



T.C.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**FMR1 GENİNDE CGG TEKRAR SAYISI 40 VE ÜZERİ OLAN
HASTALARIN GENOTİP PROFİLİ VE GENOTİP-FENOTİP
İLİŞKİSİ: ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ DENEYİMİ**

DR. HACER UKBA KINA
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Dr. Öğretim Üyesi Engin ALTUNDAĞ

SAMSUN-2023



T.C.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**FMR1 GENİNDE CGG TEKRAR SAYISI 40 VE ÜZERİ OLAN
HASTALARIN GENOTİP PROFİLİ VE GENOTİP-FENOTİP
İLİŞKİSİ: ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ DENEYİMİ**

DR. HACER UKBA KINA
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Dr. Öğretim Üyesi Engin ALTUNDAĞ

SAMSUN-2023

BEYAN

“FMR1 Geninde CGG Tekrar Sayısı 40 ve Üzeri Olan Hastaların Genotip Profili ve Genotip-Fenotip İlişkisi: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneyimi” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, başka bir çalışmadan kopya edilmediğini, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurullar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynak listesine aldığımı, bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



ÖZET

AMAÇ: Frajil X sendromu (FXS) kalıtılabilir zihinsel yetersizliğin (ZY) en sık nedenidir. X'e bağlı kalıtım paterni gösterir. Erkeklerde kadınlara göre daha sık görülür. Full mutant (FM) hastalardaki ZY'ye ek olarak premutasyon taşıyıcılarında prematür ovaryan yetmezlik (POY), Frajil X ilişkili tremor ataksi sendromu (FXTAS) gibi hastalıklar açısından artmış risk görülür. Bu çalışmada TP PCR testi ile FMR1 geninde CGG tekrar sayısı 40 ve üzeri olan hastaların genotip profili, fenotip-genotip ilişkisinin açıklanması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM: 130 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalara ait örneklerden genomik DNA izolasyonu yapıldı. TP PCR testi ile CGG ve AGG sayıları belirlendi. Hastalar, CGG tekrar sayıları ile Amerikan Tıbbi Genetik Koleji klavuzuna göre FM, premutant (PM), gri zon ve normal alel olarak 4 gruba ayrıldı.

BULGULAR: 74 kadın, 56 erkek hasta vardı. 34 hasta FM, 43 hasta PM, 15 hasta gri zon ve 38 hasta normal alel aralığındaydı. 44 hastada size mozaizmi saptandı. Bu hastaların 16'sı FM, 28'i PM'ydi. Hastalarda en sık 2 AGG, en az 4 AGG kesintisi vardı. Anneden oğula CGG aktarımlarında genellikle ekspansiyon, babadan kız çocuğa CGG aktarımlarında ise genellikle kontraksiyon saptandı. FM erkek hastaların %100'ünde ZY vardı. 34 hastada dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, 32 hastada otizm spektrum bozukluğu vardı. Bu hastaların çoğunluğu FM'ydi. 23 hastada POY vardı. PM hastalardaki POY oranı diğer üç grupta bulunan hastalardaki POY oranına göre anlamlı derecede fazlaydı. 48 hastanın ailesinde erken menapoz öyküsü vardı ve bu hastaların %85'i FM ve PM hastalardan oluşuyordu. 2 hasta FXTAS ile uyumlu bulgulara sahipti.

TARTIŞMA VE SONUÇ: FXS FM hastalarda ZY, PM hastalarda POY ve ek komorbid hastalıklar açısından risk oluşturmaktadır. CGG tekrarları mitotik ve mayotik instabiliteye sahiptir. Bu nedenle hastalar mitotik instabilitenin başladığı 40 ve üzeri CGG tekrar sayısından itibaren nesiller boyu aktarım ve ek hastalıklar açısından takip edilmelidir.

Frajil X sendromu, ZY, POY, mitotik instabilite

ABSTRACT

Aim: Fragile X syndrome (FXS) is the most common cause of inherited intellectual disability (ID). It exhibits X-linked inheritance pattern and is more frequently observed in males than females. In addition to ID in full mutant (FM) patients, increased risk of disorders such as premutation carrier-related premature ovarian insufficiency (POI) and Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) is seen. This study aimed to explain the genotype profile of patients with a CGG repeat number of 40 or more in the FMR1 gene and the phenotype-genotype relationship using TP PCR test.

Materials And Methods: A total of 130 patients were included in the study. Genomic DNA isolation was performed from samples obtained from the patients. CGG and AGG repeat numbers were determined using TP PCR test. Patients were divided into 4 groups based on CGG repeat numbers according to the American College of Medical Genetics guidelines: FM, premutation (PM), grey zone, and normal alleles.

Results: There were 74 female and 56 male patients. Out of them, 34 patients were FM, 43 patients were PM, 15 patients were in the grey zone, and 38 patients had normal allele range. Size mosaicism was detected in 44 patients, with 16 being FM and 28 being PM. Most commonly, there were 2 AGG interruptions and at least 4 AGG interruptions in the patients. Expansion was generally observed in CGG transmissions from mothers to sons, while contraction was generally observed in CGG transmissions from fathers to daughters. ID was present in 100% of FM male patients. Attention deficit hyperactivity disorder was present in 34 patients, and autism spectrum disorder was present in 32 patients. The majority of these patients were FM. There were 23 patients with POI. The rate of POI in PM patients was significantly higher compared to the other three groups. A history of early menopause was present in 48 patients, with 85% of them being FM and PM patients. Two patients had findings compatible with FXTAS.

Conclusion: FXS poses a risk for ID in FM patients, POI and additional comorbidities in PM patients. CGG repeats have mitotic and meiotic instability. Therefore, patients should be followed in terms of transmission and additional

diseases from the CGG repeat number of 40 and above, where mitotic instability begins.

Keywords: Fragile X syndrome, ID, POI, mitotic instability



İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	vii
TABLOLAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Frajlil X Sendromu ve Tarihçesi	3
2.2.Klinik Bulgular	5
2.2.1.Full mutant erkek hastalar	6
2.2.2 Full mutant heterozigot kadınlar	8
2.2.3.Premutant hastalar	9
2.2.4.Gri zonda bulunan kişiler	11
2.3.Görülme Sıklığı.....	12
2.4. Frajlil X Sendromu Moleküler Biyolojisi	13
2.4.1. FMR1 geni ve metilasyon paterni	13
2.4.2. Frajlil X sendromunda mutasyonlar	16
2.4.3. FMRP ve fonksiyonu	20
2.4.4.Üçlü tekrar ekspansiyon ve kontraksiyonlarının oluşumu ve tekrar hastalıklarında ana mekanizmalar	23
2.5.Premutasyon Taşıyıcılarında Klinik Yansımalar	28
2.5.1.Frajlil X ilişkili tremor ataksi sendromu (FXTAS).....	28
2.5.2.Frajlil X ilişkili prematür ovaryan yetmezlik (FXTAS).....	30
2.6.FXS ve Güncel Tedavi Yaklaşımları:	31
2.6.1.Full mutant hastalarda tedavi:	31
2.6.2.Premutasyon taşıyıcılarında tedavi	32
2.7.FXS Tanısında Kullanılan Yöntemler.....	34
2.7.1.Sitogenetik yöntemler	34
2.7.2.Moleküler yöntemler.....	35
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1.Genomik DNA izolasyonu:.....	41
3.2.PCR aşaması	43
3.2.1.LabGscan FRAXA PCR kit protokolü.....	43
3.2.2.AMPLİDEX FMR1 PCR kit protokolü	44
3.2.3.ABBOTT FMR sizing PCR kit protokolü	45
3.3 Kapiller Elektroforez Uygulaması	46
3.4.Fragman Analizi.....	47
3.5.Etik Onay	49
3.6.İstatistiksel Değerlendirme	49
4.BULGULAR.....	58
5.TARTIŞMA	77
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	90
6.1.Sonuçlar	90
6.2.Öneriler	92
KAYNAKÇA:.....	93
EKLER	112
EK-1. İNTİHAL RAPORU	112
EK-2 ETİK KURUL ONAYI	113

