

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

23828

ZİHİNSEL ÖZÜRLÜ ÇOCUKLARIN SİTOGENETİK İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Hazırlayan
Tülin ÇORA
Tıbbi Genetik Bilim Dalı

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Sennur DEMİREL

KONYA - 1995

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
Mental Retardasyon.....	2
Frajil-X Sendromu.....	9
MATERYAL VE METOD.....	20
Kromozomların Elde Edilmesi	20
GTG Bantlama Tekniği.....	21
Sentromer Bantlama Tekniği	22
DNA Ekstraksiyonu	25
DNA Miktarının Tayini.....	25
Restriksiyon Enzimleri İle Kesim	26
Agarose Jel Elektroforezi.....	26
Southern Transfer	26
Hibridizasyon	27
BULGULAR.....	29
TARTIŞMA VE SONUÇ	43
ÖZET.....	51
SUMMARY.....	52
LİTERATÜR.....	53
ÖZGEÇMİŞ	63
TEŞEKKÜR.....	64

GİRİŞ

Mental Retardasyon (MR)'a sahip olan çocukların tanısı ve tedavisi günümüzde ciddi bir tıbbi problemdir. Bu problem sadece hasta ve hasta ailelerini ilgilendirmeyip aynı zamanda bir halk sağlığı sorunudur. Genel popülasyonun yaklaşık % 3'ünün IQ'su 70'in altındadır ve genel olarak popülasyonun % 4'ü normalin altında eğitim seviyesine sahip bulunmaktadır.

Etyolojisi oldukça karışık olan MR'nin oluşmasında, kromozomal düzensizlikler, kalıtım ve çevre etkileşiminin birlikte oluşturduğu multifaktöriyel özellikler, kalıtsal metabolik hastalıklar, sosyo-ekonomik farklılıklar etkili olmaktadır.

Kromozomal düzensizlikler içinde en sık rastlanan, çok iyi tanımlanmış olan Down sendromudur. Trizomik bir sendroma sahip bu bireylerde birçok konjenital anomali ile birlikte özellikle ağır MR gözlenmektedir. MR açısından Down sendromundan sonra ikinci sırada yer alan ve ailesel geçiş özelliği gösteren Frajil-X sendromudur. Bu geçiş özelliği nedeniyle daha büyük bir kesimi etkileyeceğinden doğum öncesi tanı yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir.

Bu çalışmanın amacı, zeka düzeyleri normalin altındaki çocukların oluşturduğu alt özel sunflarda, zeka geriliğinin etyolojisinde rol oynayan kromozomal bozuklukları saptamak ve kalıtsal geçiş gösterdiği bilinen durumlarda ailelerin genetik danışma ve prenatal tanı konularında bilgilенmelerini sağlamaktır.

LİTERATÜR BİLGİ

MR : Mental Retardasyon etyolojisi bilinen ve bilinmeyen bir çok hastalıkta bulunabilen bir düzensizliktir. MR toplumun en önemli sorunlarından biri olup görülme sıklığı ortalama % 3 oranındadır (14,36). MR sıklığını belirten rakamlar, IQ değerlendirilmesine bağlı olarak büyük değişiklikler göstermektedir. MR'si olanların % 75'i hafif , % 20'si orta derecede, % 5 ise ağır derecededir (58).

İnsanlarda genetik açıdan ayrıntılı biçimde araştırılan psikolojik özelliklerden biri zeka olmuştur. Konvensiyonel standart ölçümler kullanılarak zeka düzeyi "Intelligence Quotient" IQ olarak belirtilir ve belli sınırlar içinde sınıflandırılır (78,88). Zeka geriliği olan çocukların IQ seviyelerine göre değerlendirilmeleri aşağıda Tablo 1'de gösterilmektedir (68).

Tablo 1: Farklı seviyelerdeki MR'yi belirleyici özellikler (68).

<u>Zeka Düzeyleri</u>	<u>Tanımlayıcı Özellikler</u>
Sınır (IQ 63 - 83)	IQ su 69'un üzerinde çocuklar MR kriterlerini göstermezler fakat eğitim ile ilgili problemleri olabilir. Çoğu, özel yardım ile normal sınıfına devam eder ve sosyal ve mesleki görevlerini tek başına yapabilir.
Hafif (IQ 52 - 67)	Bu grup, MR olarak sınıflandırılan çocukların yaklaşık % 80 - 90'nını içerir. Çoğu özel sınıfa devam eder ve bazıları 4. - 6. derecede okuma seviyesini başarabilir. Özel eğitim ile normal fonksiyonlarını bağımsız yapabilir hale getirilirler.
Orta (IQ 36 - 51)	Özel eğitim ile belli bir seviyeye getirilebilirler. 2. derecede okuma seviyesi kazanabilir, yarı bağımsız olarak hareket edebilirler. Bakıcıya veya bakım merkezine ihtiyaç gösterirler.
Ağır (IQ 20 - 35).....	Çok az seviyede eğitilebilir, basit gündelik konuşmalar yapabilirler. aşırı derecede bakıma ihtiyaçları vardır.
Çok Ağır (IQ 20 - ↓)	Genellikle tüm ihtiyaçları için başkalarına bağımlıdır, konuşma bir kaç kelimeyle sınırlıdır.

IQ ölçümlerinde, temel olarak uygulanan psikometrik testler yanında, gelişme, sosyal ve kültürel faktörlerin önemi de göz önüne alınmalıdır (47). MR'nin nörobiyolojik bozukluğu, beynin yapısal bozukluğu, metabolik bozukluklar ve enfeksiyonlar, beslenme bozukluğu veya hipoksik-işemik hasara bağlı santral sinir sistemi bozukluklarından ileri gelebilir (68). MR'ye yol açabilecek ortamlar, ailesel psikopatoloji, çok aşırı ailesel geçimsizlik veya fakirlikten ortaya çıkan düzensizlikler olarak tanımlanabilir. Özellikle fakir ortamlarda yaşayan çocuklar, perinatal komplikasyonlara yol açan sosyal ve biyolojik imkansızlıklara daha çok maruz olup, daha yüksek risk faktörlerine sahiptirler (68). Tablo 2'de embriyodan çocukluk yıllarına kadar olan evrelerde MR'nin patogenezindeki potansiyel faktörler verilmiştir (68). Gebelik esnasında embriyo, MR'ye yol açan bir çok teratojene maruz kalabilir. Kimyasallar, ışınlar ve enfeksiyon ajanları gibi teratojenlerin, fötusda oluşturacağı defektin şiddeti, embriyogenezisin safhasına göre değişmektedir. Buna göre 3 hassas dönem tanımlanabilir.

1- Embriyo ilk bir kaç haftada teratojenik ajanlara karşı dirençlidir. Büyük bir hasar embriyoyu öldürebilir, fakat canlı kalabilen embriyoda genellikle organ anomalileri görülmez.

2- Embriyonun 3 - 8. haftaları arasında, bir çok organ sistemlerinin farklılaşması -organogenesis- meydana gelir; ancak beyin ve gonad farklılaşması daha sonra olur. Organogenesis esnasında embriyonun teratojenlere hassasiyeti maksimum seviyededir.

3- Organogenesis sonrası embriyonik gelişim 8-10. haftalarda organların gelişmesi ile sonlanır. Bu haftalarda teratojenlerin etkisi sınırlı olmakla beraber ciddi problemlere yol açabilir (70).

Bazen bir teratojen, hücre zarının yapısındaki değişikliklere yol açarak ve dolayısıyla intrasellüler sıvıdaki değişimlere, enzimlerin inhibisyonuna veya azalmasına, kromozom ayrılmamasına, kromozom kı-

Tablo 2: Gebelik öncesi - çocukluk yılları arasında görülebilen MR potansiyel faktörleri (68)

<p>Gebelik öncesi düzensizlikler</p> <ul style="list-style-type: none">Tek gen bozuklukları (örn; yeni doğan metabolizma kusurları, nörokutan düzensizlikler)Kromozomal bozukluklar (örn; X-e bağlı düzensizlikler, translokasyonlar)Polijenik ailesel sendromlar
<p>Erken embriyonik dönemdeki düzensizlikler</p> <ul style="list-style-type: none">Kromozomal düzensizliklerEnfeksiyonlar (TORCH v.s.)Teratojenler (örn; alkol, radyasyon)Plasental disfonksiyonlarKonjenital merkezi sinir sistemi malformasyonları (idiyopatik)
<p>Fötal beyin gelişimi hasarları</p> <ul style="list-style-type: none">Enfeksiyonlar (TORCH v.s.)Toksinler (alkol, kurşun zehirlenmesi, kokain)Plasental yetersizlik (intrauterin gelişme geriliği)
<p>Perinatal problemler</p> <ul style="list-style-type: none">PrematureHipoksik işemik hasarİntrakranial hemorajiMetabolik düzensizlikler (örn; hipoglisemi, hiperbilirubinemi)Enfeksiyonlar (örn; herpes simplex, bakteriyal menenjit)
<p>Postnatal beyin hasarları</p> <ul style="list-style-type: none">Enfeksiyon (örn; ansefalit, menenjit)Travma (örn; ciddi kafa travmaları)AsfiksiMetabolik düzensizlikler (örn; hipoglisemi, hiponatremi)Toksinler (örn; kurşun)İntrakraniyel hemorajiBeslenme bozukluğu
<p>Postnatal aile düzensizlikleri</p> <ul style="list-style-type: none">Fakirlik ve aile düzensizliğiBozuk çocuk-bakıcı ilişkisiAilesel psikopatolojiAilesel uyuşturucu bağımlılığı
<p>Bilinmeyen etkiler</p>

rıklarına veya gen mutasyonuna sebep olarak embriyogenezisi etkileyebilir (91). Bütün bunlar hücreyi ölüme götürür, hücre bölünmesi azalır, hücreler arası alışveriş düşer, hücre göçleri durur.

Bir özelliğin ortaya çıkışında, birden fazla faktörün sorumlu olduğu multifaktöryel kalıtımda genetik ve çevresel faktörlerin birlikte etkileşimi sonucu fenotipik özellikler ortaya çıkmaktadır. İnsanda görülen birçok özellik multifaktöriyeldir. Ağırlık, boy, deri rengi, zeka ve bir çok hastalıklar birden fazla gen ve çevre faktörlerinin etkileşimi ile ortaya çıkmaktadır (74,80). Hastalıkların multifaktöriyel grubu, bir çok doğum defektlerini, yaşam süresini önemli ölçüde kısaltmayan bir çok hastalığı, genel psikozları ve bazı MR olgularını içermektedir (80,88). Multifaktöriyel özellik için MR'nin genel sıklığı % 0.3 olup, erkek dişi oranı 1:1, idiopatik MR sıklığı ise % 0.5'tir (4).

MR'nin etyolojisinde rol oynayan etkenlerden biri de bazı kalıtsal metabolik hastalıklardır. Akraba evliliği ile ortaya çıkma riski artan kalıtsal metabolik hastalıkların çoğu otozomal resesif kalıtımlıdır (4, 80). Şiddeti ve başlama yaşı değişken olan bu hastalıklardan bir kaçının tedavi imkanı mevcuttur (4,80,82).

MR'li çocukların % 1'i fenil ketonuriye sahiptir. Erken dönemde tedavisi mümkün olan bu hastalıkta zeka geriliği ağır olup (IQ < 25), amaçsız el ve kol hareketleri vardır (80). İnsanda bilinen enzim defektlerinin bir çoğu mental yetmezlikte geniş farklılıklar gösterir (38,74,88).

Genelde nadir rastlanılan hastalıklar akraba evliliği yapan çiftlerin çocuklarında görülmektedir. Tüm Kseroderma pigmentosum olgularının %20'si, tüm Fankoni anemisi olgularının % 20'si ve tüm Laurence-Moon-Bield sendromunun % 27'si bu evlilikler sonucu ortaya çıkmaktadır (74,80,85). Akraba evliliği yapan çiftlerin çocuklarında bulunan çeşitli defektler, çoğunlukla iyi tanımlanmış otozomal resesif hastalıklardan daha

çok, nonspesifik konjenital malformasyonlar, çocuk ölümleri ve MR formunu gösteren bozukluklardır (80,85,88).

İsrail'de MR'li bireylere sahip 904 aile üzerinde yapılan bir çalışmada, ebeveynleri akraba evliliği yapmamış, kalıtsal metabolik hastalık taşımayan homozigot MR oranı % 18, buna karşın 1. kuzen evliliği yapmış çiftlerin çocuklarında homozigot MR oranı % 75 olarak bulunmuştur (13). 703 MR bireyde ve ailelerinde Hawaii'de yapılan diğer bir çalışmada, özellikle ağır MR'li olgular içeren grupta, akraba evliliğine bağlı bir artış olduğu gözlenmiştir (48). Akraba evliliği ve tıbbi sonuçları üzerine ülkemizde yapılan çalışmalarda, akraba evliliği ve MR arasındaki ilişki üzerinde durulmuş ve istatistiki olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur (85). Akraba evliliğinin yapılmasında rol oynayan etkenler arasında sosyal, kültürel ve etnik grupların dikkate alınması, MR ve akraba evliliği ilişkisini daha da karmaşık hale getirmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda, sosyal, kültürel ve ekonomik farklılıkların zeka gelişimi üzerine etkileri olduğu ileri sürülmüştür (13,14,56).

Kromozomal aberasyonlar, bir çok hastalık etyolojisinde önemli bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır. En önemli klinik endikasyonları, konjenital malformasyonlar, özellikle birden daha çok sistemin bozukluğu ve orijini bilinmeyen MR'dur. Kromozom düzensizliğine sahip çocukların en belirgin özellikleri, Mental Motor Retardasyon (MMR) ve düşük doğum ağırlığıdır. Geniş bir çalışmanın sonuçlarına göre kromozom düzensizliklerinin görülme sıklığı Tablo 3'de verilmiştir (82). Hemen hemen tüm gebeliklerin % 8'inde bulunan kromozom anomalileri, erken spontan abortusların % 50-60'ından sorumlu bulunmuştur (82).

Otozomal kromozom hastalıkları içinde en sık görülen ve üzerinde en çok çalışma yapılan hastalık Down sendromudur. Hipotoni, yuvarlak yüz, oblik palbebral yarıklar ve epikantus, küçük ve kıvrık kulaklar, kısa ve

Tablo 3: Canlı doğan bebekler arasındaki kromozomal abnormalite insidansı (82).

Anomali Tipi	Sayısı	Yaklaşık İnsidansı
Sex Kromozom Anomalisi	37,779 Erkek	
Toplam	98	1/385 erkek doğum
47,XXY	35	1/1080
47,XYY	35	1/1080
Diğerleri	28	1/1350
Sex Kromozom Anomalisi	19,173 Kadın	
Toplam	29	1/660 kız doğum
45,X	2	1/9600
47,XXX	20	1/960
Diğerleri	7	1/2740
Otozomal Sayı Anomalisi	56,952 Bebek	
Toplam	82	1/695 canlı doğum
Trizomi 21	71	1/800
Trizomi 18	7	1/8140
Trizomi 13	3	1/19,000
Triploidy	1	1/57,000
Yapısal Anomaliler (Otozomal ve Sex Kromozomları)	56,952 Bebek	
Toplam	144	1/395
Dengeli Translokasyonlar		
Robertsonian	51	1/1120
Diğerleri	59	1/965
Dengesiz Translokasyonlar	34	1/1675
TÜM KROMOZOM ANOMALİSİ	353	1/160 canlı doğum

geniş boyun, intrauterin ve ekstrauterin gelişme geriliği, boy kısalığı, mikrosefali, brakisefali, geç kapanan fontanel ve sütürler hipotelorizm, skrotal dil, avuç içinde simian çizgisi, serçe parmakta tek fleksiyon ve ağır zeka geriliği ile karakterize bir sendromdur (4,10,36,80,82). Down sendromunun

canlı doğumlar arasındaki sıklığının 1/600 - 1/800 dolayında olduğu bildirilmektedir (10,68). Ancak bu oran klinik bilgilere göre verilen orandır. Regüler tip Down sendromunda anne yaşı arttığı zaman hastalığın sıklığı da artmaktadır. Anne yaşı 30'dan küçük olduğu zaman hastalık sıklığı 0,6/1000 doğumda iken, anne yaşı 35 ve daha yukarı olduğunda bu oran 20/1000'dir. Down sendromlu hastaların % 95'i reguler tip, % 2 kadarı mozaik tip iken % 3 kadarı translokasyon tiptedir (4,10,82).

Otozomal kromozom hastalıkları içerisinde ömür uzunluğu en fazla olan hastalık Down sendromudur. Trizomi 13, Trizomi 18'de mental-motor gerilik ve fiziksel anomalilerinin prognozu ağır olduğundan ömür uzunlukları oldukça kısadır (4, 80,82).

Sex kromozomlarının sayısal ve yapısal düzensizliklerine bağlı olan anomalilerin, otozomal kromozomlara göre daha hafif seyrettiği bildirilmektedir (63,80,82). Kızlarda sıklıkla görülen X kromozomu sayısal düzensizlikleri 45,X ve 47,XXX'dir. Turner sendromu popülasyonda yaklaşık 1/10000, 47,XXX 1/1000 yeni doğan kız çocuklarında görülür (4,82). Ayrıca seyrek olarak ortaya çıkan 48,XXXX ve 49,XXXXX kromozom kuruluşlarına da rastlanır. X kromozomu delesyon, duplikasyon, izokromozom ve ring gibi yapısal anomalileri de göstermektedir (4,80,82,88). Erkeklerde sıklıkla görülen sex kromozom sayısal düzensizlikleri 47,XXY ve 47,XYY'dir. Bunlarında her birinin, yeni doğan erkek popülasyonunda görülme sıklığı 1/1000'dir. (4,80,82). X kromozomu sayısı arttıkça zeka geriliği de artmaktadır (82,88).

MR'ye yol açan kromozomal düzensizlik örneklerinden biri de yapısal aberasyonlardır (30,68). En yaygın yapısal aberasyonlar, çeşitli kromozomları tutan translokasyon ve delesyonlardır. Lamont ve arkadaşları (36) IQ 50-70 olan MR'li 166 çocuktan kromozom analizi yaparak iki 47,XX+21, iki 47,XXY, bir 48,XXYY, bir 46,XX del (15q) ve iki 46,XX, d (X:

19), 46,XY t (3:15) dengeli translokasyon saptamışlar, kromozom anomali oranını % 5 olarak bulmuşlardır. Mental handikap enstitüsünden 517 erkek hastaya karyotipik analiz yapan English ve arkadaşları (16), 110 abnormal karyotip (% 21,5) tesbit etmişlerdir. Bunların 65'i Down sendromu (% 12,7), 30'u frajil X sendromu (% 5,9), 12 unbalanced, 1'i balanced translokasyon (% 2,5) ve ikisi sex kromozom düzensizliği (% 0,4)'dir. Fryns ve arkadaşları (19) 14 yıl boyunca 48,000 hastayı karyotipik incelemeye almışlar ve kromozomal anomali tesbit ettikleri 153 index hastayı 3 gruba ayırarak incelemişlerdir. 1. grubu oluşturan yapısal düzensizliklerin 40'ı unbalanced karyotip, 38'i ise balanced karyotip içeriyordu. 2. gruptaki spontan abortusların 54'ünde kromozomal anomali mevcuttu. 3. grubu oluşturanlar ise çeşitli endikasyonlar içeren 17 kromozomal düzensizliği sergiliyordu. Ancak, 41 olguda saptanan resiprokal balanced translokasyon karyotipine mental retardasyon ve/veya konjenital malformasyon eşlik ediyordu. Navsaria ve arkadaşları (49) genetik düzensizlikten şüphelendikleri 1000 çocuktan yapılan kromozom analizinde % 16,6 oranında kromozomal anomaliye rastlamışlardır. Bunlar; % 10,9'u trizomi 21 olmak üzere % 11,6 otomozal trizomiler, % 0,7 45,XO %1,0 frajil X sendromu, % 0,3 diğer sex kromozom anomalileri, % 2,7'si yapısal anomalilerdir.

