pediatric patients had FXS full mutation, 3.7% had gray zone and 85% had normal range.

**Conclusion:**

Molecular genetic examinations should be made for FXS in children with MR, developmental disorder, speech difficulties and autism, and in patients with MR. When full mutation cases are detected, it is necessary to investigate the risks of premature carriage of other individuals in the family and determine their risks. Thus, by providing appropriate genetic counseling to individuals, the person, his / her family and future generations can raise awareness about the disease and decrease the frequency of Fragile X in the general population.

**Keywords:** Fragile X, Autism, Mental Retardation, FMR1, Trinucleotide Repetitive Diseases

## 2. G R VE AMAÇ

Frajil X sendromu geli imsel bozukluk ve mental retardasyona sebep olan genetik rahatsızlıklar içerisinde Down Sendromundan sonra ikinci sırada yer alan genetik bir hastalıktır. FXS tipik olarak FMR1 geninin 5' çevrilmemi bölgesinde genin anormal metilasyonuna ve transkripsiyonun baskılanmasına yol açan üçlü tekrar genle mesinden kaynaklanır (1, 2). Mental retardasyon (MR), zeka katsayısının (IQ) 70 ve 70 ten dü ük olması, bili sel becerilerden (öz bakım, ba ımsız i yapabilme, toplumsal kaynakları kullanma, kendi ya amını yönetip yönlendirme, ki ilerle ileti im kurma, okulda beceriler kazanma, sa lık ve güvenli i ile ilgili konularda farkındalık duyma) en az ikisinde yetersiz kalma ve bu özelliklerin 18 ya ından önce ba laması ile karakterize bir durumdur (3). MR, derecelerine göre hafif (IQ 55-70), Orta (IQ 40-54), a ır (IQ 25-39), çok a ır (IQ<25) olarak dört kategoride sınıflandırılabilir. Genel popülasyonun %1 ile %3'ünün MR ile etkilendi i tahmin edilmektedir (4).

Frajil X bir trinükleotid tekrar hastalı ıdır ve CGG trinükleotid sayısının normalden fazla tekrarlanmasıyla ortaya çıkar. Bu sendrom cinsiyet ve ırk gözetmeksizin tüm bireyleri etkileyebilir. Frajil X, X kromozomu kaynaklı bir genetik hastalık oldu undan hastalı a erkek çocuklarında daha sık rastlanır ve hastalık di ilere göre erkeklerde daha a ır seyrederek. Di ilerde semptomların daha hafif düzeyde görülmesinin nedeninin X inaktivasyonu ile ili kili oldu u dü ünülmektedir (5, 6). X-ba lantılı bozukluklar genellikle kadınlarda nadirdir ve genellikle mutant aleli ta ıyan X kromozomunun avantajlı susturulmasıyla ili kilendirilebilir (5). Moleküler olarak incelendi inde di ilerde frekans 1/6000 , erkeklerde 1/4000 olarak görülür (7).

Bu X'e ba lı bozuklu a, kırılğan X mental retardasyon proteininin (FMRP) yoklu u neden olur. FMRP'nin yoklu una neden olan gen kusuru, kırılğan X mental retardasyon geninin 5' translate edilmemi bölgesinde mevcut olan trinükleotid (CGG) n tekrarının geni lemesidir (8). Bu trinükleotid tekrarı oldukça polimorfiktir ve aleller üç gruba ayrılabilir. İlk grup 6 ila 54 tekrar birimi arasında de i en aleller içerir. Bu boyuttaki tekrarlar iletim sırasında kararlı davranır. Premutasyon ve tam mutasyonlar (sırasıyla PM ve FM) olarak adlandırılan di er iki grup, bir sonraki ku a a aktarım üzerine istikrarsız davranır. Her iki durumda da aktarım sırasında gendeki tekrarda geni leme gözlenir, FM en belirgin olanıdır. Premutasyonlu bireylerde tekrar sayısı 55-200 arasındadır. CGG tekrar sayısı 200 ve üzerine çıktı ında (CGG>200) birey full

mutasyon kategorisine girer. Full mutasyonlu bireylerde tekrar sayısı 1000-2000 civarına kadar çıkabilir. Ayrıca 45-54 CGG tekrarı Amerikan Tıp Genetiği Koleji tarafından “gri bölge” olarak sınıflandırılır (9). Nüfusun büyük çoğunluğu, CGG tekrarları 40 veya daha az olan FMR1 alellere sahiptir ve bu normal uzunluktaki CGG tekrarları, ebeveynlerden yavrulara miras kaldıkları için genellikle karardır (10).

### **3. GENEL BULGULAR**

#### **3.1. Full Mutasyon**

CGG tekrar sayısının 200’den fazla olması durumunda full mutasyon olur. Frajil X tanılı hastaların klinik bulguları; el çırpma, el ısırma, zayıf göz teması gibi otistik davranışlar ile ilişkili MR’na ek olarak uzun yüz, belirgin çene, büyük belirgin kulaklar ve makrooridizmdir (11). Fiziksel belirtiler ne spesifik ne de sabittir ve genellikle çocukluktan sonra daha belirgindir (12). Bu nedenle, sadece klinik nedenlerle erken tanı konulmayabilir. Bulgular bireyin erkek veya dişi olmasına, premutasyon ya da full mutasyon taşımasına, yeni doğan, çocukluktan erişkinliğe geçiş sürecinin öncesinde veya sonrasında olmasına göre değişlik gösterebilir (12) (13-15). FraX’lı erkeklerin davranışları, özellikle çocuklukta, fiziksel özelliklerden daha tutarlı ve tanısaldır (16). Tablo 1’de FXS’da gözlenen fenotipik özelliklerin görülme yüzdeleri ve tablo 2’de FXS’da gözlenen 10 fiziksel özellik verilmiştir.

Yeni doğanlarda Frajil X tanısı oldukça zordur. Frajil X bebeklerin kardeşlerine göre daha kilolu doğdukları ve baş çevresini normalden fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bunların dışında göz etrafında belirgin önemli bulgulardan biridir (15). Frajil X bebeklerde beslenme güçlü, sinirlilik ve kucağa alınmaya karşı hassasiyet olduğu gözlemlenmiştir (11, 13, 15).



Tablo 1: FXS'da gözlenen fenotipik özelliklerin görülme yüzdeleri (15, 17).

<b>Fenotipik Özellikler</b>	<b>Görülme Yüzdeleri (%)</b>
<b>Mental retardasyon</b>	100
<b>Dışa çıkık büyük kulak</b>	95
<b>Makroorşitizm (Büyük testis)</b>	84
<b>Düz taban</b>	83
<b>Aile Öyküsü</b>	74
<b>Hiperaktivite</b>	74
<b>Dokunmaya tepki</b>	63
<b>Kısa dikkat</b>	63
<b>Hiperekstansibilite</b>	58
<b>Sürekli konuşma</b>	53
<b>El sallama</b>	47
<b>Soluk mavi göz</b>	42
<b>Elini ısırma</b>	37
<b>Göz göze gelememe</b>	37

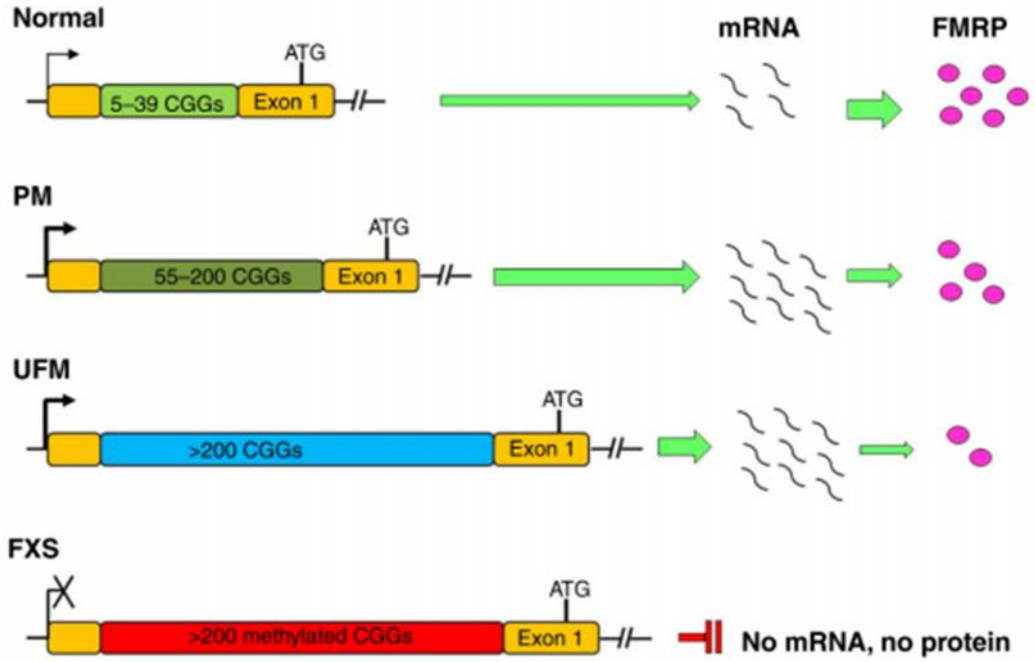
Full mutasyonlu erkeklerin tümünde mental retardasyon görülür. Belirgin belirtiler ergenlik dönemi öncesi ve sonrasında farklılık gösterebilir. Örneğin; dar ve uzun yüz fenotipi ergenlik öncesinde nadiren görülürken, ergenlik sonrasında belirginleşir. Aynı şekilde ergenlik öncesi bulgulardan biri olan hiperaktivite ergenlik sonrasında azalır. Makroorşitizm, erkek ergenlerde veya FXS'li erkeklerde en dikkat çekici fiziksel özelliktir. 8 ya da 9 yaşında gelişmeye başlar ve testisler 16 ya da 17 yaşına kadar en büyük boyutlarına ulaşır. Makroorşitizm 30 ml veya daha fazla testis hacmi olarak tanımlanabilir ve FXS'li yetişkin erkeklerin %80-90'ında görülür (17). Ergenlik öncesi dönemde fiziksel bulgulara kıyasla davranışsal bulgular tanıda daha etkilidir (15).

Full mutasyon taşıyıcısı Frajil X kadınların fenotipleri oldukça farklılık gösterebilir. Full mutasyonlu frajil X kadınların %50'sinde mental retardasyon görülür. Frajil X full mutasyonu erkeklerde görülen fenotipik bulgular mental retardasyonlu heterozigot kadınlarda da görülür (15). Frajil X kadınlardaki mental retardasyonun derecesi ve klinik bulgu farklılıkları X inaktivasyonu ile açıklanabilir. Klinik olarak daha az semptomlar gösteren kadınlarda frajil X mutasyonu açısından aktif X kromozomu sayısı yüksektir (15, 18).

Kadınlarda zihinsel bozulma derecesi sadece CGG tekrarlaması ile değil, aynı zamanda X inaktivasyon oranı ile de ilgilidir; yani normal ( kırılğan

olmayan) X kromozomuna sahip hücrelerin aktif olarak yüzdesi etkilidir (18). Premutasyon ve tam mutasyon alelleri farklı fenotiplere yol açar, çünkü tekrar genleşmenin FMR1 gen ekspresyonu üzerinde farklı etkileri vardır. Premutasyonlu aleller, genin transkripsiyonunun artmasıyla (ve FMRP'nin hafif azalmasıyla) ilgili kilidir ve fonksiyon kazancı olan bir patojenik mekanizmaya sahiptir; hastalık belirtileri, uzun CGG genleşmesini içeren yüksek mRNA seviyelerinin zararlı sonuçlarından kaynaklanır. Son olarak, metillenmemiş bir tam mutasyon (UFM) taşıyan normal zekaya sahip nadir kişilerde benzersiz bir durum tanımlanmıştır, yani, CGG tekrarının 200 tekrarın ötesine genleşmesine rağmen, FMR1 promotörü aktif kalmaktadır ve mRNA, premutasyon taşıyıcılarda olduğu gibi artar (19-21). FMR1 lokusundaki transkripsiyonel aktiviteye genel bir bakışta, farklı alel sınıflarında verilmemiştir (22) (ekil 1).

Frajl X sendromu açısından heterozigot tek yumurta ikiz kız kardeşlerden biri mental retardasyonlu iken diğeri normal olarak tespit edilen iki olay olgusu rapor edilmiştir. Kız kardeşlerin her ikisinde sitogenetik olarak frajl X ekspresyonu %7 olarak görülüyor. Ancak normal kardeş hücrelerin yalnızca %30'unda aktif X kromozomunun frajl olduğu, mental retardasyonlu kardeş hücrelerin %85'inde aktif X kromozomunun frajl olduğu belirlenmiştir (23).



ekil 1: Dört FMR1 alel sınıfı: normal (5–39 CGG), erken (PM, 55–200 CGG), metillenmemi tam mutasyon (UFM, metilasyon olmadan > 200 CGG) ve tam mutasyon (Sitosin metilasyonlu FM, > 200 CGG)). Oklar, transkripsiyonel başlangıç bölgesini gösterir. Polimorfik CGG tekrarı, ekson 1'in çevrilmemesi kısmındadır.

Tablo 2: FXS'da gözlenen 10 fiziksel özellik (15, 24).

<b>Uzun, ince yüz</b>
<b>Dışa çıkık ve büyük kulaklar (&gt;7 cm)</b>
<b>Geniş baş çevresi</b>
<b>Yüksek kavisli damak</b>
<b>Düz taban</b>
<b>Hiperekstansibil parmak eklemleri</b>
<b>Çift eklemlili başparmak yada başparmaklar</b>
<b>Elde nasırlar</b>
<b>Tek el çizgisi (sidney veya simian çizgisi)</b>
<b>Kalpde üfürüm</b>

2017 yılında Chandrasekara, Wijesundera (25) ve arkadaşlarının 850 çocuk ile yaptığı çalışmaya göre özel eğitim görenler arasında, otizm ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu riski yüksek olan FXS prevalansı %1.3 olarak tespit edilmiştir. Saldarriaga, Forero-Forero (26) ve arkadaşlarının 2018 yılında Kolombiya'nın Richure kasabasında toplam popülasyonun %78'ini oluşturan 502

erkek ve 424 kadın olmak üzere toplam 926 bölge sakini ile yapılmış bir FXS taramasında toplam 926 örnekten 33'ünde FM (11 kadın ve 22 erkek), 25'inde bir premütasyon aleli (20 kadın ve 5 erkek) ve 27'sinde gri zone aleli (22 kadın ve 5 erkek) tespit edilmiştir.

Hunter, Rivero-Arias (27) ve ark. (2014), rastgele etkiler istatistiksel bir model kullanarak FMR1 alel taşıyıcılığı prevalansının bir meta-analizini yaparak ve 5582 denek için hesaplanan 54 makaleyi içeren bir derlemeyle bu konuyu ele almıştır. Çalışmada, FM alel taşıyıcılığının prevalansını 1000 erkek başına 0,14 ve 1000 kadın başına 0,09 olarak vermiştir. PM alellerinin prevalansı, 1000 erkekte 1,17 ve 1000 kadında 3,44 olarak bulunmuştur.

Strom, Crossley (28) ve ark. 2007 yılında beklenmeyen bulguları tespit etmek ve genetik danışmanlığı optimize etmek için belirtildiği gibi klinik veriler elde etmek için 119.000'in üzerinde Fragil X Sendromu testinden ve 307 prenatal testten gelen verileri incelemiştir (Tablo 3). Bunu yaparken 1992 ile 2006 arasında gerçekleştirilen 119.232 ardışık doğum sonrası ve 307 doğum öncesi FXS testi içeren tescilli bir veri tabanını sorgulamıştır. Erkekler için yapılan 59.707 testten %1,4'ünde full mutasyon, kadınlar için yapılan 59,525 testten %0,61'i full mutasyon ve %1,7'si premütasyon, toplam taşıyıcılığı %1,3 olan bir premütasyon FMR1 aleline sahiptir. Fetüsler genetik olarak bir maternal alelli miras aldığı anda, tam etkilenen bir alelle genleşme riski, <50, 50-75, 76-100 ve >100 tekrar olan aleller için sırasıyla %0, %5, %30 ve %100 olmuştur. FMR1 geninin 1991'de tespit edilmesinden bu yana, genleşme riskleri yalnızca maternal tekrarlamaya dayanmaktadır (29). Tablo 4, 45-90 tekrarlı, 918 maternal alel transmisyonu arasındaki tam mutasyon genleşmelerini özetlemektedir.

Tablo 3: 1992-2006 yılları arasında gerçekte tirilen FMR1 testinin özeti Strom, Crossley (28)

	<b>Kadınlar</b>	<b>Erkekler</b>
<b>Full Mutasyon, &gt;200</b>	364 (%0,61)	862 (%1.4)
<b>Premutasyon, 55-200</b>	1,008 (%1,7)	333 (0.56)
<b>Gri zone, 45-55</b>	1,283 (%2.2)	518 (%0,87)
<b>Normal, &lt;45</b>	56,870	57,994
<b>Toplam</b>	59,525	59,707

Tablo 4: Anne tekrarı boyutuna göre tam mutasyon açılımları (29).

<b>Anne tekrar boyutu</b>	<b>Tam mutasyon / toplam yayın</b>	<b>%</b>
<b>45-49</b>	0/98	0
<b>50-54</b>	0/102	0
<b>55-59</b>	1/197	0.5
<b>60-64</b>	2/115	1.7
<b>65-69</b>	6/85	7
<b>70-74</b>	18/84	21
<b>80-84</b>	60/96	62
<b>85-90</b>	34/42	81
<b>Total</b>	168/918	18

Tablo 1: DNA tabanlı tekniklerle belirlenen erkeklerde frajil X sendromunun prevalansı (30, 31)

Kısaltmalar: Özel eğitim veya özel okullar (SpEd), zihinsel gerilik (MR), öğrenme bozukluğu (LD), dikkat eksikliği / hiperaktivite bozukluğu (DEHB), dikkat eksikliği (AD). a Zhong ve diğ., yayınlanan yazıdaki erkekler ve kadınlar arasında ayırım yapmamıştır. Tablo 5'te sunulan sayılar Dr. Zhong ile kişisel iletişimden alınmıştır. b Turner ve diğ. bir nokta tahmininde verilmiştir. c Arvio ve diğ. yalnızca geçmiş sitogenetik ve DNA bazlı testlere dayanan bir aralık sağlamıştır. d Morton ve diğ. yalnızca bir nokta tahmini sağlamıştır. e Mazurczak ve arkadaşları, bir nokta tahmini değil, yalnızca bir aralık sağlamıştır. f Jacobs ve arkadaşları yalnızca bir nokta tahmini sağlamıştır. g Millan ve arkadaşları, bir dizi, bir nokta tahmin edilebilmesini sağlamaktadır. Millan ve arkadaşları aynı zamanda hafif MR'lı kişilerin kaçırılması olabileceğini, bu nedenle menzilin 1 / 5.000–1 / 6.800'e kadar çıkabileceğini kabul etmişlerdir. h Slaney ve arkadaşları, bir puan tahmini değil, yalnızca daha düşük bir sınır sağlamıştır.