KISALTMALAR

FMR1	: Frajil X Mental Retardasyon 1 geni
CGG	: Sitozin Guanin Guanin
FXS	: Frajil X Sendromu
ZY	: Zihinsel yetersizlik
FM	: Full mutant
FXTAS	: Frajil X İlişkili Tremor Ataksi Sendromu
POY	: Prematür Ovaryan Yetmezlik
TP PCR	: Triple Primed Polimeraz Zincir Reaksiyonu
AGG	: Adenin Guanin Guanin
PM	: Premutant
UTR	: Translasyona uğramayan bölge
FMRP	: Frajil X Mental Retardasyon Proteini
ACMG	: Amerikan Tıbbi Genetik Koleji
FXPOY	: Frajil X ilişkili Prematür Ovaryan Yetmezlik Sendromu
FXİNH	: Frajil X ilişkili nöropsikiyatrik hastalıklar
MB	: Megabaz
YAC	: Yapay maya kromozomu
Kb	: Kilobaz
DEHB	: Dikkat eksikliği ve Hiperaktivite bozukluğu
OSB	: Otizm Spekturum Bozukluğu
MVP	: Mitral Valv Prolapsusu
OSA	: Obstrüktif uyku apnesi
FXİDD	: Frajil X ilişkil diğer hastalıklar
FXPiD	: Frajil X Premutasyon ilişkili durumlar
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
ORF	: Açık okuma çerçevesi
NLS	: Nükleer lokalizasyon sinyali
InR	: Başlatıcı benzer bölge
USF1	: Yukarı akış transkripsiyon faktörü 1
USF2	: Yukarı akış transkripsiyon faktörü 2
Sp1	: Özgün protein 1
Sp3	: Özgün protein 3

CTCF	: CCCTC bağlayıcı faktör
DNMT1	: DNA metil transferaz 1
UHRF1	: Ubikitin benzeri PHD ve RING parmak içeren domain
DNMT3A	: DNA metil transferaz 3A
DNMT3B	: DNA metil transferaz 3B
HDAC	: Histon deasetilaz
NGS	: Yeni nesil dizileme
kDA	: Kilodalton
RGG	: Arjinin glisin glisin
PoliQ	: Poliglutamin
PoliA	: Poliadenin
MR	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MCP	: Orta serebellar pedinkül
SSRI	: Seçici serotonin geri alım inhibitörü
CVS	: Koryonik villus örneği
5-azadC	: 5 azadeoksitidin
SNRI	: Serotonin norepinefrin geri alım inhibitörü
ISCN	: Uluslararası İnsan Sitogenomik Adlandırma Sistemi
MS PCR	: Metilasyon spesifik polimeraz zincir reaksiyonu
MLPA	: Multiplex ligasyon prob amplifikasyonu
Bç	: baz çifti
GABA	: Gama amino bütirik asit

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. FXS’da sık görülen klinik bulgular (41)	28
Tablo 2. FXTAS tanı kriterleri (155).....	43
Tablo 3. LabGscan FRAXA PCR kiti Master Mix solüsyonu bileşenleri	44
Tablo 4. LabGscan FRAXA PCR kiti Thermal cycler protokolü.....	44
Tablo 5. Amplidex FMR1 PCR kiti Master mix solüsyonu bileşenleri.....	45
Tablo 6. Amplidex FMR1 PCR kiti Thermal cycler protokolü:	45
Tablo 7. ABBOTT FMR sizing PCR kiti Master mix bileşenleri	46
Tablo 8. ABBOTT FMR sizing PCR kiti Thermal Cycle Protokolü.....	47
Tablo 9. Kitlere göre master mix solüsyonu içerik miktarları	47
Tablo 10. Kitlere göre master mix ve ürün karışım miktarları	48
Tablo 11. Kitlere göre thermal cycler adımları.....	48
Tablo 12. ACMG kriterlerine göre Frajl X grupları	49
Tablo 13. Dışlanma ve ACMG kriterlerine göre hastalara ait genotip kategorileri... 49	
Tablo 14. Geniş ailelerde CGG segregasyonu	65
Tablo 15. CGG tekrar sayıları ve AGG sayısı arasındaki korelasyon durumları..... 67	
Tablo 16. Mozaik hastalarda cinsiyet ve CGG tekrar sayısı.....	68
Tablo 17. FM ve PM hastaların cinsiyete göre mozaiklik durumlarının karşılaştırılması:	70
Tablo 18. FM ve gri zonda olan hastaların ZY durumlarının karşılaştırılması..... 70	
Tablo 19. FM ve normal alel olan hastaların ZY durumlarının karşılaştırılması..... 70	
Tablo 20. FM ve PM hastaların ZY durumlarının karşılaştırılması.....	71
Tablo 21. DEHB olan hastaların FM, PM ve diğer (gri zon+normal alel) aralıkta olup olmama durumlarına göre karşılaştırılması.....	71
Tablo 22. FM ve PM hastaların OSB durumları açısından karşılaştırılması	72
Tablo 23. FM ve gri zondaki hastaların OSB durumları açısından karşılaştırılması	72
Tablo 24. FM ve normal aleldeki hastaların OSB durumları açısından karşılaştırılması	72
Tablo 25. FM ve normal alel aralığında olan hastaların FXS düşündüren fenotipik bulgu açısından karşılaştırılması.	73
Tablo 26. FM ve gri zondaki hastaların FXS düşündüren fenotipik bulgu açısından karşılaştırılması	73
Tablo 27. FM ve PM hastaların FXS düşündüren fenotipik bulgu açısından karşılaştırılması	73
Tablo 28. PM ve diğer gruplardaki hastaların POY açısından karşılaştırılması.	75
Tablo 29. PM hastalarda POY olan ve olmayan hastalarda CGG tekrar sayısı ortalamasının karşılaştırılması	75
Tablo 30. CGG tekrar sayısı 80-99 aralığında olan ve bu aralıkta olmayan PM hastalarda POY oranının karşılaştırılması.....	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. FXS'da sık görülen klinik bulgular (41).....	6
Şekil 2. Frajil X premutasyonu ilişkili durumlar (13).....	10
Şekil 3. FMR1 geni şematik gösterimi (92).....	13
Şekil 4. FMR1 geninde transkripsiyonel düzenleyiciler (96)	14
Şekil 5. FMR1 geninde transkripsiyon ve translasyon değişimi (39).....	16
Şekil 6. FMRP ve yapısal bölgeleri (6).....	21
Şekil 7. CGG tekrar sayısına göre FMRP değişimi (5).....	22
Şekil 8. Tekrar hastalıklarına ilişkin mekanizmalar (138).....	25
Şekil 9. 46,XYfra (X)(q27.3) karyotipli hastaya ait metafaz ve karyotip görüntüsünde frajil bölgenin gösterilmesi (175).....	35
Şekil 10. Southern Blot analizinde bant paternleri (17).....	37
Şekil 11. 29 ve 41 CGG tekrar sayılı alelleri, 3 AGG kesintisi olan female hastada Gene Mapper analiz görüntüsü	50
Şekil 12. 30 ve 52 CGG tekrar sayılı alelleri, 2 AGG kesintisi olan female hastada Gene Mapper analiz görüntüsü	51
Şekil 13. 27 ve 90 CGG tekrar sayılı alelleri, 2 AGG kesintisi olan female hastada Gene Mapper analiz görüntüsü	52
Şekil 14. 83 CGG tekrar sayısı ve 2 AGG kesintisi olan mozaik premutant male hastada Gene Mapper analiz görüntüsü	53
Şekil 15. >200 CGG tekrar sayısı ve 0 AGG kesintisi olan male hastada Gene Mapper analiz görüntüsü.....	54
Şekil 16. 157, 188 ve >200 CGG tekrar sayılı aleller ile 0 AGG kesintisine sahip full mutant mozaik male hastada Gene Mapper analiz görüntüleri	55
Şekil 17. 30 ve >200 CGG tekrar sayılı alelleri, 2 AGG kesintisi olan mozaik female hastada Gene Mapper analizi görüntüsü	56
Şekil 18. Full mutant mozaik female hastada, 132 ve >200 CGG tekrarlarına ait Gene Mapper analiz görüntüsü.....	57
Şekil 19. Mutasyonel kategori ve cinsiyete göre hastaların dağılım grafiği	58
Şekil 20. Klinik özelliklere göre hastaların dağılımı	59
Şekil 21. FM hastalarda klinik özelliklerin dağılımı.....	60
Şekil 22. PM hastalarda klinik özelliklere göre dağılım	61
Şekil 23. Anne oğul CGG tekrar sayısı segregasyonu	63
Şekil 24. Anne oğul AGG kesintisi segregasyonu	63
Şekil 25. Baba kız CGG tekrar sayısı segregasyonu.....	64
Şekil 26. Baba kız AGG kesinti sayısı segregasyonu	64
Şekil 27. AGG sayılarına göre hastaların dağılımı	66
Şekil 28. Mutasyonel kategorilere göre AGG kesinti sayısının değişimi	66
Şekil 29. AGG sayısı gruplarına göre CGG tekrar ortalamaları	67
Şekil 30. POY olan ve olmayan hastaların CGG tekrar sayısına göre gruplara dağılımı	74