FRAJİL - X SENDROMU

X'e bağlı non-spesifik mental gerilikler heterojen bir gruptur ve bu heterojen grup içinde birkaç tip sendrom ayırt edilmektedir.

Birinci tip X'e bağlı MR, 1944'de Allan, Hendron ve Dudley tarafından tanımlanmıştır (1). Bu hastalarda ciddi hipotoni, kas atrofisi, motor gelişme geriliği ve konuşme defektleri bulunmaktadır. Bu grupta herhangi bir kromozom anomalisi saptanmamıştır.

İkinci tip X'e bağlı MR, 1962'de Renpenning tarafından ortaya atılmış bir sendromdur (59). Boy kısalığı ve mikrosefali ile ilişkilidir.

Üçüncü tip ise frajil-X'e bağlı zeka geriliğidir. Klinik özellikleri ilk kez 1943'de Martin ve Bell tarafından yayınlanmıştır. (43).

Frajil-X sendromu, ailesel yada kalıtsal MR'nun en sık rastlanan sebebidir (6,11,22,24). Kromozomal nedenli mental retardasyonların ise Down sendromundan sonra ikinci en sık sebebi olduğu düşünülmektedir (11,21,22,33). Fakat ailesel geçiş özelliği nedeniyle potansiyel olarak Down sendromuna oranla daha fazla kişiyi etkileyebileceği tahmin edilmektedir (22). Prevalansı erkeklerde 1360'da, kadınlarda 2073'de birdir (90). Hastalık X'e bağlı mental retardasyonların % 50'sinden sorumludur (23). Mutasyonu taşıyan kadınların % 44'ü, erkeklerin % 19'u fenotipik ve sitogenetik olarak normal taşıyıcılar şeklinde karşımıza çıkmaktadırlar. Ayrıca kadınların % 26'sı sitogenetik olarak marker X kromozomunu gösterdikleri halde zekaları normaldir. Sonuç olarak mutasyonu taşıyan kadınların % 30'unda MR görülür (67). Bu alışlagelmişin dışındaki genetik geçiş şekli nedeniyle hastalığın prenatal tanısı ve genetik danışma konusunda oldukça önemli güçlükler vardır (22).

MR'li insanların büyük kısmını erkeklerin oluşturduğu uzun yıllardır bilinmekteydi (22). Lubs, 1969'da X'e bağlı MR'li fertleri olan bir ailenin etkilenmiş dört erkek bireyinde X kromozomu üzerinde sitogenetik bir marker bulunduğunu bildirdi ise de bunun izole bir bulgu olduğu ve tanısal değeri bulunmadığı düşünüldü (41). Ancak, 1970'lerin sonlarında X'e bağlı MR'ların X kromozomunun uzun kolunun uca yakın kısmındaki sitogenetik bir markerla ilişkili olduğu anlaşılabilirdi. Lubs tarafından, 1969 yılında gösterilen orjinal bulgunun desteklenmesinin bu kadar uzun zaman almasının sebebi, marker kromozomu göstermek için özel hücre kültür şartlarının sağlanması gerekliliğiydi (41). Sutherland 1977 yılında marker kromozomun ekspresyonu için kültür ortamının folik asid ve timidinden fakir olması gerektiğini gösterdi (75). Bahsedilen marker günümüzde, X kromozomu üze-

rinde bir boşluk yada kırık şeklinde görüldüğü için, Frajil-X sendromu veya ilk yayınlayanların adıyla, Martin-Bell sendromu olarak adlandırılmaktadır.

Fenotipik Bulgular

Frajil X sendromlu erkek hastalardaki fizik bulgular hastalığın tanımlanmasından sonraki dönemde ilgi duyulan konulardan biri olmuş ve günümüze dek bir çok sisteme ait fenotipik özellik tarif edilmiştir. Bulguların varlığı yaşa göre değişkenlik göstermekle birlikte tanımlanan bulgulardan biri yada bir kaç Frajil-X sendromlu hastaların % 80'inde görülmektedir (8,11,22,24,69). Frajil-X sendromu olan ve olmayan MR'lu erkek hastaların antropometrik ölçümlerinin karşılaştırılmasında testis hacmi, kulak uzunluğu ve genişliği, bizigomatik çap ve kafa çevresi gibi ölçümlerin bu sendrom için ayırt ettirici özellikler olduğu bildirilmiştir (7,8,40,81,83). İlk tarif edilen uzun ve dar yüz görünümü, büyük ve belirgin kulaklar, makro-orşidizm gibi bulgulara son yıllarda yüksek damak, pes planus, esnek ve elastik parmak eklemleri, pektus ekskavatumün eklenmesiyle dikkatler bağ dokusu ile ilgili bir bozukluk üzerinde yoğunlaşmıştır (11,22,83). Frajil-X sendromlu hastaların çoğunda mitral kapak prolapsusu olduğu ve cilt, aorta, kalp kapakları gibi dokularda elastin liflerinin anormal bir yapı sergilediği gösterilmiştir (22). Fakat henüz spesifik bir bağ dokusu bozukluğu ispatlanmamıştır (24). Bu yapısal bozuklukların yanı sıra hastalarda MR, epileptik nöbetler, otizm ve hiperaktivite gibi nörolojik ve davranışsal bozukluklara da sık rastlanmaktadır (3, 28,37,62,69).

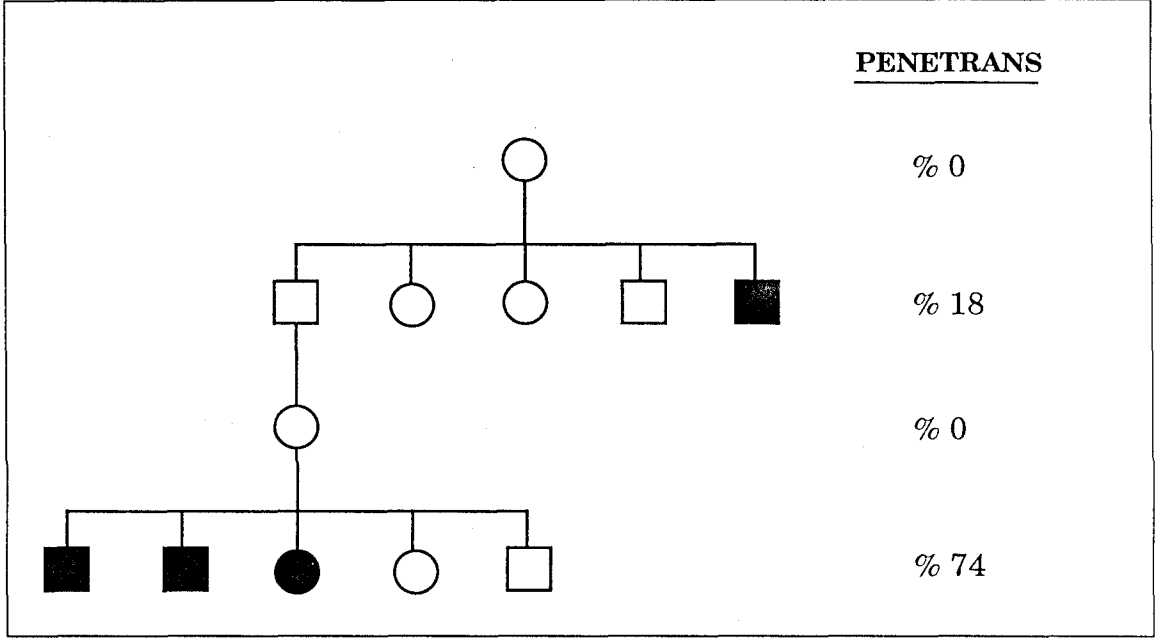
Frajil-X Sendromunun Genetiği

Frajil-X sendromunun genetik özellikleri klasik bilgilere uymamaktadır (22). Mutasyonu taşıyan erkeklerin % 80'inde belli derecede MR ve az ya da çok fenotipik bulgular saptanmaktadır. (67). Geriye ka-

lanlarında ise görünüş ve zeka düzeyi tamamen normaldir (66,67). Bu gruptaki kişilere "Normal Taşıyıcı Erkekler" adı verilir (66). Frajil-X mutasyonu bu erkekler aracılığıyla kız çocuklarına taşınır ve hasta torunların dünyaya gelmesine sebep olur (6). Normal taşıyıcı erkeklerin kızları da aynı kendileri gibi asemptomatik taşıyıcılardır (26,67). Bu erkeklerin erkek çocuklarında ise, X kromozomu babadan oğula geçmeyeceğine göre, hastalığın görülmesi söz konusu değildir (67).

Annelerinden mutasyonu almış kadınların yaklaşık yarısında Frajil-X kromozomu sitogenetik olarak gösterilebilmesine rağmen ancak 1/3'ünde MR saptanabilmektedir (67). MR hasta erkeklerdekine göre hafiftir. Mental durumu etkilenmemiş taşıyıcı kadınlardan doğan erkek çocuklarda MR oranı % 38 iken, MR'lu taşıyıcı kadınların erkek çocuklarında bu oran % 50 olarak saptanmaktadır. Bu genetik özellikler göz önüne alındığında mutasyonun hastalığa yol açabilmesi için iki basamaklı bir işleme gerek olduğu ve mutlaka bir kadından geçmesi gerektiği görülmektedir (53,66,79).

Frajil-X mutasyonunu taşıyan kişilerin zekalarının normal yada etkilenmiş olabilmesi, taşıyıcıların çocuklarında etkilenme oranının çok büyük değişkenlik göstermesi bu sendromun en ilginç yönlerinden biridir. Normal taşıyıcı erkeklerin anneleri ve kız çocuklarında sitogenetik olarak hastalık saptanamaz ve ancak hasta çocuk doğurduklarında taşıyıcı oldukları anlaşılabilir. Fakat fenotipik olarak birbirlerinden farkı olmayan bu kadınların etkilenmiş çocuk doğurma şansları birbirinden çok farklı olabilmektedir. Sherman ve arkadaşları (67) MR penetransını normal taşıyıcı erkeklerin erkek kardeşlerinde % 18, aynı erkeğin kız çocuğundan olma erkek torunlarında % 74 olarak bulmuştur. Bu durum "Sherman ikilemi (paradoxu)" olarak adlandırılmaktadır (66). Sherman Paradoxu Şekil 1'de açıklanmaktadır.



Şekil-1: Sherman ikilemi

Frajil-X hastalığı üzerinde yoğunlaşan çalışmalar bu ikilemi aydınlatmaya çalışırken, gelişen moleküler genetik yöntemler sayesinde Frajile-X'e bağlı Mental Retardasyon (FMR-1) geninin bulunmasıyla bir çok konu açıklığa kavuşmuştur (87). Hastalığın moleküler düzeyde mekanizmasının anlaşılmasıyla genetik geçiş özelliklerine mantıklı açıklamalar getirilmiştir.

Sitogenetik; Genetik geçiş şeklinde olduğu gibi Frajil-X sendromunun sitogenetik özellikleri de farklılık göstermektedir. Hastalık olsa bile normal hücre kültür şartlarında üretildiği takdirde kırılğan bölgenin gösterilebilmesi mümkün olmamaktadır (75). Ancak, folik asitçe fakir veya tamamen yoksun besiyerlerinin kullanılmasıyla frajil bölgenin görülebilmesi sağlanmaktadır. Ayrıca folik asit düzeyi normal olan besiyeri kullanıldığı durumlarda kromozom hasatı öncesinde ortama folat veya timidilik asit antagonisti ilavesiyle de frajil bölgenin görülmesi sağlanabilmektedir.

Bunun yanı sıra daha bir çok kültür şartının Frajil-X ekspresyonunu etkilediği bilinmektedir. Ortamdaki methionin, kafein miktarı, kültür sü-

resi, hastanın dışarıdan kullandığı folat tedavisi ve multivitamin preparatları bu etkenlerdendir. Ortama eklenen fazla timidin ile hem Frajil-X ekspresyonu sağlandığı hem de uzamış prometafaz kromozomları elde edildiği bildirilmiştir (20).

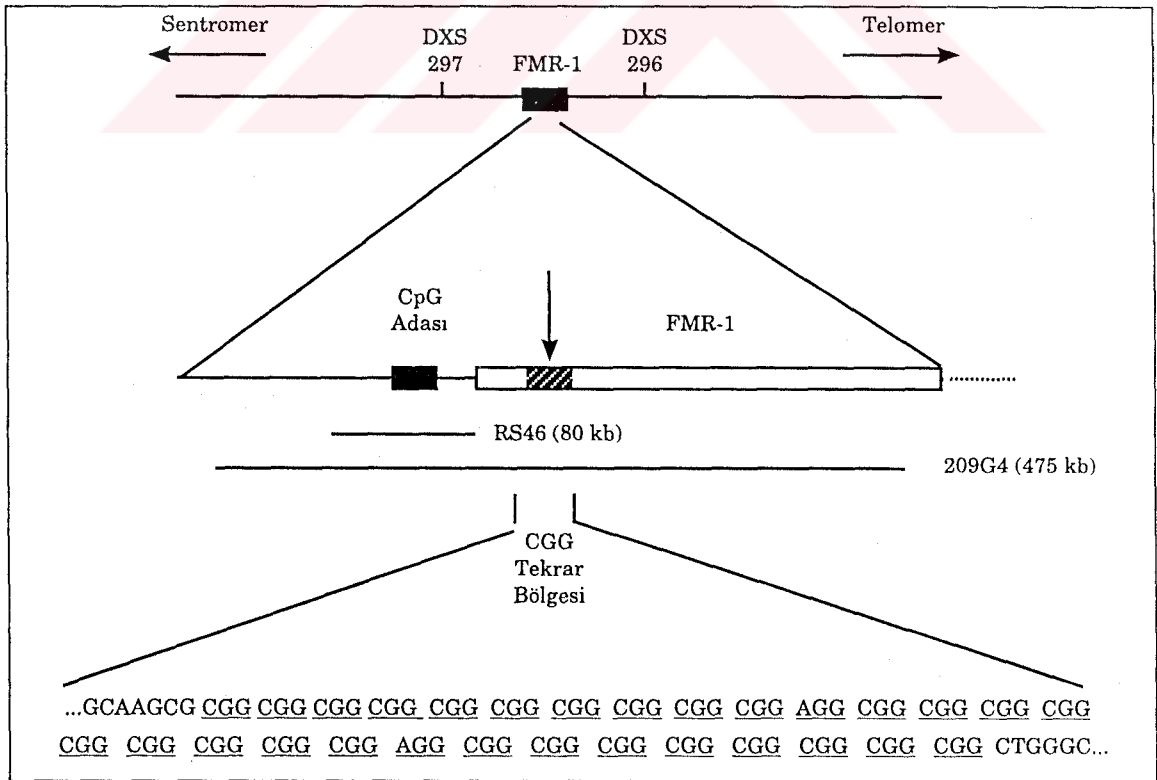
Sitogenetik yöntemin uzun yıllardır bu hastalığın tanısında kullanılıyor olmasına rağmen, normal taşıyıcı erkeklerde ve taşıyıcı kadınların önemli bir kısmında bu yöntemle kırılğan bölgenin görülmemesi özellikle genetik danışma ve prenatal tanı konusunda ciddi bir eksikliğin hissedilmesine neden olmaktadır (67,76,79).

Frajil-X sendromlu hasta erkeklerde kırılğan bölge kadınlara göre daha yüksek yüzdede saptanmaktadır. Ayrıca taşıyıcı kadınlarda saptanan Frajil-X kromozom yüzdesi yaşla azalma gösterirken, erkeklerde sabit kalmaktadır (67,84). Taşıyıcı kadınlar arasında sitogenetik olarak kırılğan bölge gösterildiği halde zekası etkilenmemiş olanların, belli ölçüde etkilenmiş olanlara göre Frajil-X kromozom yüzdesinin daha düşük olduğu saptanmıştır (11,66,67). Frajil-X kromozomu gösterildiği halde klinik bulgusu ve MR'si olmayan bu kadınların varlığı sitogenetik yöntemle prenatal tanı yapmanın sakıncasına işaret eden önemli bir durumdur. Literatürde MR'li olan erkek hastalarda kırılğan bölge pozitiflik yüzdesi % 2-50 arasında değişmektedir. Bu oranın zekası etkilenmiş taşıyıcı kadınlar için % 2-24, bulgusu olmayan taşıyıcı kadınlar için % 6'nın altında olduğu belirtilmektedir (24,29,67). Ayrıca aynı hastadan aynı anda alınan kanın farklı laboratuvarlarda farklı sitogenetik yöntemlerle çalışılması sonucu % 2-50 arasında değişen Frajil-X pozitiflik yüzdeleri elde edilmiş olup ortalama % 29 olarak bulunmuştur (24,29).

Frajil-X sendromu taşıyıcı olan kadınların bazılarının tamamen normal, diğerlerinin ise MR'li olmaları X kromozomunun inaktivasyonu ile açıklanmaktadır (6,49). Tüm kadınlarda mevcut iki X kromozomundan biri

inaktif halde bulunmaktadır. Bu inaktif kromozom ancak gamet hücrelerinde ikinci mayoz bölünmeden önce tekrar aktif hale geçmektedir (6,25). Mutasyonu taşıyan kadınlardaki fenotipik heterojenitenin sebebi hastalığı taşıyan X kromozomunun kişiden kişiye farklı oranlarda inaktive edilmesidir (24,84). Gerçekten de kırılğan kromozomu sitogenetik olarak gösterilmiş MR'si olan ve olmayan, iki kadının X inaktivasyon durumları incelendiğinde MR'si olanların normal X kromozomlarının diğerlerinininkine göre üç kat daha fazla inaktive olduğu gösterilmiştir. Tek yumurta ikizi olup farklı zeka düzeyine sahip iki kız kardeşin varlığı da X kromozom inaktivasyonu teorisini desteklemektedir (29,84).

Sitogenetik analiz, asemptomatik taşıyıcıları tanımlamada yetersizliği araştırmacıları daha güvenilir yöntemler bulmaya yöneltmiştir. Gelişen moleküler teknikler sayesinde son yıllarda Frajil-X sendromu tanısında büyük gelişmeler kaydedilmiş ve önceden anlaşılması güç olan birçok konu açıklığa kavuşmuştur.