Ülke	Hedef kitle	Pozitif / No. test edilmi	Tahmini yaygınlık	Tahmini yaygınlık	Kullanılan Yöntem
			Hedef Nüfus %	Genel Nüfus (%95 CI)	
<b>Birleşik Krallık (Wessex) (32, 33)</b>	SpEd popülasyonu (5-18 yaş), Bilinmeyen etiyoloji	20/3,738	SpEd: 0.5	1/5,530 (1/8,992–1/4,007)	PCR+ Southern Blot
<b>ABD (Atlanta, Georgia) (34, 35)</b>	SpEd nüfus (yaşları 7- 10 yaş), etiyoloji gözlemlenmemiş	Kafkas: 4/1,572  Afrikalı- Amerikalı: 3/752	Kafkas SpEd: 0.3  Afrikalı-Amerikalı SpEd: 0.4	Kafkas: 1/3,717 (1/7,692–1/1,869)  Afrikalı-Amerikalı: 1/2,545 (1/5,208–1/1,289)	PCR+ Southern Blot
<b>Güneybatı Hollanda (36)</b>	MR için okullar ve enstitüler, bilinmeyen etioloji	9/866	Hafif MR: 2.0 Orta / iddetli MR: 2.4	1/6,045 (1/9,981–1/3,851)	PCR+ Southern Blot
<b>Yunanistan ve Kıbrıs'ın Yunan nüfusu (37)</b>	Ba vurulan idiyopatik MR popülasyonu	8/611	MR: 1.3	1/4,246 (1/16,440–1/1,333)	PCR+ Southern Blot
<b>Avustralya (Sidney)(38, 39)</b>	SpEd' de MR'lı Çocuklar	10/472	MR: 2.1 Hafif MR: 0.6 Orta/ iddetli MR: 5.4	1/4,350 <sup>b</sup>	
<b>Fransa (40)</b>	MR DSM-III-R sınıflamasına sahip çocuklar	10/403	MR: 2.5 Hafif MR: 1.4 Orta/ iddetli MR: 3.6		PCR+ Southern Blot
<b>ABD (Baltimore, Maryland)(41)</b>	Okul öncesi çocuklar dil gecikmesi için ba vurular	1/379	Dil gecikmesi: 0.3		PCR+ Southern Blot
<b>Çin (anakarta ve Hong Kong)(42)</b>	MR ile klinik olarak yönlendirilen veya SpEd içinde olan kişiler	31/902 <sup>a</sup>	MR: 3.4		PCR+ Southern Blot

<b>Hindistan (Delhi) (43)</b>	MR ile klinik olarak yönlendirilen çocuklar, bilinmeyen etyoloji	19/360	MR: 5.3		Sitogenetik, Southern Blot
<b>Güney Håme, Finlandiya (44)</b>	MR ile Güney Håme Bakım Örgütü'ne kayıtlı yeti kin erkeklerde (> 16 ya ) , bilinmeyen etiyoloji	6/344	MR: 1.7	4,400 <sup>c</sup>	
<b>Finlandiya (45)</b>	MR ile klinik olarak yönlendirilen ki iler	15/305	MR: 4.9		
<b>ABD (Colorado) (46)</b>	SpEd popülasyonunda hedeflenen "yüksek riskli" çocuklar (2-18 ya ları arasında MR, otizm, LD, DEHB, aile öyküsü)	1/299	SpEd: 0.3		PCR+ Southern Blot
<b>Japonya (47)</b>	MR ile kurumsalla mı ki iler	8/298	MR: 2.7		PCR+ Southern Blot
<b>Endonezya (özellikle Javanese) (48)</b>	Hafif geli imsel gecikme için okullar, sitogenetik anormallik yok	5/262	Hafif MR: 1.9		Southern Blot
<b>Yunanistan ve Kıbrıs'ın Yunan nüfusu (49)</b>	Ba vurulan idiyopatik MR popülasyonu	4/257	MR: 1.6 Orta/ iddetli MR: 2.9 Derin MR: 3.6		Sitogenetik, Southern Blot
<b>Brezilya (50)</b>	Zihinsel engelliler için okullar	5/256	MR: 2.0 Hafif MR: 2.3 Ciddi MR: 1.6		PCR+ Southern Blot
<b>Japonya (51)</b>	MR veya psikomotor geli imsel gecikmesi olan ve klinik olarak yönlendirilen erkekler	2/256	MR: 0,8		PCR+ Southern Blot
<b>Hong Kong (52)</b>	Hafif MR'lı ki iler, bilinmeyen etiyoloji	1/243	Hafif MR: 0.4		PCR+ Southern Blot
<b>Birle ik Krallık (Coventry) (39, 53, 54)</b>	MR veya kurumlarda MR olan çocuklar	6/219	MR: 2.7 Hafif MR: 1.3 Orta/ iddetli MR: 6.7	1/4,090 <sup>d</sup>	Sitogenetik, Southern Blot
<b>ili (55)</b>	SpEd'de, etiyolojisi bilinmeyen MR'lı çocuklar; dı lanan derin MR	4/214	MR: 1.9		Sitogenetik, Moleküler yöntemler
<b>Tayvan (56)</b>	SpEd'de veya özel günlük bakım merkezlerinde kayıtlı,	4/206	MR: 1.9 Hafif MR: 3.8 Orta/ iddetli MR: 0.8		PCR+ Southern Blot

	etiyojisi bilinmeyen MR'li ki iler				
<b>Polonya (Var ova) (57)</b>	MR'da kurumlarda veya SpEd'de erkekler	6/201	MR: 3.0	1/2,857–1/5,882 <sup>e</sup>	PCR+ Southern Blot
<b>Güneybatı Hollanda (58)</b>	Klinik olarak MR olan ve bilinen bir frajil X öyküsü olmayan ki iler	10/197	MR: 5.1		PCR+ Southern Blot
<b>ABD (Yeni Meksika) (59)</b>	Klinik olarak MR veya davranı bozuklu u olan ki iler, bilinmeyen etiyojisi	10/188	MR: 3.7 LD: 1.1 Hiperaktivite / AD: 0.5		PCR+ Southern Blot
<b>spanya (60)</b>	SpEd'de MR'lı ki iler	11/182	MR: 6.0		PCR+ Southern Blot
<b>Birle ik Krallık (Wessex) (61)</b>	SpEd popülasyonu (5-18 ya ), bilinmeyen etiyojisi	4/180	SpEd: 2.2	1/8,918 <sup>f</sup>	Sitogenetik, PCR+ Southern Blot
<b>spanya (62)</b>	SpEd'de veya klinik olarak bilinmeyen etiyojide MR ile ba vuran; MR'da bilinen aile öyküsü yok	5/180	MR: 2.7	1/6,200–1/8,200 <sup>g</sup>	PCR+ Southern Blot
<b>Türkiye (63)</b>	Klinik olarak geli imsel yetersizli i olan çocuklar	5/166	MR: 3.0		PCR+ Southern Blot
<b>Guadeloupe, Fransız Batı Hint Adaları (64)</b>	SpEd popülasyonu, bilinmeyen etyojisi	11/163	SpEd: 6.7	1/2,359 (1/4,484–1/276)	PCR+ Southern Blot
<b>Güney Afrika (65, 66)</b>	diyopatik MR ile kurumsalla mı erkekler (siyahlar)	9/148	MR: 6.1 Hafif MR: 4.2 A ır MR: 7.8		PCR+ Southern Blot
<b>Birle ik Krallık (67)</b>	Kurumsalla mı ö renme güçlü ü olan erkekler, bilinmeyen etiyojisi	1/138	LD: 0,7		Southern Blot
<b>Birle ik Krallık (Oxfordshire) (68)</b>	Okullarda çocuklar için orta ila iddetli ö renme güçlü ü, bilinmeyen etiyojisi	4/103	MR: 3.9	1/4,130 <sup>h</sup>	Sitogenetik, Southern Blot
<b>Tayland (69)</b>	Çocuklar geli imsel gecikme veya MR, bilinmeyen etiyojisi	5/94	MR: 5.3		PCR+ Southern Blot
<b>Hindistan (Yeni Delhi) (70)</b>	Kırılgan bir X kontrol listesinde %40'ın üzerinde puan alan etiyojisi bilinmeyen	9/93	MR: 9.7		



	MR'li kurumsalla mı ki iler				
<b>spanya (71)</b>	diyopatik MR'lı kurumlarda veya SpEd'de bulunan ki iler	8/92	MR: 8.7		
<b>Brezilya (72)</b>	Kurumsal MR, iddetli MR, bilinmeyen etiyoloji	0/83			Sitogenetik, PCR+ Southern Blot
<b>Hırvatistan (73)</b>	Bilinmeyen etiyolojide MR, pozitif bir aile öyküsü ve en azından frajil X sendromunun fiziksel ve / veya davranı sal karakteristi i temelinde, klinik olarak frajil X DNA analizi için önceden seçilmi çocuklar	14/81	17.3		PCR+ Southern Blot
<b>Meksika (74)</b>	Klinik olarak MR ile ba vuran çocuklar, etiyolojisi bilinmiyor	2/53	MR: 3.8		Sitogenetik, PCR+ Southern Blot

### 3.2. Premutasyon

“Ta ıyıcı” terimi, kırılğan X genini etkilenen o ullara geçiren klinik olarak “etkilenmemi ” kadınları tanımlamak için geleneksel olarak kullanılmı tır

Frajil-X mental retardasyon 1 (FMR1) geninin premutasyon alellerinin ta ıyıcıları (55–200 CGG tekrarları) genellikle klinik olarak negatif kabul edilir. Bununla birlikte, bu tür bireylerin üç farklı klinik bozukluk (veya daha fazla) ile ili kili olabilece i açıktır bunlar; hafif bili sel ve / veya davranı sal eksiklikler; frajil X ili kili erken yumurtalık yetmezli i; ve ileri ya yeti kin ta ıyıcılarda, yeni tarif edilen nörodejeneratif bir bozukluk olan frajil X ile ili kili tremor / ataksi sendromudur (FXTAS) (75).

FMR1 geninin primer over yetmezli i ile olan ili kisi 1999'daki pedigri çalı malarında ortaya çıkmı tır. Premature ovarian failure (POF) yani erken yumurtalık yetmezli i olarak isimlendirilen bu durum Frajil X ile ili kilendirildikten

sonra Fragile X Associated Primary Ovarian Insufficiency (FXPOI) olarak isimlendirilmiştir. Ardından yapılan çalışmalarda Hagermanet, Fragile X Associated Tremor/ Ataksia Syndrome (FXTAS) yani frajil X ili kili tremor / ataksia sendromu denen FMR1 premutasyonu ile ili kili bir nörolojik hastalığı tanımladı (76).

Premutasyona sahip bireylerin çoğu normal entelektüel yeteneklere sahip olsada, bazı çocuklar, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, utangaçlık, sosyal kaygı ve otizm spektrum bozuklukları gibi bulgular gösterebilirler (77). Premutasyon alelleri FXS'ye neden olmaz, ancak maternal olarak iletildiğinde tam mutasyona geniyleyebilir (78). Premutasyon tekrar aralığından full mutasyona geniyleme çoğunlukla maternal kaynaklıdır. Etkilenen tüm erkekler ve etkilenen kadınların eziği çoğunluğunda, mutasyonlarını annelerinden devralır. Anneler ya bir premutasyon ya da tam mutasyona sahiptirler (79). Full mutasyona geniyleme maternal mayoz yada erken embriyogenezis esnasında meydana gelir (80). Taıyıcı erkeklerden kızlarına tam mutasyona geniyleme riski nadirdir, ancak bildirilmiştir (81). Tek bir jenerasyonda full mutasyona geniylemi en küçük FMR1 aleli 56 tekrardan oluşur (82). FMR1 premutasyonu yaklaşık 1: 800 erkek ve 1: 100-200 kadınlarda görülür. Premutasyon fenotipi oldukça değişkendir ve genellikle mental retardasyon ile ili kili değildir (83).

Premutasyon olan erkekler, normal zekâ düzeyine sahip olup klinik olarak normaldir ve kromozomal frajil bölge gözlenmez. Böyle klinik olarak normal hemizigot erkekler, orijinal olarak “transmitting males” olarak adlandırılır.

Premutasyon taşıyıcısı kadınlar, genellikle normal zekaya sahiptir ve klinik olarak normaldir. Ayrıca erkeklerde olduğu gibi kadınlarda da kromozomlarda frajil bölge gözlenmez.

Saldarriaga, Forero-Forero (26) ve ark yaptığı çalışmaya göre tüm popülasyon içinde, FM'nin tahmini taşıyıcı sıklığı erkekler arasında 1000 kişi başına 48,2 ve kadınlar arasında 1000 kişi başına 20,5 olarak hesaplanmıştır. Tablo 6 da Premutasyon aralığı referans alınan bazı araştırmalar ve sonuçları yer almaktadır.

Tablo 2: Premutasyon Yaygınlığı Üzerine Yayınlanmış Çalışmalar (41).

REFERANS	PREVELANS (YAYGINLIK)	PREMUTASYONLU B REY SAYISI	ÖRNEKLEM	ÇALI ILAN LOKASYON	ÇALI MA TÜRÜ
<b>ERKEKLER</b>					
Fernandez-Carvajal et al. (2009)	1 in 251	21	5,267	Ispanya	Yeni doğan taraması
Dombrowski ve di . (2002)	813'de 1	13	10572	Fransız Kanadalı	Kan örnekleri
Rife ve di . (2003)	1.233'de 1	4	5000	Ispanya	Yeni doğan taraması
Tzeng ve di . (2005)	1.674'te 1	6	10046	Tayvan	Yeni doğan taraması
Otsuka ve di . (2010)	-	0	513	Japonya	Sa lıklı gönüllüler
Song ve di . (2003)	643'te 1	31	19929	-	Literatür incelemesi
<b>D LER</b>					
Toledano-Alhadev ve di . (2001)	113'te 1	113	14334	srail	Ailesinde MR öyküsü olmayan gebeler
Berkenstadt ve di . (2007)	157'de 1	255	40079	srail	Ailesinde MR öyküsü olmayan gebeler
Rousseau ve di . (1995)	259'da 1	41	10624	Fransız Kanadalı	Kan örnekleri
Otsuka ve di . (2010)	-	0	324	Japonya	Sa lıklı gönüllüler
Song ve di . (2003)	149'da 1	321	47712	-	Literatür incelemesi

### 3.3. FMR1 Geni

FMR1 geni, yaklaşık 38 kb genomik DNA'yı kapsayan 17 eksondan oluşan oldukça korunmuş bir genidir. Transkripti yaklaşık olarak 4 kb'lık mRNA boyutundadır (84, 85). Maksimum uzunluğu 632 amino asit ve 80 kDa'luk moleküler kütleyle sahip bir proteini kodlar, ancak alternatif splicing ile farklı transkriptler üretilir (2) (86). Genin 17,15,14 ve 12 ekzonlarının alternatif splicing ile 48 çeşitli transkript oluşturduğunu bilinmektedir (87). İnsanlarda, farelerde ve tavuk gibi birçok canlıda dizisi oldukça iyi korunmuştur (86, 88).

Normalde 6-45 CGG trinükleotidlerin tekrarını içeren bu gen, normal beyin gelişimi için kritik bir protein (FMRP) üretir (89). 'Premutasyon' olarak tanımlanan 55 ila 200 CGG tekrarı arasındaki geni lemeler, önemli FMRP açığına ve belirgin gelişimsel gecikmeye neden olmaz (17) ancak erkek CGG tekrarının boyutu tam mutasyon aralığına genlerse (> 200 tekrar), bu genellikle genin ifade edilememesine ve ayrıca zihinsel bozulmalara neden olan toplam FMRP açığına neden olur (90, 91).

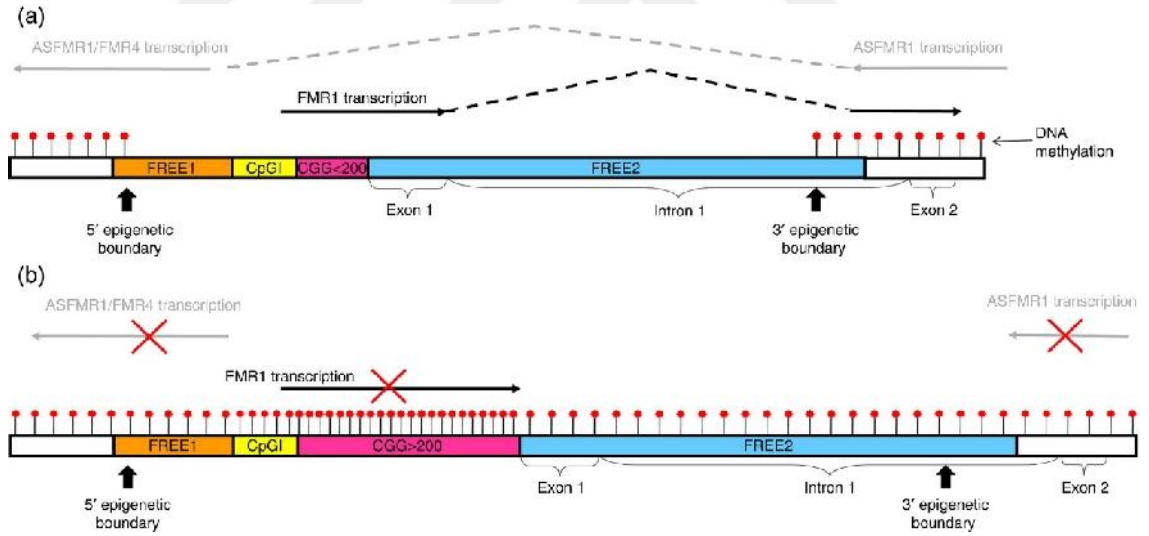
Genin 1. ekzonu içinde ve CpG adasının 250 bazında CGG tekrar bölgesi bulunur. Bu bölge, FMR1 geninin promotörü olarak görev yapmaktadır ve fragil X etkilenmiş bireylerde anormal olarak metillenmiştir. FMR1 genindeki CpG adasındaki bu metilasyon, genin inaktive olmasına sebep olmaktadır (17, 33).

Fragil X mental retardasyon proteini (FMRP) beyinde nöronlarda ve gliada yaygın bir şekilde ifade edilir ve beyin devrelerinde ribozomun durmasını, translasyon kontrolünü ve sinaptik plastisiteyi düzenleyen bir "interactor" olarak görev yapar.

Epilepsi hastalarının %20'sinde fragil X sendromu gözlenmesine karşın, henüz nedeni tam olarak bilinmemektedir. Serebellar vermiş'te meydana gelen bir hasarın olgularda yaygın olarak görülmesinin etiyolojisinin de etken olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, serebellumdaki önemli bir nörotransmitter olan gamaaminobutirik asitin (GABA) reseptör alt ünitesi geninin, Xq27.3'de yer alan fragil bölgeye yakın olması ve bazı epilepsi türlerinin patofizyolojisinde GABA nöronlarının baskılanma eksikliğinin bulunmasından dolayı fragil X mutasyonunun GABA reseptör alt ünite geninin çalışmasını etkilediği düşünülmektedir (76).

### 2.3.1. FMR1 Geni Mutasyonu

Tam mutasyonu olan hastaların yüksek yüzdelere (yaklaşık %40), premutasyon içeren sınırlı sayıda hücreye sahip oldukları için mozaik denir (92). Tam mutasyon CGG geni lemesi, FMR1'in transkripsiyonunu azaltan veya ortadan kaldıran bir dizi epigenetik olayı tetikler. DNA sekansını de i tirmeden FMR1 geni, frajil X mental retardasyon proteininin (FMRP) azalmasına yada yoklu una yol açar (78). CGG'nin uzunlu unun, translyasyon verimi ile ters orantılı oldu u, daha kısa CGG tekrarları ise etkili translyasyona izin verdi i gösterilmi tir (93, 94). Belli bir e i in ötesinde, CGG tekrarlarının uzunlu u hem FMR1 ekspresyonunun artmasına, hem de FMRP üretiminin azalmasına neden olarak translyasyon verimlili ini azaltır (95). FMR1'in transkripsiyonu, do rudan transkripsiyon ba langıç bölgesinin üst tarafında bulunan DNA sekansı olan FMR1 promotöründen kontrol edilir (78) ( ekil 2 ).



ekil 2: Erkeklerde FMR1 promotöründe DNA metilasyonu ve çift yönlü transkripsiyon. (a) CGG tekrarlayan normal FMR1 alelleri olan kişilerde, 44 tekrardan daha küçük tekrarlamaları, promotör bölgesi, 5 ve 3' epigenetik sınırlarla çevrilidir. DNA bu sınırların her iki tarafında da metillenmiş (kırmızı daire) olmasına rağmen, frajil x ilgili eleman (FREE1) bölgesinden (turuncu), CpG adasında (CpGI, sarı), CGG tekrarında (pembe), FMR1 promotöründe hiçbir metilasyon bulunamazdır. 1 ve FREE2 bölgesinin intron 1 kısmı (mavi). (b) Tam mutasyonu olan bireylerin çoğunda, hem 5' hem de 3' epigenetik sınırları, DNA metilasyonu promotör bölgeye hareket ederken kaybolur. İlgili kromatin, CGG tam mutasyon geni lemesi etrafında kapalı bir konformasyon benimseser, böylelikle FMR1 için CpG adası içinde yer alan transkripsiyon faktörü bala ma bölgelerine transkripsiyon faktörünün bala nmasını ve ASFMR1) / FMR4(antisens fmr1/4) için FREE1 bölgesini önler (78).