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Frajlil X sendromu (FXS), kalıtlılabilir zihinsel yetersizliğin (ZY) en sık nedenidir. Bu hastalık, X'e bağılı kalıtım paternine sahiptir (1). Erkeklerde kadınlardan daha sık görülür (2). Hastalığın klasik fenotipinde; uzun yüz, kepçe kulaklar, ZY, konuşma ve gelişme geriliği, makroorşidizm bulunur (3). Farklı etnik gruplara göre değişmekle birlikte ortalama olarak erkeklerde 1/3600 kadınlarda ise 1/4000-6000 sıklıkta görülür (4). Ülkemizde FXS'da full mutasyon ve premutasyon taşıyıcılığı prevalansı ile ilişkili net bir bilgi yoktur.

FMR1 (Frajil X ilişkili mental retardasyon 1 geni) geni, Xq27.3 bölgesinde bulunur. Bu gen tarafından kodlanan Frajlil X ilişkili mental retardasyon proteininin (FMRP) üretilmemesi FXS'e neden olur (5, 6). FXS'de hastalığın sebebi, %99 FMR1 geninin 5' çevrime uğramayan (UTR) bölgesinde CGG tekrar sayısında artıştır. Geriye kalan %1'lik kısımdan nokta mutasyonu ve delesyon gibi mutasyonlar sorumludur (7). CGG tekrar genişlemelerinde bu gende metilasyon paterni değişir ve FMRP üretilemez (8). Amerikan Tıbbi Genetik Koleji (ACMG) kriterlerine göre, 44 ve altı tekrar sayısı normal alel, 45-54 tekrar sayısı gri zon, 55-200 tekrar sayısı premutasyon, 200 üzeri tekrar sayısı ise full mutasyon olmak üzere 4 kategori bulunur (9). Bu hastalıkta aynı zamanda *size* ve metilasyon mosaisizmi tanımlanmıştır. *Size* mosaisizmi, aynı kişiye ait farklı dokularda farklı CGG tekrar sayısına sahip alt hücre gruplar bulunması durumudur (10). Metilasyon mosaisizmi ise metile ve unmetile alellerin aynı bireyde olmasıdır. *Size* mosaisizmi, full mutant hastaların %10-40'ında görülürken, metilasyon mosaisizmi oldukça nadirdir (11).

Premutasyon taşıyıcılığı sıklığı kadınlarda 1/130-200 erkeklerde 1/250-400 arasında değişir (12). Premutasyon taşıyıcılarında, Frajlil X ilişkili prematür ovaryan yetmezlik (FXPOY), Frajlil X ilişkili tremor ataksi sendromu (FXTAS) ve Frajlil X ilişkili nörolojik hastalıklar (FXİNH) sıklığında artış görülmektedir (13).

FXS'da günümüzde egzersiz, konuşma ve dil terapisi veya bilişsel davranışçı terapi yanı sıra semptomatik psikofarmakolojik tedavi, bozulan nörobiyolojik yollar için hedefe yönelik tedaviler uygulanmaktadır. Ancak hem full mutant (FM) hastalarda hem de premutasyon taşıyıcılarında küratif tedavi seçenekleri henüz mevcut değildir (14).

FXS tanısında zaman içinde gelişen teknoloji ile farklı yöntemler kullanılmıştır. Sitogenetik yöntemle yalnızca FM hastaların bir kısmına tanı koyulabilir (15, 16). Southern Blot ve PCR gibi yöntemlerin kullanılmaya başlaması ile sitogenetik yöntem geri planda kalmış, moleküler testler ön plana çıkmıştır (17). Normal alel aralığından FM alel aralığına kadar CGG tekrar sayılarının ve metilasyonunun belirlenmesinde PCR tabanlı yöntemler günümüzde sıklıkla tercih edilmektedir (18, 19). MLPA ve yeni nesil dizileme de tanıda kullanılan diğer yöntemlerdendir (9).

CGG tekrarları mitotik instabiliteye sahiptir. AGG kesintileri ise ortalama 9-10 CGG tekrarında bir bulunan mitotik stabiliteye yardımcı üçlü bazlardır. Genel popülasyonun %94'ünde 1 veya 2 AGG kesintisi bulunur (1). Ebeveynlerden yavrulara CGG aktarımında mitotik instabilite genellikle 40-49 CGG tekrar aralığında başlar. Dinamik mutasyonun doğası gereği nesiller boyunca CGG tekrarları ekspanse olup full mutasyona ilerleyebilir. Bu durumu önlemek için gebelik öncesi planlama ile ailelere preimplantasyon genetik tanı seçeneği sunulabilir (9). Full mutasyon ve premutasyon taşıyıcılarında henüz küratif tedavisi bulunmamaktadır. Ancak her iki grupta da hem erken tanı ile beraber bireyin semptomları hafifletilerek hayat kalitesi artırılabilir hem de aile taraması ile risk altındaki diğer aile üyeleri belirlenerek genetik danışma verilebilir.

Bu çalışmada 2012-2023 yılları arasında FXS veya premutasyon taşıyıcılığı ön tanısı ile OMÜ Tıp Fakültesi genetik polikliniklerine başvurmuş TP PCR testi sonucunda FMR1 geninde CGG tekrar sayısı 40 ve üzeri olan prenatal, çocuk ve erişkin yaş grubundaki tüm hastaların, hasta dosyaları retrospektif olarak taranarak klinik ve genotip profilinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Frajl X Sendromu ve Tarihçesi

FXS, tüm zihinsel yetersizlik (ZY) nedenleri sıralandığında Down sendromundan sonra 2. sırada; kalıtsal ZY nedenleri sıralandığında ise ilk sırada yer almaktadır. Down sendromu çoğu zaman *de novo* meydana gelirken, FXS'da ise hemen her zaman kalıtılabilir bir durum söz konusudur (2).

Daha önceki dönemlerde mental retardasyon olarak da ifade edilen ZY, Amerikan Psikiyatri Birliği (APA) tarafından hazırlanan DSM 5 klavuzunda anlıksal (entelektüel) yetersizlik olarak tanımlanmaktadır. Kavramsal, toplumsal ve uygulamalı alanlarda hem anlıksal hem de uyumsal işlev eksikliklerini kapsayan gelişimsel evre sırasında başlayan bir bozukluktur. Entelektüel yetersizlik için aşağıda sıralanan üç maddenin karşılanması gerekmektedir:

1. Hem klinik değerlendirme, hem de bireye göre uygulanan, kabul gören bir zekâ ölçümü ile doğrulanan, akıl yürütme, sorun çözme, tasarlama, soyut düşünme, yargılama, okulda öğrenme ve deneyimlerinden öğrenme gibi anlıksal işlevlerde eksiklikler,
2. Kişisel bağımsızlık ve toplumsal sorumluluk için gelişimsel ve toplumsal-kültürel ölçüleri karşılayamama ile sonuçlanan, uyum işlevselliğinde eksiklikler,
3. Anlıksal ve uyumsal eksiklikler olması.