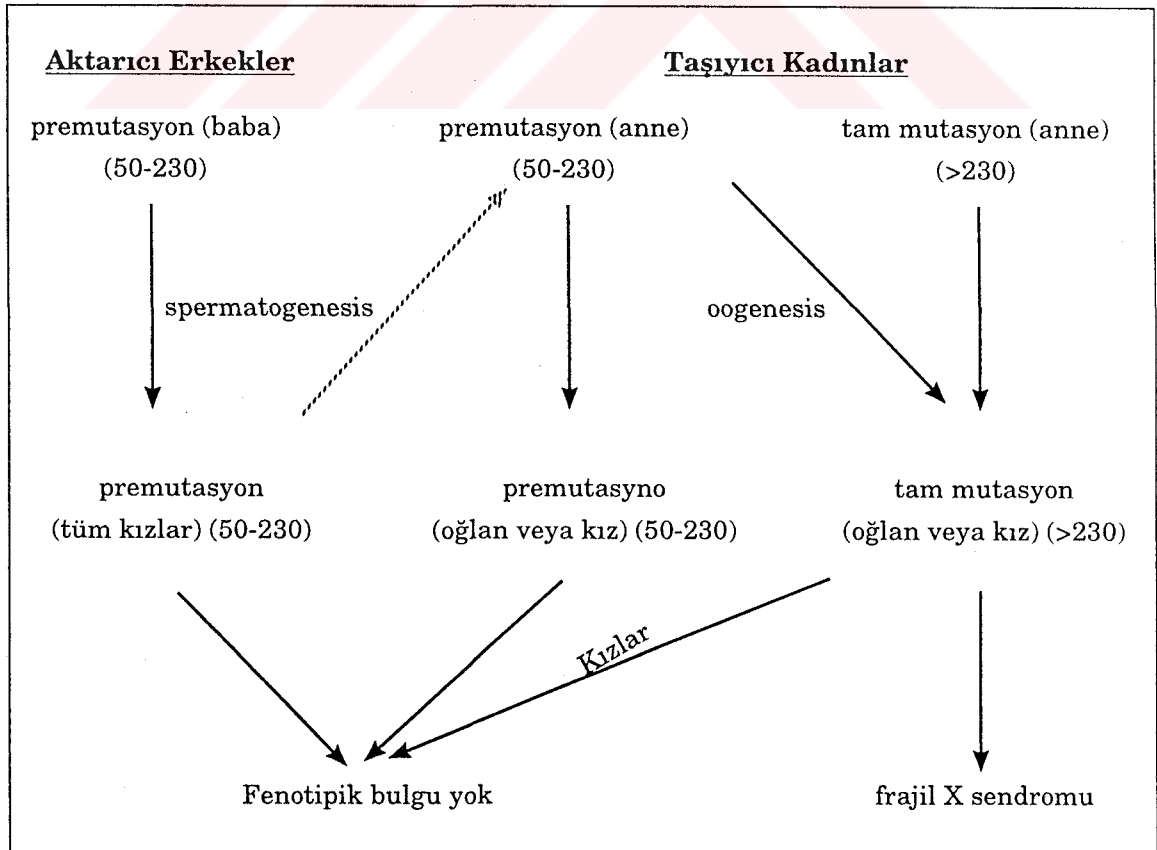


Şekil 2 : FMR-1 gen bölgesinin şematik gösterimi DXS 297 ve DXS296 FMR-1 geninden yaklaşık 2-3 cM uzaklıktaki marker bölgeler.

Moleküler Genetik

Son yıllarda, özellikle 1980 yılından itibaren hızla gelişme gösteren Southern Blot, Polymerase Chain Reaction (PCR) teknikleri ve "Bağlantı analiz" yöntemlerinin kullanılması ile Frajil-X sendromundan sorumlu FMR-1 geni 1991 yılında izole edildi (87). Sitogenetik yöntemle saptanan kırılğan bölgenin moleküler olarak tespit edilmiş olup FMR-1 geni ile aynı yerleşimli olduğu gösterilmiştir (27,60,87). Hastalık geni ile bağlantı gösteren gen bölgeleri için geliştirilmiş "prob" lar sayesinde ve RFLP yöntemi kullanılarak sendroma moleküler düzeyde tanı koymak mümkün olmuştur. (9,79). Değişik araştırmalarda Frajil-X lokusuna yakın, bağlantı gösteren gen bölgeleri için geliştirilmiş proplar kullanılarak hastalığa moleküler düzeyde tanı koyma çalışmaları sürdürülmektedir. DX5369, DX5296, DX5476, DX5463, DX5465, Faktör 9, FRAXAC219, DX5105, Faktör 8C gibi gen bölgeleri, bunları saptayan proplar ve analiz esnasında kullanılacak uygun

Tablo 4 : FMR-1 geni mutasyonunun kliniğe yansıma şekilleri



restriksiyon enzimleri tarif edilmiştir. Elde edilen parçacıkların uzunluk değişkenlikleri değerlendirilerek indirekt moleküler yöntemlerle geniş Frajil-X aileleri incelenmiştir (9,52,60,77). Ayrıca Yeast Artificial Chromosome (YAC) sayesinde tüm Frajil-X mutasyon bölgesinin klonlanması mümkün olmuştur (27).

Frajil-X bölgesinin DNA mükleotid dizi analizleri ile hastalık mekanizmasına ışık tutan çok önemli bulgular elde edilmeye başlanmıştır. X kromozomunda FMR-1 geninin 5' eksonunda değişken sayıda CGG (Sitozin Guanin, Guanin) üçlü nükleotid tekrarlarının oluşturduğu değişik uzunluklar gösterilmiştir (35,50,93). Normal X kromozomunda bu tekrarlar 5-50 arasındadır ve mayoz bölünme esnasında stabil kalır (17,31). Oysa hastalık bulguları olan kişilerin incelenmesinde CGG tekrarlarının 200'ün üzerinde ve komşu Stozin-phosfo -Guanin (CpG) adasının metillenmiş olduğu görülmektedir. CpG adası birbirine fosfodiester bağı ile bağlanmış deoksisitidin ve deoksiguanozinden zengin kesimlerdir. Genin protein kodlayan bölgesinin ön kısmında yerleşirler ve regülatör bir görev üstlenirler (Şekil 2) (79).

Bu adanın metillenmiş olması sonrasındaki protein kodlayan genin transkripsiyonunu durdurur veya yavaşlatır. 200'ün üzerinde CGG tekrarları olan ve CpG bölgesi metillenmiş hastalarda MR ve klinik bulguların sebebinin FMR-1 geninin inaktifliği olduğu düşünülmektedir. CGG tekrarları 50-200 olan kişilerde hastalık bulguları gözlenmez ve sitogenetik olarak negatiftirler. Hastalığı gizli olarak taşırlar. CpG adası metillenmemiştir. Bu kişilerdeki CGG tekrarları mayoz bölünme esnasında stabil değildir. Mayoz bölünmede bu bölgenin büyümesi söz konusu olur. Yani CGG tekrarlarının sayısı artabilir (17,32,79,87,93), FMR-1 geninde 50-200 arasındaki tekrarların uzunluğuna "premutasyon", 200 üzerindeki tekrarların uzunluğuna da "tam mutasyon" denilmektedir. Tam mutasyon mitoz ve

mayoz bölünmede tekrar bölgelerinin kararsızlığından ileri gelmektedir. (Tablo 4) (31).

Premutasyon durumunda klinik bulgu ve sitogenetik pozitiflik saptanamaz. MR ve sitogenetik olarak Frajil-X kromozomunun saptanabilmesi için mutasyonun tam mutasyon olması gerekmektedir (79). Bu durumda normal taşıyıcı erkeklerin tümü ve taşıyıcı kadınların yaklaşık % 50'sinde premutasyon bulunmaktadır. Taşıyıcı kadınların diğer % 50'sinde ise tam mutasyon vardır; fakat mutasyonlu X kromozomlarını inaktive etme oranına göre MR görülmeyen taşıyıcılar olabilmektedir. Yani kadında iki tip taşıyıcılık söz konusudur; premutasyonu olanlar veya tam mutasyonu olup, mutasyonlu X kromozomunu yüksek oranda inaktive edenler (60).

Tam mutasyonu olan erkeklerin tümünde Frajil-X kromozomu pozitifdir ve klinik bulgular saptanır. Premutasyon taşıyıcısı kadınların, mutasyonu çocuklarına aktarırken meydana gelen büyümenin sebebinin X kromozomu inaktivasyonu ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Normal kadınlarda doz ayarlaması amacıyla mevcut iki X kromozomundan biri inaktive olmaktadır. Bu kromozom oogenezis esnasında tekrar aktif hale dönüştürülür. İnaktivasyon ve reaktivasyon işlemi kromozomun metilasyonu ve demetilasyonu ile sağlanır. İşte bu metilasyon ve demetilasyon olayına maruz kalan Frajil-X premutasyonunda büyüme (amplifikasyon) görülmektedir. Taşıyıcı kadın premutasyonu inaktive ettiği X kromozomunda taşıyorsa ve doğacak çocuğa bu kromozomu aktarırsa "tam mutasyonlu" bir çocuk dünyaya gelmiş olur. Metilasyon, demetilasyon işlemine maruz kalmamış bir premutasyon, tam mutasyon şekline dönüşmemektedir (50,79,84). Taşıyıcı kadın CGG tekrarları alt sınırdadır, yani 50-70 üçlü nükleotid dizisi uzunluğundaysa, inaktivasyon - reaktivasyon sonucu meydana gelen büyümeye rağmen tam mutasyon sınırlarına girmeden kalabilmektedir (120-150 CGG tekrar uzunluğu gibi). Böyle bir kadının erkek çocuklarında MR oranı dü-

şükken, erkek çocukların kızlarından doğacak erkek çocuklarda, üst sınırdaki bir premütasyon, inaktivasyon-reaktivasyon olayına maruz kaldığı için, MR çok daha yüksek bir sıklıkta görülebilir (79). Yani fenotip olarak tamamen normal aynı aileye mensup iki ayrı kuşağın kadınlarının, erkek çocuklarında Frajil-X hastalığının penetransı çok farklı bulunabilir. Bu durum "Sherman ikilemi" mekanizması ile açıklanabilmektedir (17,66).

Moleküler genetik yöntemlerle elde edilen bilgilere rağmen Frajil-X sendromunun prenatal tanısı konusunda açık kalmış kapılar vardır. 200'ün üzerinde CGG tekrarı olduğu saptanan bir kız fetüse ne yapılacağı hala tartışma konusu olmaktadır. Çünkü bu çocuk tam mutasyonu olmasına karşın, mutasyonlu X kromozomunu yüksek oranda inaktive ederek fenotipik olarak tamamen normal bir insan hayatını sürdürebilir (26,51,76,79,92).

MATERYAL VE METOD

Araştırmada Nisan 1993 - Haziran 1995 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığı Konya Rehberlik ve Araştırma Merkezine bağlı 11 özel alt sınıfa kayıtlı, IQ düzeyleri 45-75, yaşları 7-15 arasında olan 120 öğrenci çalışma grubu olarak seçildi. MR tanısıyla incelemeye alınan çocukların hepsinin özel eğitime ihtiyaç duyduklarını belirten belgeleri vardı.

Kromozomların Elde Edilmesi

Öğrencilere ait bilgiler; prenatal, perinatal ve erken gelişim basamaklarını içeren sorgulama formlarından, test sonuçlarını içeren dosyalarından ve sınıf öğretmenlerinden alındı. Kromozom analizi için 2 ml. periferik kan steril şartlarda heparinle yıkanmış enjektör içine alındı. Her olgu kanından besi ortamını içeren iki ayrı tüpe 12 damla konularak ekim yapıldı. Tüpler 72 saat 37°C etüvde üremeye bırakıldı. 70 saat sonra her tüpe final konsantrasyonu 0.1 ugr/ml olacak şekilde 0.05 ml. kolçisin ilave edildi. 2 saat 37°C etüvde bekletilen örnekler konik, dereceli tüplere aktarıldı. Tüpler dengelendikten sonra 7 dakika 1000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Çökelti pastör pipeti ile karıştırıldı. Tüplere 7'şer ml. hipotonik solüsyonu ilave edildi. 15 dakika etüvde bekletildi, 7 dakika aynı rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Çökelti pastör pipeti ile karıştırıldı. Pipet hipotonik ile yıkandıktan sonra 1,5 ml. fiksatif, çökelti üzerine birden ilave edildi. İyice pipetaj yapıldıktan sonra üzerine 4 ml. fiksatif daha ilave edildi. 1000 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi. Fiksatif ile yıkama 3 kez tekrarlandıktan sonra, çökeltinin miktarına göre çok az fiksatif bırakılarak pipetaj yapıldı. Daha önceden alkol ile temizlenen lamalar, nemlendirilip 45 °'lik bir eğimle üzerine 1-2 damla damlatılarak yayma yapıldı. Havada kurutuldu, yayılan preparatlar oda ısısında 3 gün bekletildi (42,46).

Periferel Kan Kültürü Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar

1- Besi Ortamları :

A) I. Besi Ortamı

Nutrien (Gibco)	81.5 ml.
% 15 Fetal Calf Serum (Gibco)	15.0 ml.
% 3.4 Phytohemaglutinin M Form (Gibco)	3.4 ml.
% 0.1 Penisilin (Sigma)	0.1 ml.
% 0.1 Streptomisin (Sigma)	0.1 ml.

B) II. Besi Ortamı

Medium 199 (Without Folik Asit) (Gibco)	91.5 ml.
% 5 Fetal Calf Serum (Gibco)	5.0 ml.
% 3.4 Phytohemaglutinin M Form (Gibco)	3.4 ml.
% 1 Penisilin (Sigma)	0.1 ml.
% 0.1 Streptomisin (Sigma)	0.1 ml.

2- Kolisin Solüsyonu :

Liyofilize Kolisin (Gibco) 10 ml. bidistile suda çözüldü.

3- Hipotonik Solüsyonu :

0.075 M KCI (Merck) 0.5592 tartılarak 100 ml. bidistile suda çözüldü.

4- Fiksatif Solüsyonu :

3 kısım Methanol (Merck) 1 kısım Glasial Asetik Asit (Merck) kullanmadan hemen önce hazırlandı.

GTG Bantlama Tekniği

3 gün oda ısısında bekletilen preparatların analizi için Seabrigth'in modifiye edilen GTG (G-bands by trypsin using Giemsa) bantlama tekniği uygulandı (64).

Metafaz kalitesine göre sıralanan preparatlar, mikroskop altında metafazların açık veya koyuluğuna göre değişik saniyelerde tripsinle muamele edildi. Akan musluk suyundan geçilirdikten sonra 5-6 dakika Giemsa boyası ile boyandı. Tekrar musluk suyundan geçirilip, kurutma kağıdı (Whatman 40) ile kurutuldu. Uygun tripsin süresi ile bant alan metafaz kromozomları mikroskop altında sayısal ve yapısal olarak incelendi.

Tripsin Solüsyonu :

0.025 gr. Tripsin (Difco) tartılıp 100 ml. tripsin tamponunda çözüldü.

Tripsin Tamponu: 4.5 gr.

Giemsa Boya Solüsyonu :

5 ml. Giemsa (Merck)

100 ml. Söresan Tamponu (pH = 6.8)

Söresan Tamponu :

A- 9.08 gr. KH_2PO_4 (Merck) 1 lt. bidistile suda çözüldü.

B- 11.88 gr. Na_2HPO_4 (Merck) 1 lt. bidistile suda çözüldü.

Büyük bir behere önce B solüsyonundan bir miktar konuldu. Sonra pH 6.8'e gelene kadar A solüsyonundan ilave edilerek hazırlandı.

Sentromer Bantlama Tekniği (C-Banding)

GTG ile incelemeden sonra C-bantlama yapılmasına karar verilen preparatlara Arrighi'nin CBG (C-bands using barium hydroxide and Giemsa) bantlama tekniği uygulandı (2).

İşlemi ;

İşlem için ayrılan 1-2 haftalık preparatlar 0.2 N HCl solüsyonunda oda ısısında 30 dakika bekletildi. Distile su ile yıkandı, havada kurutuldu.

Preparatlar oda ısısında 0.007 M NaOH solüsyonunda 2-3 dakika tutuldu. Distile suda yıkandı, hızlı bir şekilde % 50, % 70 ve % 100'lük alkol serilerinden geçirildi. 2 xSSC'de 60-65 °C'de bir gece inkübe edildi. Oda ısısındaki distile su ile 3 kez yıkandı, havada kurutuldu. Sörensan bafırı ile hazırlanan % 5'lik Giemsa ile 10-15 dakika boyandı, mikroskopta incelendi.

Solüsyonlar :

1- 0.2 N HCl için, önce 2 N HCl hazırlandı.

2 N HCl,	10 ml.
Distile su	100 ml.

2- 2 X SSC (Saline Sodyum Citrate)

Sodyum Klorid (NaCl)	17.5 gr.
Sodyum Sitrat, 2 H ₂ O (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , 2 H ₂ O)	8.8 gr.
Distile Su	1 lt.

1N NaOH ile pH : 7.0'ye ayarlandı.

3- 0.07 M NaOH Solüsyonu için,

NaOH	0.28 gr.
Distile Su	100 ml.

4- Sörensan bafırı (pH. 7.0)

KH ₂ PO ₄	5.26 gr.
Na ₂ HPO ₄	8.65 gr.
Distile Su	1 lt.

5- Giemsa boya solüsyonu (% 5)

Sorensan bafırı (pH. 7.0)	47.5 ml.
Giemsa boya	2.5 ml.

Fotografik İşlemler :

Anomali gözlenen olgularda metafazların yerleri saptandı. Örnek me-

tafazların 100x objektif ile immersiyon yağı altında Nikon Fx 35 fotoğraf makinesi ile 50 ASA'lık Ilford PANF ile fotoğrafları çekildi. Basım işlemleri için Ilford Ilfobrom 4. IP veya 5. IP kontrast kağıdı kullanıldı.

Konya Milli Eğitime bağlı ilkokullardaki özel alt sınıf öğrencileri sitogenetik olarak araştırılırken, görüş formlarından ve çocukların fenotiplerinden dolayı bizde frajil-X sendromu şüphesi uyandı. Bu çocuklara ayrıca Frajil-X test formu uygulandı ve toplamı 10 puanı geçenlerden moleküler çalışma için EDTA lı 8cc kan alındı. DNA analizleri ve moleküler çalışmalar, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Klinik Moleküler Patoloji Bilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

Tablo 5 : Frajil-X sorgulama Tablosu. Fenotipik bulgular puberte sonrası ortaya çıktığından çocuklarda 10, yetişkinlerde 16 veya daha yukarısı sendrom açısından risktedir (23)

<u>Bulgu</u>	<u>Yok</u> (0 puan)	<u>Sınırdaki Yada Geçmişte Vardı</u> (1 puan)	<u>Şu Anda Kesin Olarak Var</u> (2 puan)
Mental retardasyon			
Hiperaktivite			
Kısa dikkat süresi			
Dokunulmaya tepki			
El sallama			
El ısırma			
Göz teması kurmama			
Anlamsız kelimeyi tekrar			
MP eklem hiperextansibl			
Büyük kepçe kulaklar			
Büyük testisler			
Tek palmar çizgi			
Ailede MR öyküsü			

DNA Ekstraksiyonu :

Sekiz cc EDTA'lı kan örnekleri üzerine son konsantrasyonu % 0.5 olacak şekilde % 10'luk Lauryl Sulfate (Sigma, 14390), 100 µg/ml olacak şekilde proteinaz-K (Sigma, P4914) ve total volümü 30 cc'ye getirecek biçimde STE (0.1M NaCl; 0.05M Trisma pH:7.5; 1mM EDTA pH: 7.4) solüsyonu ilave edilerek 1 gece 37 °C'de bekletildi. Ertesi gün, total volüm kadar Fenol Kloroform Solüsyonu (Merk) (Fenol 25 kısım; Kloroform 24 kısım; isoamyl alkol 1 kısım + 10 mM HCl'den 50 kısım, pH: 8.0) eklendi. 10 dakika alt üst edildikten sonra 10 dakika buza gömüldü. Daha sonra karışım +4 °C'de 2000 rpm'de 25 dakika santrifüj edildi. Süpernatant başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine bu miktarın 1:10'u kadar 2 M Sodyum Asetat (Sigma, S2889), erişilen miktarın 2 katı kadar da % 95'lik Etanol (Tekel) ilave edildikten sonra DNA gözle görünür hale geldi. Bir gece -20 °C'de bekletildikten sonra % 70'lik Etanol ile yıkandı. Santrifüjde çöktürüldükten sonra, DNA 1mM, 1ml TE (1 mM Tris, 1 mM EDTA) solüsyonunda 37 °C'de 1 gece bekletilerek çözüldü (61).