### 3.4. Frajil X Geneti i

Son yıllardaki çalı malar ile insan gen hastalıklarına neden olan, tekrarlı üçlü tekrar dizilerine sahip olan genlerin, yalnızca mayozda değil, mitoz sırasında da yüksek düzeyde kararsız olabilece i belirlenmiştir. Tekrarlayan bu dizilerin a ırı miktarda artması dominant bir mutasyonla meydana gelir. Frajil X sendromu, Miyotonik distrofi ve Huntington bu tip mutasyona örnek verilebilir (39). Frajil X sendromu sorumlu geni, X kromozomunda yer almasına rağmen sendromun aktarımı klasik X'e ba lı kalıtım modeline uymamaktadır ve özgün karakterler göstermektedir.

PENROSE (96) 1938 yılında erkeklerde kadınlara oranla zekâ gerili i oranının daha fazla olduğunu gözlenmemiştir. Bu gözlemler X'e ba lı kalıtım ile uyumluydu ve literatürde çok sayıda rapor yer aldı (97). Bu erken çalı maya dayanarak, klinik olarak spesifik olmayan bir X'e ba lı MR bozuklu u tanımlandı ve Renpenning'in sendromu, Martin-Bell sendromu veya spesifik olmayan bir X'e ba lı MR olarak adlandırıldı (16). FraX alt grubu benzersizdi çünkü tanısal bir laboratuvar testi vardı; Martin-Bell sendromu ismi, ilk kez 1943'te tarif edilen bu ailenin fraX için olumlu olduğu ortaya çıktı nda eklenmiştir. Bununla birlikte, bu hastalı ın popüler adı frajil (kırılgan) X sendromu oldu. Martin and Bell (98) 1943 yılında bir hipotez öne sürdüler. Bu hipoteze göre; frajil (kırılgan) X tanılı erkek çocukların dedelerinin etkilenmemesinin sebebinin çe itli baskılayıcı faktörler olabilece iydi. Daha sonra 1959 yılında Lubs (99), üç nesilde etkilenmi bireyler olan ailede marker kromozom tespit etti ve zihinsel gerili e bu bölgenin ya da bu bölge ile ilgili resesif bir genin sebep olduğunu iddia etti..

FraX'i miras alan bazı erkeklerin klinik olarak normal olduğunu, ancak bozuklu u normal kızlarına geçirdi i ve sık sık torunları etkiledi i belirlenmiştir. "Transmitting male" (TM) terimi, bu gibi etkilenmeyen taşıyıcı erkekleri tanımlamak için kullanıldı. Sherman (100) ve arkadaşları tarafından (1985); hasta bireylerin aileleri ile yapılan pedigrî analizlerinde hastalı ın, görülme oranlarında önemli farklılıklar tespit etmişlerdir. Klinik olarak etkilenmi ve sitogenetik olarak pozitif erkek olguların anne ve babalarının fenotipleri ve sitogenetik analiz sonuçları normaldi. Normal taşıyıcı erkek dediğimiz bu erkeklerin erkek çocukları normal ancak, kızların erkek çocuklarının %79'u ve erkek kardeşlerinin %18 oranında hastalık riski taşıdığı tespit

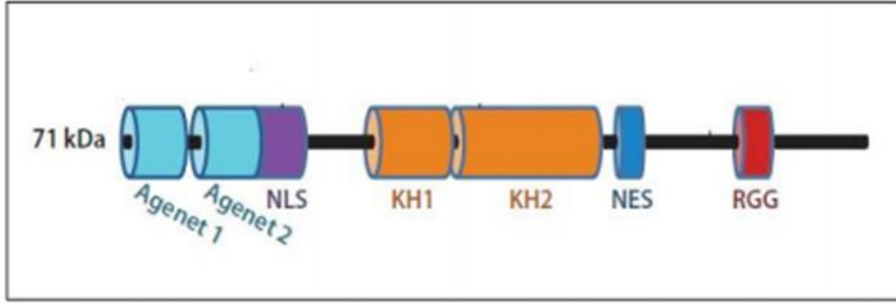
edildi. (76). Bu durum, **Opitz (1986)** tarafından "Sherman paradoksu" olarak isimlendirildi.

FXS'li bireyler tam mutasyon alelini annelerinden alırlar, çünkü tam mutasyon erkeklerinden gelen sperm sadece premutasyon alelleri taşıyor; ancak bazı raporlar, asemptomatik erkeklerin, tam mutasyonu yavrulara aktarabildiğini göstermektedir (81). Sherman paradoksunun çözülmesiyle, artık bir premutasyon büyüklüğünde tekrarın dişi germline'den geçerken genileme eilimi olduğu ve ortaya çıkan genilemenin boyutunun maternal tekrar boyutu ile pozitif ilişkili olduğu bilinmektedir (101, 102).

### **3.5. FMR1 Geni Proteini (FMRP)**

FMRP hnRNP (heterojen nükleer ribonükleoproteinler) olarak adlandırılan RNA bağımlı protein ailesinin üyesidir (88, 103). FMRP lokalizasyonu sitoplazmadır (104). FMRP'nin, KH domainlerine ve RGG kutuları barındırdığı belirlenmiştir (76). Bunlar RNA-bağımlı proteinlerde mevcut olan özerk motiflerdir ve bu diziler, RNA'ya bağlanma noktaları olarak bilinmektedir (76). Ayrıca nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) ve nükleer tanıma sinyali (NES) içerirler (105, 106). Bu sayede FMRP, çekirdek ve sitoplazma arasında taşınabilir. FMRP hedef mRNA'ların taşınması ve translasyonunun düzenlenmesinden sorumludur (107, 108). FMRP amino ucunda A-genet domaini denen kromatin yapısının düzenlenmesinde rol oynayan 2 adet domain bulundurmaktadır (109) (ekil 3).

FMRP, haberci ribonükleer partikülleri (mRNP) ile kompleksler oluşturur ve çeviri ribozomları (110-112) ile ilişkili kildir. RNP partikülleri çekirdekte oluşturulduğundan, bu gözlem ayrıca FMRP'nin çekirdek ve sitoplazma arasında yer değiştirdiği hipotezini desteklemektedir. FMRP olmadığında veya eksik olduğunda, tam mutasyonu olan kişilerde olduğu gibi, diğer gen mesajlarının hem aktarımı hem de düzenli translasyonu meydana gelir (113).



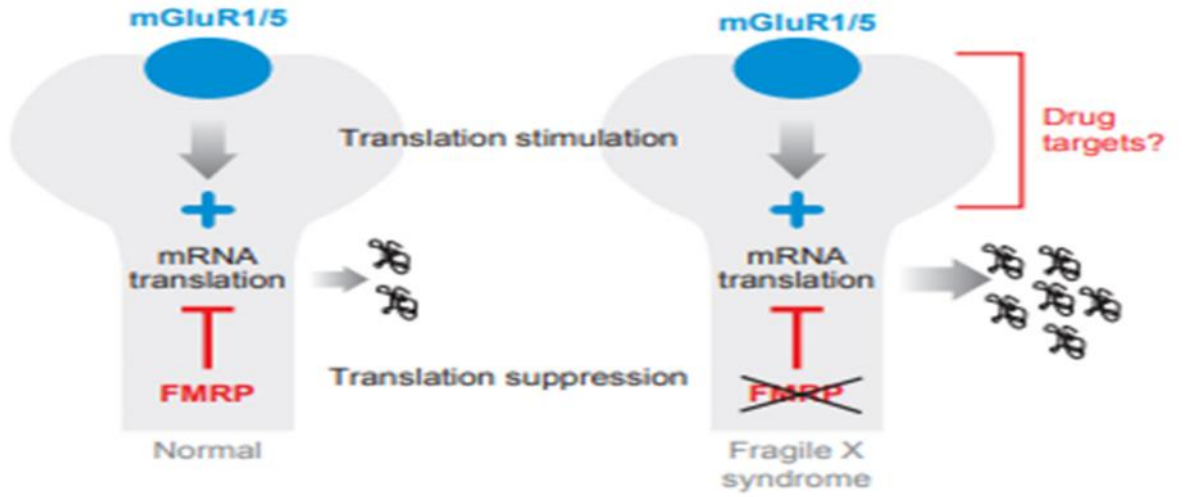
ekil 3:FMRP'nin sahip oldu u domainler(88).

FMRP genellikle sitoplazmik olmasına rağmen sitoplazma ve çekirdek arasında hareket halindedir (110, 114). Çalışmalarında FMRP'nin taşıdığı spesifik mRNA'nın mevcudiyetine bağlı olarak çekirdek içine girip ilgili mRNA'ya bağlandıktan sonra onun taşınmasını veya regülasyonunu sağladığı gözlemlenmiştir (107).

Laggerbauer, Ostareck (115) ve arkadaşları, FMRP'nin, ribozomun 80S alt biriminin hedef RNA'lara monte edilmesini önleyerek çeviriyi baskıladığını göstermiştir.

FMRP bir translasyon baskılayıcı olduğundan ve uyarıcı yolağın mGluR5 aktivasyonu lokal protein sentezini uyardığından, FMRP'nin yokluğu mGluR5 sinyalleme tarafından translasyonun görünür artırılmasına yol açar (116). Bu dengesizlik, Sinaptik plastisite açısından temel sonuçları olan mGluR5 antagonistleri ile karşılanabilir (2) ( ekil 4).





ekil 4: Sinaptik plastisitenin modüle edilmesinde kırılğan X mental retardasyon proteininin (FMRP) rolü. Grup I metabotropik reseptörlerin (mGluR) aktivasyonu, sinapslardaki spesifik mRNA'ların çevrilmesini uyarır. FMRP normal olarak böyle bir ifadeyi düzenleyen bir translyasyon baskılayıcısı olarak i lev görür; Bununla birlikte, FMRP'nin yoklu unda, bu tür mesajların a ırı ifadesi bulunur (2).

Ashley ve Warren (1995) izole ettikleri proteinin kendi mRNA'sı da dahil olmak üzere beyin mRNA'sının %4'üne ba landı ını göstermi lerdir (117). nsan ve fare dokularında yapılan ekspresyon çalı maları, FMR1'in, beyne, testislere, yumurtalıklara, özofageal epitel, timus, dalak ve gözde lokalize oldu unu göstermi tir (118, 119).

FMR1 geninin ekspresyonu ve FMRP seviyelerinde de önemli farklılıklar olabilir. Bazı hücrelerin öncül oldu u ve di er hücrelerin tam mutasyona sahip oldu u mozaik desenler olu abilir. Premutasyon aralı na sahip hücreler, FMRP'nin önemli seviyelerini üretmektedir, bu nedenle mozaikli i olan bireyler, herhangi bir FMRP üretmeyen tam mutasyona sahip bireylerden tipik olarak daha az etkilenir(120-122). Premutasyon ta ıyan bireylerin yakın zamanda, FMR1 geninden normal seviyelerin 2 ila 10 katı arasında de i en yüksek mRNA seviyeleri üretti i ve farklı seviyelerde FMRP üretti i gösterilmi tir (113). Yükselmi mRNA seviyelerinin, özellikle erken ya taki erkeklerde zaman içerisinde merkezi sinir sistemi toksisitesine neden oldu u dü ünülmektedir; bu da Frajil-X ile ili kili tremor ataksi sendromunun (FXTAS) geli imiyle sonuçlanır (123).

### 3.6. Frajil X ve Otizim li kisi

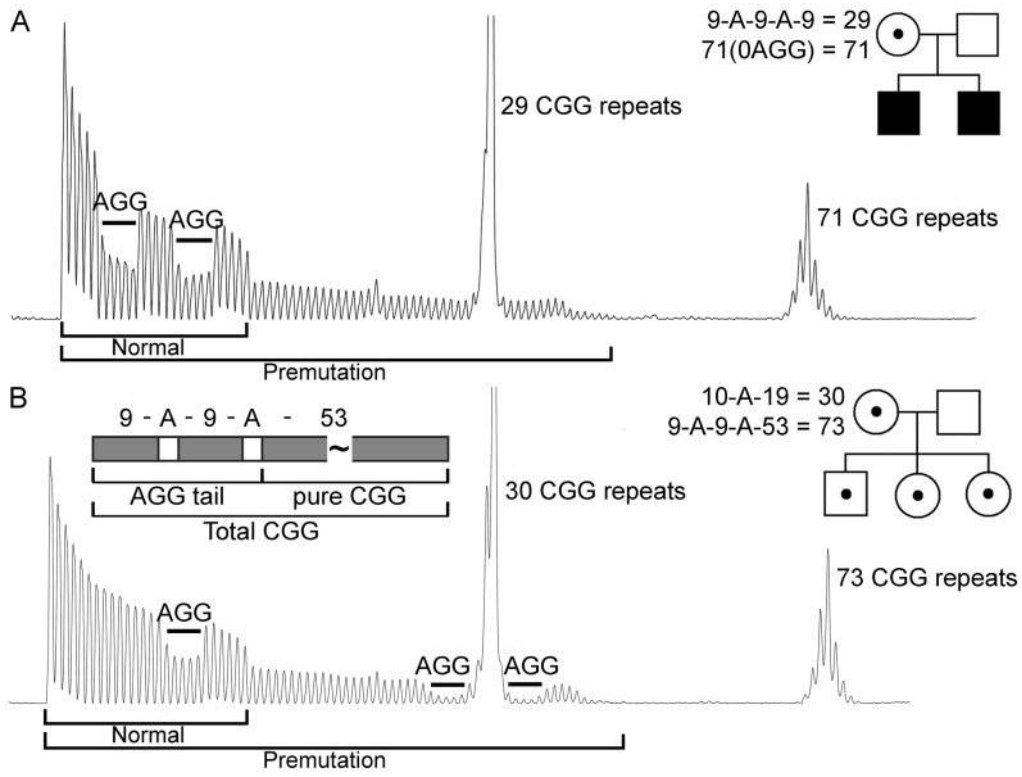
Premutasyon bozukluklarının bir zamanlar yalnızca kırılğan X ile ili kili primer over yetmezli i (FXPOI) ve kırılğan X ile ili kili tremor/ataksi sendromu (FXTAS) içerd i dü ünüldü ü halde, imdi bir premutasyon alelinin ta ıyıcılarının psikiyatrik çe itli tıbbi sorunlara sahip oldu unu biliyoruz (124).

Kırılğan X mental retardasyon proteini, entelektüel sakatlı ın en yaygın genetik nedeni olan ve otizme en büyük genetik katkı yapan FXS'deki nedensel rolü ile iyi bilinmektedir (124). FMRP, sinaptik geli im ve plastisite için önemli olan birkaç genin translasyonunu düzenleyen bir RNA ba layıcı proteindir. Ayrıca, mutasyona u radı ında bu genlerin birço u, genel popülasyondaki otizmle ba lantılı olmu tur; bu, FXS ile otizm spektrum bozuklukları (ASD) arasında var olan yüksek komorbiditeyi açıklayabilir. Ek olarak, premutasyon tekrarı geni lemeleri (55 ila 200 CGG tekrarı), FMR1 mRNA'nın do rudan toksik etkisini içeren farklı bir moleküler mekanizma yoluyla ASD'ye yol açabilir. Hem premutasyon hem de tam mutasyon nöronlarındaki hücresel bozukluklarla ilgili problemlerin ço u, idiyopatik otizmde belgelenen hücresel anormalliklere de paraleldir (125). PM ta ıyıcılarında ASD insidansı ~15% (126) iken, FXS de% 60'dır (127).

### 3.7. AGG Serpilmeleri ve Farjil X li kisi

1991 yılında FMR1 geninin tanımlanmasından bu yana, tam mutasyon geni lemeleri için risk tahminleri maternal tekrar uzunlu una dayanmaktadır. Geni leme riski tekrar uzunlu u arttıkça artar ve aile FXS öyküsünden etkilenir (128). 90'dan büyük CGG'lerin alellerinin% 94'ünden fazlası tam bir mutasyona geni ler (128), 56 tekrarlı bir alel ise, bir ku akta tam bir mutasyona geni ledi i bilinen en küçük tekrar sayısıdır (82) . 1994 yılında, Eichler ve arkadaş ları, FMR1 tekrar bölgesinde serpi tirilmi AGG'lerin stabiliteyi arttırdı nı öne sürmü lerdir (129). Kırılğan X CGG tekrar alelleri genellikle, alel stabilitesini ve ebeveynden çocu a tam mutasyon iletimi riskini etkileyen bir veya daha fazla AGG kesmesi içerir. CGG tekrar bölgesindeki AGG serpilmeleri gibi faktörler, iyi bilinen önemli stabilite unsurlarıdır (29). Genel popülasyonda, alellerin %94'ü, en sık tekrarlanan yolun 5 ucunda tekrarlamının 10. veya 11. ve 20. veya 21. üçlüsü olarak gözlenen bir veya iki AGG

kesintisine sahiptir (29). Buna karşılık, kırılğan X familyalarındaki alellerin 5' ucunda AGG'leri dahil etme olasılıkları daha düşüktür ve 3' ucunda uzun süreli kesintisiz CGG'ler içerirler (29). Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknolojilerindeki son gelişmeler, daha büyük kohort çalışmaları ve kadınlarda AGG durumunun incelenmesini sağlamıştır (128, 130). Bu çalışmalar AGG kesintilerinin kararsızlık ve tam mutasyon genleşmesi riski üzerindeki etkisini doğrulamıştır (131). Yakın zamanda, AGG kesintisi olmayan maternal alellerin, sonraki nesillerde FM'ye kararsız transmisyon riski için daha fazla risk verdiğini ve dolayısıyla AGG genotip çalışmalarının dahil edilmesinin klinik pratikte yararlı olacağı gösterilmiştir (29, 131).



ekil 5: iki kadın premutasyon taşıyıcılığı için CGG-tekrar içeren PCR ürünlerinin elektro-ferogram modellerinin örnekleri, biri normal alelde 2 AGG kesintisi olan (29 CGG tekrar) ve premutasyon alellinde AGG içermeyen (71 CGG tekrarlar) (A) ve biri normalde 1 AGG kesintisi (30 CGG tekrar) ve premutasyon alellinde 2 AGG kesintisi (73 CGG tekrar) (B). AGG'lerin mevcudiyetinin iletime geçme üzerindeki etkisini gösteren, her konu için karılıklı gelen soya ağaçları belirtilmiştir. (Maternal alellde bulunan 2 AGG, 73 CGG) veya tam bir mutasyona (maternal alellde mevcut olan 0 AGG, 71 CGG) yavrular. Her iki kadında, normal ve premutasyon alel uzunlukları, seri pikler olarak gösterilmiştir, her elektroferogramın altında siyah bir çizgi olarak gösterilmiştir. Her alel için AGG kesintilerinin yeri ve sayısı, ekte(makalede bir link ile dosya iniyor) tanımlandığı şekilde belirlendi. Bir FMR1 premutasyon alelinin içindeki toplam CGG-tekrar uzunluğunu (AGG'ler dahil), saf CGG-tekrar uzunluğunu ve AGG-içeren CGG-tekrar "kıvrı" gösteren bir diyagram da gösterilmiştir (132).

“AGG etkisinin” moleküler temeli bilinmese de, FMR1 geninin CGG-tekrar elemanı içindeki AGG kesintilerinin, maternal iletim sırasında tam bir mutasyona tekrar genleme için azalmı e ilim ile ili kili oldu u bilinmektedir (132).

Tablo 3: Maternal CGG Tekrar Numarası Aleline ve AGG Kesintilerinin Varlığına/Yokluğuna Göre Bir FM'ye genleme riski (29, 132, 133).

Alel aralığı	FM allelerine genişleme riski				
	Nolin et al. (2015)		Yrigollen et al. (2012)		
	(CGG) <sub>n</sub>	AGG test edilmedi	(CGG) <sub>n</sub>	AGG kesintileri ile	Saf CGG
Normal	5-39	0%	5-39	0%	0%
IA	40-54	0%	40-54	0%	0%
PM	55-59	0.5%	<59	1%	3%
	60-64	1.7%	60-69	3%	49%
	65-69	7%	70-79	69%	90%
	70-74	21%	80-89	93%	95%
	75-79	47%	90-99	97%	100%
	80-84	62%	>100	100%	100%
	85-90	81%	—	—	—
FM	>200	100%	>200	100%	100%

1999'daki frajil X pedigrisi çalı malarında primer over yetmezli inin FMR1 geni ile ili kili oldu u ortaya çıkarıldı. Bu duruma erken yumurtalık yetmezli i (premature ovarian failure (POF)) olarak adlandırıldı ve daha sonra frajil X erken yumurtalık yetmezli i (fragile X premature ovarian insufficiency (FXPOI)) olarak adlandırıldı.