ZY, insan popülasyonunun yaklaşık yüzde üçünde görülür. Erkeklerde kadınlara oranla daha sıktır ve bu farkın X kromozomundaki mutasyonlardan kaynaklandığı düşünülür (20). Bugün için OMIM veri tabanında ZY bağlantılı 3537 kayıt bulunmaktadır. X *linked* ZY; erkeklerde tüm ZY'nin %25'inden sorumludur. FXS, tüm X *linked* ZY nedenlerinin yüzde kırkıdan sorumludur (21).

FXS ilk kez 1940'larda Martin ve Bell tarafından sağlıklı annelerden doğan 11 ZY'li erkek çocuğun olduğu geniş bir ailede tanımlanmıştır. Aynı ailede erkeklere oranla daha az etkilenmiş 2 kadın hastanın da olduğu bildirilmiştir. Etkilenmiş erkek hastaların dedelerinde ZY yoktu. Bu rapor, X bağlantılı ZY sendromlarına dair oluşturulan ilk rapordur (22). 1969'da Lubs ve ark üç kuşakta ZY bulunan erkek bireylerin olduğu ve kromozom analizlerinde X kromozomunda sekonder

konstriksiyon bölgesi olan hastalar tanımlamıştır (23). İncelenen metafazlarda X kromozomunun uzun kolunda, distale yakın bölgede incelik tespit edilmiştir ve bu marker X kromozomlarındaki kırılma bölgeleri dikkat çekmiştir (24). Folik asitten fakir özel şartlarda elde edilebilen kültür ve yüksek çözünürlüklü mikroskopi sonucunda Xq27 bölgesi tespit edilebilmiştir (25).

Poustka ve ark. 1991 yılında Xq27.3 bölgesinden telomere kadar olan 12 MB'lık bölgenin fiziksel haritasını çıkardılar (26). Aynı dönemde Yu ve ark. (1991), fragil bölgeyi de kapsayan problemleri hazırladı ve YAC (yapay kromozom) kütüphanesinde taradılar. Fragil bölgeyi içerdiğini düşündükleri YAC'ı izole ettiler ve yaklaşık 15 kb uzunluğunda bir dizide saptadılar. Yine bu bölgeden *EcoRI* ile keserek elde ettikleri 5 kb'lık parçayı prob olarak kullanarak normal ve FXS'li hastaları karşılaştırıp; bu bölgedeki yeniden düzenlemelerin yalnızca FXS'li hastalarda olduğunu gösterdiler. Yeniden düzenlemelerin aile içinde ve aileler arasında farklılıklar gösterdiğini saptadılar (27).

1991 yılında yaşanan bir diğer gelişmede, uluslararası bir grup bilim adamı FMR1 geninin cDNA'sını elde ederek ilk defa FMR1 terimini kullandı (28). Oberle ve ark. (1992), FMR1 geninin susturulmasına neden olan metilasyonun CpG adasında ve fragil bölgenin çok yakınında olduğunu gösterdi (29). Richard ve Sutherland, hastalığın CGG tekrar artışıyla karakterize dinamik bir mutasyon sonucu oluştuğunu, Eichler ve ark. (1994) ise FMR1 geninin 17 ekzonlu 38kb uzunluğunda olduğunu gösterdi (30).

Backes ve ark. (2000) yılında bilişsel ve davranışsal bir profil belirleyebilmek amacı ile daha öncesinde genetik yöntemlerle FXS tanısı almış bir grup erkek çocuğu değerlendirdi. Bu değerlendirme sonucunda hafif ortadan şiddetli ZY'ye karşılık gelen bir zeka ve psikiyatrik komorbiditeler ortaya çıktı. Hastalarda, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB), enürezis ve enkoprezis baskındı. Tüm bunlarla beraber fenotip ve genotip arasında korelasyon bulunamadı (31).

Murray ve ark. (1998), idiopatik prematür ovaryan yetmezliği (POY) olan kadın hastalarla yaptıkları çalışmada, dördü arasında akrabalık bulunan 6 kadın hastada premutasyon taşıyıcılığı saptadı. Allingham-Hawkins ve ark. (1999),

FXS bulunan ailelerden seçtikleri kadınlar üzerinde yaptıkları çalışmada premutant alele sahip hastaların %16'sında POY saptadılar (32, 33).

Hagerman ve ark. (2001) yaşları 6. dekatta 5 premutant erkek hastada; progresif intansinel tremor, parkinsonizm, impotans ve beyin MR'larında (manyetik rezonans görüntüleme) atrofi saptadı. Jacquement ve ark. (2007) bunun nörodejenerasyonla karakterize FXTAS olduğunu karakterize ettiler (34-36).

2.2.Klinik Bulgular

Uzun ince karakteristik yüz, belirgin kepçe kulaklar, davranış problemleri ve postpubertal dönemde erkek hastaların yüzde sekseninde görülen makroorşidizm ile karakterize FXS farklı dönemlerde farklı klinik özelliklerle karşımıza çıkmaktadır. Fiziksel bulgular spesifik ya da sabit değildir. Çocukluk dönemi sonrasında daha belirgin hale gelir. Bu nedenle tanı için prepubertal dönemde davranışsal bulgular fiziksel bulgulara göre daha etkilidir (3, 37). Özellikle moleküler tekniklerin gelişiminden önceki dönemlerde pek çok araştırmacı hastalığa fenotipik ve davranışsal özelliklerle tanı koyabilmek için farklı skarlama sistemleri geliştirmişlerdir. Hagerman ve ark. nın (1991) geliştirdiği skarlama sisteminde 13 öge, 107 ZY'li erkek hastada değerlendirildi. Skarlama sonucunda 16 ve üzeri puan alan hastaların FXS olma ihtimali %345 daha fazla olduğu bulundu (3). Maes ve ark. (2000), 28 öge ile benzer bir skarlama sistemi geliştirdi (38). Daha önce yapılan skarlama sistemleri küçük hasta gruplarına ve tek ırka dayandığından evrensel risk skoru oluşturmak amacı ile 2017'de yedi ögeli bir değerlendirme listesi oluşturulmuştur (8). Bugün için genetik laboratuvarlarında kabul görmüş altın standart bir skarlama sistemi bulunmamaktadır. Gelişim geriliği, ZY ve otizm spektrum bozukluğu (OSB) olan her hastanın mutlaka FXS açısından değerlendirilmesi gerekmektedir (9).

Hastalık, her iki cinsiyette de görülmesine karşın belirti ve bulgular birbirinden farklıdır ve silik olabilir. Erken tanı genellikle üç yaş civarı konuşmayan ya da konuşması gecikmiş çocuklarda konulabilir (39). Cinsiyet, CGG tekrar sayısı

ve metilasyon derecesi klinik bulguların şiddetini etkilemektedir (40). FXS’de sık görülen klinik bulgular tablo 1 de gösterilmektedir.

Şekil 1. FXS’da sık görülen klinik bulgular (41)

Klinik Bulgular		Prevalans
Fiziksel	Uzun yüz Makrosefali Belirgin kulaklar Belirgin çene Düz taban Eklem hipermobilitesi Makroorşidizm	%83* %50-81 %75 %85* %29-69 %50-70** %95***
Psikolojik	DEHB Anksiyete OSB	%80 (E), %40 (K) %58-86 %30-60
Gelişimsel	Entelektüel yetersizlik Konuşma bozuklukları	%85-100(E), %25-30 (K) %100 (E), %60-75(K)
Diğer	Şaşılık Tekrarlan otit atakları GİS komplikasyonları Obezite Nöbet geçirme	%8-30 %47-75**** %31 %30-61 %15-20

Not: DEHB: Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, OSB: Otizm spektrum bozukluğu, GİS: Gastrointestinal sistem. *: Genellikle erişkin dönemde görülür. **: Erişkin dönemde daha az sıklıkta görülür. ***: Genellikle adölesan ve erişkin dönemde görülür. ****: Genellikle hayatın ilk 5 yılında görülür. (E) erkeklerde, (K) kadınlardaki görülme yüzdesini göstermektedir.