DNA Miktarının Tayini :

Elde edilen DNA'lardan 50 µl alındı ve üzerlerine 2 ml. deionize su eklenerek karıştırıldı. UV spektrofotometrede (Perkin-Elmer), 260 ve 280 nm. dalga boylarında okundu. 280 nm dalga boyunda okunan değer DNA solüsyonu içindeki protein miktarını, 260 nm dalga boyunda okunan değer ise solüsyondaki DNA miktarını gösterir. 260 ve 280 nm dalga boyunda okunan değerlerin birbirlerine bölümünün 1.5'in altında olmaması gerekir. Eğer bulunan değer 1,5'in altında ise DNA ekstraksiyonu tekrarlanacak demektir. Ancak bulunan değer 1.5 ve üzerinde ise, 260 nm dalga boyunda okunan değer sulandırma katsayısı ile çarpılarak total DNA miktarı bulunur. Böylece DNA'nın 1 µgr'mının kaç mikrolitrede olduğu hesaplanır.

Restriksiyon Enzimleri ile Kesim :

Analiz edilecek DNA (7-8 µgr) epondorf test tüpünde protokole uygun tamponlarda (61) Hind III ve EcoR I (Prolabs) endonukleaz enzimleri için ayrı ayrı, total volum 150 µlt. olacak şekilde hazırlandı. 37  C'de bir gece boyunca su banyosunda inkübe edildi. Ertesi gün 0.5-1 µlt. bromofenol blue (BBF) ekledikten sonra DNA'lar jele yüklenecek hale getirildi. Hind III, ile kesilmiş   DNA (Sigma) standard DNA olarak hazırlandı.

Agarose Jel Elektroforezi :

20 x 15 x 0.4 cm. kalınlığında % 0.8'lik agar jeli 1 x TBE tamponuyla mikrodalga fırında hazırlandı. 65  C'ye soğutuldu ve 6-10 µlt etidyum bromide (Sigma) eklendi. Uygun tarak yerleştirilerek, hava kabarcığı oluşturmadan jel hazırlama kuyusuna döküldü. Jel donduktan sonra  er eve ve tara ı çıkarıldı ve tank içerisine kondu. Jel kontrol edilerek RE ile kesilen DNA  rnekleri kuyucuklara yüklendi. G   kaynağı 40 V (0.5 V/cm) olacak şekilde ayarlandı ve bir gece yürütüldü. BBF boya Jelin sonuna 2 cm. yakla ana kadar elektroforez işlemi sürdürüldü. Ultraviole ışık altında, kırmızı filtre ile foto raflandı.

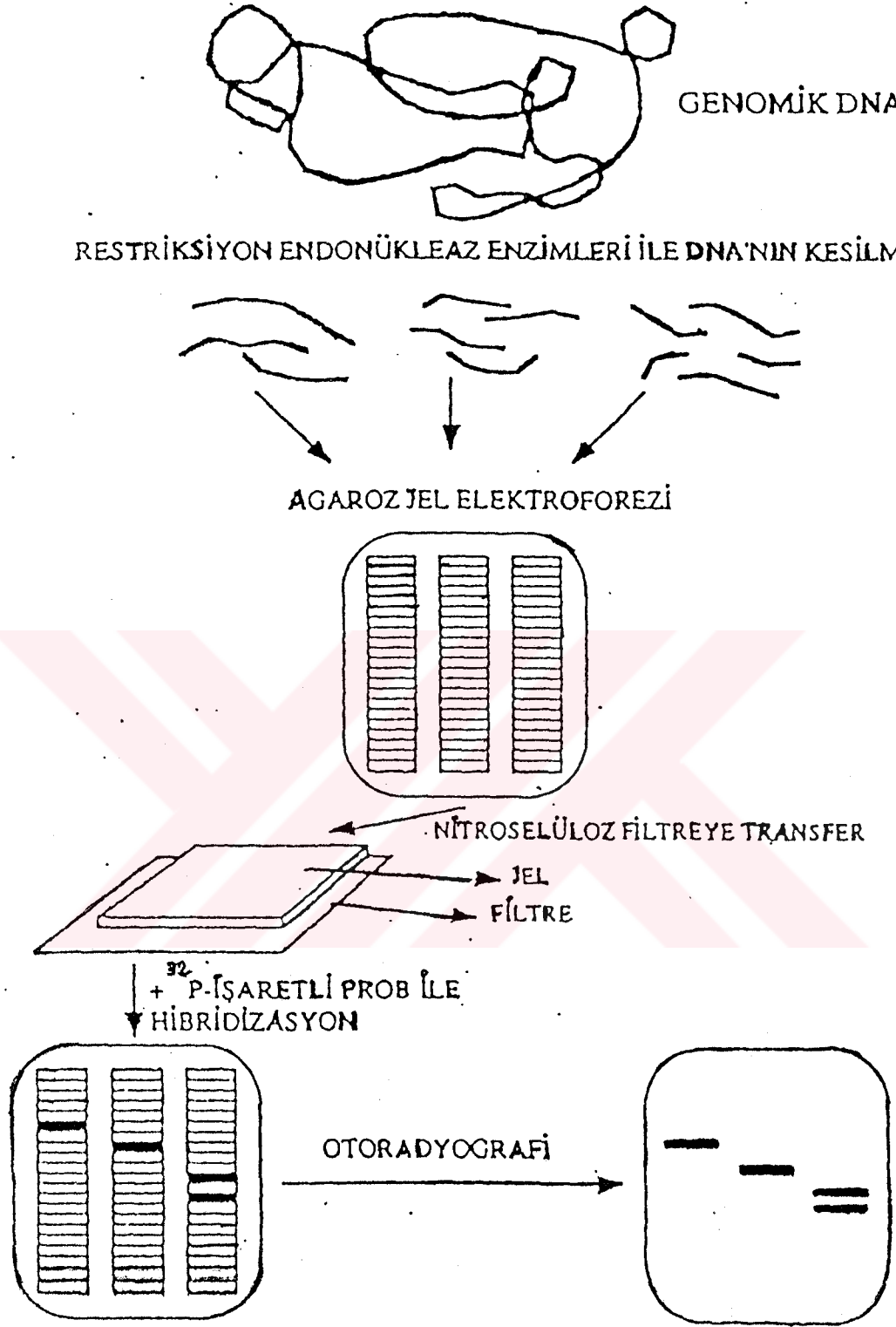
Southern Transfer :

Southern transfer tankı hazırlandı. Jel tanka konmadan önce 0.25 M HCl ile muamele edildi. Jel daha sonra denaturasyon (1.5 M NaCl + 0.5 M NaOH  zeltisinde 30 dakika) ve nötralizasyon (1.5 M NaCl + 0.5 M Tris HCl ve 0.001 M EDTA içerisinde 15 dakika) işlemlerine tabi tutuldu. Jel, 1 x SSC'de 15 dakika bırakıldı. Southern blot düzeneği hazırlandı ve jel  zerindeki DNA'ların 1 gece boyunca Hybond - N membrana ge i i sağlandı. Membranın bazı yerlerine belirleyici işaretler kondu. Membran 2 x SSC de yıkanarak oda ısısında kurutuldu.

Hibridizasyon :

Filtreler itinalı bir şekilde zarflanarak Prof.Oostra (Erasmus Üniversitesi), Hollanda'ya gönderildi. Filtreler radyoaktivite P^{32} ile işaretlenmiş pP2 (CGG tekrarlarının 3' ucunun Pst 1 ile kesilmiş 1000 bp uzunluğunda) probuyla 65 °C'de hibridize edildi. Hibridizasyondan sonra filtreler bir kaç defa 65 °C'de % 0.1'lik SDS ihtiva eden 1 x SSC solüsyonu ile yıkandı, kurumaya terkedildi. Kuruduktan sonra X-ray film kasetlerine yerleştirildi. -20 °C'de bir gecelik, 2 gecelik ve 8 gecelik radyoaktiviteye maruz bırakılarak bantlar görüntülendi. Filmler üzerindeki hastalara ait bantlar incelenerek hastaların CGG tekrar uzunlukları değerlendirildi (Şekil 3).





Şekil 3 : Southern Transfer Tekniği

BULGULAR

Bu çalışmada Milli Eğitim Bakanlığı Rehberlik ve Araştırma Merkezine bağlı, 11 alt özel sınıfa kayıtlı, yaşları 7-15 olan, IQ ları Stanford-Binet testi ile belirlenmiş 120 öğrenci sitogenetik incelemeye alındı (73). Her olguda sayısal ve yapısal anomalileri saptamak amacıyla kromozom analizi yapıldı. Görüş formu ve fenotipi Frajil-X şüphesi veren 23 olguda en az 100 metafaz sayıldı. Sayısal ve yapısal anomalilerin belirlenebilmesi için her olgudan 20 metafaz incelenirken, kromozom analizi gerçekleşen 120 olgudan 13'ünde (% 10.8) sayısal, 4'ünde (% 3.3) yapısal kromozom düzensizliği (Tablo 6), 6 (%5)'sında da moleküler çalışmalar ile frajil-X sendromu (Tablo 7) saptandı.

Tablo 6 : Toplam 120 öğrencide belirlenen karyotip oranları

	Cinsiyet		Toplam (n)	Karyotip %
	Erkek (n)	Kız (n)		
Normal Karyotip	83	20	103	85.83
Sayısal Düzensizlik	9	4	13	10.83
Yapısal Düzensizlik	3	1	4	3.33
Toplam Düzensizlik	12	5	17	14.20
Genel Toplam	95	25	120	100.00

Sitogenetik olarak tesbit ettiğimiz bu düzensizliklerden 13'ünün de novo, 3'ünün familyal dengeli translokasyon taşıdığı aile taramaları yapılarak gösterildi. Perisentrik inversiyon gözlenen 1 olguda geçişin paternal kökenli olduğu saptandı.

Çalışmaya alınan tüm olguların preparatları GTG bantlama yöntemine göre incelendi. Saptanan yapısal kromozom anomalilerinin tipine göre gerek görüldüğünde CBG tekniği uygulandı. Sayısal ve yapısal kro-

mozom düzensizliğine sahip 17 öğrenciye ait gerekli bilgiler Tablo 7'de verildi.

Tablo 7'de görüldüğü gibi kromozomal kökenli mental retardeler arasında ilk sırayı 9 erkek, 4 kız olmak üzere 13 olguda saptanan Regüler tip Down sendromu aldı. Edinilen bilgilere göre hepsi de ailenin tek Down

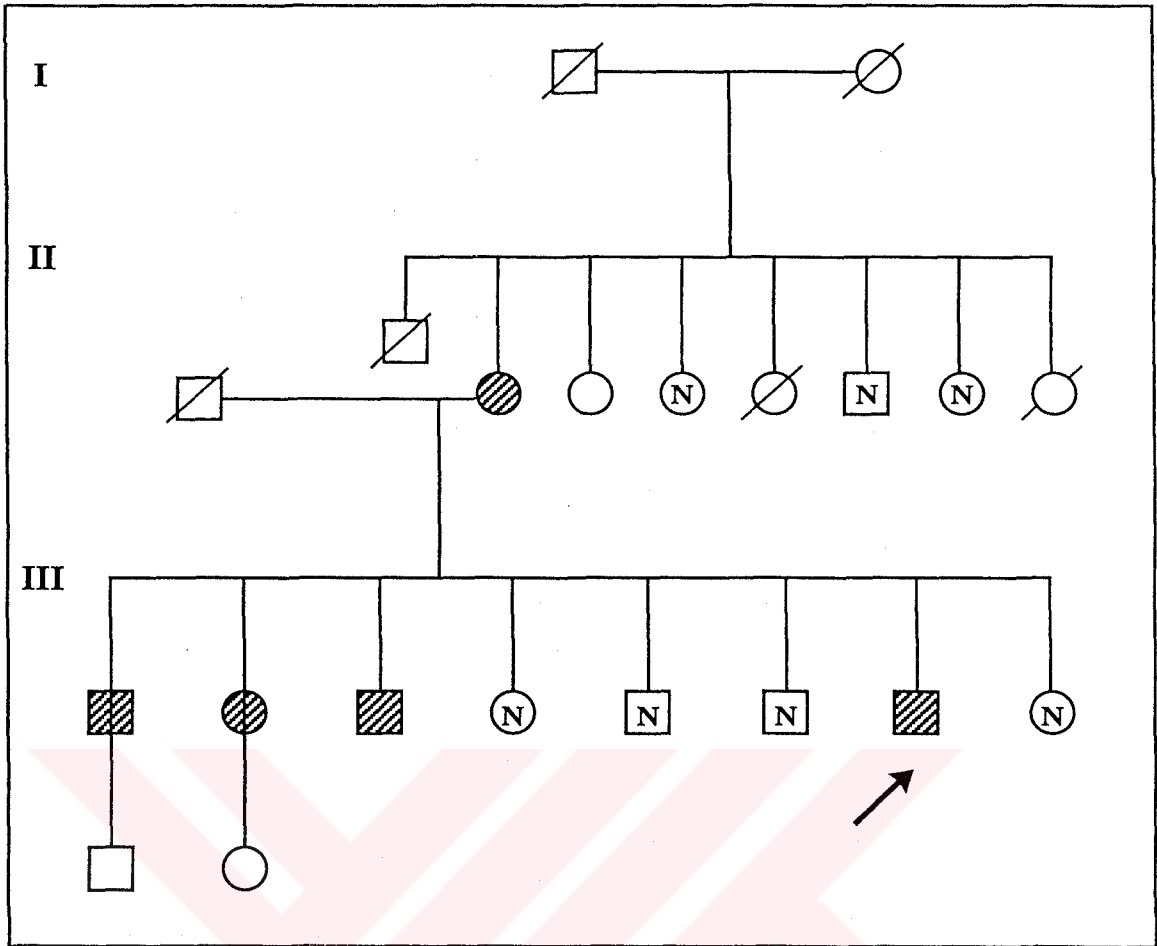
Tablo 7 : Sayısal ve yapısal düzensizliği saptanan 17 öğrencinin cinsiyet, yaş, anne yaşı, uygulanan bantlama teknikleri ve karyotipleri.

OLGULAR	CİNSİYET	ANNE				KARYOTİP
		YAŞ	YAŞI	GTG	CBG	
1) S.B.	E	9	36	+	-	46,XY,+ (1:11) (p33:q24)
2) S.K.	K	8	24	+	+	46,XX,+ (4:9) (q27:p24)
3) O.K.	E	7	24	+	+	46,XY,+ (4:9) (q27:p24)
4) A.U.	E	9	31	+	-	46,XY,inv (9) (p11:q13)
5) E.A.	K	9	25	+	-	47,XX,+ 21
6) E.H.	K	8	30	+	-	47,XX,+ 21
7) E.Ö.	E	7	25	+	-	47,XY,+ 21
8) D.D.	K	7	29	+	-	47,XX,+ 21
9) A.Ç.	E	7	20	+	-	47,XY,+ 21
10) F.A.	E	9	21	+	-	47,XY,+ 21
11) A.K.	E	8	35	+	-	47,XY,+ 21
12) Ö.K.	E	9	23	+	-	47,XY,+ 21
13) K.A.	E	10	25	+	-	47,XY,+ 21
14) Ç.D.T.	E	13	17	+	-	47,XY,+ 21
15) Ş.T.	E	9	37	+	-	47,XY,+ 21
16) K.R.	E	8	20	+	-	47,XY,+ 21
17) S.A.	K	12	19	+	-	47,XX,+ 21

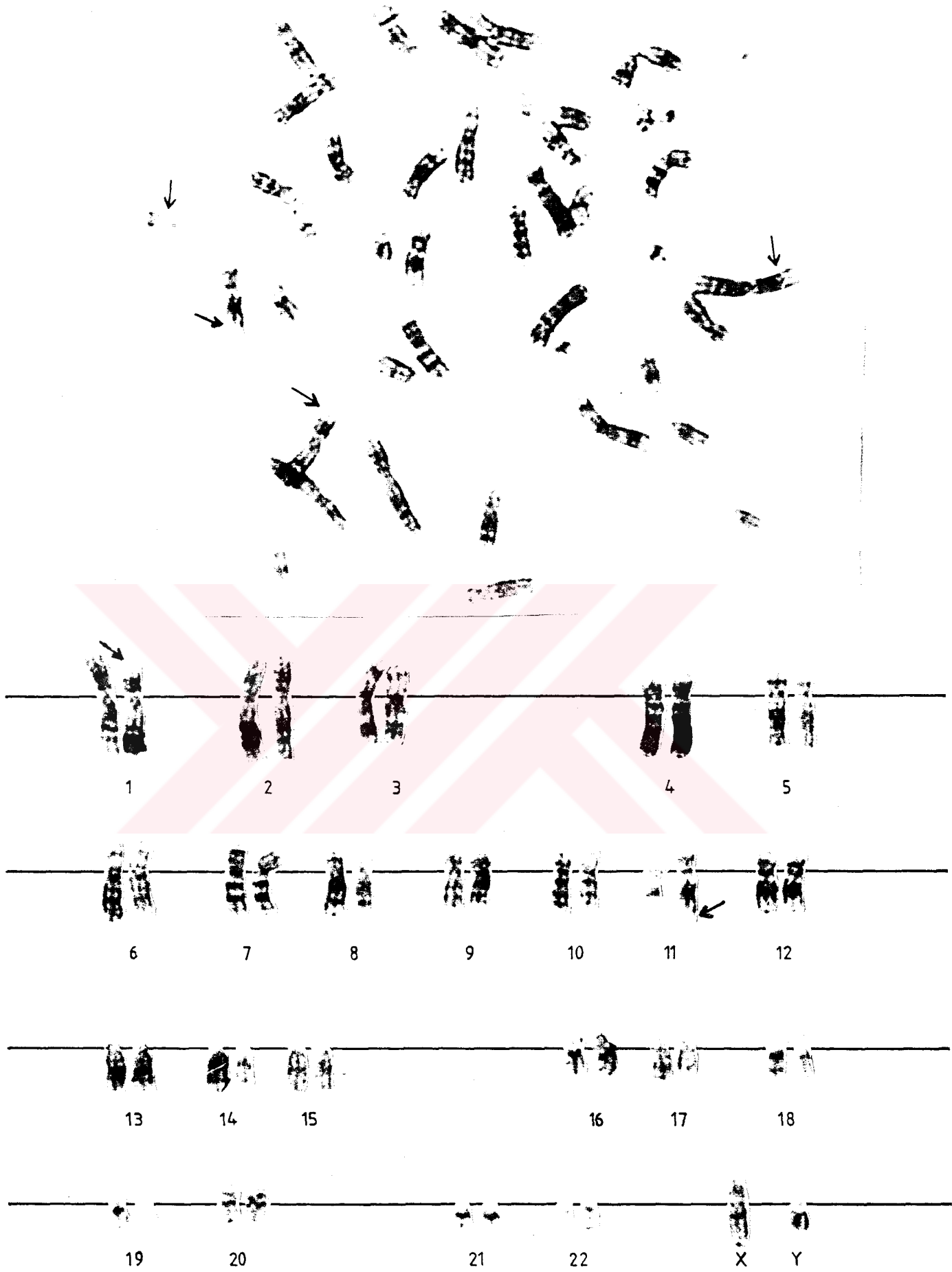
sendromlu çocuğuydu ve sadece 2 tanesinin durumu önceden biliniyordu. Diğerlerine karyotip analizleri ile Down sendromu tanısı ve çocuk edinmek isteyen ailelere uygun genetik danışma verildi. Down sendromu ile anne yaşı arasındaki ilişki ele alındığında en genç annenin 17, en yaşlı annenin 37 yaşında doğum yaptığı belirlendi.