### 3.8. İnsan Kromozomlarında Kırılğan Bölgeler

Kırılğan alanlar, 1970'lerin sonunda ve 1980'lerin ço u tarafından a a ıdakilerin te vik etti i aktif bir sitogenetik ara tırma alanıydı: Xq27'deki kırılğan bölge ile X'e ba lı zihinsel gerili in arasındaki ba , kırılğan alan ifadesinin do rudan hücre

hazırlıkları (134) için kullanılan doku kültürü ko ullanı ile ili kili oldu u ke fi ve kırılğan bölgeler ile kanser / kanser sitogeneti i arasındaki olası bir ili kidir.

Replikasyon stresi altında metafaz plaklarında boyanmamı bo luklar ve kırıklar olarak görünen özel kromozom lokuslarına kırılğan (farjil) bölgeler denir. 1979'da Sutherland (135), kırılğan bir bölgeyi, genellikle hem kollarda hem de kromatitlerde, belirsiz bir bo luk olarak görünen bir kromozom üzerinde belirli bir nokta olarak tanımlamı tır. Afidikolin, distamisin A, timidin gibi DNA sentezini inhibe eden ajanlar veya folik asitsiz besiyeri kullanımı gibi hücreleri DNA sentezini yava latan süreçlere maruz bırakmak kırılğan bölgelerin açığı a çıkmasını sa lar. Kırılğan bölgeler görülme sıklığı na göre ‘‘sık kırılğan bölgeler’’ ve ‘‘nadir kırılğan bölgeler’’ olarak iki grupta incelenirler.

### **3.8.1. Sık Kırılğan Bölgeler**

Bazı frajil alanlar kimyasal uyarılma ardından ya da spontan olarak olarak birçok insanda ortaya çıkar ve sık kırılğan bölgeler olarak adlandırılırlar. Bu alanlar 1Mb ve 10Mb arasında de i ebilen uzun bölgelerdir. Replikasyon stresi altında çift zincir kırıklarına dolayısıyla da translokasyon, delesyon gibi kromozomal yeniden düzenlemelere yatkın bölgelerdir. Günümüze kadar 200' den fazla sık rastlanan bölge tanımlanmı tır. Bunlardan en sık görüleni 3p14.2' de lokalize olan FRA3B' dir. Folattan eksik besiyeri ya da afidikolin eklenerek DNA polimerazın inhibe edilmesiyle metafaz pla nda kırık görülebilmektedir (136).

### **3.8.2. Nadir Kırılğan Bölgeler**

Nadir frajil bölgelere her bireyde rastlanmaz ve toplumda sıklığı %5' in altında olan bölgelerdir. Bu bölgelerin ço unlu u folata duyarlıdır. Folatsız besiyerinde ya da besiyerine folat metabolizmasını inhibe eden ajanlar eklendi inde görülebilirler. Folata duyarlı bu bölgeler artmı CCG tekrarı içerir ve bu artmı CCG tekrarları CpG adacıklarında hipermetilasyona yol açarak genin baskılanmasına neden olur. Distamisin A ya duyarlı frajil alanlar ise artmı AT tekrarları içerir. Frajil X sendromu ili kili FRAXA, daha nadir görülen X' e ba lı mental retardasyon ili kili FRAXE ve

multipl konjenital anomali sendromu olan Jacobsen Sendromu ile ilgili FRA11B bölgesinde klinik bulgusu olan herhangi bir nadir frajil bölge bildirilmemiştir (136).

FRAXA, ailesel zekâ geriliğinin en yaygın ekli olan frajil X sendromuyla ilgili frajil X'dir (fraX). FRAXE hafif bir X bağlantılı zihinsel gerilik ekli ile ilgili kildir. Her ikisi de nadir, folat duyarlı hassas bölgelerdir.

### 3.9. Frajil X Analiz Yöntemleri

#### 3.9.1. Trinükleotid Tekrarlar

Frajil X sendromu mutasyonuna neden olan mekanizma ilk olarak 1991'de (137, 138) tanımlandı ve mutasyonun, eksprese edilmiş bir sekansın içinde veya yakınında bulunan bir trinükleotid tekrarının genle mesinden kaynaklandığını gösterdi. Bu açıklamadan kısa süre sonra benzer bir mekanizmanın miyotonik distrofiye (DM) ve spinocerebellar ataksi tip 1'e (SCA1) neden olduğunu keşfetti. Bugüne kadar, en az 15 insan hastalığı bir trinükleotid tekrarının genle mesmesiyle ilgili kildir (139, 140).

Trinucleotide tekrarlamaları bozuklukları iki yoldan biriyle sınıflandırılabilir:

- (1) Spesifik trinükleotid sekansına göre
- (2) Kodlama dizisine göre genle mesim konumuna göre

Tablo 8, u anda bilinen dört sınıfı özetlemektedir (139, 140)

Tablo 4: Trinükleotid Tekrarlayan Hastalıkların Sınıflandırılması (139-141).

Class	n	Repeat	Position of repeat	Examples (locus)
1	3	CGG	5' Untranslated region	Fragile X syndrome ( <i>FMR1</i> ) FRAXE syndrome ( <i>FMR2</i> )
2	1	CAG	3' Untranslated region	Spinocerebellar ataxia type 12 (SCA12)
3	2	CTG	3' Untranslated region	Myotonic dystrophy (DM)
3	8	CAG	Inside coding region	Huntington disease (HD) Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) Kennedy disease ( <i>AR</i> )
4	1	GAA	In first intron	Friedreich ataxia ( <i>FRDA</i> )

Bu bozuklukların karakteristik bir özelliği, her nesil daha erken başlangıç yaşı ve artan iddeti gösteren beklentidir. Tüm bozukluklar, otozomal resesif olan Friedreich ataksisi dışında, X'e bağlı veya otozomal dominanttır (16).

### 3.9.2. Sitogenetik Çalışmalar

Kromozomal frajil alanlar, mitoz bölünme esnasında paketlenme sırasında oluşan düzensizlikten dolayı paketlenmesi eksik kalan kromatin bölgelerdir. Kromozomun paketlenmesi esnasında ortaya çıkan bu sorun, kromozomun o noktada güç kaybına dolayısıyla kırılma masına neden olur (142, 143). Frajil alanlar gözlemlendiği kromozom bölgesine göre isimlendirilir (142). Frajil alanlar 51 im bölgesi gösterilir. Örneğin; FRAXA; frajilite, X kromozomu, A bölgesi olarak anılır, FRAXA, fra(X)(q27.3) olarak da bilinir.

Frajil X sendromunun karakteristik sitogenetik görüntüsü olan X kromozomunun uzun kolunun terminalinde q27.3 bant bölgesinde yer alan, kırılmaya eğilimli noktaya kromozomdan ayrı ya da bir ucundan kromozoma bağlı küçük bir parça veya iki kromatit üzerinde bir boşluk, boya almayan bir aralık biçiminde görülür (144).

Kromozomlar üzerinde sitogenetik analiz ile görülebilen kırılma bölgeleri rekombinojeniktirler. Frajilitenin olduğu bölgede, DNA geçi ya da eksik çoalmaktadır. Frajil bölge Xq27 için düşünülen mekanizmalardan bir tanesi bu bölgenin geç çoalmasıdır. Drosophila kromozomlarında frajil bölgeler, replikasyonda geciken veya eksilen bölgelerde meydana gelir. Kromozom paketlenmesi geç replike olan bölgede eksiktir. Bu durum kromozom gap'ına yani kromozom üzerinde aralıklı bölgeye yol açar (144, 145). Xq27'de görülen frajil bölge sendromu ile ilişkilidir.

*FMRI* geninin tanımlanmasından önce, hücrelerin folat eksikliği olan bir ortamda kültürlenmesi ve ardından sitogenetik analiz yapılması FXS tanısı için tercih edilen yöntemdir (146).

Frajil bölge, X'in uzun kolunun telomerik ucuna yakındır ve 16 frajil bölgede çok küçük asentrik parçanın kaybını görmek zordur. Bununla beraber, her zaman gözlemlenmemektedir. X kromozomu üzerinde frajil bölgenin tespiti biraz subjektiftir ve

tecrübeli bir gözlemciye gerek duyulur. Frajil bölge çalı maları, ı k mikroskobu kullanılarak metafaz kromozomları üzerinde yapılır.

Sitogenetik çalı malar klinik olarak nedenin belli olmadığı dismorfik görünümü e sahip veya sahip olmayan tüm mental retardasyon ve geli im gerili i durumlarında önerilmektedir (110).

Bununla birlikte, sitogenetik yakla ımın, X kromozomunun uzun kolundaki “kırılğan bölgelerin” varlı mını de erlendirirken, kırılğan bölgelerin genellikle hücrelerin sadece küçük bir yüzdesinde sıklıkla görüldü ü için zor oldu u kanıtlanmı tır (111).

Bu nedenle, yakla ık 20 yıl boyunca yapılan ara tırmalar, CGG tekrarlarının kırılğanlı ından kaynaklanan farklı sınırlamalara ra men daha da geni letilmi , daha hassas, ço unlukla PCR bazlı moleküler tekniklerin elde edilmesine ve birkaç yakla ımın geli tirilmesine odaklanmı tır. Aslında, u anda FXS tanısı genel olarak CGG tekrar boyutunun ölçülmesine ve FMR1 geninin metilasyon durumunun de erlendirilmesine, esas olarak PCR-temelli yakla ımlar kullanılarak de erlendirilmesine dayanmaktadır (146).

Dördüncü Enternasyonal Frajil X Workshop'unda Frajil X kromozom eldesi ve analizlerinde alınan ortak kararlar belirlenmi tir (15).

En az iki-üç Frajil X indükleyen yöntem paralel olarak kullanılmalıdır.

Erkeklerde en az 100 hücre, kadınlarda ise en az 150 hücre analiz edilmelidir.

Xq27.3'deki frajil nokta bant analizleriyle de do rulanmalıdır.

E er %4 ten daha az bir oran saptanacak olursa, kültür tekrarlanmalıdır. Tekrar dü ük bir oran bulunması durumunda klini i ile tekrar de erlendirilmelidir.

ISCN nomanklatüre göre;

46, Y, fra(X)(q27.3) hasta erkek

46, X, fra(X)(q27.3) ta ıyıcı/hasta kadın



### 3.9.3. Moleküler Yöntemler

Frajil X sendromuna sebep olan genin klonlanmasının ardından bunun kararsız üçlü nükleotid tekrar sayısının artmasından kaynaklandığı gösterilmiştir. Bu durumda sitogenetik testlerin yerini moleküler testler almıştır (147).

FXS insidansını göstermek için esas sitogenetik testler son yıllarda birçok yanlış pozitif sonuçlara sebep olmuştur (39, 148, 149). DNA analizi düşük maliyetli, güvenilir alternatif bir yöntemdir. Sitogenetik testler frajil X'in laboratuvar testi için esastır fakat çok fazla emek gerektirir ayrıca bu yöntemle yapılan testlerde frajil X taşıyıcıları ile normal taşıyıcı erkekler sadece DNA testi ile belirlenebilmektedir (147). Bu nedenlerle daha basit, duyarlı ve hatasız olan DNA testleri, sitogenetik testlerin yerini almıştır (150). Taşıyıcı kadınların tümü ve normal taşıyıcı erkekler sadece DNA testi ile belirlenebilmektedir (15).

FXS semptomları olan ve mutasyonu taşıma riski taşıyan bireylerin genotipleri, trinükleotid tekrar segmentinin büyüklüğü ve FMR1 geninin metilasyon durumu incelenerek belirlenebilir. Bu amaçla ana yöntem kullanılır: Southern blot analizi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (151). Her iki metod ile de FMR1'in üçlü (CGG) tekrar bölgesinin uzunluğu belirlenebilir (152).

Bir diğer tanı yöntemi ise antikor testidir. Bu yöntemde, FMRP'nin varlığını anti-FMR1 antikoruna ile belirlenir (153).

#### 3.9.3.1. Southern Blot

Southern blot analizi, PCR'dan daha büyük miktarda yüksek moleküler ağırlıklı genomik DNA gerektiren (154) ancak PCR ile elde edilmesi zor olan, daha büyük alellerin tespit edilmesini sağlayan ve ayrıca alel metilasyonu hakkında bilgi sağlayan maliyetli ve zaman alıcı bir yöntemdir (146).

Southern blot, spesifik restriksiyon enzimlerle genomik DNA'yı parçalayarak ve gene spesifik problarla hibridizasyon temelli bir tekniktir. Tek deneyde FMR1 mutasyonlarının boyutlarını ve metilasyon durumlarını belirleme avantajı sağlar. Ancak

55-65 tekrarlı küçük premutasyonları ve büyük ara aleleri (45-54 tekrarlı) her zaman ayırt etmek mümkün değildir.

### **3.9.3.2. PCR**

PCR yöntemi hızlıdır ve analiz için küçük DNA miktarları yeterlidir. Kremer, Pritchard (155) ve arkadaşları tarafından 1991 yılında fragil X bölgesindeki CGG tekrar bölgesini PCR ile çoğaltmak için yapılan ilk denemeler başarısız olmuştur. FMR1 bölgesi GC bakımından zengin olduğundan başarıyla PCR amplifikasyonu için özel yöntemlere ihtiyaç vardır (154). 1991 yılında Fu, Kuhl (101) ve arkadaşları normal büyüklükteki ve çoğaltılamayan premutasyon alelini çoğaltan, ancak 200'den büyük CGG tekrarına sahip tam mutasyon alelini çoğaltmada başarısız olan bir PCR yöntemi geliştirdi. 1993 yılında Brown, Houck (156) ve arkadaşları fragil X full mutasyonlarını, premutasyonları ve normal alelleri çoğaltabilen polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) kullanarak hızlı ve radyoaktif olmayan bir test geliştirmek ve bunu kırılğan X taşıyıcı riski altındaki hamile kadınların doğum öncesi tanı ve taşıyıcı taramasına uygulamak amacıyla yeni araştırmalar yaptılar. Sonuç olarak hem normal hem de mutant aleller için FMR1 genini çoğaltabilen hızlı, radyoaktif olmayan bir PCR tarama protokolü geliştirdiler.

## **4. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Hastaneleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Genetik Laboratuvarına Frajil X Sendromu ön tanısı ile gelen 3-15 yaş arası çocuklardan alınan periferik kandan izole ettiğimiz DNA örnekleriyle gerçekleştirilmiştir.

### **4.1. GEREÇLER**

Mikropipetler (Research plus)

Buzdolabı (Nidek)

Combi-Spin (Biosan FLV-2400N)

Amplidex FMR1 PCR Kit

PCR cihazı (GeneAmp PCR System 9700)

ABI 3130 Genetik Analyzer Cihazı

NanoDrop

Plate (MicroAmp Optical96-Well)

Plate Septa 96-Well

### **4.2. YÖNTEMLER**

#### **4.2.1. Kanların Alınması**

Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Hastaneleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Genetik Laboratuvarına Frajil X ön tanısı ile gelen 3-15 yaş aralığındaki çocuklardan EDTA'lı tüplerde periferik kan alındı.

#### **4.2.2. DNA İzolasyonu**

5-10 ML Tam Kandan DNA İzolasyonu için Protokol

#### **4.2.3. Hücre Preperasyonu**

1- Kanlar Sodyum- EDTA'lı (mor tüp) tüplere alındı.

- 2- Santrifüj 4°C olacak şekilde önlüde ön so utmaya hazırlandı. 50 ml'lik falkon tüpüne 5-10 ml kan ve 40 ml lysis buffer (Reaktif A) eklendi.
- 3- Tüp elle hafifçe 2 dakika alt-üst edilerek karıştırıldı.
- 4- 4°C de, 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 5- Falkon tüpü içeri i pelete dolayısıyla hücrelere zarar vermeden, içinde çama ır suyu olan behere boş altıldı.

#### **4.2.3.1. Hücre Lysisi**

- 1- Tüplere 2 ml Reaktif B eklenir ve pipetaj yapıldı.
- 2- Her hastanın tüpü 15 ml'lik tüplere aktarıldı.

#### **4.2.3.2. Proteinlerin Uzaklaştırılması (Deproteinisation)**

- 1- Benmari (Isıtıcı) 65 °C kadar ısıtıldı.
- 2- Her tüpe 5M'lık 500 ml Sodyum Perklorat eklendi.
- 3- Tüpler oda ısısında 15 dakika süre ile karıştırılması için kan döndürme cihazına (Rotary mix) koyuldu.
- 4- Tüpler önceden 65 °C'ye ayarlanan benmaride 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

#### **4.2.3.3. DNA Ekstraksiyonu**

- 1- Benmariden çıkarılan her tüpe daha önceden -20C de muhafaza edilen 2 ml kloroform eklendi.
- 2- 10 dakika rotermixte karıştırıldı.
- 3- Tüpler 15-20 °C sıcaklıkta 1400 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.

#### **4.2.3.4. DNA Presipitasyonu**

- 1- DNA içeren üstte kalan berrak faz plastik pastör pipeti kullanılarak 15 ml'lik yeni bir santrifüj tüpüne aktarıldı.
- 2- 4 C de muhafaza edilen so uk etanol DNA içeren volümün 2 katı kadar tüpe eklendi. Hafifçe alt-üst edilerek DNA'nın presipite olması sağlandı.
- 3- Plastik öze ile presipite olan DNA küçük hareketlerle toplandı ve 1,5 ml'lik eppendorf tüpe ucunda DNA blunan öze tersten bırakılarak 3-5 dakika süreyle bekletilerek kuruması sağlandı.
- 4- Üzerinde DNA'nın kuruması sağlanan öze ucundan kesilir.
- 5- Özenin bulunduğu eppendorf tüplerine 200µl distile su eklenir.

#### 4.2.4. Asuragen FMR1 Kit Uygulaması

##### 4.2.4.1. Fragile X Prosedürü

Bu testte FMR1 geni CGG üçlü tekrar bölgesindeki CGG tekrar sayısını tespit etmek amacıyla düzenlenmiştir.

##### 4.2.4.2. Akı Eması

Test için akı PCR Mastermix setup, termal cycling capillary elektroforezinin kullanıldığı analiz aşamasını içermektedir.

1. Pürifiye DNA'nın hazırlanması

2. FMR1 PCR hazırlığı (30 dk)

3. FMR1 PCR (6 saat)

4. Kapiller elektroforez hazırlığı (30 dk)

5. Kapiller elektroforez (1-6 saat)

6. Data analizi (1 saat)

Kit reagentları Tablo.10 da gösterilmiştir. Reagentler -15 ile -30 ısı dereceleri aralığında nonfrost dondurucuda saklanmalı ve işlem başlamadan önce oda sıcaklığında çözünmeye bırakılmalıdır. İşlem öncesi tüm reagentler vortexlenmelidir. Reagentleri açmadan önce kısa bir santrifüj işleminden geçirilmelidir. Tüm işlemler 18-25 derecede oda sıcaklığında gerçekleştirilmelidir.

Tablo 5: AmplideX™ PCR Kit içerikleri (P/N 76008)

Item #	Kit içeriği	Hacim	Saklama Sıcaklığı
145185	<i>FMR1</i> F,R FAM-Primers	50 µL	-15 to -30°C
145184	<i>FMR1</i> CGG Primer	50 µL	-15 to -30°C

145186	GC-Rich Amp Buffer	1.2 mL	-15 to -30°C
145187	GC-Rich Polymerase Mix	5 µL	-15 to -30°C
148188	ROX 1000 Size Ladder	200 µL	-15 to -30°C
145183	Diluent	1.0 mL	-15 to -30°C

#### 4.2.4.3. Pürifiye DNA nın hazırlanması

EDTA'lı tam kandan DNA izolasyonu ile elde edilen genomik DNA AmplideX™*FMRI* PCR Kit'i ile çalışılabilir. Nanodrop 'ta ölçülen 20-80 ng miktarındaki (10-40 ng/µL reaksiyon tüpüne 2 µL DNA) DNA her bir reaksiyon tüpüne eklenir.

#### 4.2.5. AmplideX™*FMRI* PCR Kit protokolü

##### 4.2.5.1. PCR master mix hazırlığı

1. Polymerase Mix hariç diğer reagentler yaklaşık 10 dk oda sıcaklığında çözündürülür. GC den zengin Polymerase Mix buz üzerine yerleştirilir ve Polymerase Mix hariç tüm tüpler kısa bir vortex işleminde geçirilir.