2.2.1.Full mutant erkek hastalar

FXS’li erkek hastalar, normal fonksiyonda işleyişten sınırdaki bilişsel veya hafif ve şiddetli aralıkta değişen çok çeşitli öğrenme güçlüğüne sahiptirler. Ortalama IQ (Intelligence Quotient) 40’tır (40). Zihinsel ve gelişimsel gerilik erkek hastaların %85’inde mevcuttur. Ayrıca hastaların %60’ında OSB vardır. Tüm OSB etyolojisinin ise %2-5’inden FXS sorumludur (42). DEHB ergenlik öncesi dönemde erkek hastalarda %80 sıklıkta görülürken postpubertal dönemde bu oran azalmaktadır (41).

Hastalarda uzun ince yüz, belirgin kepçe kulak, eklem hipermobilitesi ve düz tabanlılığı da içeren klasik FXS fenotipinde fizik muayene bulguları, yenidoğan ve erken çocukluk döneminde çoğu zaman göze çarpmaz. Puberte sonrası dönemde makroorşidizm, sperm kalitesi ve spermiyogenezin bozulmasına yol açar. FXS’li erkek hastalar yaşlılarına ve kardeşlerine göre hafif artmış doğum ağırlığına sahiptirler. İlk iki yaşta özellikle ikinci yaşta daha belirgin olmak üzere büyüme hızında artış vardır. FXS’de erken infantil büyüme bozukluğu olduğunu öne süren

alışmalar da mevcuttur. Ancak daha sonrasında yapılan çalışmalarda ortalama doğum boyu ve baş çevresinin normal popülasyondan farklı olmadığı görülmüştür (33, 43-47).

Klasik fenotipik bulguların yanı sıra; bu hastaların %10'unda obezite, hiperfaji, yemek sonrası doymama, küçük cinsel organlar ve gecikmiş puberte görülebilir. Ayrıca doğum anında uzun boy, geniş baş çevresi, minör yüz anomalileri bulguları da olabilir. Hastalar bu bulgularla Prader Willi ve Sotos sendromu ön tanısıyla takip edilerek yanlış tanı alabilirler (48, 49).

FXS'li erkek hastalarda orta kulak iltihabı en sık karşılaşılan tıbbi sorunlardan biridir. Hastaların %85'i hayatlarında en az bir kez orta kulak iltihabı tanısı alırlar. Tekrarlayan orta kulak iltihabı işitme kaybına neden olabilir ve bu da bilişsel, dil ve davranış problemlerinin şiddetini artırabilir (50). Hastalarda kraniofasial değişimlerin orta kulak iltihabına yatkınlık oluşturduğu düşünülmektedir. Amerikan Pediatri Akademisi komplikasyon gelişmemiş FXS'li hastalarda 6 ay-2 yaş arası kulak muayenesi önermektedir (51).

Hastalarda sık karşılaşılan bir diğer medikal problem ise epileptik nöbet öyküsüdür. Sıklığı cinsiyete göre farklılık göstermekle birlikte %12-44 arasında değişir (52-54). Erkeklerde kadınlara göre daha yüksek oranda görülür (55). Hastalarda en sık jeneralize nöbetler, ikinci sıklıkta status epileptikus görülmektedir (56). *Knock out* FXS farelerle yapılan deneylerde, FMRP kaybının özellikle dentritik çıkıntılarda anormal formasyona neden olduğu görülmüş ve bu anomalinin FXS insanlarda da yüksek sıklıkta nöbet öyküsüne neden olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca eksitator ve inhibitör nörotransmitter değişimlerinin de nöbet sıklığında etkisi olabileceği düşünülmektedir (56, 57).

FXS'de MVP sıklığının yetişkin dönemde genel topluma göre arttığına yönelik çalışmalar vardır. Bunlardan birinde ekokardiyogram konfirmasyonu olan FXS'li yetişkin erkek hastaların %50, kadın hastaların %20'sinde MVP saptanmıştır (58-60). Hastaların kalp kapakçıklarında ve ciltlerinde anormal elastin lifleri tespit edilmiştir. FXS'de görülen MVP, herni, eklem dislokasyonu, düz tabanlık ve aort kökü dilatasyonu gibi problemlerin; bağ dokusu sorunları ve elastin liflerindeki anormalliklerle ilişkili olduğu düşünülmüştür (61).

Diyare ve gastroözefajial reflü sıklığı net olarak bilinmese de, gastrointestinal yakınmalarla ilgili FXS'li hastalarda yapılan ilk çalışmalarda bu yakınmaların oranı %11 olarak saptanmıştır. Ehler Danlos ve Marfan Sendromu gibi bağ dokusu hastalıklarındakine benzer sıklıkta görülmesi şaşırtıcıdır (62).

FXS'li küçük çocuklarda uyku sorunları aynı yaş grubundaki genel popülasyonun ortalama iki katı sıklıktadır. Hastalar özellikle uykuya dalmakta zorluk yaşarlar. Geceleri sık sık uyanmak, çok erken uyanmak ve parasomni diğer sık karşılaşılan uyku sorunlarından (63).

Obstrüktif uyku apnesi (OSA) sıklığı normal çocuklarda %0.8-2.8 arasında değişir. Yüksek sesle horlama, apne, nefes nefese uyanma, enürezis ve gündüz uyku hali OSA'ya sekonder gelişen durumlardır. OSA, nörogelişimsel sorunları olan çocuklarda daha sık görülmektedir. FXS'li çocuklarda halihazırda karşılaşılan konsantrasyon eksikliği, öğrenme yeteneğinde azalma ve düşük bilişsel işleve OSA'nın katkı sağladığı düşünülmektedir (64, 65). Araştırmalar tipik olarak gelişmekte olan çocuklarda; pediatrik OSA'nın erken teşhis ve tedavisinin çocuğun uzun vadeli bilişsel, sosyal potansiyelini ve okul performansını iyileştirebileceğini göstermektedir (66).

Şaşılık FXS'de karşılaşılan özelliklerden biridir ve oküler motilite anomalisi ile gözlerin binoküler görüşten uzaklaşmasıyla karakterizedir. Daha erken dönemlerde yapılan çalışmalarda, FXS'de şaşılık prevalansı %50'ye yakın gözükse de sonraki dönemlerde yapılan çalışmalar bu oranın %4-8 arasında değiştiğini göstermiştir. FXS'li hastalarda görülen şaşılık yüzdesi çocukluk ve yetişkinlik dahil tüm dönemlerde normal popülasyonla karşılaştırıldığında daima normal popülasyona göre daha yüksek oranda olduğu gösterilmiştir (67, 68).

Tuvalet eğitimi ve bunla ilişkili problemler, FXS'li hastaların neredeyse yarısında görülmektedir. Erkek hastaların ortalama 15-20 yaşlarında tuvalet becerilerini kazanmaya başladıkları gözlenmiştir (69).

2.2.2 Full mutant heterozigot kadınlar

FXS'da erkeklerde görülen hastalığa özgü dismorfik özellikler; konnektif doku tutulumuyla görülen pes planus, eklem hipermobilitesi full mutasyona (heterozigot) sahip kadın hastaların yaklaşık yarısında görülmektedir. Son yapılan çalışmalarda

FM kadın hastaların %30'u normal zihinsel aktiviteye sahipken, %25'inde hafif ZY (IQ<70), kalan kısımda ise orta-ağır ZY saptanmıştır. Kadın hastaların büyük çoğunluğunda öğrenme güçlüğü ve duygusal sıkıntılar mevcuttur. Dikkat eksikliği ve anksiyete bozuklukları, FXS'li kadın hastaların %76.9'unda hayatlarında en az bir kez görülür. Emosyonel problemlerin yaşla birlikte görülme sıklığı artmaktadır. OSB, kadın hastaların %30'unda görülür. Adölesan yaş ve sonrasında sıklığı azalır. Uyku sorunları, sosyal fobi, kendine zarar verme davranışları her iki cinsiyette karşılaşılan problemlerdir. Metabolik sorunlar ve obezite yaygındır (70).