Kromozom analizleri sonucunda dengeli translokasyon taşıyıcısı olduğu ortaya çıkan üç olgunun Tablo 7'deki sırayla 46,XY, t (1;11) (1q ter → 1p33::11q24 → 11q ter; 11p ter → 11q24::1p33 → 1p ter), erkek ve kız iki kardeşin 46,XX (XY), t (4;9) (4p ter → 4q27::9p24 → 9p ter; 9q ter → 9p24::4q27 → 4q ter) karyotiplerine sahip oldukları rapor edildi. Bu translokasyonların familial olup olmadığını ve geçişli ise ailedeki diğer dengeli translokasyon taşıyıcılarını tespit edebilmek amacıyla gerekli olan pedigrî çalışmaları yapıldı. Maternal kalıtılanan birinci olgunun ailesine ait pedigrî çalışması Şekil 4'de, bu translokasyona ait metafaz örneği ve karyotip Şekil 5'de verildi. Paternal kalıtılanan ikinci ve üçüncü olguların ailelerine ait pedigrî çalışması Şekil 6'da, erkek probanddan hazırlanan karyotip Şekil 7'de sunuldu. Bu translokasyonda ise karışan 9 numaralı kromozomun heterokromatin bölgesinin belirlenmesi için C-bantlama uygulandı ve Şekil 8'de görüldüğü gibi 4q27'den kopan parçanın 9p24'den kopan parça ile yer değiştirdiği anlaşıldı. Perisentrik inversiyon 9 bulunan olgu A.U'ya ait GTG bantlama tekniği uygulanan metafaz örneği şekil 9'da verildi.

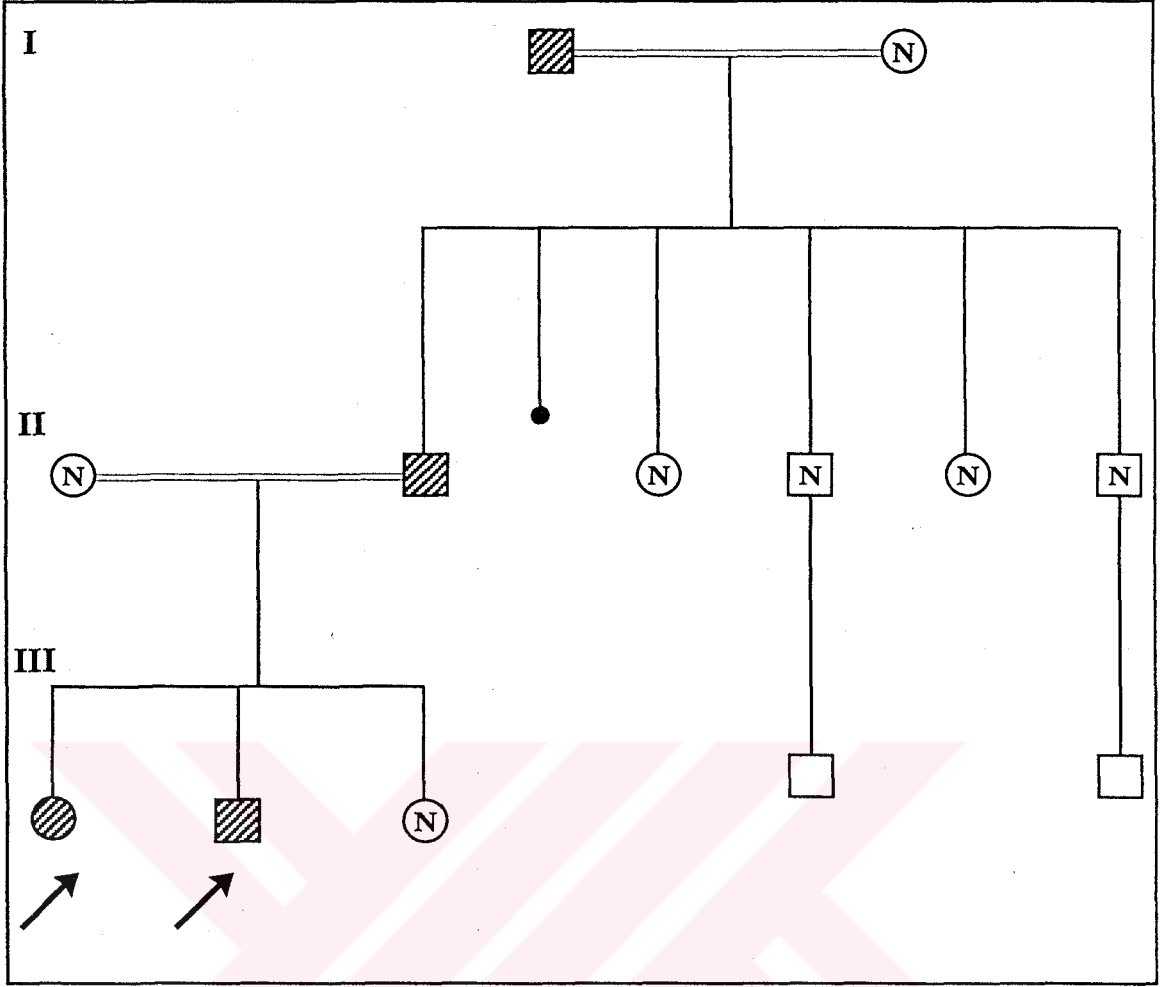
Tablo 7'de bir numaralı proband SB'nin ailesinde yapılan pedigrî çalışmaları, bu translokasyonun anneden kalıtıldığını ve 2 erkek 1 kız kardeşinin de aynı translokasyonu taşıyan anne ve bu üç çocuğun Mental Retarde olmadığı belirlendi. Dengeli translokasyonu taşıyan annenin kardeşlerinde kromozom kuruluşları normal bulundu (Şekil 4).



Şekil 4 : S.B. adlı probandin pedigrisi

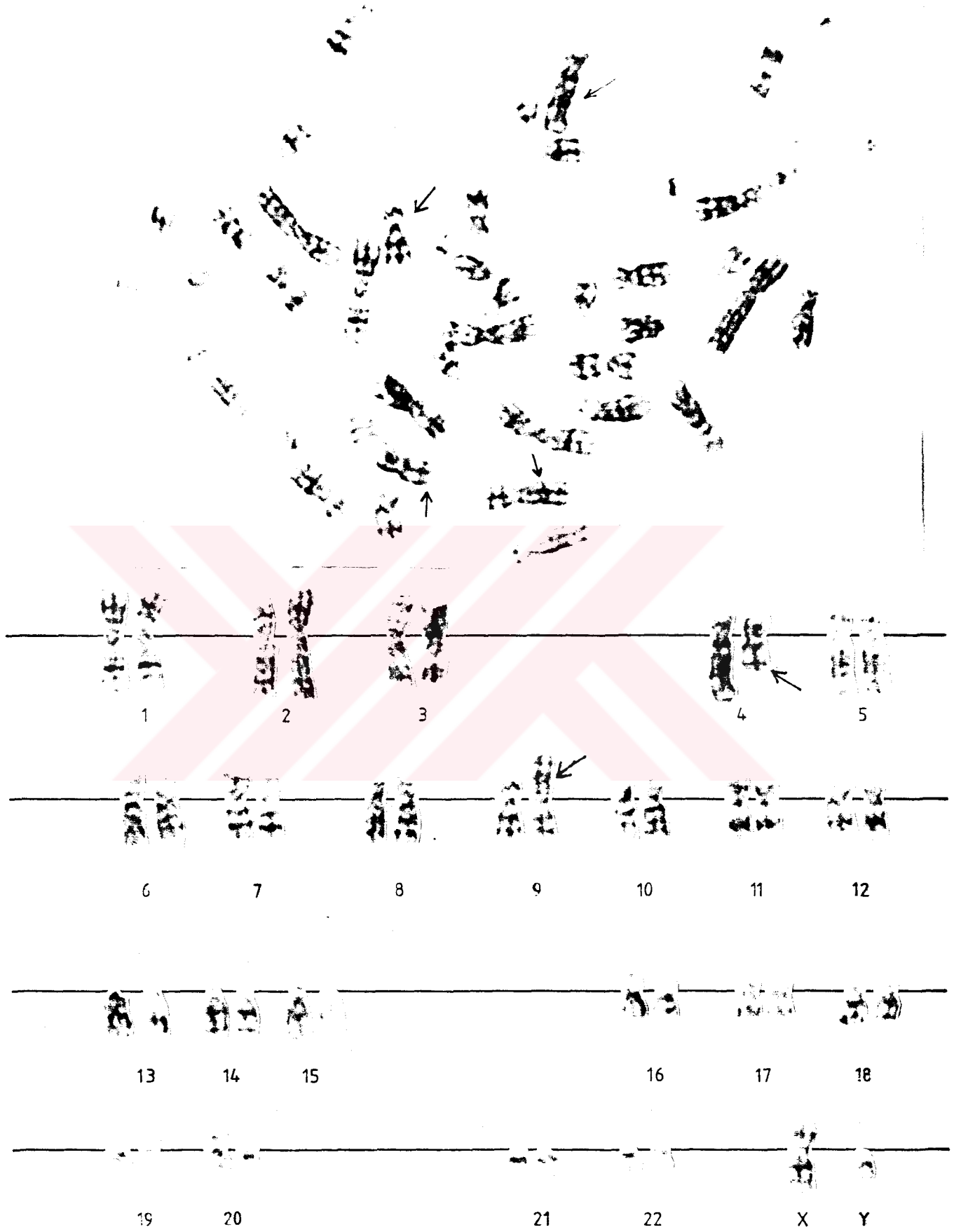


Şekil 5 : t (1;11) gösteren probanda ait metafaz örneği ve karyotip

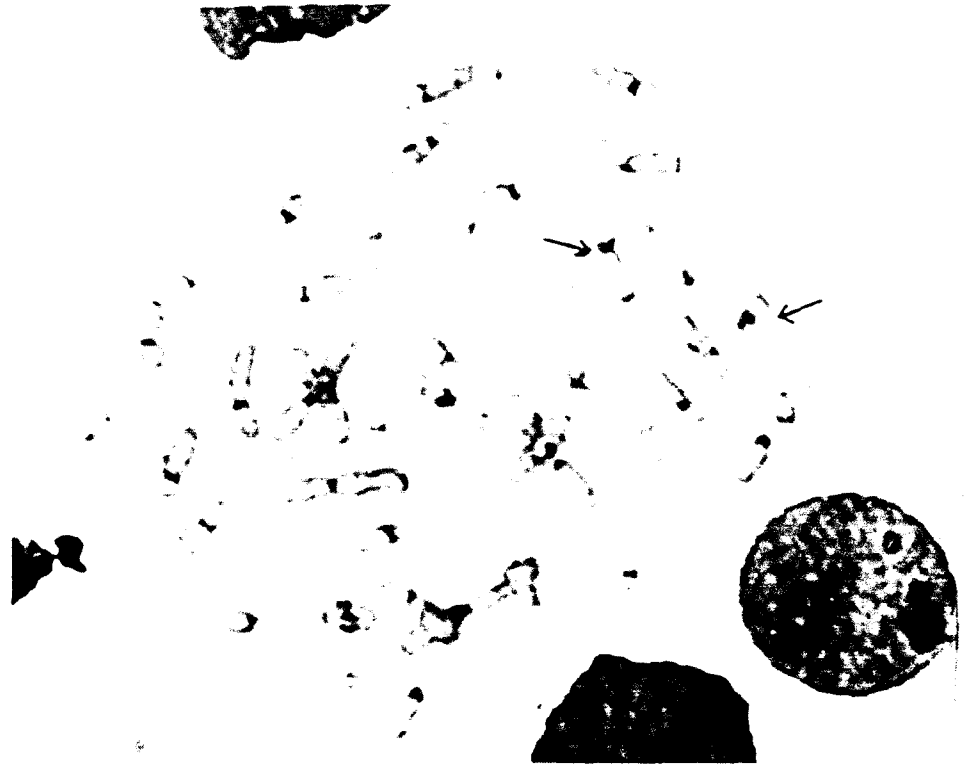


Şekil 6 : S.K. ve O.K. adlı kardeş probandların pedigrisi

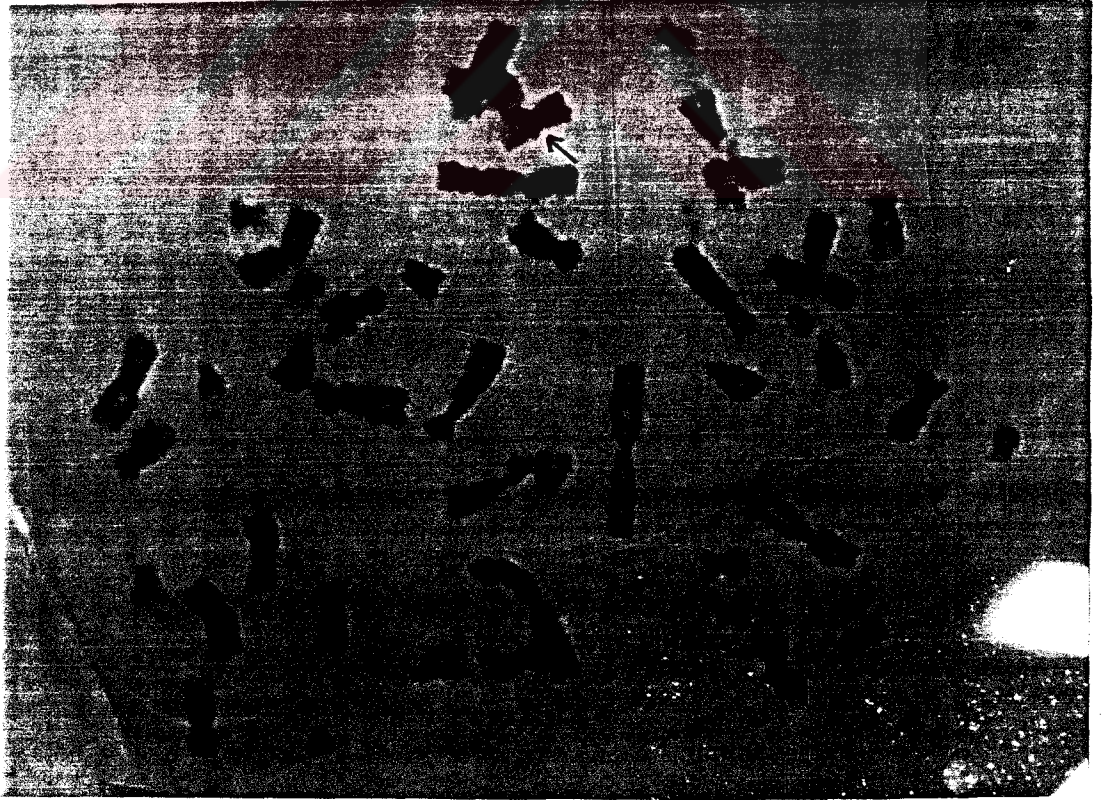
Kardeş olduğu belirlenen 2. ve 3. olgumuzda saptadığımız dengeli translokasyonun paternal geçişli olduğu tesbit edildi. Üç çocuğa sahip olan bu ailedeki diğer çocuk normal karyotipe sahipti. Translokasyonun geçişini belirlemek amacıyla, uzak akraba evliliği yapmış olan babanın 1. derece akraba evlisi olan ebeveynlerinden yapılan sitogenetik analizler sonucunda, bu translokasyonu babasından kalıtladığı anlaşıldı. Babanın tüm kardeşlerinin kromozom kuruluşunun normal olduğu, ancak 2 kız kardeşinin de ağır mental retarde olduğu anlaşıldı (Şekil 6).



Şekil 7: t (4;9) translokasyonu gösteren olgu OK'ye ait GTG bantlama yöntemiyle bantlanmış metafaz örneği ve karyotipi



Şekil 8 : Kromozom 4 ve 9 arasında translokasyon [t(4:9) , (q27-p24)] gösteren olgu O.K'ye ait CTG bantlama yöntemi uygulanmış metafaz örneği



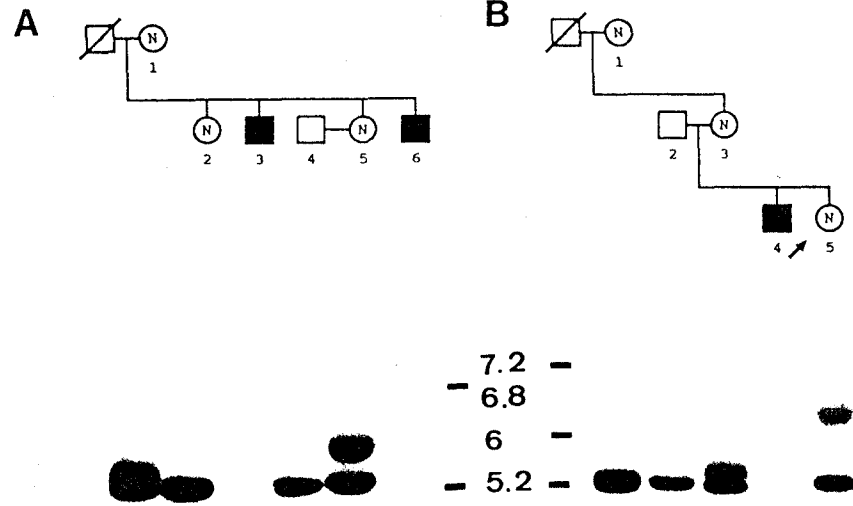
Şekil 9 : Perisentrik inversiyon 9 bulunan A.U olgusuna ait metafaz örneği, GTG bantlama yöntemiyle.