Tablo 6: AmplideX™PCR Kit içerikleri (P/N 76008)

çBile enler	CGG RP PCR
GC-Rich Amp Buffer	11.45 µL
<i>FMRI</i> F,R FAM-Primers	0.50 µL
<i>FMRI</i> CGG Primer	0.50 µL
Diluent	0.50 µL
GC-Rich Polymerase Mix	0.05 µL
DNA örne i	2.00 µL
Her reaksiyon için toplam hacim	<b>15.00 µL</b>

Master Mix PCR plate üzerine koymadan önce vortexlenir. 13 µL Master Mix her bir tüpe e it oranda da ıtılır. Sonra her bir tüpe 2 µL lik DNA örnekleri eklenir. PCR plate’i adeziv filmle üstü örtülür.

Sonra plate hafifçe vortexlenir. Plate ‘deki baloncukları yok etmek için santrifüj edilir. (1600rcf ‘de 1 dk ) Sonra PCR plate’ini daha önceden programlanmı termal cycler cihazında tablo.4 ‘deki cycling protokolünde runlanır.

Tablo 7: CGG RP PCR

Sikluslar	Süre
1 siklus	95 °C de 5 dk
10 cycle	97 °C de 35 sn
	62 °C de 35 sn
	68 °C de 4 dk
20 cycle	97 °C de 35 sn
	62 °C de 35 sn
	68 °C de 4 dk + 20s/cycle*
1 siklus	72 °C de 10 dk
1 siklus	4 °C forever

Tablo 11’ deki termal cycler protokolünde hazırlanmı olan PCR ürünleri analiz edilece i ana kadar -15 /-30 derece aralı nda depolanır. Bu depolama -15/-30 derecede 10 gün boyunca stabil kalabilir.

#### 4.2.6. POP 7 ile kapiller elektroforez

Formamide ve ROX 1000 size standardı oda sıcaklı nda çözünmeye bırakılır. Kullanmadan önce 15 sn boyunca vortexleyip spin i leminden geçirilir.

}11 µL formamide

}2 µL ROX 1000 size standard

---

Her bir kuyucu a 13 µL VE 2 µL PCR ürünü kapiller elektroforez üzerine eklenir.

Plate’i kapadıktan sonra baloncukları çıkarmak için santrifüj edilir ve termal cycler cihazına transfer edilir. Sonra 2 dk lik 95 derecedeki denatürasyon

basama ından sonra +4 derecede kapiller elektroforez cihazına yüklenebilir  
(Denatürasyon sonrası 2 dk boyunca -20 derecede bekletip plate 'e yükleyebilir).

Kapiller elektroforez sonrası veriler analiz edilir.





## 5. BULGULAR

Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Hastaneleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Genetik Labotatuvarına Frajil X sendromu üphesi ile gelen 3-15 ya arası 21 kız ve 32 erkek totalde 53 çocuktan EDTA'lı kan alınıp genomik DNA izolasyonu yapılarak Amplidex FMR1 PCR Kiti kullanılarak Frajil X sendromuna neden olan FMR1 genindeki CGG trinükleotid sayısı incelendi.

Ara tırılan 53 çocu un, 21 (%39,6) tanesi erkek ve 32 (%60,4) tanesi kız olup, yapılan moleküler çalı malarda li kisiz 3 ailede toplamda 6 frajil X full mutasyon tespit edilmi tir. Frajil X full mutasyonu tespit edilen çocukların 1 tanesi kız ve 5 tanesi erkektir. Bu verilere göre Frajil X tespit edilen kız çocu u sayısı 21'de 1 yani %4,7, erkek çocuklarda ise 32'de 5 yani %15,6 olarak, bulunmu tur. Yapılan analizlerde 53 çocuktan 2 tanesi gri zon aralı nda tespit edilmi tir. Analiz yapılan çocukların hiçbirinde premutasyon aralı nda alele rastlanmamı tir. Ancak Frajil X pozitif 3 erkek karde in anne ve babasında yapılan analizlerde annenin tekrar sayısı 29/74 tekrarlı bir premutasyon aleline sahip oldu u tespit edilmi tir. Baba da yapılan analizlerde ise tekrar sayısı 28 olarak normal aralıkta tespit edilmi tir. Frajil X pozitif bir kız bir erkek karde lerin anne ve babasına test yapılamamı tir. Elde etti imiz sonuçlara göre totalde 53 çocuk hastanın %11,3'i Frajil X sendromu full mutasyon, %3,7'si gri zone ve %85'i normal aralıkta tespit edilmi tir. Erkekerde; toplam 32 bireyden %15,6'sı full mutasyon ve %84,3'ü normal aralıkta tespit edilmi tir. Kızlarda %4,7 full mutasyon, %9,5'i gri zone ve %85,7'si normal aralıkta aleller olarak tespit edilmi tir (Tablo12).

Tablo 8: Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Hastaneleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Hastaneleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Genetik Laboratuvarına Fajil X Sendromu ön tanısı ile gelen 3-15 yaş arası çocukların FMR1 genindeki CGG tekrar sayısına göre mutasyon yüzdeleri

ARALIKLAR	KIZ	ORAN	ERKEK	ORAN	TOPLAM	T. ORAN
FULL MUTASYON, >200 TEKRAR	1	%4,7	5	%15,6	6	%11,3
PREMUTASYON, >55-200 TEKRAR	0	0%	0	0%	0	0%
GR ZONE, 45-55 TEKRAR	2	%9,5	0	0%	2	%3,7
NORMAL, <45 TEKRAR	18	%85,7	27	%84,3	45	85%
TOPLAM	21	%39,6	32	%60,4	53	100%

Tablo 9: Hastaların, moleküler analiz bulguları.

NO	HASTA SM	C NS YET	TAKRAR SAYISI	MUTASYON DURUMU
1		Erkek	22	Normal
2		Erkek	30	Normal
3		Bayan	25/25	Normal
4		Bayan	30/30	Normal
5		Bayan	30/30	Normal
6		Bayan	30/30	Normal
7		Erkek	29	Normal
8		Erkek	24	Normal
9		Erkek	29	Normal
10		Bayan	30/30	Normal
11		Erkek	20	Normal
12		Erkek	250	Full mutasyon
13		Bayan	31/31	Normal
14		Bayan	20/220	Full mutasyon
15		Erkek	29	Normal
16		Erkek	26	Normal
17		Bayan	32/47	Gri zon
18		Erkek	29	Normal
19		Erkek	32	Normal
20		Erkek	32	Normal
21		Bayan	30/30	Normal
22		Erkek	30	Normal
23		Bayan	23/32	Normal
24		Bayan	35/45	Gri zon
25		Erkek	29	Normal
26		Erkek	32	Normal
27		Bayan	34/34	Normal
28		Erkek	31	Normal
29		Erkek	29	Normal
30		Erkek	31	Normal
31		Bayan	20/30	Normal
32		Erkek	31	Normal
33		Erkek	30	Normal
34		Erkek	30	Normal
35		Erkek	29	Normal
36		Erkek	30	Normal
37		Erkek	26	Normal
38		Erkek	26	Normal
39		Bayan	19/29	Normal
40		Bayan	29/29	Normal
41		Erkek	30	Normal
42		Bayan	30/30	Normal
43		Erkek	29	Normal
44		Bayan	29/29	Normal
45		Erkek	278	Ful mutasyon
46		Bayan	13/40	Normal
47		Bayan	30/39	Normal
48		Erkek	39	Normal
49		Erkek	280	Ful mutasyon
50		Erkek	281	Ful mutasyon
51		Erkek	281	Ful mutasyon
52		Bayan	29/30	Normal
53		Bayan	27/30	Normal

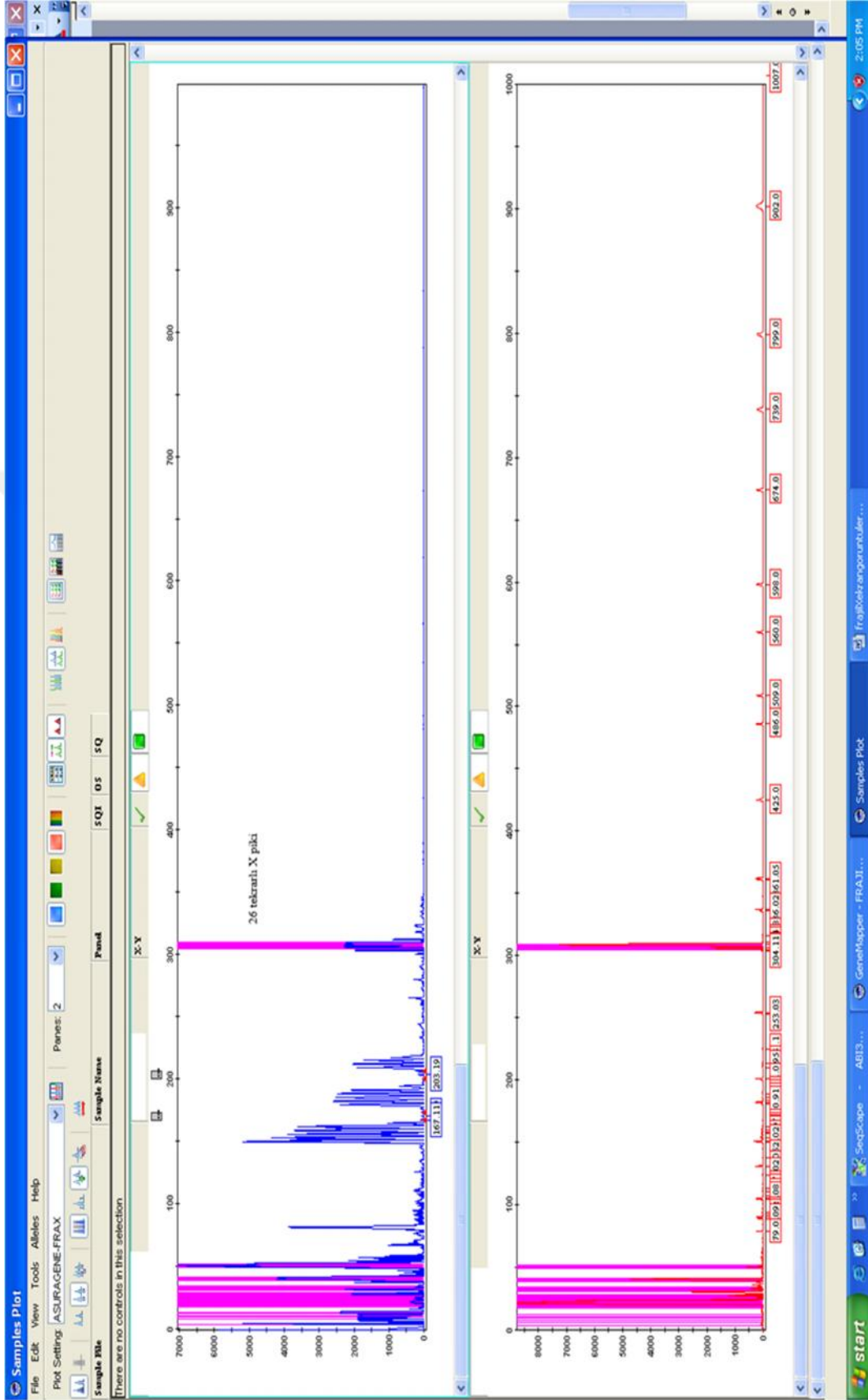
ekil 6: 26 Tekrarlı normal aralıktaki Erkek Çocu un GenMapper RAW Data Analiz Görüntüsü

ekil 7: 20/30 Tekrarlı kız Çocu un GenMapper RAW Data Analiz Görüntüsü

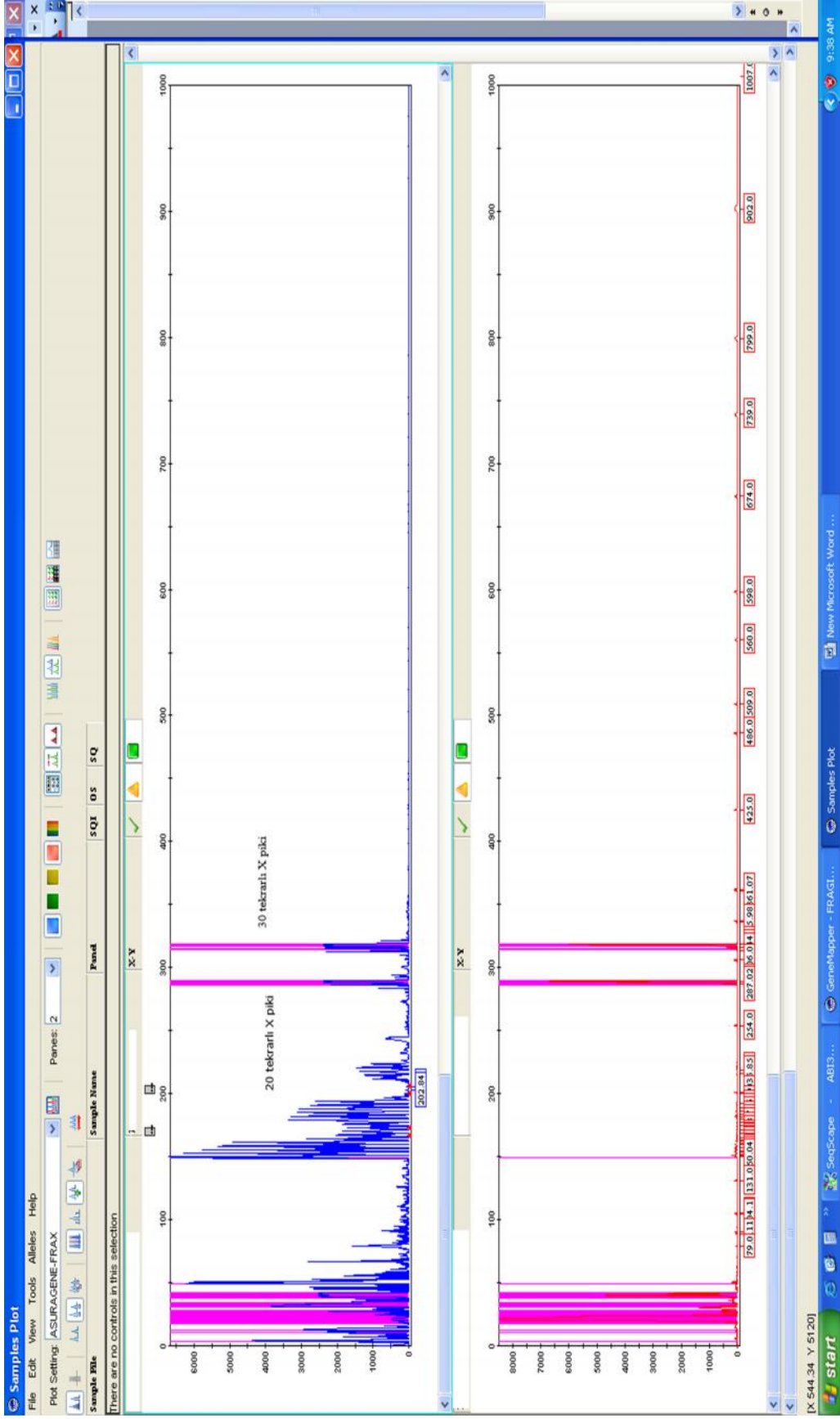
ekil 8: 74 Tekrarlı Di i hastanın GenMapper RAW Data Analiz Görüntüsü

ekil 9: 281 Tekrarlı Erkek Çocu un GenMapper RAW Data Analiz Görüntüsü

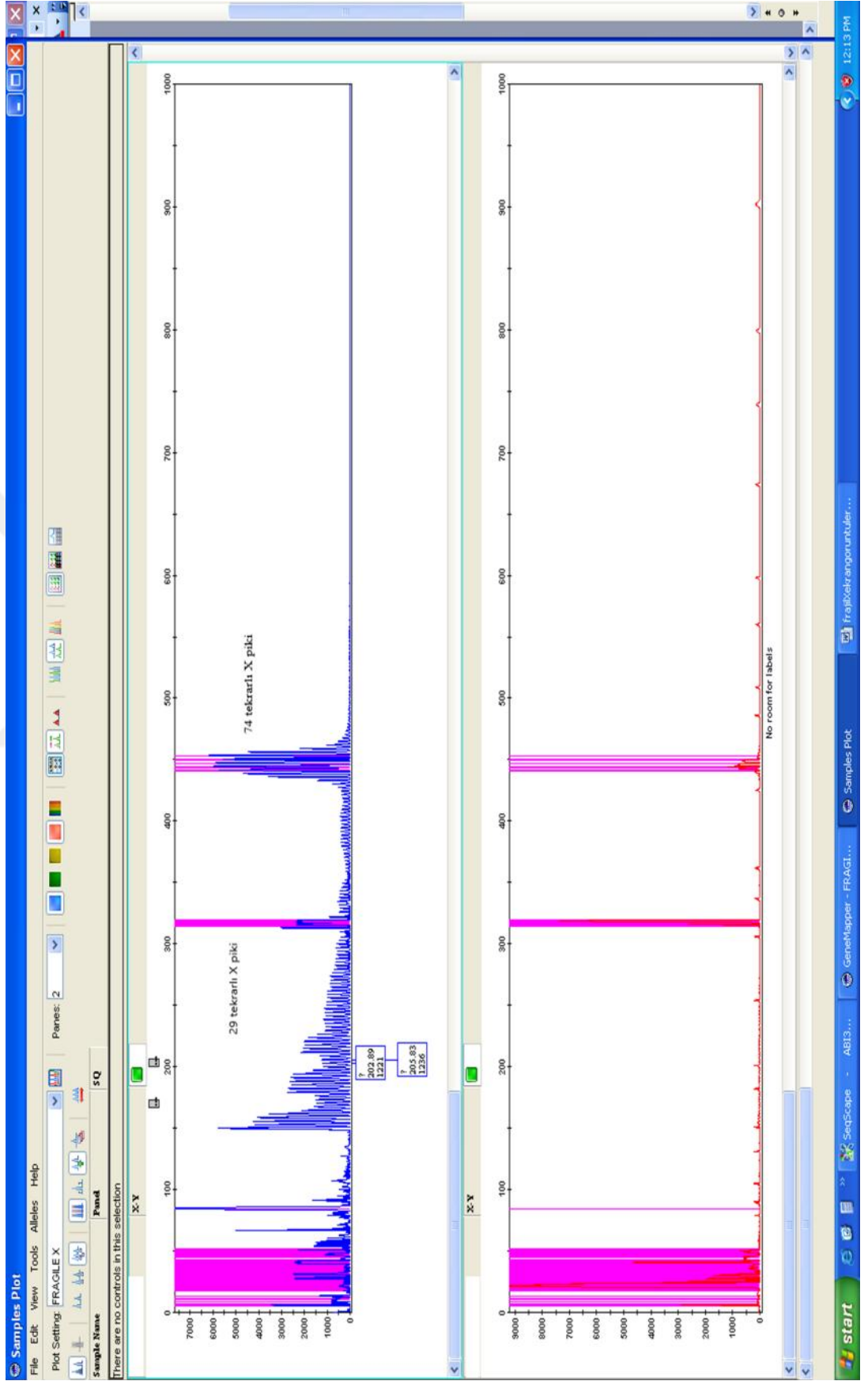




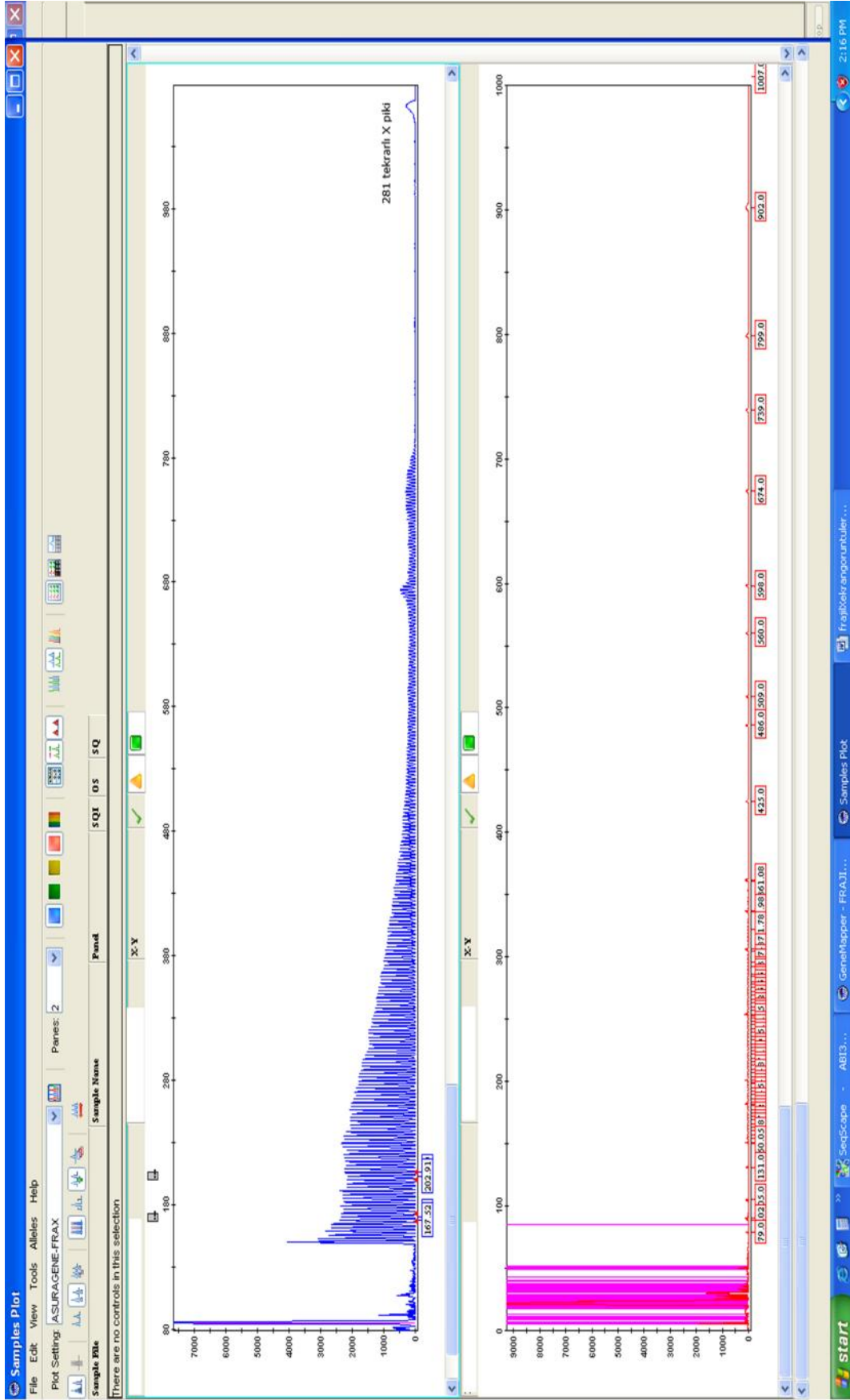
ekil 6: 26 Tekrarlı normal aralıktaki Erkek Çocu un GenMapper