Kadın hastalarda fenotipik etkilenme birbirinden oldukça farklı olabilmektedir. Rastgele gerçekleşen X inaktivasyonunun sonucunda mutant X kromozomunun normal kopya sayısına sahip X kromozomuna oranı ve bunun özellikle beyin dokusundaki oranı entelektüel kapasiteyi etkilemektedir (71, 72). FM monozigotik ikiz kız kardeşlerle yapılan çalışmalarda, ikizlerden birinde ZY mevcutken diğerinde normal zihinsel kapasite bulunması bu duruma örnektir (73).

Ailesel vakaların yanı sıra; hem erkek hem de kadın hastalar ZY mevcutsa karakteristik fenotipik özellikleri olmasa dahi FXS açısından mutlaka test edilmelidir.

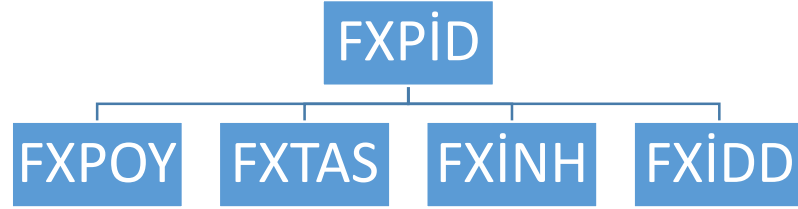
2.2.3.Premutant hastalar

FXS ile ilgili yapılan ilk araştırmalarda premutasyon taşıyıcılığının önemi, sonraki nesillerde ortaya çıkan full mutasyon kaynaklıydı. Ancak daha sonra yapılan çalışmalar taşıyıcılar için sağlık sorunlarının soy üzerindeki etkisinin önüne geçtiğini göstermektedir. Penetransı değişken olsa da premutasyon taşıyıcılarında görülen hastalıklar açısından bu hastalar mutlaka takip edilmelidir.

Frajl X premutasyon taşıyıcılarını etkileyen hastalıklar ile ilgili çalışmalar hala devam etmektedir. Bu tanımlamalardan ilk ikisi; FXTAS ve FXPOY'dur. Taşıyıcılarla yapılan daha ileri dönem çalışmaları, kişilerin zihinsel ve fiziksel sağlık semptomlarını genel popülasyondan daha yüksek oranda yaşadığını göstermiştir. 2018'de FXİNH tanımlanmıştır. Ancak hastalarda görülen otoimmünite bağlantılı şikayetler, sosyal fobi, fibromiyalji gibi nöropsikiyatri çatısında toplanamayan ek diğer hastalıklar için Frajl X ilişkili diğer durumlar (FXİDD) kullanılsa da bütün tanılarını kapsayan şemsiye bir başlığa ihtiyaç duyularak "Frajl X Premutasyon

ilişkili durumlar’’ çatısı kullanılmaya başlamıştır. Temelde dört kategoride sınıflandırılan başlıklar şekil 1’de gösterilmiştir. (13) (74).

Şekil 2. Frajil X premutasyonu ilişkili durumlar (13)



Not: FXPİD: Frajil X premutasyon ilişkili durumlar, FXPOY: Frajil X ilişkili prematür ovaryan yetmezlik, FXİNH: Frajil X ilişkili nöropsikiyatrik hastalıklar, FXİDD: Frajil X ilişkili diğer durumlar

PM kadın hastaların %20’sinde FXPOY görülmektedir. FXS, POY’un bilinen en sık monojenik sebebidir. FXPOY, ovaryan fonksiyonların azalmasıyla birlikte adet görememe, adet düzensizlikleri ve bozulmuş ovaryan yanıtla karakterizedir. FXPOY’u olan hastalar toplum ortalamasından beş yıl daha erken menapoza girerler (74).

FXTAS, premutasyon taşıyıcısı olan erkek hastaların %40’ında kadın hastaların ise %16’sında görülür. Tipik olarak 50 yaşından sonra başlayan ve yaşla beraber semptomların arttığı nörodejeneratif bir hastalıktır. İntansiyonel tremorla birlikte koordinasyon güçlüğü ve ataksi görülür. Hastalarda tüm komponentler birlikte görülmeyebilir. Tanı klinik ve radyolojik bulguların kombinasyonu ile koyulur (75). Premutasyon taşıyıcıları ile yapılan kontrollü çalışmalarda PM hastalarda depresyon %40 görülürken, FXTAS gelişimi gözlenen hastaların yaşam boyu %65’inde duygu durum bozukluğu saptanmıştır. FXTAS bağlamında depresif semptomlar tipik olarak motor semptomların başlamasından önce tanımlanır. Bu durum depresif semptomların, FXTAS geliştiren hastalarda daha sonraki motor bozuklukların prodromunu gösterebileceğini düşündürmektedir (76, 77).

FXİNH’in premutasyon taşıyıcılarının yaklaşık yarısını etkilediği düşünülmektedir. Bu durum çocukluk çağında anksiyete, DEHB, sosyal defisitler ve OSB; erişkinlerde, OKB, DEHB, madde bağımlılığı ve daha yüksek sıklıkla anksiyete ve depresyon ile görülür. Pubertal dönemle birlikte hiperaktivite semptomları daha belirgin hale gelir. PM erkek çocukların %14’ünde, kız çocuklarınsa %5’inde OSB bulunan çalışmalar

mevcuttur. Aynı zamanda bu çocuklarda normal topluma kıyasla artmış epileptik nöbet öyküsü mevcuttur (78). Premutasyonla ilişkili olduğu bilinen uyku sorunları ve kronik ağrı, hastaların nöropsikiyatrik şikayetlerini artırır (79). Depresyon kadın PM taşıyıcılarda erkek PM taşıyıcılara göre daha erken yaşta ve daha sık görülür. Ayrıca bu hastalarda FXS'li çocuk sahibi olma ve bu çocuklara bakım vermenin de yüksek depresyon oranına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (77).

FXİDD; kronik yorgunluk, fibromiyalji, otoimmün hastalıklar ve uyku problemleridir. GABA uyku siklusunda önemli bir nörotransmitterdir. PM taşıyıcılarda saptanan uyku sorunlarının GABA defisiti ile ilişkisi gösterilen çalışmalar mevcuttur (80). Diğer sık karşılaşılan durum kronik yorgunlukta ise, mitokondriyal disfonksiyonun etkili olduğu düşünülmektedir (81). Otoimmün hastalıklar kadınlarda erkeklerden daha sık görülür. PM taşıyıcılarda, tiroid bozuklukları, irritabl barsak sendromu, Reyno fenomeni, romatoid artrit, Sjögren sendromu ve lupus gibi pek çok farklı otoimmün hastalık görülmektedir (82). Ayrıca PM taşıyıcısı kadınlarla yapılan bir çalışmada metabolik sendrom, normal popülasyona göre PM kadınlarda erken erişkinlik döneminden itibaren artmış sıklıktadır. Hastaların kardiyovasküler hastalık yönünden mutlaka takip edilmesi önerilmektedir (83).

Frajil X premutasyon taşıyıcısı olmanın önemini geniş ölçekte daha yeni anlamaya başladığımız ve olası tüm sonuçları anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu açıktır. Bu farkındalık, Frajil X premutasyonuna sahip tüm insanlar için etkili bir tanıma, anlayış ve destek olanağını sağlamak için gereklidir.

2.2.4.Gri zonda bulunan kişiler

Günümüzde bilinen gri bölgeye özel bir fenotip yoktur. Bu nedenle gri zondaki hastaları saptamak zordur. Konuyla ilişkili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Gri zon alel prevelansını saptamak için gerçekleştirilen ve 2500 üzeri katılımcısı olan bir çalışmada; gri zon prevelansı %5,2 bulunmuştur (84).