Bu çalışmada 120 Mental retardasyonlu çocuk sitogenetik olarak incelenirken Frajil-X sorgulama formunda toplamı 10 puanın üzerine çıkan 23 çocuk Frajil-X sendromu şüphesi ile çalışmaya alındı. Bu çocukların DNA'ları izole edilerek, standart Southern transfer tekniği uygulandı ve 6'sında (% 5) kesin Frajil-X sendromu olduğu gösterildi. Filtrelerin hibridizasyonu esnasında pP2 probu kullanıldı. pP2 probu ile hibridizasyon sonuçları Tablo-8'de verildi. İlk 6 öğrenci her iki enzim ile de Frajil-X pozitif

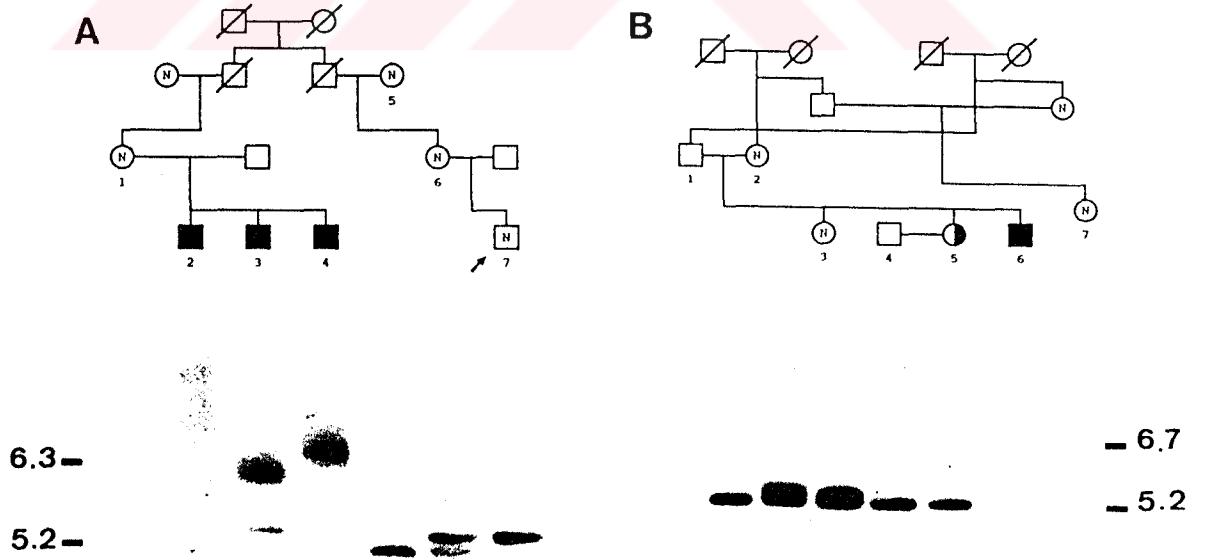
Tablo 8 : Eco R-I ve Hind III ile kesilen 23 DNA örneğin pP2 probu ile hibridizasyon sonuçları.

Hasta Adı	Cins	Yaş	Eco-R. I ile Kesilenler	Hind III ile Kesilenler
1) A. A.	E	10	+	+
2) G.M.	E	9	+	+
3) K.K.	E	10	+	+
4) R. Y.	E	9	+	+
5) O.Y.	E	8	+	+
6) H.Y.	K	12	+	+
7) F.İ.	E	10	+	-
8) A.K.	K	8	+	-
9) A.G.	E	9	+	-
10) O. B.	E	11	+	-
11) M.D.	E	8	+	-
12) R. B.	E	8	+	-
13) Ü.K.	E	9	-	+
14) B.K.	E	13	-	+
15) İ. Ö.	E	11	-	-
16) A.D.	E	10	-	-
17) Y.İ.	E	9	-	-
18) Ö.D.	E	10	-	-
19) M.Ç.	E	8	-	-
20) M.P.	E	15	-	-
21) S.K.	E	12	-	-
22) M.Ö.	E	9	-	-
23) C.H.	E	9	-	-

Fotoğraf 1:



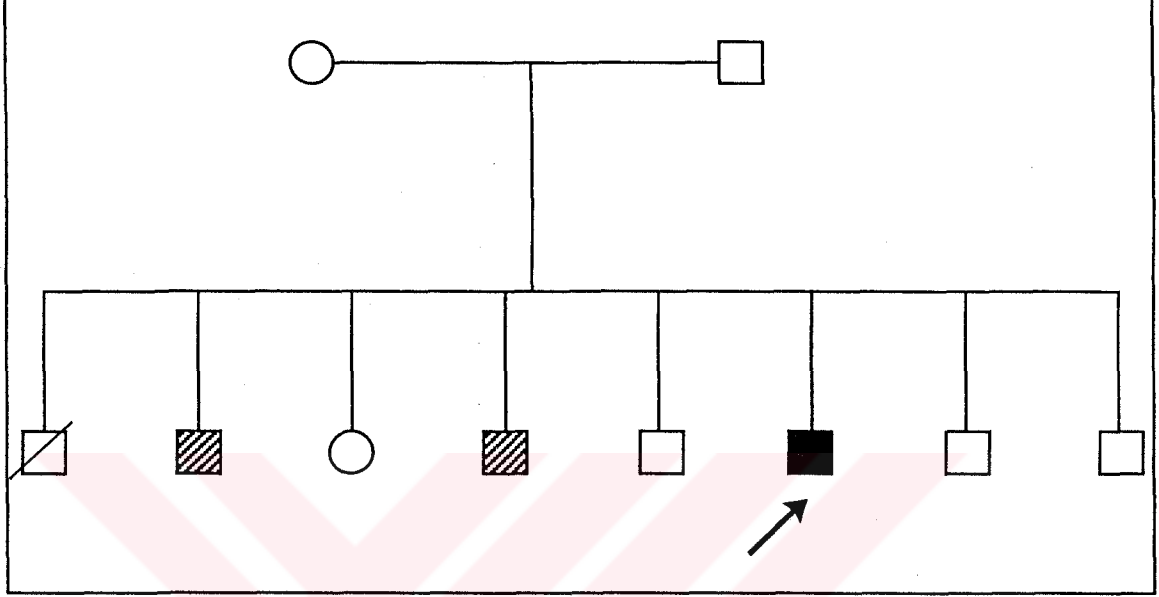
(A) Normal ve Frajil-X kromozomlarının EcoR-I ile kesilip, pP2 probe ile hibridizasyon sonuçları (Drs. Oostra ve de Graff'ın izniyle).



(B) Frajil-X sendromu şüphesi taşıyanların Hind III ile kesilip aynı prob ile hibridizasyonu (Drs. Oostra ve de Graff'ın izniyle)

sonucu verirken, 6 öğrenci sadece EcoR I ile pozitif, 2 öğrencide sadece Hind III ile pozitif sonuç verdi. 9 öğrencide ise Frajil-X negatif sonuç verdi.

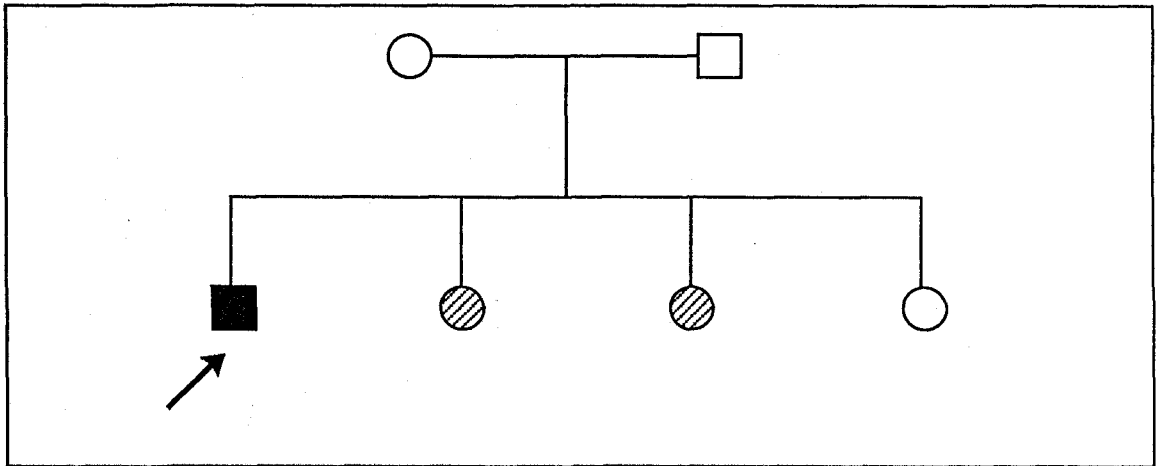
Her iki enzim EcoR I ve Hind III ile Frajil-X pozitif sonuç veren vakaların aileleri incelendiğinde familial problemlerin olduğu gözlemlendi. A.A



Şekil 10 : A.A adlı probandın pedigrisi

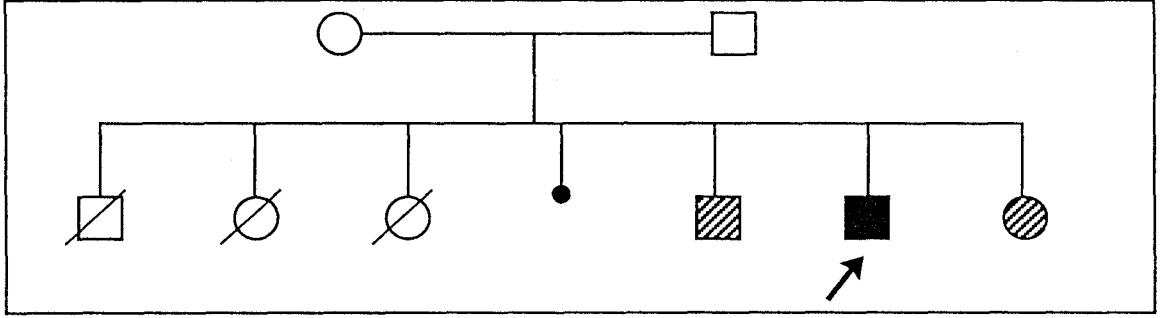
adlı öğrencinin annesinde bir mental gerilik hissedilmemekle beraber, 20 ve 16 yaşlarındaki iki erkek kardeşi, proband gibi özel alt sınıf mezunlardılar (Şekil 10).

G.M. adlı öğrenci çok fakir bir aileye mensuptu. Annesinde hafif bir mental gerilik hissediliyordu. Kendisiyle aynı özel alt sınıfa devam eden kız



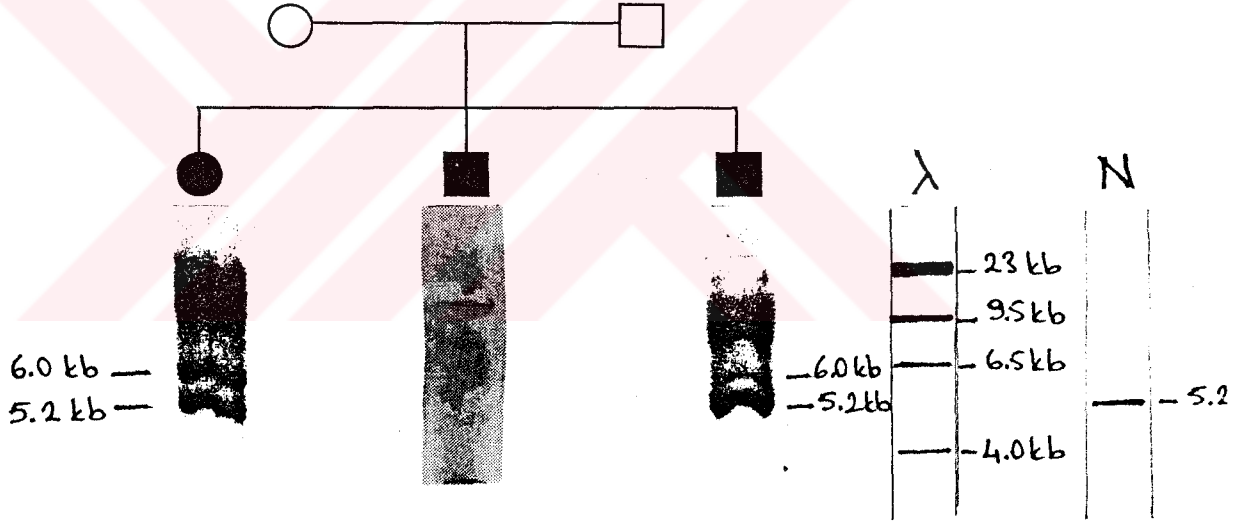
Şekil 11 : GM adlı probandın pedigrisi

kardeşi de okuma-yazma öğrenememişti. Diğer kız kardeşi ise ilk-öğretime kayıtlı olduğu halde devam etmiyordu (Şekil 11).



Şekil 12 : K.K. adlı probandın pedigrisi

K.K. adlı vakanın ailesinde 1 erkek 9 aylık, 2 kız 7 ve 8'er aylık doğup ölmüşler, ayrıca 4 aylık bir abortusa da sahiptiler. Ailenin hayatta olan bir kız ve bir erkek çocuklarının da IQ'ları normalin altındaydı (Şekil 12).



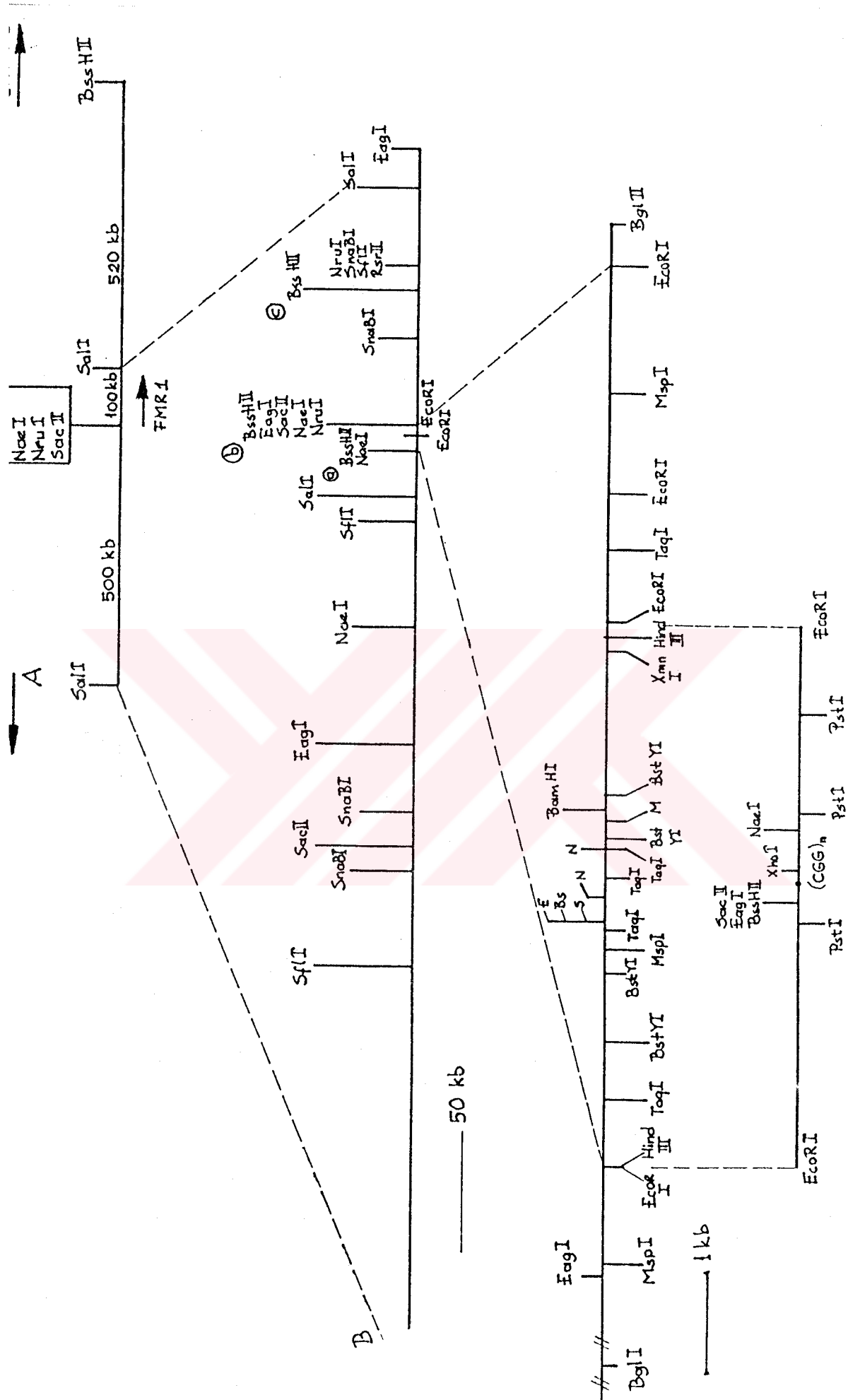
Şekil 13 : Hem Eco R I, hem de Hind III enzimlerinin pP2 probu ile hibridizasyonu sonucu oluşan pozitif bantlar.

Üç kardeşin de ağır mental retarde olduğu aile 2 erkek 1 kızdan oluşuyordu. Annede belirgin bir mental handikap yoktu. Ailenin en büyük çocuğu olan kız H.Y. özel alt sınıftan mezun olmuştu fakat okuma-yazma öğrenememişti (Şekil 13).

Bu olgularda frajil-X sendromunun moleküler tanısında FMR-1 geninin restriksiyon enzim haritasına (Şekil 14) uygun olarak EcoR I ve Hind III restriksiyon enzimleri kullanıldı.

Ayrıca, Eco R I'de pozitif, Hind III'de negatif bantlar muhtemelen purin nukleotidlerinin metilasyonu neticesinde FMR-I geninin mRNA'sının 1024 - 1029'uncu Hind III tanıma bölgesinin kaybolmasından ileri geldiği söylenebilir (87). Eco RI ile Frajil -X pozitif band veren, ancak Hind III ile vermeyen 6 vakanın ve Hind III ile pozitif band verip Eco RI ile vermeyen 2 vakanın tekrarlanması gerektiğine inanıyoruz.





Şekil 14. FMR I geninin restriksiyon enzim kesim haritası (28, 52, 91).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Mental retardasyonlu çocuğu olan ailelere yaklaşımda, sağlıklı bir genetik danışma verebilmek için etiyolojinin aydınlatılması son derece önemlidir. Ancak zekanın çok sayıda gen ile birlikte kimyasal, fiziksel ajanlar, enfeksiyon, beslenme gibi çevresel faktörlerin de etkili olduğu multifaktöriyel bir özellik olması, mental retardasyon sebebi olarak spesifik bir etmenin belirlenmesinde zorlukların olduğunu ortaya koymaktadır. Genel populasyonun yaklaşık % 3'ünün etkilendiği bu ciddi sorunun % 15-20'sinin kromozom anomalilerinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Özellikle genetik etmenlerin işe karıştığı olgularda durumun daha ciddi olması ve kalıtım riski taşıması bu konudaki çalışmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur.

Bu çalışma, M.E.B. Konya Rehberlik ve Araştırma Merkezine kayıtlı tamamı 11 özel alt sınıfta eğitim gören yaklaşık 120 öğrenciyi içine alacak şekilde, proje çalışması olarak Araştırma Fonu'na sunulmuştur. Çalışmamızda mental reterdasyon nedeni ile özel alt sınıf oluşturan 120 öğrencide genetik etmenlerin rolünü belirlemek amacıyla kromozom analizleri ve frajil-X taraması yapılarak 13 (% 10.8) olguda Down Sendromu, 3 (% 2,5) olguda resiprokal translokasyon, 1 (% 0.83) olguda 9 numaralı kromozomun perisentrik inversiyonu, frajil-X taraması yapılan 23 olgudan 6 (% 5)'sında moleküler olarak FMR-1 geninde mutasyon saptanmıştır.