ekil 7: 20/30 Tekrarlı kız Çocu un GenMapper RAW Data Analiz Görüntüsü



ekil 8: 74 Tekrarlı Di i hastanın GenMapper RAW Data Analiz



ekil 9: 281 Tekrarlı Erkek Cocu un GenMapper RAW Data Analiz Görüntüsü



## 6. TARTI MA

“Kırılğan X” ismi, X kromozomunun uzun kolundaki sitogenetik bir anormallik anlamına gelir. Kırılğan X ara tırmalarının genetik oda ı, Xq27.3’te bulunan kırılğan X zihinsel gerili i 1 (FMR1) geninin 5 çevrilmemi bölgesidir.

*FMR1* trinükleotid tekrar uzunlu u için referans aralı ı dört kategoriye sahiptir. Trinükleotid tekrar referans aralıkları, Frajil X Sendromu (FXS) te hisini ve bir premutasyon ta ıyıcı annesinden yavrularına aktarılması sırasında meydana gelen tam bir mutasyona ba lı geni leme riskini ortaya koymak için tasarlanan çalı malara dayanmaktadır. FXS, zihinsel ve geli imsel engelli ve otizmin en yaygın kalıtsal eklidir. Artan trinükleotid uzunlu u sırasına göre kategoriler normal, orta, premutasyon ve tam mutasyondur. Her bir tanı kategorisine kar ılık gelen CGG tekrar boyutu, zaman içerisinde tanımları ve bireysel rapor kategorilerindeki farklılıklar nedeniyle literatürde  $\pm 5$  tekrarla de i mektedir. Mevcut kategoriler u ekinde tanımlanmı tır (157):

)}Amerikan Kadın Hastalıkları ve Do um Klini i Amerikan Genetik Komitesi Raporu, Amerikan Tıbbi Genetik Koleji (ACMG) Kalite Güvence Komitesi ve ACMG Teknik Standartları Raporu, bir FMR1 CGG tekrar uzunlu unun, 45’den daha az bir anormal fenotiple ili kili olmadı ını açıkça belirtti (79, 158, 159). Bu nedenle, <45 CGG tekrarları normal olarak kabul edilir.

)}45-54 aralı nda tekrarlar orta veya "gri bölge" veya sonuçsuz olarak adlandırılır (9, 79, 158).

)}55-199 aralı nda tekrarlar "öncül" veya “premutasyon” olarak adlandırılır (9, 158).

)}En az 200 CGG tekrarı “tam mutasyon” dur ve bu genetik mutasyona sahip erkeklerin ve bazı kızların ço unda FXS ile sonuçlanır. Bu CGG tekrar seviyesine sahip bir gen, tipik olarak hipermetile edilir, böylece hiç veya sadece dü ük protein seviyelerinin (FMRP) üretilmemesi için transkripsiyonel susturma ile sonuçlanır (160).

FXS'nun dünyada ortalama görülme oranı, di ilerde 1/6000 , erkeklerde ise 1/4000 olarak görülür (7). Premutasyon taşıyıcı sıklığı ise erkeklerde 1: 800 ve kadınlarda 1: 100-200 olarak bildirilmiştir (83).

Ancak FXS sıklığı, coğrafi bölgelere ve ırklara göre değişim göstermektedir. Özel eğitim ihtiyacı olan çocuklar ile yapılan bir çalışmada Avrupa kökenli erkeklerde FXS'nin 1/3717, Afrika kökenli Amerikalı erkekler arasında 1/2545 sıklıkla görüldüğü bildirilmiştir (161). Farklı ülkelerde zihinsel yetersizlik nedeni ile tetkik edilen ve FXS saptandığı bildirilen olguların sonuçları şu şekilde özetlenebilir: Avustralya ve Büyük Britanya (%4,3), Brezilya (%2), İtalya (%5), Çin (%2,8), Kıbrıs ve Yunanistan (%0,9), Finlandiya (%5,4), Hollanda (%4,2), Endonezya (%2,4), Japonya (%2,1), Meksika (%4,1), Porto Riko (%3) ve Birleşik Devletler (%1,1- %6) (162). Ülkemizde premutasyon taşıyıcılığı ve etkilenmiş olguların, genel popülasyondaki oranları tam olarak bilinmemektedir. Ancak bu konuda yapılan çalışmalardan Tuncbilek, Alikasifoğlu (163) ve arkadaşlarının zihinsel gerilik nedeni ile değerlendirildiği 179 kişilik olgu grubunda (13 dişi ve 166 erkek olgu) 5 erkek olguda tam mutasyon saptandığı bildirilmiştir. 13 hasta (% 7) kadındır. İncelenen 179 hastanın beşinde (% 2.8) tam FMR1 mutasyonu vardır. Bu nedenle, zeka geriliği olan erkek hastalarda frajil X sıklığı % 3 (5/166) olduğu tespit edilmiştir (163).

Demirhan, Tastemir (164) ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, mental gerilik, konuşma geriliği, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu ve gelişim geriliği tanısı alan 120 olguda yaptıkları kromozom analizi ile olguların 14'ünün (%11,7) FXS olduğu tespit edilmiştir. Bilgen, Keser (165) ve arkadaşları yaptığı çalışmada ise klinik olarak FXS tanısı ile uyumlu olan 95 erkek ve 2 dişi olgu, moleküler yöntemlerle analiz edilmiştir. Çalışmaya olguların risk altındaki akrabaları da dahil edilmiştir ve sonuç olarak 10 olguda FXS tanısı kesinleştirilmiştir.

2010 yılında ÖZER (76) ve arkadaşlarının FXS ön tanısı ile gelen çocuklarda sitogenetik ve moleküler analizler yaptıklarıdır. Çalışmaya göre; analizleri yapılan 107 çocuktan, 95 tanesi (%88.8) erkek ve 12 tanesi (%11.2) kız olup bunların, 8 tanesinde (%7.5) X kromozomunda sitogenetik olarak frajil X pozitif sonuç almışlardır. Sonuç olarak; hastalık oranı erkek çocuklarda %4.7 bulunurken kızlarda bu oran %2.8 olarak tespit edilmiştir.

2007 yılında ÖZBEY, YÜCE (166) ve ark. yaptıkları MR ve dil bozukluğu olan hastalarda FXS ve diğer kromozomal anomalilerin prevalansını sitogenetik ve moleküler analizlerle tahmin etmek amacıyla 72 kişide yaptıkları çalışmada 12 vakada (% 16.7) kromozom anomalisi saptadı. Moleküler analizde 7 (%9,7) olguda fragil X pozitif tespit ettiler. Hastaların %4.1'i full mutasyonlu, % 5.5'i ise premutasyon taşıyıcısı olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda fragil X sendromunun oranının literatürlere göre yüksek olduğunu gözlemledik. Bu anlamlı farklılığı hasta grubumuzda aynı aileden birden fazla fragil X pozitif bireylerin olmasına bağlayabiliriz. Birden fazla fragil X sendromlu çocukları olan aileleri tek bir hasta olarak kabul edersek %11.3 tespit ettiğimiz toplam oranın %5.6'ya düştüğünü, ve bu verilerin literatürlerle uyumlu olduğunu söyleyebiliriz. Aynı şekilde hesaplandığında erkek çocuklarda %15,6 tespit ettiğimiz fragil X yaygınlığının %9'a düştüğünü görmekteyiz. Aynı ailede birden fazla fragil X sendromu görülmesinden anlaşıldığı gibi fragil X sendromu yaygınlığının artmasının önlenmesinde hastaların ve taşıyıcı ailelerin bilinçlendirilmesinin önemi büyüktür.

Fadenin de iklenli klinik tanıyı zorlaştırır. Bu nedenle, zihinsel engelli bireylerin ayırıcı tanısında, fragil X sendromu düşünülmelidir. FXS'in genetik ve klinik heterojenliği tarihsel olarak bilinmektedir ve bu nedenle prevalans değerlendirilmesi zordur. Hastalığın X'e bağlı doğası, erkekleri ve kadınları karşılaştırırken semptomların ciddiyetinde önemli farklılıklar ile sonuçlanır. Diğer normal bir X kromozomu ile telafi edebilme nedeniyle daha az ciddi şekilde etkilenmemiş ve ilimindedir ve bunun sonucunda FXS tanısı alan kadınların % 44'ü erkeklerin % 10'uyla karşılaştırıldığında bağımsız olarak yaşayabilir (167). Bu nedenle, bir FM aleli taşıyan tüm kadınlar zihinsel yetersizlik ve FXS ile ilişkili diğer fenotipler sergilemez (27). Bununla birlikte, FM taşıyan bir kadın mutasyonu çocuğuna aktarabilir, bu nedenle etkilenmemiş olsa bile hem FM hem de PM taşıyan kadınlar, FXS'li bir çocuğa sahip olma riski altındadır.

FXS, X'e bağlı zihinsel gerilik olgularının en sık nedenidir ve olguların %30'undan sorumludur (168). Premutasyon taşıyıcılarında FXPOI, FXTAS gibi olası sonuçlar görülebileceğinden ve genetik danışmanlığın doğrudan olarak verilebilmesi için taşıyıcıların tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle hangi olgularda ön

tanıda FMR1 ili kili hastalıkların dü ünülece i ve moleküler testlerin kimlere uygulanaca ı, olguların-ailelerin yönetimi klinik yakla ımda önemlidir (Tablo 14)

Tablo 10: Moleküler ve Klinik Korelasyon (169, 170)

Varyant Tipi	CGG Tekrar Sayısı	FMR1 Geni Metilasyon Durumu	Klinik Durum	
			Erkek	Dişi
Premutasyon	~ 55-200	Metillenmemiş	FXTAS için artmış risk	FXTAS ve POI için artmış risk
Tam Mutasyon	>200	Tamamen metillenmiş	% 100 zihinsel gerilik	Olguların % 50'sinde zihinsel gerilik, % 50'sinde normal zekâ düzeyi saptanır
Tekrar Sayısı Mozaizizm	Premutasyon ve tam mutasyona sahip farklı hücre hatları	Premutasyon hücre hattında metillenmemiş, tam mutasyon hücre hattında metillenmiş	Olguların hemen hepsinde (~% 100) zihinsel gerilik vardır. Ancak tam mutasyon taşıyan erkeklere göre yüksek fonksiyonlu olabilirler	Geniş bir klinik yelpaze görülebilir. Olgular tamamen normal zekâ ile tam etkilenme arasında yer alabilir
Metilasyon Mozaizmi	>200	Metillenmiş ve metillenmemiş hücre karışımı		
Metillenmemiş Tam Mutasyon	>200	Metillenmemiş	Olguların hemen hepsinde (~%100) zihinsel gerilik vardır. Ancak sıklıkla düşük-normal zekâ ile yüksek fonksiyonlu zihinsel gerilik arasındadır	

Frajl X sendromu, zihinsel gerilik nedeni ile de erlendirilen, e lik eden do umsal defektler olmayan olgularda mutlaka ön tanılar arasında dü ünülmelidir. Klinik bulguların ya a, cinsiyete, ergenlik dönemi öncesi ve sonrası olma durumuna göre farklılık gösterebilir. Ayrıca FXS tekrar sayısı ve hipermetilasyon ili kisi ve oranı nedeniyle karma ık bir etyolojiye sahiptir. Bu nedenle full mutasyona sahip olgularda klasik zihinsel gerilik sınıflandırmasına uymayan (IQ>70) bir durumla kar ıla ılabilir.

Nolin, Glicksman (128) ve arkadaşlarının 2011 de yaptı ı çalı mada gri zone, premutasyon ve full mutasyon aralı ında alelleri olan kadınlar için 1991'den 2010'a

kadar meydana gelen 1112 gebeliğin FMR1 CGG tekrar alellerinin iletiminin analizini yapmışlardır. Bu çalışmaya göre fragil X mutasyonu (gri zone, premutasyon veya tam mutasyon) taşıyan kadınların fetüslerinin prenatal tanısında tanımlanan 1112 örnekten 557'si (%50,1) normal maternal alel iletimi taşıyor ve geri kalan 555 (%49,9) diğ er alelleri iletimi taşıyor. Bu gen iletilmi alellerin bireysel yayınları Tablo 9'da ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 11: Gri zone, premutasyon ve tam mutasyon FMR1 alellerinin döl aktarımları (128)

Maternal repeat size	Fetal outcome				Total
	No. intermediate	No. premutation	No. full mutation	% Full mutation	
45-49	55	0	0	0	55
50-54	45	5	0	0	51 <sup>a</sup>
55-59	0	86	0	0	86
60-69	2	77	2	2	81
70-79	2	30	15	32	47
80-89	1	15	45	74	61
90-99	0	2	31	94	33
≥100-200	1	1	93	98	95
>200	0	0	46	100	46
Total	106	216	232	42	555

<sup>a</sup> One allele contracted to a normal size.

Daha önce bahsedildiği gibi FXS'lu olgularda otizm spektrum bozukluğu riskinin önemli ölçüde yüksek olması nedeni ile otizmlili her olgunun kromozom analizi ve FMR1 gen analizi ile değerlendirilmesi önerilmektedir (171). Full mutasyona sahip olgular tespit edildiğinde ailedeki diğ er erkek ve diğ er bireylerin premutasyon taşıyıcılığı açısından araştırılması ve olası risklerinin belirlenmesi gerekmektedir.

#### Test Yapması Gereken Bireyler (151).

- Her cinsiyetten mental retardasyonlu, gelişimsel gecikme veya otizmlili bireyler
- Özellikle fragil X sendromunun herhangi bir fiziksel veya davranışsal özelliğine sahip bireyler,
- Fragil X sendromlu bir aile öyküsü veya tanı konmamış zihinsel geriliği olan erkek veya kadın akrabalar.
- Bilinen taşıyıcı annelerin fetüsleri.
- Pozitif sitogenetik kırılğan X testi sonucu bakımında etkilenen bireyler veya yakınları.

Etkilenen bireyler veya akrabaları, kendileri veya akrabaları arasında taşıyıcılık riskiyle ilgili daha fazla danışma arayan pozitif sitogenetik frajil X testi sonucu olan bireyler.

FMR1 geninin tanımlanmasından önce sitogenetik test kullanılmı ve mevcut DNA testinden önemli ölçüde daha az doğrudur. Bu tür bireyler üzerinde yapılan DNA testi, premutasyon taşıyıcılarını doğrudan bir şekilde tanımlamak ve premutasyonu tam mutasyon taşıyıcı kadınlardan ayırmak için garantili bir yöntemdir.

Bugüne kadar, FXS hastalarının tedavisi, altta yatan moleküler kusurları hedeflemeden bireysel semptomları hafifletmeyi amaçlar. FXS'nin nöropatolojisi hakkında yeni bilgilerin terapötik müdahalelere dönüştürülmesi için muazzam çaba harcanmıştır. FXS ve diğer otizm spektrum bozuklukları arasındaki davranışsal ve nörobiyolojik benzerlikler, FXS için terapötik müdahalelerin geliştirilmesinin diğer nörolojik bozuklukların tedavisi için de bir geçit sağlayabileceği umudunu arttırmıştır. FXS için ilaç geliştirme için ana strateji, FMRP'nin ailesindeki düzensiz sinyalleme yollarının hedeflenmesine dayanmaktadır (172-174). Tam bir mutasyon alelinin spesifik koşullar altında ifade edilebildiği kefi, hastalığın patolojik çekirdeğini hedef alan FXS için başka bir terapötik stratejiye yol açtı; yani, FMR'nin transkripsiyonel susturulması (175). Yetkin nöral kök hücrelerinde ve onların soylarında FMR1 ekspresyonunun restorasyonu, FMRP eksikliği olan farelerde hipokampus bağılı öğrenme bozukluklarını düzeltebilmiş, bu durum, FMR1 reaktivasyonunun yetkin yaşamı boyunca bilişsel eksiklikleri hafifletebileceğini düşündürmüştür (176).

Direkt moleküler analizle frajil X taramasının kanıtlanması başarısı nedeniyle, Zihinsel engelli tanı konmamış tüm bireylerin ve risk altındaki gebelerin taraması şimdi düşünülmelidir. Frajil X taşıyıcılarının belirlenmesi ve gebeliklerinin doğum öncesi testi, bu sendromun prevalansını önemli ölçüde azaltmalıdır (146).

## 7. SONUÇ

FXS taraması, Mental retardasyon çocuklarda klinik açıdan önemli bir bulgudur. Nedeni bilinmeyen MR'lı, gelişme bozukluğu, konuşma güçlüğü ve otizmi olan çocuklarda ve MR aile hikayesi olan hastalarda, FXS'na yönelik moleküler genetik incelemeler yapılmalıdır. Direkt moleküler analizle frajil X taramasının kanıtlanması

ba arısı nedeniyle, zihinsel engelli tanı konmamı tüm bireylerin ve risk altındaki gebelerin taranması imdi dü ünülmelidir. Frajil X ta ıyıcılarının belirlenmesi ve gebeliklerinin do um öncesi te hisi, bu sendromun prevalansını önemli ölçüde azaltaca ını öngörebiliriz. Full mutasyona sahip olgular tespit edildi inde ailedeki di er erkek ve di i bireylerin premutasyon ta ıyıcılı ı açısından ara tırılması ve olası risklerinin belirlenmesi gerekmektedir Böylece, gerekli bireylere uygun genetik danı ma verilerek ki inin kendisinin, ailesinin ve gelecek ku akların hastalık hakkında farkındalık olu turması ve genel popülasyonda Frajil X frekansının azalması sa lanabilir.