Gri zon genişlemesi olan bireylerle yapılan son çalışmalar; premutasyon taşıyıcılarında gözlemlenen benzer fenotipte nörolojik, moleküler ve bilişsel bulguların artması nedeniyle artış göstermiştir. Yaşları 50'nin üzerinde olan gri zon hastalarının dahil edildiği bir olgu serisinde bradikinezi, rijidite gibi parkinsonizm

bulguları ve hafıza ile ilişkili sorunların kontrol grubuna göre artmış olduğu gösterilmiştir (85). Bir diğer çalışmada da, gri zonda bulunan kişilerde kontrol grubuna kıyasla artmış parkinsonizm bulgularına ek olarak ölüm yaşında azalma görülmüştür. Hareket bozuklukları ve gri zon taşıyıcılığı arasındaki ilişkinin sebebi net olarak bilinmemektedir (84).

Gri zonda bulunan kişilerde üreme fonksiyonları önemli ölçüde etkilenebilir. Gri zon taşıyıcılarında normal taşıyıcılara kıyasla daha yüksek oranda subfertilite, erken menapoz, artmış osteoporoz prevalansı, anöploidili düşük öyküsü görülmüştür (74, 86). Ancak bu konuyla ilgili yapılan diğer çalışmalarda, gri zon taşıyıcılığının üreme fonksiyonları üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı yönündedir (5).

2.3.Görülme Sıklığı

FXS, tüm ZY nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Bu sendromun, ülkelere ve farklı toplumlara göre değişmekle birlikte ZY nedeni ile tetkik edilen hastalarda, etyolojinin %0.9-6'sından sorumlu olduğu gösterilmiştir (87). Hastalık erkeklerde kadınlardan daha sık görülür. FXS; erkeklerde 1/3600, kadınlarda 1/4000-6000 sıklıkta görülür. Full mutasyonun aksine premutasyon taşıyıcılığı kadınlarda daha sıktır. Kadınlarda yaklaşık 1/130-200 erkeklerde ise 1/250-400 sıklıkta görülür (4, 12).

Özel öğrenim gören çocuklarla yapılan çalışmalarda FXS önceki genel toplumda yapılan çalışmalara kıyasla daha yüksek oranda saptanmıştır. Endonezya'da OSB tanıılı çocuklarla yapılan çalışmada hastaların %6,15'inde FXS saptanmıştır (88). Ülkemizde full mutasyon ve premutasyon taşıyıcılarının prevalansı bilinmemektedir. Ancak bu konuyla ilişkili Demirhan ve ark. (2012) çalışmasında, 120 ZY'li çocuktan 14'üne sitogenetik yöntemle FXS tanısı konulmuştur (16). Bilgen ve ark. (2005) yaptığı bir diğer çalışmada klinik olarak FXS ile uyumlu 97 hastada moleküler yöntemler kullanılarak (Southern Blot ve PCR) 10 olguya FXS tanısı konulmuştur (89).

2.4. Frajil X Sendromu Moleküler Biyolojisi

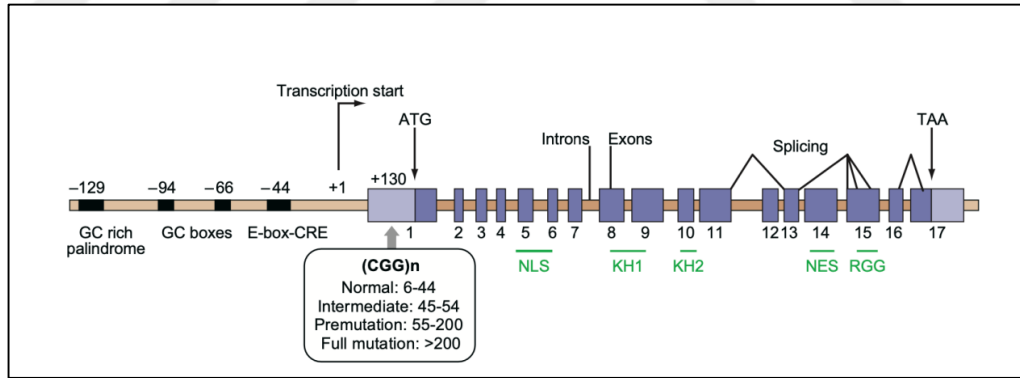
2.4.1. FMR1 geni ve metilasyon paterni

FXS'e neden olan FMR1 geni, etkilenmiş ailelerdeki genomik bağlantı bilgileri kullanılarak 1991'de klonladı. Ardından yaşanan gelişmelerle bu genin Xq27.3 bölgesinde olduğunu saptandı. Gen, 38 kb genomik DNA'ya yayılan 17 ekzon içerir ve 1,9 kb açık okuma çerçevesine (ORF) sahiptir. 4,4 kb mRNA'da ve alternatif splicing kaynaklı birkaç izoformda transkribe edilir (90, 91).

Genin 1. ekzonu içerisinde 5' UTR'de, promotör bölge ile başlangıç kodonu arasında, FMR1 tipik olarak 20-40 üçlüden oluşan polimorfik bir CGG tekrar bölgesi içerir. Ek olarak normal FMR1 alelleri 9-10 tekrarda bir AGG kesintisi bulundurmaktadır. En yaygın alel: (CGG)₉₋₁₀ AGG(CGG)₉ AGG(CGG)₉'dur (92).

Translasyonel başlangıç; CGG tekrar bölgesinin 69 baz çifti aşağısında yer alır. CGG tekrarının sayısına bağlı olarak, iki ana patolojik alel tanınabilir: premutasyon ve full mutasyon alleleri (92, 93). FMR1 geni şematik gösterimi şekil 2'de gösterilmiştir.

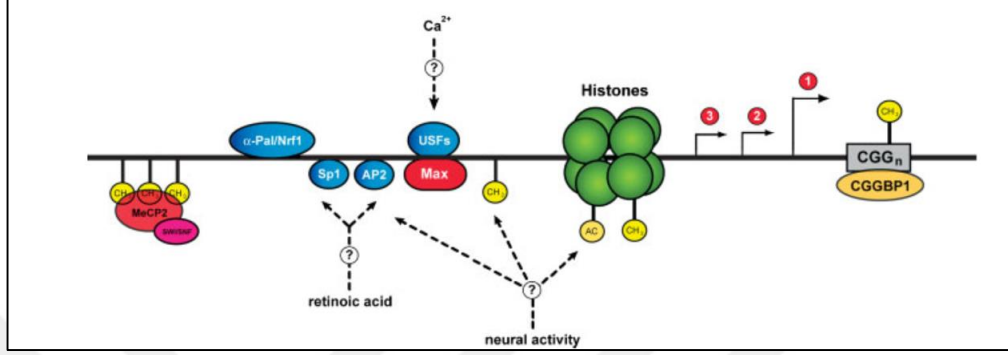
Şekil 3. FMR1 geni şematik gösterimi (92)



Genin nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) için konsensüs dizi içermesi, çekirdek ve sitoplazma arasında harekete dahil olduğunu gösterir. FMR1 geninin promotör bölgesinde; transkripsiyonunu pozitif olarak düzenleyen USF1/USF2, α -Pal/Nrf-1 transkripsiyon faktörleri için konsensüs bölgeler ve Sp1/Sp3 proteinlerini bağlayan iki GC kutusu vardır. Promotör bölge yaklaşık 56 CpG dinükleotidi içerir. Diğer memeliler ile benzer şekilde, kanonik TATA kutusu yoktur ve CGG streccinin ortalama 130 nükleotit yukarısında yer alan 50 nükleotitlik bir bölgede üç InR (başlatıcı benzeri bölge) dizisine sahiptir. Normal alelden premutasyon alellerine

doğru CGG tekrarlarında artış ve genişleme sonucu transkripsiyon başlangıç bölgesi *upstream* bölgeye doğru kayar (94, 95). FMR1 geni transkripsiyonel düzenleyicileri şekil 3’de gösterilmiştir.