Li ve arkadaşları (39) özel bir rehabilitasyon merkezinde yaptıkları sitogenetik çalışma ile 341 mental retardasyonlu çocuktan 89 unda kromozom düzensizliği saptayarak, bunların 63'ünde Down sendromu, 13 ünde frajil-X sendromu, 5'inde dengeli resiprokal translokasyon, 6'sında sex kromozom anomalisi, 1 inde otosomal monosomi ve 1'inde marker kromozom bulunduğunu tesbit ederek, mental retardasyonun patogenezinde kromozom anomalilerinin katkısını göstermişlerdir. Rasmussen ve arkadaşları (57) mental retarde 1905 kişiye kromozom analizi uygulayarak, 359 (% 18.8) ol-

guda; 281 (% 14.7)'i Down sendromu, 45 (%2.4)'i Down sendromunun dışındaki otozomal anomaliler, ve 33 (% 1.8)'ü sex kromozom düzensizliği bulmuşlardır. Zihinsel Özürlüler Enstitüsünde 517 erkek hastaya karyotipik analiz yapan English ve arkadaşları (16) 65 (% 12.7) Down sendromu, 30 (% 5.9) frajil-X, 12 (%2.3) dengelenmemiş karyotip, 1 (% 0.19) dengeli translokasyon ve 2 (% 0.4) sex kromozom düzensizliği bulduklarını bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada dengesiz karyotip ve seks kromozom düzensizliği saptanamamış, ancak Down sendromu, frajil-X sendromu ve dengeli translokasyonların bu konuda yapılan çalışmalarda olduğu gibi ön sırada bulunduğu görülmüştür. Diğer bir çalışma Navsari ve arkadaşları (49) tarafından 1000 çocukta yapılan kromozom analizlerinde; anomali oranı % 16.6 bulunmuş ve bu sonucun bizim çalışma grubumuzda saptadığımız % 19.2 oranına yakın olduğu görülmüştür. Başka bir çalışmada Fryns ve arkadaşları (19)'nın 14 yıl boyunca 48000 yeni doğan olguda gerçekleştirdikleri kromozom analizlerinin sonuçlarını içermektedir. Kromozom anomalisi tespit edilen 153 olgu 3 gruba ayrılarak incelenmiş ve 41 olguda resiprokal translokasyonlara mental retardasyon ve/veya konjenital malformasyonların eşlik ettiği bildirilmiştir.

Breg ve arkadaşları (5) ile Jacobs (32) tarafından gerçekleştirilen 2 ayrı çalışmada mental retarde bireyler arasında dengeli resiprokal translokasyon insidansının önemli oranda arttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmaların sonuçları ile değerlendirilen diğer bir çalışma Funderberg ve arkadaşları (18) tarafından UCLA Çocuk Psikiyatrik ve Mental Retardasyon Kliniğine başvuran 0-12 yaş grubunda, 2134 olguda yapılmış ve 1679 psikiyatrik hastalığı olan çocuğun sadece 4'ünde perisentrik inversiyon bulunurken, 455 mental retarde çocuğun 7'sinde kromozomal dengeli yeni düzenlemeler gözlenmiştir. Mental retarde grupta saptanan ve normal popülasyon ortalamasından 5 kere daha fazla olduğu bildirilen bu kromozomal yeni düzenlemelerin 6'sının resiprokal translokasyon, 1'inin pe-

risentrik inversiyon olduğu, Robertsonian translokasyona rastlanmadığı ve mental retarde olgularda Robertsonian translokasyon oranında artış olmadığı bildirilmiştir. Aynı konunun ele alındığı bu çalışmada 7-15 yaşları arasında alt sınıf oluşturan 120 mental retarde çocukta kromozom analizleri gerçekleştirilerek 3 dengeli resiprokal translokasyon, 1 perisentrik inversiyon olmak üzere 4 dengeli yeni düzenleme bulunmuş, Robertsonian translokasyona rastlanmamıştır. Bu sonuçlar mental retarde bireyler arasında dengeli yeni düzenleme insidansında artma olduğunu bildiren çalışmalara destek sağlamaktadır. Çalışma grubumuzda 2'si kardeş olan 3 olguda saptadığımız 46, XY, t (1; 11) (p33; q24), 46, XY, t (4;9) (q27; p 24) ve 46, XX, t (4; 9) (q27; p24) karyotipleri ile rapor edilen resiprokal translokasyonları taşıyan çocukların aile taramaları yapılarak bu translokasyonların ailesel geçişli olduğu; ailede aynı translokasyonu taşıyan ancak mental retarde olmayan bireylerin de bulunduğu tespit edilmiştir. Bu konuyu aydınlatmak için yapılan çalışmalar 3 yoruma dayandırılmıştır. 1- Kromozom kırık bölgesinde küçük bir delesyon veya duplikasyon; 2- Kromozom kırık bölgesinde bir gen mutasyonu; 3- Gen pozisyonunun yeni düzenlenmesinden dolayı zararlı bir etkinin ortaya çıkması gibi varsayımlar yanında mental retardelerde gözlenen bu dengeli yeni düzenlemelerin de novo olabileceği önyargısına varılmıştır (18). Bu konuda yeni bir açıklama MRC Cytogenetic Registry'de 282 ailede familial otozomal anomaliler ile mental hastalıklar arasındaki ilişkinin araştırılmasından gelmiştir. Geniş bir pedigri çalışmasında sitogenetik analizler için uygun olan 77 aile bireyinin 34'ünün t (1; 11) (q43; q21) karyotipine sahip dengeli bir translokasyon taşıdığı ve bunlardan 16'sında araştırma tanı kriterlerine uyan mental ve davranış bozukluğu bulunduğu (% 49), geri kalan 43 aile bireyinden sadece 5'inde (% 12) benzer mental hastalıkların varlığı gösterilmiştir. Bu durum 11 numaralı kromozomun q21-q22 band bölgesinde majör mental hastalıkları yatkın bir gen veya gen serisinin bulunabileceği

ve bu bölgelerde meydana gelen translokasyonları kırık bölgelerinde delesyonlara zemin hazırlayarak mental hastalıkların ortaya çıkmasında önemli rol oynadığının düşünülmesine neden olmuştur (12). Smith ve arkadaşları (72) 11 numaralı kromozomun aynı bölgesini içine alan dengeli translokasyon taşıyıcılarının bulunduğu bir aileyi rapor ederek bunun 11 q21-22'den ziyade bu kromozomla resiprokal translokasyona giren 1 veya 9 numaralı kromozomlardaki kırık noktaların önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Tüm bu çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde mevcut çalışmada olduğu gibi 1, 9, ve 11 numaralı kromozomların işe karıştığı translokasyonlarda mental özellikleri belirleyen gen bölgelerinde meydana gelebilecek kırıkların bazan bu genlerin değişmesine veya delesyonuna neden olabileceği düşünülmüştür.

Mental retardasyonu ve psikiyatrik hastalığı olan gruplarda yapılan çalışmalarda perisentrik inversiyon insidansında artış olduğu saptanmıştır (5,18,32). Bizim çalışma grubumuzda bir olgunun 9 numaralı kromozomunda paternal kalıtlanmış perisentrik inversiyon gözlenmiştir. Bu konuyu aydınlatmaya çalışan araştırmacıların bazıları heterokromotin bölgede gerçekleşecek olan perisentrik inversiyonların fenotipe etkisinin olmadığını savunurken, diğer bazı araştırmacılar mayoz bölünme sırasında meydana gelen krossing-over olgusunun bir kromozom segmentinin delesyonuna veya duplikasyonuna yol açarak istenilmeyen fenotipik özelliklerin ortaya çıkabileceğini göstermişlerdir (18,65,82).

Yapılan çalışmalar kromozom anomalilerinin spontan abortusların % 50'sini etkilerken, canlı doğumların sadece % 0,7'sinden sorumlu olduğunu göstermiştir (82). 21 numaralı kromozomun trizomisi veya daha nadir görülen translokasyonu ile oluşan Down sendromu ise 800 canlı doğumda bir ortaya çıkarak en sık rastlanan kromozom düzensizliğini oluşturmaktadır.

Ciddi mental motor retardasyona neden olan bu sendrom, mental retardasyon ile ilgili diğer çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmada da çoğunlukta olup 120 öğrencinin 13'ünde saptanmıştır (16,39,49,57). Down sendromunun kız ve erkek çocuklarda aynı oranda görülmesine rağmen bizim olgularımızın 9'unun erkek 4'ünün kız olması Türk toplumunda erkek çocukların eğitimine daha fazla önem verildiğinin göstergesi olarak yorumlanmıştır. Bilinen tip Down sendromunun oluşmasında anne yaşının önemi pek çok yayında vurgulanarak genel populasyon ortalaması 1/800 iken, bu oranın genç anneler için 1/2000, 35 yaş üzerindeki anneler için 1/50 olduğu bildirilmiştir (15,82). Mevcut çalışmada da Down sendromlu çocuk doğumunda anne yaşının 17-37 arasında olduğu, 40 yaşın üzerinde anne bulunmadığı anlaşılmıştır. Down sendromlu çocuğu bulunan ve çocuk sahibi olmak isteyen genç annelere, bir Down sendromlu çocuktan sonra riskin % 1 olduğu ve prenatal tanının gerekliliği anlatılmıştır.

Kromozomal nedenli Mental Retardasyon sebebi olarak Down sendromundan sonra 2. sırayı alan frajil-X sendromu, ailesel geçiş özelliği nedeniyle potansiyel olarak Down sendromuna oranla daha fazla kişiyi etkileyebileceği tahmin edilmektedir (22,79). Frajil-X sendromu prevelansı erkeklerde 1360 da bir, kadınlarda 2073 de bir olup (90) X'e bağlı mental retardasyonların % 50'sinden sorumludur (24). Bu mutasyonu taşıyan kadınların % 44'ü, erkeklerin % 19'u fenotipik ve sitogenetik olarak normal taşıyıcılar şeklinde karşımıza çıkmaktadır (79). Taşıyıcı erkekler, mutasyonu kızlarına aktararak hastalığın torunlarında ortaya çıkmasına neden olduklarından "aktarıcı erkekler" olarak isimlendirilmişlerdir (79). Frajil-X sendromu taşıyıcısı olan kadınların 2/3'ü normal, 1/3'ünde mental retardasyon saptanmış ve bu durum X kromozomunun inaktivasyonu ile açıklanmıştır (45). Frajil-X sendromlu çocuklara sahip olan 4 ailemizde 2 anne normal zekaya sahipken diğer 2 annede hafif bir mental gerilik görülmüştür. Frajil-X sendromu tesbit edilen 6 bireyden 3'ünün kardeş olduğu

ve diğ er üç ailede de probandin dışında çoğunlukla erkek olmak üzere en az 2 kardeşde mental gerilik belirlenmiştir.

Sitogenetik yöntemler uzun yıllardır Frajil-X sendromunun tanısında kullanılıyor olmasına rağmen, normal taşıyıcı erkeklerde ve taşıyıcı kadınların önemli bir kısmında bu yöntemle kırılğan bölgenin görülmemesi, özellikle genetik danışma ve prenatal tanı konusunda ciddi sorunların ortaya çıkmasına neden olmuştur (67,76,79). Tam mutasyona sahip kişilerde kırılğan bölgenin görülme oranı % 2-5 gibi düşük olup, bu durum her laboratuvara, kültür koşullarına, hatta aynı laboratuvarda aynı koşullarda bile değişkenlik göstermektedir.

Genel popülasyonda kız çocuklarına nazaran erkek çocuklarında daha sık mental geriliğe rastlanması, X kromozomu üzerine çalışmaların artmasına neden olmuştur (33,39,62). X kromozomuna bağlı mental handikap sebebi olarak izole edilen ilk gen FMR-1 genidir. Sitogenetik marker olarak Xq27'de gözlenen bir kırıkla tanımlanan bu sendromun değişken ve klasik olmayan X'e bağlı kalıtım modeli, 1991 yılında FMR-1 geninin klonlanması ve genin 5' ucundaki CpG adasının metile olması ve CGG tekrar dizisindeki artışın gösterilmesi ile aydınlatılmıştır. (87) X kromozomunun uzun kolunun distal bölgesindeki fiziksel çalışmalar, pulsed field elektroforezi kullanımıyla frajil bölgenin telomorden yaklaşık 9 Mb uzaklıkta, mutasyona sebep olan CGG artışının ise FMR 1 geninin ilk exonunda yer aldığını göstermiştir (54,87)

FMR-1 geninde önce meydana gelen CGG tekrarlarının artışı ve sonra da CpG adasının aşırı metilasyonu sendromun moleküler tekniklerle tesbitini mümkün kılmıştır. Genomic DNA'nın, kesim bölgeleri birbirine yakın olan EcoR-I veya Hind III enzimleri ile kesilerek CGG tekrarlarının artış oranıyla, mutasyonun premutasyon veya tam mutasyon olduğu belirlenebilmiştir (34,44,51,92). Çoğu araştırıcı, frajil-X ile ilgili popülasyon ta-

ramalarında EcoR I veya Hind III enzimlerini kullanmıştır (44,51,86,92). Daha ayrıntılı çalışmalarda, bu enzimlerle beraber Eag I veya Sac II gibi ikili enzim kesimi kullanarak genomic DNA üzerinde hem CGG tekrarlarının uzunluğu hakkında hem de CpG adasının metilasyonu hakkında bilgi edinilmiştir (31,44,71,92).

Araştırma grubumuzu içeren 120 öğrenciden frajil-X sorgulama formuyla seçilen 23 öğrencide frajil-X sitogenetiği çalışılmış, ancak kromozom seviyesinde frajil Xq 27.3 bölgesi gözlenememiştir. Aynı öğrencilerden elde edilen genomic DNA'ların Hind III ve EcoR I restriksiyon enzimler ile kesimleri, elektroforezi, Southern transferleri, filtrelerin pP2 probu ile hibridizasyonu yapıp, bantlar röntgen filmlerinde incelendiğinde 6 öğrencide frajil-X bölgesi moleküler olarak tesbit edilmiştir (Tablo 8). Tablo 8'de görüldüğü gibi 6 öğrencide hem EcoR I ve hem de Hind III enzim kesimleriyle tam mutasyon saptanmıştır. Moleküler metodlarla yapılan bu ilk taramada pozitif band veren hastaların ailelerinde prenatal tanı ve genetik danışma için daha yaygın çalışmaların gerekli olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışmalar, moleküler tekniklerin sitogenetik analizlerden daha hassas ve daha verimli olduğunu ortaya koymuştur.

Sitogenetik ve moleküler genetik tanı yöntemlerini karşılaştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, frajil-X sendromu şüphesi olan 525 olgu incelenerek, moleküler genetik yöntemlerin daha spesifik olmakla birlikte, diğer kromozom anomalilerini tanıyabilmek için mutlaka sitogenetik yöntemlerle beraber kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır (89). Mevcut çalışmada da araştırma grubunu oluşturan tüm olgularımıza sayısal ve yapısal kromozom analizleri uygulanmış, ayrıca frajil-X sendromu şüphesi olanlar moleküler seviyede incelemeye alınmıştır.

Günümüzde pek çok tek gen hastalıklarına ve konjenital anomalilere eşlik eden mental retarde olgularında akraba evliliklerinin önemli rolü ol-

duğu bildirilmektedir (4,15). Çalışma grubumuzda 120 olgudan 52'sinde (% 43.3) anne ve babanın akraba olması ve bunun Konya'da akraba evliliği oranı olan % 23.3'den çok yüksek bulunması, akraba evliliği konusunda daha etkin genetik danışma verilmesinin zorunlu olduğunu göstermiştir. Şekil 6'da pedigrisi sunulan ailede de görüldüğü gibi iki kuşakta akraba evliliği ve her kuşakta birden fazla mental retarde birey bulunmuştur. III. kuşakta ayrıca mental retarde bireylerde dengeli translokasyon da saptanmış olup ancak II. kuşakta bulunan normal karyotipe sahip iki bireyin de mental retarde olması, bu durumun akraba evliliğine bağlı olabileceğini dşndrtmştir. Mental retarde olgularda kromozom anomalilerinin oranını belirlemek amacı ile yapılan bu çalışmada akraba evliliklerinin rolü ele alınmamış ancak mental retarde çocuğu olan ailelerde akraba evliliklerinin yüksek oranda olması (% 43), bu konudaki çalışmaların yaygınlaştırılmasının gereğini ortaya koymuştur.

Sonuç olarak, mental retardasyonun etyolojisindeki sitogenetik etmenlerin rolünü belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada, kromozom düzensizliklerinin payı % 19.2 gibi yüksek bir oranda saptanarak, aileler genetik danışma ve prenatal tanı konusunda bilgilendirilmiş, sağlıklı çocuklar için takibe alınmıştır. Etyolojisi bilinmeyen mental retardasyonlu olgularda ise diğer risk faktörlerinin belirlenebilmesi için daha yaygın popülasyon çalışmalarının yapılmasına gerek olduğu dşnlmştir.

ÖZET

Bu çalışmada, Konya Milli Eğitim Bakanlığı Rehberlik Araştırma Merkezine bağlı 11 özel alt sınıfta zeka seviyeleri normalin altında olan 120 öğrenci, sitogenetik incelemeye alınarak sayısal ve yapısal kromozom analizleri gerçekleştirilmiş, 13 olguda regüler tip Down sendromu, 3 olguda dengeli translokasyon, 1 olguda da 9 numaralı kromozomun perisentrik inversiyonu saptanmıştır. Sitogenetik incelemeye alınan 120 MR olgudan 23'ü frajil-X sorgulama formuyla seçilerek, izole edilen DNA'lar EcoR I ve Hind III restriksiyon enzimleri ile kesilmiştir. Agorose jel elektroferezinde yürütülen DNA'lar Southern transfer yöntemiyle naylon membranlara aktarılmış ve pP2 probu ile hibridize edilmiştir. Otoradyografi işlemiyle görünür hale gelen bantlar değerlendirildiğinde 6 olguda moleküler olarak frajil-X sendromu tesbit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, MR olgularda sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin %19.2 olduğunu ve frajil-X'in bu oranın %5'ini teşkil ettiğini göstermiştir. Frajil-X sendromu ve sayısal-yapısal kromozom düzensizliğine sahip olguların arasında sadece 6 ailede akraba evliliği yapmış ebeveyn bulunmuştur. Ancak idiopatik zeka özürlülüğü, akraba evliliği yapan ailelerde çok sıkça görülmüş olup, tüm hastaların %47'sini oluşturmaktadır. Resiprokal translokasyon ve frajil-X sendromu gibi genetik geçiş gösteren durumlarda, aileler incelemeye alınarak genetik danışma ve prenatal tanı yönünden bilgilendirilmiş ve bu durumun önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ele alınıp daha ayrıntılı araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

The students, 120 of them from 11 special training, education, and rehabilitation schools were selected according to their subnormal IQ levels which were determined by the Social Advisory Research Center, under the auspice of the Turkish Republic, Ministry of Education. Standard cytogenetic analysis of their blood samples were carried out to determine structural and numerical anomalies of their karyotypes. Abnormal karyotypes such as regular type Down's syndrome, balanced translocation, and chromosome 9 pericentric inversion were found in 13,3, and 1 individuals, respectively. Conversely, 23 children among 120 children were selected for suspected fragile-X syndrome according to fragile-X criteria of Hagermann - Buttler check-list. Their peripheral blood DNAs were isolated and digested with EcoR I and Hind III restriction enzymes, electrophorased at 80 volt for overnight, blotted on a nylon membrane, hybridized with pP2 probe, and their radiograms were obtained (kindly provided by Drs Oostra and de Graff). Although further studies needed, the available bands imply that 6 individuals had X-chromosome fragility at the molecular level. This study showed that numerical and structural aberration of chromosomes represented 19.2 % of all mental, retarded children and fragil-X sendrome was found to be 5 % only. Among those who had numerical and structural chromosomal abnormality, and suspected X-chromosome fragility. Only the parents of 6 children consanguineous marriage. Intriguingly, idiopathic mental retardation was predominating among the children of consanguineous married couples and constituted 47 % of all mentally retarded children that were taken for this study. As a result this study, the parents of those children having reciprocal translocation and fragile-X syndrome were investigated further and they are councelled and advised for prenatal diagnosis in case of pregnancy. Social burden of mental retardation as observed during the study demands to increase social awareness and family planning of such familles seriously in this community.