## 8. KAYNAKÇA

1. Chen E, Sharma MR, Shi X, Agrawal RK, Joseph S. Fragile X mental retardation protein regulates translation by binding directly to the ribosome. *Mol Cell*. 2014;54(3):407-17.
2. Penagarikano O, Mulle JG, Warren ST. The pathophysiology of fragile x syndrome. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2007;8:109-29.
3. Association AP, Staff APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision (DSM-IV-TR®)*: American Psychiatric Association Publishing; 2010.
4. Brosco JP, Mattingly M, Sanders LM. Impact of specific medical interventions on reducing the prevalence of mental retardation. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2006;160(3):302-9.
5. Amos-Landgraf JM, Cottle A, Plenge RM, Friez M, Schwartz CE, Longshore J, et al. X chromosome-inactivation patterns of 1,005 phenotypically unaffected females. *Am J Hum Genet*. 2006;79(3):493-9.
6. Chiurazzi P, Schwartz CE, Gecz J, Neri G. XLMR genes: update 2007. *Eur J Hum Genet*. 2008;16(4):422-34.
7. Gersen SL. History of Clinical Cytogenetics. In: Gersen SL, Keagle MB, editors. *The Principles of Clinical Cytogenetics*. New York, NY: Springer New York; 2013. p. 3-8.
8. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell*. 1991;65(5):905-14.
9. Maddalena A, Richards CS, McGinniss MJ, Brothman A, Desnick RJ, Grier RE, et al. Technical standards and guidelines for fragile X: the first of a series of disease-specific supplements to the Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories of the American College of Medical Genetics. Quality Assurance Subcommittee of the Laboratory Practice Committee. *Genet Med*. 2001;3(3):200-5.
10. Maenner MJ, Baker MW, Broman KW, Tian J, Barnes JK, Atkins A, et al. FMR1 CGG expansions: Prevalence and sex ratios. 2013;162(5):466-73.
11. Hagerman RJFXsD, treatment,, research. Medical follow-up and pharmacotherapy. 2002:287-338.
12. Fryns JP. X-linked mental retardation and the fragile X syndrome : a clinical approach. *The fragile X syndrome*. 1989.
13. Butler MG, Brunschwig A, Miller LK, Hagerman RJ. Standards for selected anthropometric measurements in males with the fragile X syndrome. *Pediatrics*. 1992;89(6 Pt 1):1059-62.
14. Hagerman RJ, Amiri K, Cronister A. Fragile X checklist. *Am J Med Genet*. 1991;38(2-3):283-7.
15. Ada Y. *Fragil X-Sendromlu Hastalarda Fmr1 Genindeki 3'lü Tekrar Artış Sayı Mutasyonların Belirlenmesi*. KAYSERİ: ERCİYES ÜNİVERSİTESİ; 2014.
16. Gersen SL, Keagle MB. *The Principles of Clinical Cytogenetics*: Humana Press; 2005.
17. Hagerman RJ, Hagerman PJ. *Fragile X syndrome: Diagnosis, treatment, and research*: Taylor & Francis US; 2002.
18. Abrams MT, Reiss AL, Freund LS, Baumgardner TL, Chase GA, Denckla MB. Molecular-neurobehavioral associations in females with the fragile X full mutation. *Am J Med Genet*. 1994;51(4):317-27.



19. Terracciano A, Oostra B, Bagni C, Tabolacci E, Zalfa F, Neri G, et al. Molecular dissection of the events leading to inactivation of the FMR1 gene. *Human Molecular Genetics*. 2004;14(2):267-77.
20. Smeets HJ, Smits AP, Verheij CE, Theelen JP, Willemsen R, van de Burgt I, et al. Normal phenotype in two brothers with a full FMR1 mutation. *Hum Mol Genet*. 1995;4(11):2103-8.
21. Tabolacci E, Moscato U, Zalfa F, Bagni C, Chiurazzi P, Neri G. Epigenetic analysis reveals a euchromatic configuration in the FMR1 unmethylated full mutations. *European Journal Of Human Genetics*. 2008;16:1487.
22. Tabolacci E, Chiurazzi P. Chapter 17 - Reactivation of the FMR1 Gene. In: Willemsen R, Kooy RF, editors. *Fragile X Syndrome: Academic Press*; 2017. p. 341-60.
23. Nussbaum RL, Ledbetter DH. The Fragile X syndrome. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 1. 7 ed. Toronto: McGraw-Hill Inc.; 1995. p. 795-810.
24. Staley LW, Hull CE, Mazzocco MM, Thibodeau SN, Snow K, Wilson VL, et al. Molecular-clinical correlations in children and adults with fragile X syndrome. *Am J Dis Child*. 1993;147(7):723-6.
25. Chandrasekara B, Wijesundera S, Chong SS, Perera HN. Prevalence of Fragile X Syndrome among children receiving special education and carrier states in first degree relatives. *Ceylon Med J*. 2017;62(2):92-6.
26. Saldarriaga W, Forero-Forero JV, Gonzalez-Teshima LY, Fandino-Losada A, Isaza C, Tovar-Cuevas JR, et al. Genetic cluster of fragile X syndrome in a Colombian district. *J Hum Genet*. 2018;63(4):509-16.
27. Hunter J, Rivero-Arias O, Angelov A, Kim E, Fotheringham I, Leal J. Epidemiology of fragile X syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Am J Med Genet A*. 2014;164A(7):1648-58.
28. Strom CM, Crossley B, Redman JB, Buller A, Quan F, Peng M, et al. Molecular testing for Fragile X Syndrome: lessons learned from 119,232 tests performed in a clinical laboratory. *Genet Med*. 2007;9(1):46-51.
29. Nolin SL, Glicksman A, Ersalesi N, Dobkin C, Brown WT, Cao R, et al. Fragile X full mutation expansions are inhibited by one or more AGG interruptions in premutation carriers. *Genet Med*. 2015;17(5):358-64.
30. Crawford DC, Acuna JM, Sherman SL. FMR1 and the fragile X syndrome: human genome epidemiology review. *Genet Med*. 2001;3(5):359-71.
31. Antonarakis SE, Beaudet AL, Kinzler KW, Scriver CR, Valle DL, Vogelstein B. OMMBID : the online metabolic & molecular bases of inherited disease. 2005.
32. Murray A, Youings S, Dennis N, Latsky L, Linehan P, McKechnie N, et al. Population Screening at the FRAXA and FRAXE Loci: Molecular Analyses of Boys with Learning Difficulties and Their Mothers. *Human Molecular Genetics*. 1996;5(6):727-35.
33. Youings SA, Murray A, Dennis N, Ennis S, Lewis C, McKechnie N, et al. FRAXA and FRAXE: the results of a five year survey. *J Med Genet*. 2000;37(6):415-21.
34. Crawford DC, Meadows KL, Newman JL, Taft LF, Scott E, Leslie M, et al. Prevalence of the fragile X syndrome in African-Americans. *Am J Med Genet*. 2002;110(3):226-33.
35. Crawford DC, Meadows KL, Newman JL, Taft LF, Pettay DL, Gold LB, et al. Prevalence and phenotype consequence of FRAXA and FRAXE alleles in a large, ethnically diverse, special education-needs population. *American journal of human genetics*. 1999;64(2):495-507.
36. de Vries BB, van den Ouweland AM, Mohkamsing S, Duivenvoorden HJ, Mol E, Gelsema K, et al. Screening and diagnosis for the fragile X syndrome among the mentally

retarded: an epidemiological and psychological survey. Collaborative Fragile X Study Group. *American journal of human genetics*. 1997;61(3):660-7.

37. Patsalis PC, Sismani C, Hettinger JA, Boumba I, Georgiou I, Stylianidou G, et al. Molecular screening of fragile X (FRAXA) and FRAXE mental retardation syndromes in the Hellenic population of Greece and Cyprus: incidence, genetic variation, and stability. *Am J Med Genet*. 1999;84(3):184-90.

38. Turner G, Robinson H, Laing S, Purvis-Smith S. Preventive Screening for the Fragile X Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 1986;315(10):607-9.

39. Turner G, Webb T, Wake S, Robinson H. Prevalence of fragile X syndrome. *Am J Med Genet*. 1996;64(1):196-7.

40. Gerard B, Le Heuzey MF, Brunie G, Lewine P, Saiag MC, Cacheux V, et al. Systematic screening for fragile X syndrome in a cohort of 574 mentally retarded children. *Ann Genet*. 1997;40(3):139-44.

41. Mazzocco MMM, Myers GF, Hamner JL, Panoscha R, Shapiro BK, Reiss AL. The prevalence of the FMR1 and FMR2 mutations among preschool children with language delay. *The Journal of Pediatrics*. 1998;132(5):795-801.

42. Zhong N, Ju W, Xu W, Ye L, Shen Y, Wu G, et al. Frequency of the fragile X syndrome in Chinese mentally retarded populations is similar to that in Caucasians. *Am J Med Genet*. 1999;84(3):191-4.

43. Jain U, Verma IC, Kapoor AK. Prevalence of fragile X(A) syndrome in mentally retarded children at a genetics referral centre in Delhi, India. *Indian J Med Res*. 1998;108:12-6.

44. Arvio M, Peippo M, Simola KO. Applicability of a checklist for clinical screening of the fragile X syndrome. *Clin Genet*. 1997;52(4):211-5.

45. von Koskull H, Gahmberg N, Salonen R, Salo A, Peippo M. FRAXA locus in fragile X diagnosis: family studies, prenatal diagnosis, and diagnosis of sporadic cases of mental retardation. *Am J Med Genet*. 1994;51(4):486-9.

46. Hagerman RJ, Wilson P, Staley LW, Lang KA, Fan T, Uhlhorn C, et al. Evaluation of school children at high risk for fragile X syndrome utilizing buccal cell FMR-1 testing. *Am J Med Genet*. 1994;51(4):474-81.

47. Hofstee Y, Arinami T, Hamaguchi H. Comparison between the cytogenetic test for fragile X and the molecular analysis of the FMR-1 gene in Japanese mentally retarded individuals. *Am J Med Genet*. 1994;51(4):466-70.

48. Faradz SM, Buckley M, Lam Po T, Leigh D, Holden JJ. Molecular screening for fragile X syndrome among Indonesian children with developmental disability. *Am J Med Genet*. 1999;83(4):350-1.

49. Syrrou M, Georgiou I, Grigoriadou M, Petersen MB, Kitsiou S, Pagoulatos G, et al. FRAXA and FRAXE prevalence in patients with nonspecific mental retardation in the Hellenic population. *Genet Epidemiol*. 1998;15(1):103-9.

50. Haddad LA, Aguiar MJ, Costa SS, Mingroni-Netto RC, Vianna-Morgante AM, Pena SD. Fully mutated and gray-zone FRAXA alleles in Brazilian mentally retarded boys. *Am J Med Genet*. 1999;84(3):198-201.

51. Nanba E, Kohno Y, Matsuda A, Yano M, Sato C, Hashimoto K, et al. Non-radioactive DNA diagnosis for the fragile X syndrome in mentally retarded Japanese males. *Brain Dev*. 1995;17(5):317-21; discussion 23-4.

52. Pang CP, Poon PM, Chen QL, Lai KY, Yin CH, Zhao Z, et al. Trinucleotide CGG repeat in the FMR1 gene in Chinese mentally retarded patients. *Am J Med Genet*. 1999;84(3):179-83.

53. Webb TP, Bunday S, Thake A, Todd J. The frequency of the fragile X chromosome among schoolchildren in Coventry. *Journal of medical genetics*. 1986;23(5):396-9.
54. Morton JE, Bunday S, Webb TP, MacDonald F, Rindl PM, Bullock S. Fragile X syndrome is less common than previously estimated. *Journal of medical genetics*. 1997;34(1):1-5.
55. Aspillaga M, Jara L, Avendaño I, López M. [Fragile X syndrome. Clinical analysis of 300 Chilean patients with unspecific mental retardation]. *Rev Med Chil*. 1998;126(12):1447-54.
56. Tzeng CC, Tzeng PY, Sun HS, Chen RM, Lin SJ. Implication of screening for FMR1 and FMR2 gene mutation in individuals with nonspecific mental retardation in Taiwan. *Diagn Mol Pathol*. 2000;9(2):75-80.
57. Mazurczak T, Bocian E, Milewski M, Obersztyn E, Stánczak H, Bal J, et al. Frequency of Fra X syndrome among institutionalized mentally retarded males in Poland. *American Journal of Medical Genetics*. 1996;64(1):184-6.
58. van den Ouweland AMW, de Vries BBA, Bakker PLG, Deelen WH, de Graaff E, van Hemel JO, et al. DNA diagnosis of the fragile X syndrome in a series of 236 mentally retarded subjects and evidence for a reversal of mutation in the FMR-1 gene. 1994;51(4):482-5.
59. Kaplan G, Kung M, McClure M, Cronister A. Direct mutation analysis of 495 patients for fragile X carrier status/proband diagnosis. 1994;51(4):501-2.
60. Mila M, Sanchez A, Badenas C, Brun C, Jimenez D, Villa MP, et al. Screening for FMR1 and FMR2 mutations in 222 individuals from Spanish special schools: identification of a case of FRAXE-associated mental retardation. *Hum Genet*. 1997;100(5-6):503-7.
61. Jacobs PA, Bullman H, Macpherson J, Youings S, Rooney V, Watson A, et al. Population studies of the fragile X: a molecular approach. *Journal of medical genetics*. 1993;30(6):454-9.
62. Millán JM, Martínez F, Cadroy A, Gandía J, Casquero M, Beneyto M, et al. Screening for FMR1 mutations among the mentally retarded: prevalence of the fragile X syndrome in Spain. 1999;56(1):98-9.
63. Tunçbilek E, Alikasifoğlu M, Boduroğlu K, Aktas D, Anar B. Frequency of fragile X syndrome among Turkish patients with mental retardation of unknown etiology. 1999;84(3):202-3.
64. Elbaz A, Suédois J, Duquesnoy M, Beldjord C, Berchel C, Mérault G. Prevalence of fragile-X syndrome and FRAXE among children with intellectual disability in a Caribbean island, Guadeloupe, French West Indies. 1998;42(1):81-9.
65. Goldman A, Krause A, Jenkins T. Fragile X syndrome occurs in the South African black population. *S Afr Med J*. 1997;87(4):418-20.
66. Goldman A, Jenkins T, Krause A. Molecular evidence that fragile X syndrome occurs in the South African black population. *Journal of medical genetics*. 1998;35(10):878-.
67. O'Dwyer J, Holmes J, Mueller R, Taylor G. The prevalence of fragile-X syndrome in an institution for people with learning disability. *Psychiatr Genet*. 1997;7(3):115-9.
68. Slaney SF, Wilkie AO, Hirst MC, Charlton R, McKinley M, Pointon J, et al. DNA testing for fragile X syndrome in schools for learning difficulties. *Arch Dis Child*. 1995;72(1):33-7.
69. Ruangdaraganon N, Limprasert P, Sura T, Sombuntham T, Sriwongpanich N, Kotchabhakdi N. Prevalence and clinical characteristics of fragile X syndrome at child development clinic, Ramathibodi Hospital. *J Med Assoc Thai*. 2000;83(1):69-76.

70. Sharma D, Gupta M, Thelma BK. Expansion mutation frequency and CGG/GCC repeat polymorphism in FMR1 and FMR2 genes in an Indian population. 2001;20(1):129-44.
71. Arrieta I, Criado B, Martinez B, Telez M, Nuñez T, Peñagarikano O, et al. A survey of fragile X syndrome in a sample from Spanish Basque country. *Annales de genetique*. 1999;42(4):197-201.
72. Mulatinho MV, Llerena JC, Pimentel MMG. FRAXA Screening in Brazilian Institutionalized Individuals with Nonspecific Severe Mental Retardation. 2000;4(3):283-7.
73. Hećimović S, Barišić I, Pavelić K. DNA Analysis of the Fragile X Syndrome in an at Risk Pediatric Population in Croatia: Simple Clinical Preselection Criteria Can Considerably Improve the Cost-Effectiveness of Fragile X Screening Studies. *Human Heredity*. 1998;48(5):256-65.
74. González-del Angel A, Vidal S, Saldaña Y, del Castillo V, Angel Alcántara M, Macías M, et al. Molecular diagnosis of the fragile X and FRAXE syndromes in patients with mental retardation of unknown cause in Mexico. *Annales de Génétique*. 2000;43(1):29-34.
75. Hagerman PJ, Hagerman RJ. The fragile-X premutation: a maturing perspective. *Am J Hum Genet*. 2004;74(5):805-16.
76. ÖZER O. "Frajil X Sendromu Olduklarından Şüphelenilen Çocuklarda Sitogenetik ve Moleküler Araştırmalar.". ADANA: ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ; 2010.
77. Clifford S, Dissanayake C, Bui QM, Huggins R, Taylor AK, Loesch DZ. Autism spectrum phenotype in males and females with fragile X full mutation and premutation. *J Autism Dev Disord*. 2007;37(4):738-47.
78. Kraan CM, Godler DE, Amor DJ. Epigenetics of fragile X syndrome and fragile X-related disorders. *Dev Med Child Neurol*. 2018.
79. Monaghan KG, Lyon E, Spector EB, erican College of Medical G, Genomics. ACMG Standards and Guidelines for fragile X testing: a revision to the disease-specific supplements to the Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2013;15(7):575-86.
80. Antinolo G, Borrego S, Cabeza JC, Sanchez R, Sanchez J, Sanchez B. Reverse mutation in fragile X syndrome. *Am J Hum Genet*. 1996;58(1):237-9.
81. Zeesman S, Zwaigenbaum L, Whelan DT, Hagerman RJ, Tassone F, Taylor SA. Paternal transmission of fragile X syndrome. *Am J Med Genet A*. 2004;129A(2):184-9.
82. Fernandez-Carvajal I, Lopez Posadas B, Pan R, Raske C, Hagerman PJ, Tassone F. Expansion of an FMR1 grey-zone allele to a full mutation in two generations. *J Mol Diagn*. 2009;11(4):306-10.
83. Cordts EB, Christofolini DM, Dos Santos AA, Bianco B, Barbosa CP. Genetic aspects of premature ovarian failure: a literature review. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;283(3):635-43.
84. TANRIVERDI YAE. İdiyopatik prematür overyen yetmezlikli olgularda frax premutasyon taşıyıcılığının araştırılması. Denizli: Pamukkale Üniversitesi.; 2016.
85. Ye Y, Lan X, Cong J, Li N, Wu Y, Zhang M, et al. Analysis of CGG repeats in FMR1 in Chinese women with idiopathic premature ovarian failure. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(3):382-7.
86. Ashley CT, Sutcliffe JS, Kunst CB, Leiner HA, Eichler EE, Nelson DL, et al. Human and murine FMR-1: alternative splicing and translational initiation downstream of the CGG-repeat. *Nat Genet*. 1993;4(3):244-51.
87. Verkerk AJ, de Graaff E, De Boulle K, Eichler EE, Konecki DS, Reyniers E, et al. Alternative splicing in the fragile X gene FMR1. *Hum Mol Genet*. 1993;2(4):399-404.
88. Şahin GZ. Depresyon Tanılı Hastaların Fagile X Yönünden Değerlendirilmesi. ERZURUM: Atatürk Üniversitesi; 2012.

89. Clifford S, Dissanayake C, Bui QM, Huggins R, Taylor AK, Loesch DZJJADD. Autism spectrum phenotype in males and females with fragile X full mutation and premutation. 2007;37.
90. Pieretti M, Zhang FP, Fu YH, Warren ST, Oostra BA, Caskey CT, et al. Absence of expression of the FMR-1 gene in fragile X syndrome. *Cell*. 1991;66(4):817-22.
91. Weiler IJ, Greenough WT. Synaptic synthesis of the Fragile X protein: possible involvement in synapse maturation and elimination. *Am J Med Genet*. 1999;83(4):248-52.
92. Cohen IL, Nolin SL, Sudhalter V, Ding XH, Dobkin CS, Brown WT. Mosaicism for the FMR1 gene influences adaptive skills development in fragile X-affected males. *Am J Med Genet*. 1996;64(2):365-9.
93. Ludwig AL, Hershey JW, Hagerman PJ. Initiation of translation of the FMR1 mRNA Occurs predominantly through 5'-end-dependent ribosomal scanning. *J Mol Biol*. 2011;407(1):21-34.
94. Tassone F, De Rubeis S, Carosi C, La Fata G, Serpa G, Raske C, et al. Differential usage of transcriptional start sites and polyadenylation sites in FMR1 premutation alleles. *Nucleic Acids Res*. 2011;39(14):6172-85.
95. Peprah E, He W, Allen E, Oliver T, Boyne A, Sherman SL. Examination of FMR1 transcript and protein levels among 74 premutation carriers. *J Hum Genet*. 2010;55(1):66-8.
96. PENROSE LS. GENETIC LINKAGE IN GRADED HUMAN CHARACTERS. 1938;8(3):233-7.
97. Howard-Peebles PN. Non-specific X-linked mental retardation: background, types, diagnosis and prevalence. *J Ment Defic Res*. 1982;26 (Pt 4):205-13.
98. Martin JP, Bell J. A Pedigree of Mental Defect Showing Sex-Linkage. *J Neurol Psychiatry*. 1943;6(3-4):154-7.
99. Lubs HA. A marker X chromosome. *Am J Hum Genet*. 1969;21(3):231-44.
100. Sherman SL, Jacobs PA, Morton NE, Froster-Iskenius U, Howard-Peebles PN, Nielsen KB, et al. Further segregation analysis of the fragile X syndrome with special reference to transmitting males. *Hum Genet*. 1985;69(4):289-99.
101. Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Pieretti M, Sutcliffe JS, Richards S, et al. Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox. *Cell*. 1991;67(6):1047-58.
102. Ashley-Koch AE, Robinson H, Glicksman AE, Nolin SL, Schwartz CE, Brown WT, et al. Examination of factors associated with instability of the FMR1 CGG repeat. *Am J Hum Genet*. 1998;63(3):776-85.
103. Ashley CT, Jr., Wilkinson KD, Reines D, Warren ST. FMR1 protein: conserved RNP family domains and selective RNA binding. *Science*. 1993;262(5133):563-6.
104. Basehore MJ, Friez MJ. Molecular analysis of fragile X syndrome. *Curr Protoc Hum Genet*. 2014;80:Unit 9 5.
105. Gibson TJ, Rice PM, Thompson JD, Heringa J. KH domains within the FMR1 sequence suggest that fragile X syndrome stems from a defect in RNA metabolism. *Trends Biochem Sci*. 1993;18(9):331-3.
106. Zalfa F, Adinolfi S, Napoli I, Kuhn-Holsken E, Urlaub H, Achsel T, et al. Fragile X mental retardation protein (FMRP) binds specifically to the brain cytoplasmic RNAs BC1/BC200 via a novel RNA-binding motif. *J Biol Chem*. 2005;280(39):33403-10.
107. Feng Y, Gutekunst CA, Eberhart DE, Yi H, Warren ST, Hersch SM. Fragile X mental retardation protein: nucleocytoplasmic shuttling and association with somatodendritic ribosomes. *J Neurosci*. 1997;17(5):1539-47.

108. Willemsen R, Oostra BA, Bassell GJ, Dichtenberg J. The fragile X syndrome: from molecular genetics to neurobiology. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2004;10(1):60-7.
109. Maurer-Stroh S, Dickens NJ, Hughes-Davies L, Kouzarides T, Eisenhaber F, Ponting CP. The Tudor domain 'Royal Family': Tudor, plant Agenet, Chromo, PWWP and MBT domains. *Trends Biochem Sci.* 2003;28(2):69-74.
110. Eberhart DE, Malter HE, Feng Y, Warren ST. The fragile X mental retardation protein is a ribonucleoprotein containing both nuclear localization and nuclear export signals. *Hum Mol Genet.* 1996;5(8):1083-91.
111. Corbin F, Bouillon M, Fortin A, Morin S, Rousseau F, Khandjian EW. The fragile X mental retardation protein is associated with poly(A)<sup>+</sup> mRNA in actively translating polyribosomes. *Hum Mol Genet.* 1997;6(9):1465-72.
112. Feng Y, Absher D, Eberhart DE, Brown V, Malter HE, Warren ST. FMRP associates with polyribosomes as an mRNP, and the I304N mutation of severe fragile X syndrome abolishes this association. *Mol Cell.* 1997;1(1):109-18.
113. Hansen RL, Hagerman RJ. Fragile X Syndrome In: Goldstein S, Reynolds CR, editors. *Handbook of Neurodevelopmental and Genetic Disorders in Adults.* 2005. p. 287-98.
114. Willemsen R, Bontekoe C, Tamanini F, Galjaard H, Hoogeveen A, Oostra B. Association of FMRP with ribosomal precursor particles in the nucleolus. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;225(1):27-33.
115. Laggerbauer B, Ostareck D, Keidel EM, Ostareck-Lederer A, Fischer U. Evidence that fragile X mental retardation protein is a negative regulator of translation. *Hum Mol Genet.* 2001;10(4):329-38.
116. Bear MF, Huber KM, Warren ST. The mGluR theory of fragile X mental retardation. *Trends Neurosci.* 2004;27(7):370-7.
117. Antequera F, Boyes J, Bird A. High levels of de novo methylation and altered chromatin structure at CpG islands in cell lines. *Cell.* 1990;62(3):503-14.
118. Hinds HL, Ashley CT, Sutcliffe JS, Nelson DL, Warren ST, Housman DE, et al. Tissue specific expression of FMR-1 provides evidence for a functional role in fragile X syndrome. *Nat Genet.* 1993;3(1):36-43.
119. Khandjian EW, Fortin A, Thibodeau A, Tremblay S, Cote F, Devys D, et al. A heterogeneous set of FMR1 proteins is widely distributed in mouse tissues and is modulated in cell culture. *Hum Mol Genet.* 1995;4(5):783-9.
120. Loesch DZ, Huggins RM, Bui QM, Epstein JL, Taylor AK, Hagerman RJ. Effect of the deficits of fragile X mental retardation protein on cognitive status of fragile x males and females assessed by robust pedigree analysis. *J Dev Behav Pediatr.* 2002;23(6):416-23.
121. Loesch DZ, Huggins RM, Bui QM, Taylor AK, Hagerman RJ. Relationship of deficits of FMR1 gene specific protein with physical phenotype of fragile X males and females in pedigrees: a new perspective. *Am J Med Genet A.* 2003;118A(2):127-34.
122. Merenstein SA, Sobesky WE, Taylor AK, Riddle JE, Tran HX, Hagerman RJ. Molecular-clinical correlations in males with an expanded FMR1 mutation. *Am J Med Genet.* 1996;64(2):388-94.
123. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey M, Grigsby J, Zhang L, Brunberg JA, et al. Fragile X premutation tremor/ataxia syndrome: molecular, clinical, and neuroimaging correlates. *Am J Hum Genet.* 2003;72(4):869-78.
124. Hagerman PJ, Hagerman RJ. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2015;1338:58-70.

125. Hagerman R, Au J, Hagerman P, JoND. FMR1 premutation and full mutation molecular mechanisms related to autism. 2011;3(3):211-24.
126. Farzin F, Perry H, Hessler D, Loesch D, Cohen J, Bacalman S, et al. Autism spectrum disorders and attention-deficit/hyperactivity disorder in boys with the fragile X premutation. *J Dev Behav Pediatr.* 2006;27(2 Suppl):S137-44.
127. Hagerman R, Hoem G, Hagerman P. Fragile X and autism: Intertwined at the molecular level leading to targeted treatments. *Mol Autism.* 2010;1(1):12.
128. Nolin SL, Glicksman A, Ding X, Ersalesi N, Brown WT, Sherman SL, et al. Fragile X analysis of 1112 prenatal samples from 1991 to 2010. *Prenat Diagn.* 2011;31(10):925-31.
129. Eichler EE, Holden JJ, Popovich BW, Reiss AL, Snow K, Thibodeau SN, et al. Length of uninterrupted CGG repeats determines instability in the FMR1 gene. *Nat Genet.* 1994;8(1):88-94.
130. Chen L, Hadd A, Sah S, Filipovic-Sadic S, Krosting J, Sekinger E, et al. An information-rich CGG repeat primed PCR that detects the full range of fragile X expanded alleles and minimizes the need for southern blot analysis. *J Mol Diagn.* 2010;12(5):589-600.
131. Nolin SL, Sah S, Glicksman A, Sherman SL, Allen E, Berry-Kravis E, et al. Fragile X AGG analysis provides new risk predictions for 45-69 repeat alleles. *Am J Med Genet A.* 2013;161A(4):771-8.
132. Yrigollen CM, Durbin-Johnson B, Gane L, Nelson DL, Hagerman R, Hagerman PJ, et al. AGG interruptions within the maternal FMR1 gene reduce the risk of offspring with fragile X syndrome. *Genet Med.* 2012;14(8):729-36.
133. Front matter. Willemsen R, Kooy RF, editors: Academic Press; 2017 2017/01/01/. iii p.
134. Sutherland GR. Fragile sites on human chromosomes: demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium. *Science.* 1977;197(4300):265-6.
135. Sutherland GR. Heritable fragile sites on human chromosomes I. Factors affecting expression in lymphocyte culture. *Am J Hum Genet.* 1979;31(2):125-35.
136. AKIN H, ATEŞ EA. Tıbbi Genetik Laboratuvar ve Klinik. In: ÇOĞULU Ö, editor. *Tıbbi Genetikte Kullanılan Yöntemler: Ankara Nobel Kitapevleri*; 2017.
137. Oberle I, Rousseau F, Heitz D, Kretz C, Devys D, Hanauer A, et al. Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science.* 1991;252(5009):1097-102.
138. Yu S, Pritchard M, Kremer E, Lynch M, Nancarrow J, Baker E, et al. Fragile X genotype characterized by an unstable region of DNA. *Science.* 1991;252(5009):1179-81.
139. Bowater RP, Wells RD. The intrinsically unstable life of DNA triplet repeats associated with human hereditary disorders. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* 2001;66:159-202.
140. Cummings CJ, Zoghbi HY. Fourteen and counting: unraveling trinucleotide repeat diseases. *Hum Mol Genet.* 2000;9(6):909-16.
141. Barber JCKJHG, Gersen SL, Keagle MB (eds): *The principles of clinical cytogenetics*, 2nd edn. Humana Press, 2005 (ISBN 1-58829-300-9), hardcover, \$145.00. 2005;117:292-3.
142. Durkin SG, Glover TW. Chromosome fragile sites. *Annu Rev Genet.* 2007;41:169-92.
143. Debacker K, Kooy RF. Fragile sites and human disease. *Hum Mol Genet.* 2007;16 Spec No. 2:R150-8.
144. Antequera F, Bird A. Number of CpG islands and genes in human and mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(24):11995-9.

145. Bell MV, Hirst MC, Nakahori Y, MacKinnon RN, Roche A, Flint TJ, et al. Physical mapping across the fragile X: hypermethylation and clinical expression of the fragile X syndrome. *Cell*. 1991;64(4):861-6.
146. Tassone F. Advanced technologies for the molecular diagnosis of fragile X syndrome. *Expert Rev Mol Diagn*. 2015;15(11):1465-73.
147. Wang Q, Green E, Barnicoat A, Garrett D, Mullarkey M, Bobrow M, et al. Cytogenetic versus DNA diagnosis in routine referrals for fragile X syndrome. *Lancet*. 1993;342(8878):1025-6.
148. Tranebjaerg L, Lubs HA, Borghgraef M, Brown WT, Fisch G, Fryns JP, et al. Seventh International Workshop on the Fragile X and X-linked Mental Retardation. *Am J Med Genet*. 1996;64(1):1-14.
149. Murray A, Youings S, Dennis N, Latsky L, Linehan P, McKechnie N, et al. Population screening at the FRAXA and FRAXE loci: molecular analyses of boys with learning difficulties and their mothers. *Hum Mol Genet*. 1996;5(6):727-35.
150. Hecimovic S, Barisic I, Pavelic K. DNA analysis of the fragile X syndrome in an at risk pediatric population in Croatia: simple clinical preselection criteria can considerably improve the cost-effectiveness of fragile X screening studies. *Hum Hered*. 1998;48(5):256-65.
151. Sherman S, Pletcher BA, Driscoll DA. Fragile X syndrome: diagnostic and carrier testing. *Genet Med*. 2005;7(8):584-7.
152. Oostra BA, Jacky PB, Brown WT, Rousseau F. Guidelines for the diagnosis of fragile X syndrome. National Fragile X Foundation. *J Med Genet*. 1993;30(5):410-3.
153. Darby JK, Willems, P.J. Fmr1 knockout mice: a model to study fragile X mental retardation. The Dutch-Belgian Fragile X Consortium. *Cell*. 1994;78(1):23-33.
154. Brown WT, Nolin S, Houck G, Jr., Ding X, Glicksman A, Li SY, et al. Prenatal diagnosis and carrier screening for fragile X by PCR. *Am J Med Genet*. 1996;64(1):191-5.
155. Kremer EJ, Pritchard M, Lynch M, Yu S, Holman K, Baker E, et al. Mapping of DNA instability at the fragile X to a trinucleotide repeat sequence p(CCG)<sub>n</sub>. *Science*. 1991;252(5013):1711-4.
156. Brown WT, Houck GE, Jr., Jeziorowska A, Levinson FN, Ding X, Dobkin C, et al. Rapid fragile X carrier screening and prenatal diagnosis using a nonradioactive PCR test. *JAMA*. 1993;270(13):1569-75.
157. Pastore LM, Johnson J. The FMR1 gene, infertility, and reproductive decision-making: a review. *Front Genet*. 2014;5:195.
158. Kronquist KE, Sherman SL, Spector EB. Clinical significance of tri-nucleotide repeats in Fragile X testing: a clarification of American College of Medical Genetics guidelines. *Genet Med*. 2008;10(11):845-7.
159. American College of O, Gynecologists Committee on G. ACOG Committee Opinion No. 469: Carrier screening for fragile X syndrome. *Obstet Gynecol*. 2010;116(4):1008-10.
160. Oostra BA, Willemsen R. A fragile balance: FMR1 expression levels. *Hum Mol Genet*. 2003;12 Spec No 2:R249-57.
161. Coffee B, Keith K, Albizua I, Malone T, Mowrey J, Sherman SL, et al. Incidence of fragile X syndrome by newborn screening for methylated FMR1 DNA. *American journal of human genetics*. 2009;85(4):503-14.
162. Mazzocco MM. Advances in research on the fragile X syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2000;6(2):96-106.
163. Tuncbilek E, Alikasifoglu M, Boduroglu K, Aktas D, Anar B. Frequency of fragile X syndrome among Turkish patients with mental retardation of unknown etiology. *Am J Med Genet*. 1999;84(3):202-3.



164. Demirhan O, Tastemir D, Diler RS, Firat S, Avci A. A cytogenetic study in 120 Turkish children with intellectual disability and characteristics of fragile X syndrome. *Yonsei Med J.* 2003;44(4):583-92.
165. Bilgen T, Keser I, Mihci E, Haspolat S, Tacoy S, Luleci G. Molecular analysis of fragile X syndrome in Antalya Province. *Indian J Med Sci.* 2005;59(4):150-5.
166. ÖZBEY Ü, YÜCE H, KARA M. Mental Retardasyonlu Bireylerde Sitogenetik ve Frajil X Moleküler Testlerin Uygulanması. *Firat Tıp Dergisi.* 2007;12:269 - 72.
167. Hartley SL, Seltzer MM, Raspa M, Olmstead M, Bishop E, Bailey DB. Exploring the adult life of men and women with fragile X syndrome: results from a national survey. *Am J Intellect Dev Disabil.* 2011;116(1):16-35.
168. Hagerman RJ. Fragile X Syndrome and Premutation-Associated Disorders. In: Suzanne B. Cassidy JEA, editor. *Management of Genetic Syndromes, 3rd Edition* 2010. p. 397-412.
169. Saul RA, Tarleton JC. FMR1-Related Disorders. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editors. *GeneReviews((R))*. Seattle (WA) 1993.
170. E. L. Kurtoğlu ED, İ. Tekedereli. Fragile X Syndrome: Molecular and Clinical Genetics Aspects. *Gümüşhane University Journal Of Health Sciences.* 2018;7(4):74-88.
171. Johnson CP, Myers SM, American Academy of Pediatrics Council on Children With D. Identification and evaluation of children with autism spectrum disorders. *Pediatrics.* 2007;120(5):1183-215.
172. Darnell JC, Klann E. The translation of translational control by FMRP: therapeutic targets for FXS. *Nature Neuroscience.* 2013;16:1530.
173. Hagerman RJ, Des-Portes V, Gasparini F, Jacquemont S, Gomez-Mancilla B. Translating molecular advances in fragile X syndrome into therapy: a review. *J Clin Psychiatry.* 2014;75(4):e294-307.
174. Richter JD, Bassell GJ, Klann E. Dysregulation and restoration of translational homeostasis in fragile X syndrome. *Nature Reviews Neuroscience.* 2015;16:595.
175. Tabolacci E, Chiurazzi P. Epigenetics, fragile X syndrome and transcriptional therapy. *American Journal of Medical Genetics Part A.* 2013;161(11):2797-808.
176. Guo W, Allan AM, Zong R, Zhang L, Johnson EB, Schaller EG, et al. Ablation of Fmrp in adult neural stem cells disrupts hippocampus-dependent learning. *Nature Medicine.* 2011;17:559.

## 9. ÖZGEÇM



TÜRK YE CUMHUR YET  
D CLE ÜN VERS TES  
SA LİK B L MLER  
ENST TÜSÜ



### ÖZGEÇM

Adı	Fikriye Fulya	Soyadı	Kavak
Doğum Yeri	Diyarbakır	Doğum Tarihi	
Uyruğu	TC	Tel	
E-posta	fikriyefulyakavak@gmail.com		

### E T M DÜZEY

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Tezli Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Master	2019
Tezsiz Yüksek Lisans		
Lisans	Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2013
Lise	Ziya Gökalp Lisesi	2006

### DENEY M

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)

Yabancı Dil Sınav Notu
------------------------

ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>ALES Puanı</b>			
<b>(Diğer) Puanı</b>			



## 10. EKLER

### 10.1. Orjinallik Raporu

MENTAL RETARDASYONLU HASTALARDA FRAJİL X ANALİZİ			
ORJİNALLIK RAPORU			
%8	%6	%2	%1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı		%5
2	www.rafer.es İnternet Kaynağı		%1
3	ADA, Yasin, AKBAROVA, Yagut, GÜMÜŞ, Hakan and DÜNDAR, Munis. "FRAJİL X SENDROMU ÖN TANILI HASTALARDA FMR1 GENİNDEKİ 3'LÜ TEKRAR SAYI MUTASYONLARIN BELİRLENMESİ", Fırat Üniversitesi, 2015. Yayın		%1
4	Submitted to University of Glasgow Öğrenci Ödevi		<%1
5	tusf.org İnternet Kaynağı		<%1
6	Winston Lee. "Polyomavirus in Human Cancer Development", Advances in Experimental Medicine and Biology, 2006 Yayın		<%1

## 10.2. Etik Kurul Onayı

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DICLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
218					
<b>KARAR</b>					
Yrd. Doç. Dr. Diclehan ORAL, Fikriye Fulya KAVAK, Uzm. Dr. Edip UNAL, Doç. Dr. Selahattin TEKEŞ, Doç. Dr. Hilmi İSİ, Doç. Dr. Selda ŞİMŞEK, Arş. Gör. Mahir BİNİCİ isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Mental retardasyonlu hastalarda fragil X analizi" başlıklı araştırmaya <i>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u</i> tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.					
<b>DECISION</b>					
The project titled as "Fragile-X analysis in patients with mental retardation" planned by Diclehan ORAL, Fikriye Fulya KAVAK, Edip UNAL, Selahattin TEKEŞ, Hilmi İSİ, Selda ŞİMŞEK, Mahir BİNİCİ has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
<b>Oturum No ( Meeting number) :</b>		Tarih (Date): 21.12.2017		Saat (Hour): 14:00-15:00	
<b>KURUL BAŞKANI (CHIEF)</b>		Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM			
<b>KURUL ÜYELERİ / MEMBERS</b>					
	UNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Hüseyin BÜYÜKBAYRAM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
2	Prof. Dr.	Levent ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
3	Doç. Dr.	Ana KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4	Doç. Dr.	İker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
5	Doç. Dr.	Haktan KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
6	Doç. Dr.	Zaferan YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıklar	
7	Doç. Dr.	M. Veyis BAĞDADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
8	Doç. Dr.	Erdi AZARCAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Organ Üyesi	
9	Yrd. Doç. Dr.	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyostatistik	
10	Yrd. Doç. Dr.	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüsü/DIYARBAKIR  
Telefon:+90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks:+90.412. 248 84 40 kuruletdiyar@gmail.com