LİTERATÜR

- 1- Allan, W.H., Herndon, C.N. and Dudley, F.C. (1944) Some examples of the inheritance of mental deficiency. Apparently sex-linked idiocy and microcephaly. *Am. J. Med. Defic.* 48: 325-334.
- 2- Arrighi, F.E. and Hsu, T.E. (1971) Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics*, 10: 81-86.
- 3- August, G.J. and Lillian, H.L. (1984) Familial Autism and The Fragile - X Chromosome. *J. Autism Dev. Disord*, 14: 197-204.
- 4- Başaran, N. (1986) *Tıbbi Genetik* 4. Baskı 128-129, 324-405, Anadolu Üniversitesi Yayınları Eskişehir.
- 5- Breg, W.R., Miller, D.A., Allerdire, P.W. and Miller, O.J. (1972). Identification of translocation chromosomes by quinacrine fluorescence. *Am. J. Dis. Child* 123: 561-564.
- 6- Brown, W.T. (1990) The Fragile-X : Progress toward solving the puzzle. *Am. J. Hum. Genet* 47: 175-180.
- 7- Butler, M.G., Allen, G.A. and Haynes, J.L. (1991) Anthropometric comparison of mentally retarded males with and without the fragile-X syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 38: 260-268.
- 8- Butler, M.G., Mangrum, T., Gupta, R. and Singh DN. (1991) 15-item checklist for screening mentally retarded males for the fragile X syndrome. *Clinical Genetics*, 347-354.
- 9- Carpenter, N.J. (1991) DNA Linkage Analysis of 26 Families with fragile-X syndrome *Am. J. Med. Genet.* 38: 311-318.
- 10- Catalano, R.A. (1990) Down syndrome. (Reviews in Medicine) *Survey of Ophthalmology*, 34 (5): 385-398.
- 11- Chudley, A.E. and Hagerman, R.J. (1987) Fragile-X Syndrome *J. Pediatr.* 110: 821-831.

- 12- Clair, D.S., Blackwood, D., Muir, W., Carothers, A., Walker, M., Spowart, G., Gosden, C. and Evans, H.J. (1990) Association within a family of a balanced autosomal translocation with major mental illness. *Lancet*, 336: 13-16.
- 13- Costeff, H., Cohen, B.E., Weller, L.E. and Rahman, D. (1983) Consanguinity analysis in Israeli mental retardation. *Am. J. Hum. Genet.* 39 (4): 339-349.
- 14- Czeizel, A., Lányi - Engelmayer, A. and Kluyber, L. (1980) Etiological study of mental retardation in Budapest, Hungary. *Am. J. Ment. Defic.* 85: 120-128.
- 15- Emery, A.E.H. (1983) *Elements of Medical Genetics, Sixth Edition* 52-90. Longman Group Limited. New York.
- 16- English, C.J., Davison, E.V. and Bhate M.S. (1989) Chromosome studies of males in an institution for the mentally handicapped. *J. Med. Genet.* 26: 379-381.
- 17- Fu, Y.H., Kuhl, D.P.A. and Pizzuti, A. (1991) Variation of the CGG repeat at the fragile-X site results in genetic instability: Resolution of the Sherman Paradox. *Cell*, 67: 1047-1058.
- 18- Funderburk, S.J., Spence, M.A. and Sparkes, R.S. (1977) Mental retardation associated with "balanced" chromosome rearrangements. *Am. J. Hum. Genet.* 29: 136-141.
- 19- Fryns, J.P., Haspeslagh, M. and Dereymaeker, A.M. (1987) A peculiar subphenotype in the fra (X) syndrome: extreme obesity-short stature-stubby hands and feet-diffuse hyperpigmentation. Further evidence of disturbed hypothalamic function in the fra (X) syndrome? *Clin. Genet.* 32: 388-392.

- 20- Griffiths, M.J. and Strachan, M.C. (1991) A single lymphocyte culture for fragile X induction and prometaphase chromosome analysis. *J. Med. Genet*, 28: 837-839.
- 21- Gustavson, K.H., Blomquist, H. and Holmgren, G. (1986) Fragile X in mentally retarded boys. *Am. J. Med. Genet.* 23: 581-587.
- 22- Hagerman, R.J. (1987) Fragile X Syndrome. *Curr. Probl. Pediatr.* 17: 627-74.
- 23- Hagerman, R.J., Amiri, K. and Cronister, A. (1991) Fragile-X Checklist *Am. J. Med. Genet.* 38: 283-287.
- 24- Hagerman, R.J. and Silverman, A.C. (1991) Fragile-X Syndrome, Diagnosis, Treatment and Research. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London.
- 25- Hagerman, R.J., Kemper, M. and Hudson, M. (1985) Learning Disabilities and attentional problems in boys with the fragile X syndrome *AJDC*, 139: 674-678.
- 26- Hirst, M.C., Nakahori, Y. and Knight, S.J.L. (1991) Genotype prediction in the fragile X syndrome. *J. Med. Genet.* 28: 824-829.
- 27- Hirst, M.C., Rack, K. and Nakahori, Y. (1991) AYAC contig across the fragile X site defines the region of fragility, *Nucleic Acids Research*, 19: 8283-3288.
- 28- Ho, H.H. and Kalousek, D.K. (1989) Brief Report: Fragile X syndrome in autistic boys. *J. Autism. Dev. Disord.* 19: 343-347.
- 29- Jacky, P. (1991) Fragile X and other heritable fragile sites on human chromosomes : In *The ACT Cytogenetics Laboratory Manuel*, second edition, 489-524. Raven Press, New York.

- 30- Jacobs, P.A. (1974) Correlation between euploid structural chromosome re-arrangements and mental subnormality in humans. *Nature* 249: 164-165.
- 31- Jacobs, P.A., Bullnan, H., Macpherson, J., Youings, S., Rooney V., Watson, A. and Dennis N.R. (1993) Population studies of the fragile X: a molecular approach. *J. Med. Genet.* 30: 454-459.
- 32- Jacobs, P.A., Matsuura, J.S. and Mayer, M. (1978) A cytogenetic survey of an institution for the mentally retarded: I chromosome Abnormalities. *Clin. Genet.* 13: 37-60.
- 33- Jacobs, P.A., Mayer, M. and Matsuura, J. (1983) A cytogenetic study of a population of mentally retarded males with special reference to the marker X syndrome. *Hum. Genet* 63: 139-148.
- 34- Knobloch, O., Pelz, F., Wick, U., Nelso, D.L. and Zoll, B. (1993) Direct versus indirect molecular diagnosis of fragile X mental retardation in 40 German families at risk *J. Med. Genet.* 30: 193-197.
- 35- Kremer, E.J., Prithchord, M. and Lynch, M. (1991) Mapping of DNA Instability at the Fragile X to Trinucleotide Repeat Sequence p (CGG)_n. *Science* 252: 1711-1714.
- 36- Lamont, M.A., Dennis, N.R. and Seabright, M. (1986) Chromosome abnormalities in pupils attending ESNM schools. *Archives of Diseases in Childhood* 61, 223-226.
- 37- Largo, R.H. and Schinzel, A. (1985) Developmental and behavioural disturbances in 13 boys with fragile X syndrome. *Eur. J. Pediatr.* 143: 269-275.
- 38- Lehninger, A. (1979) *Biochemistry*. Second Edition 570, New York.
- 39- Li, S.Y., Tsai, C.C., Chou, M.Y., and Lin, J.K. (1988) A cytogenetic study of mentally retarded school children in Taiwan with special reference to the fragile X chromosome. *Hum. Genet.* 79: 292-296.

- 40- Loesch, D.Z., Lafranchi, M. and Scott, D. (1988) Anthropometry in Martin-Bell syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 30: 149-164.
- 41- Lubs, H.A. and A, Marker. (1969) X Chromosome. *Am. J. Hum. Genet.* 21: 231-244.
- 42- Lüleci, G., Başaran, S., Bağcı, G. ve Keser, İ. (1990) Sitogenetik Uygulama Yöntemleri. 8-18. Meteksan - ANKARA.
- 43- Martin, J.P. and Bell, J. (1943) A pedigree of mental defect showing sex-linkage. *J. Neurol. Psychiatr* 6: 154-157.
- 44- Mc, Conkie-Rosell, A ., Lachiewicz, A.M., Spiridigliozzi, G.A., Tarleton, J., Schoenwald, S., Phelon, M.C., Goonewaürdena, P., Ding, X. and Brown, T. (1993) Evidence That Methylation of the FMR-I Locus Is responsible for variable phenotypic expression of the Fragile X Syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 53: 800-809.
- 45- Migeon, B.R. (1993) The Postulated X-Inactivation center at Xq 27 Is most reasonably explained by ascertainment bias: Heterozygous Expression of recessive mutations is a powerful means of detecting unbalanced X Inactivation. *Am. J. Med. Genet.* 52: 431-432.
- 46- Moorhead, R.S., Nowel. P.C. and Mellman, W.J. (1961) Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 20: 613-616.
- 47- Morgan, C.T. (1988) Psikolojiye Giriş (Çev: Hüsnu Arıcı ve arkadaşları). 296 - 302 6. Baskı, Ankara.
- 48- Morton, N.E., Matsuura, J. and Bart, R. (1978) Genetic epidemiology of an institutionalized cohort of mental retardates. *Clin Genet*, 13 (6): 449-461.
- 49- Navsaria, D., Mathews, T., Conte, RA. and Verma, RS. (1993) Chromosomal anomalies in 1000 children referred with suspected genetic disorders. *Hum Hered.* 43: 137-140.

- 50- Oberle, I., Rousseau, F. and Heitz, D. (1991) Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science* 252: 1097-1102.
- 51- Oostra, B.A., Jacky, P.B., Brown, W. T. and Rousseau, F. (1993) Guidelines for the diagnosis of fragile X syndrome. *J. Med. Genet.* 30: 410-413.
- 52- Oudet, C., Mornet, E. and Serre, L. (1993) Linkage Disequilibrium between the fragile X mutation and two closely linked CA, repeats suggests that fragile X chromosomes are derived from a small number of founder chromosomes. *Am. J. Hum. Genet* 52: 297-304.
- 53- Pembrey, M.E., Winter, R.M. and Davies, K.E. (1985) A premutation that generates a defect at crossing over explains the inheritance of fragile X mental retardation. *Am. J. Med. Genet*, 21: 709-717.
- 54- Poustka A. (1992), Fragile X Syndrome: Molecular analysis reveals a new mechanism of mutation in Human genetic diseases. *Annals of Medicine* 24: 453-456.
- 55- Ramos, F.J., Eunpu, D.L., Finucane, B. and P fendner G. (1993) Direct DNA testing for fragile X syndrome, *AJDC*. 147: 1231-1235.
- 56- Rantakallio, P. (1987) Social class differences in mental retardation and subnormality. *Scand. J. Soc, Med*, 2: 63-66.
- 57- Rasmussen, K., Nielsen, J. and Dahl, G. (1982) The prevalence of chromosome abnormalities among mentally retarded persons in a geographically delimited area of Denmark. *Clin. Genet.* 22: 244-255.
- 58- Renda, Y., Yalaz, K., Özdirim, E. and Aysun, S. (1983) *Pediatric Neurology* 284 - 294 ANKARA .
- 59- Renpenning, H., Gerrard, J.W., Zaleski, W.A. and Tabata, T. (1962) Familial sex linked mental retardation. *Can. Med. Assoc. J.* 87: 954-956.

- 60- Rousseau, F., Vincent. and A, Rivella. (1991) Four chromosomal Breakpoints and four new probes mark out a 10-CM region encompassing the fragile X locus (FRAXA) *Am. J. Med. Genet*, 48: 108-116.
- 61- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989) *Molecular cloning, a laboratory manual*. Second Edition. 9.16-9.19. Cold spring Harbor Laboratory Press, Newyork.
- 62- Sanfilippo, S., Raguso, R.M., Musumecis. and Neri, G. (1986) Fragile X Mental Retardation: prevalence in a group of institutionalized patients in Italy and description of novel EEG pattern. *Am. J. Med. Genet*. 23: 589-595.
- 63- Schinzel, A. (1984) *Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in Man*. 1-53, Walter de Gruyter - Newyork.
- 64- Seabright, M. (1971) A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*, 2: 971-972.
- 65- Serra, A., Brahe, C., Nillington - Ward, A., Neri, G., Tedschi, B., Tassone, F. and Bova R. (1990). Pericentric inversion of chromosome 9: Prevalence in 300 Down syndrome families and molecular studies of nondisjunction. *Am. J. Med. Genets Supp* 7: 162-168.
- 66- Sherman, S.L, Jacobs, P.A. and Morton, N.E. (1985) Further segregation analysis of the fragile X syndrome with special reference to transmitting males. *Hum Genet*. 69: 289-299.
- 67- Sherman, S.L., Morton. N.E. and Jacobs, P.A. (1984) The marker (X) syndrome: a cytogenetic and genetic analysis. *Ann. Hum. Genet*; 48: 21-37.
- 68- Shonkoff, J.P. (1992) Mental Retardation, In *Textbook of Pediatrics "Behrman"* RE KLeigman RM, Nelson, WE, Vaughan Eds. 94-98. III VC Fourteenth Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia.

- 69- Simko, A., Hornstein, L. and Soukup, S. (1989) Fragile X syndrome : Recognition in young children. *Pediatrics*, 83: 547-552.
- 70- Simpson, J.L. and Golbus, M.S. (1992) Genetics in obstetrics and gynecology. Second Edition. 241-245. W.B. Saunders Company, Mexico.
- 71- Slaney, S.F., Wilkie, A.O.M., Hirst, M.C., Charlton, R., Mc Kinley, M., Poynton, J., Christodoulou, Z., Huson, S.M. and Davies, K.E. (1995) DNA testing for fragile : syndrome in schools for learning difficulties. *Arch. Dis. Child* 72: 33-37.
- 72- Smith, M., Wasmuth, J. and Mc Pherson, J.D. (1989) Cosegregation of an 11q 22.3-9p22 translocation with effective disorder: proximity of the dopamine D2 receptor gene relative to the translocation breakpoint. *Am. J. Hum. Genet*; 45: A 220.
- 73- Stanford-Binet Zeka Testi. (1972) L Formu Kayıt Defteri ve Materyaller.
- 74- Stine, GJ. (1989) *The New Human Genetics*. 73-134, 393-456, Dubuque.
- 75- Stuhlerland, GR. (1977) Fragile Sites on Human chromosomes: Demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium. *Science*, 197: 265-266.
- 76- Sutherland, GR., Gedeon, A. and Kornman, L. (1991) Prenatal Diagnosis of Fragile-X syndrome by direct detection of the unstable DNA sequence. *N. Eng. J. Med*, 325: 1720-1722.
- 77- Sutherland, G.R. and Mulley, J.C. (1990) Diagnostic molecular genetics of the fragile X. *Clin Genet*, 37: 2-11.
- 78- Sutherland, GR., Murch, A.R and Gardiner, A.J. (1976) Cytogenetic survey of a Hospital for the mentally retarded. *Hum Genet*, 34(3): 231-245.
- 79- Tarleton, J.C. and Saul, R.A. (1993) Molecular genetic advances in fragile X syndrome. *J. Pediatr* 122 (2): 169-185.

- 80- Tayşı, K. and Say, B. (1975) *Tıbbi Genetik*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A12, 89-202, 344-345, Ankara.
- 81- Thake, A., Todd, Y., Bunday, S. and Webb, T. (1985) It is possible to make a clinical diagnosis of the Fragile X syndrome in a boy *Arch. Dis. Child.* 60: 1001-1007.
- 82- Thompson, M.W., McInnes, R.R. and Willard, H.F. (1991) *Genetics In Medicine, Fifth Edition*. 201-229. W.B. Saunders. Philadelphia.
- 83- Turner, G., Daniel, A. and Frost, M. (1980) X-linked mental retardation, macroorchidism, and the Xq27 fragile site. *J. Pediatr.* 96: 837-841.
- 84- Uchida, I. A., Freeman, V.C.P. and Yamro, H. (1983) Additional evidence for fragile X activity in heterozygous carriers. *Am. J. Med. Genet.* 35: 861-868.
- 85- Ulusoy, M. and Tunçbilek, E. (1987) Türkiye'de akraba evlilikleri ve çocuk ölümleri üzerine etkisi (Consanguineous Marriages in Turkey and their Effects on Child Death) *Nüfus Bilim Dergisi*, 9: 7-26.
- 86- Verkerk, A.J.M.H., Devries, B.B.A., Niermeijer M.F., Fu, Y.H., Nelson D.L., Varron, S.T., Majoor-Krakaujer, D.F., Halley, D.J.J. and Oostra B.A. (1992) Intragenic Probe used for diagnostics in fragile X families. *Am. J. Med. Genet.* 43: 192-196.
- 87- Verkerk, A.J., Pieretti, M. and Sutcliffe, J.J. (1991) Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 65: 905-914.
- 88- Vogel, F. and Motulsky, A.G. (1986) *Human Genetics. Second Edition* Heidelberg, 432-506.
- 89- Wang, Q., Green, E. and Barnieoat, A. (1993) Cytogenetic versus DNA diagnosis in routine referrals for fragile X syndrome. *Lancet* 342: 1025-26.

- 90- Webb, T.P., Bunday, S.E., Thake, A.I. and Todd, J. (1986) Population Incidence and Segregation Ratios in the Martin-Bell Syndrome. *Am. J. Med. Genet*, 23: 573-580.
- 91- Wilson, J.G. (1973). *Environment and birth defects*. Academic Press. Newyork.
- 92- Yamauchi, M., Nagata, S., Seki, N., Toyama, Y., Harada, N., Niikawa N, Masuno, I., Kajii, T. and Hori T. Prenatal diagnosis of fragile X syndrome by direct defection of the dynamic mutation due toan unstable DNA sequence. *Clin. Genet*: 44: 169-172.
- 93- Yu, S., Pritchard, M. and Kremer, E. (1991) Fragile X genotype characterized by an unstable region of DNA, *Science* 252: 1179-1181.



ÖZGEÇMİŞ

1962 yılında Konya'nın Sarayönü ilçesine bağlı Başhüyük Kasabasında doğdum. İlk ve ortaöğrenimimi bu kasabada tamamladım. 1979 yılında Kız Öğretmen Lisesinden mezun olarak, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümüne girdim. 1983 yılında bu fakülteyi bitirdim. 1988 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak atandım. 1990 yılında aynı bölümde yüksek lisansımı tamamladım, halen aynı Anabilim Dalında öğretim görevlisi olarak çalışmaktayım.



TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardım ve ilgilerini esirgemeyen sayın hocam ve tez yöneticim Yrd. Doç. Dr. Sennur DEMİREL'e çalışmalarım esnasında gereken yardımı gösteren sayın hocam Doç. Dr. Aynur ACAR'a, gereken kolaylıkları sağlayan anabilim dalımız başkanı sayın hocam Prof. Dr. Ferhan PAYDAK'a, araştırmama gereken ilgiyi gösteren sayın hocam Doç. Dr. Ahmet ARSLAN'a ve moleküler çalışmalarım için laboratuvar imkanlarını sunan Doç.Dr. Nejat AKAR ve ekibine teşekkür ederim.

Olgulara ulaşmamda gereken kolaylığı sağlayan MEB Rehberlik ve Araştırma Merkezi elemanlarına, fotoğraf çalışmalarımda yardımcı olan Doç.Dr. İlhami Çelik'e, çalışmalarımda her türlü desteğini esirgemeyen sevgili arkadaşım Psikolog Candan AKÇAY'a ve aileme teőekkürü bir borç bilirim.