Şekil 4. FMR1 geninde transkripsiyonel düzenleyiciler (96)



FMR1 geninde metilasyon sınır bölgesi CGG tekrarlarının yukarısında bulunur. Yaklaşık 650-800 nükleotit uzunluğundadır. Normal tekrar sayısına sahip alellerde transkripsiyona izin verir şekilde metilasyon paterni yukarı yönde metillenmiş aşağı yönde metillenmemiştir. Tamamen metillenmiş FM alellerde ise metilasyon sınır bölgesi kaybolur. Ek olarak bazı aleller 200 ve üzeri CGG tekrarına sahip olmasına rağmen kısmi veya tamamen metillenmemiş olarak kalır. Metilasyon durumundaki bu farklılıkların nedeni tam olarak anlaşılamamıştır (39). Bu değişimin, 11.gestasyon haftasından önce, henüz FMR1 geninin metilasyonunun tamamlanmadığı dönemde kaldığı düşünülmektedir (97). Fare gibi birçok memelide metilasyon sınır bölgesi insanın aksine korunur. Bu bölgede CTCF’nin de (CCCTC bağlayıcı faktör) dahil olduğu nükleer proteinler için bağlanma alanları bulunur. Her bir nükleer proteinin bağlanması farklı sonuçlara yol açar. Örneğin CTCF’nin bağlanmasının sitozin metilasyonuna ve bunun FMR1 promotörüne yayılmasına sebep olduğu düşünülür (98).

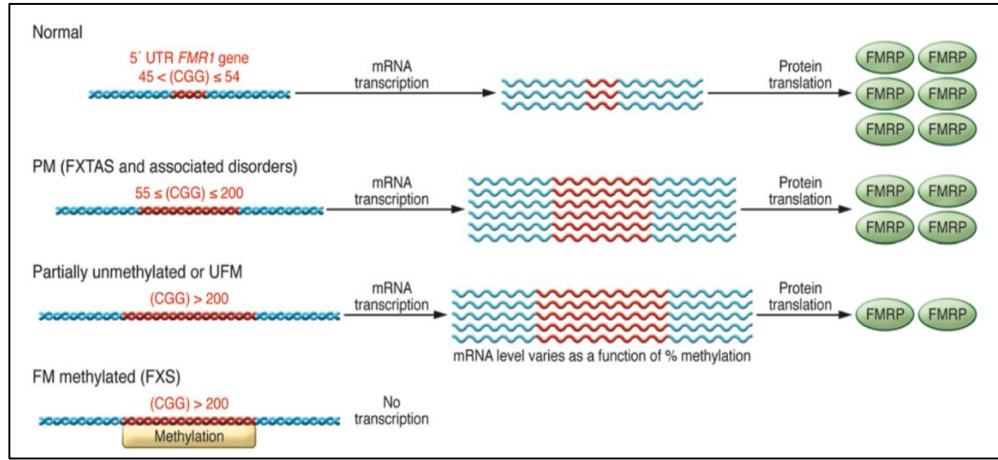
FMR1 gen ekspresyonunu düzenleyen birçok faktör vardır. DNA metilasyonu bunlardan birisidir. Aynı zamanda epigenetik kontrolde rol oynayan; histon modifikasyonları, kromatin yeniden düzenlenmesi, sitozin metilasyonu ve RNA transkriptleri de ekspresyonun kontrolünde etkilidir. DNA metiltransferaz (DNMT1) ve ortağı UHRF1; DNA metilasyonu ve korumasından sorumludur. CpG nükleotitlerdeki DNA metilasyonu, FMR1 genini sessizleştirmek için kullanılan en

önemli epigenetik mekanizmalardan birisidir. DNMT1 enzimi yarı metile CpG adalarını metillemek için yüksek bir afinite göstermektedir (99). Farklı pozisyonlarda bulunan Lizin aminoasidinin metilasyonu gibi farklı posttranskripsiyonel mekanizmalarla etkisi düzenlenebilir. DNMT3A ve DNMT3B de embriyonik gelişim sırasında de novo DNA metilasyonunda görev alan iki enzimdir. İnsan genomundaki genlerin promotörleri %70 CpG dinükleotidine sahiptir ve bunların çoğunluğu 850 bp'den daha kısadır. (93, 100, 101). Bu dinükleotitlerin çoğunluğu gelişim esnasında metillenir, imprint genlere ait CpG bölgeleri ve X kromozomu inaktivasyon merkezi gibi aşamalarda yüksek oranda düzenlenir. DNA metilasyonunun uzun bir dönem boyunca kararlı bir modifikasyon olarak kabul edilmesinin ardından günümüzde TET proteinlerinin keşfedilmesiyle aktif DNA demetilasyon mekanizması tanımlanmıştır (102).

FMR1 geninin sessizleştirilmesindeki mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. FM hücreler ve diğer hücrelerde farklı epigenetik düzenlemelerin olması bu gene ait sürdürülmede epigenetik modifikasyonun etkili olduğunu düşündürmüştür. FM bireylerde heterokromatik, transkripsiyonel inaktif bir düzenleme hakimken, premutasyon taşıyıcılarında ökromatik ve transkripsiyonel aktif bir düzenleme vardır. Transkripsiyonel inaktivasyonda ana rol sitozin metilasyonu ve buna ek olarak histon deasetilazlar (HDAC) tarafından gerçekleştirilen histon 3 (H3) ve histon 4 (H4) hipoasetilasyonudur. Histon metiltransferaz enzimlerince gerçekleştirilen H3'deki 4.pozisyonundaki Lizin (K) demetilasyonu da sürece katkıda bulunur (103). Polycomb proteinleri FMR1 proteininin heterokromatin statüsünü yayan H3K9 ve H3K27 trimetilasyonuna yol açar. CGG ekspansiyonunun yakınında H4K20 trimetilasyonunun da artışı ile birlikte bu epigenetik değişimler FMR1 genindeki heterokromatin durumunu ifade eder (104, 105).

Premutasyon alellerindeki duruma bakıldığında ise, H3 ve H4 asetilasyon seviyeleri normale kıyasla 1,5-2 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu epigenetik mekanizmalar sonucunda oluşan FMR1 mRNA'larda saç tokası gibi sekonder yapılar oluşturma eğilimi saptanmıştır. Bu yapıların PM bireylerdeki transkripsiyonel eksikğin sebebi olabileceği düşünülmektedir (106). FMR1 gen ekspresyonunun şematik gösterimi şekil 4'te gösterilmiştir.

Şekil 5. FMR1 geninde transkripsiyon ve translasyon değişimi (39)



2.4.2. Frajil X sendromunda mutasyonlar

FXS hastalığının %99'undan, FMR1 geninin 5 UTR bölgesinde CGG tekrar genişlemesiyle oluşan dinamik mutasyonlar, geriye kalan % 1-2'lik kısımdan ise FMRP eksikliğine yol açan delesyon, nokta mutasyonları gibi diğer mutasyonlar sorumludur (107, 108).

2.4.2.1.FMR1 geninde CGG tekrar sayısı mutasyonları

Verkerk ve arkadaşları 1991'de 5' UTR'de CGG tekrarlarının olduğu ve etkilenmiş bireylerde bu tekrarların genişlediği FMR1 genini tanımlamıştır. Tekrar sayısı bakımından polimorfik olan bu bölgedeki aleller tekrar sayısına ve tekrar bölgesindeki metilasyon durumuna göre temelde dört kategoriye ayrılmaktadır (109). Normal aralıkta 5-44, gri zonda 45-54, premutasyon taşıyıcılarında 55-200, full mutasyonda ise 200 üzerinde CGG tekrarı bulunur (33).

2.4.2.1.1 Normal aleller

Normal aleller, 5-44 CGG tekrar aralığındadır. Bu alel aralığında mitotik ve mayotik instabilite oldukça azdır. Genellikle yavru hücrelere tekrar sayısı değişmeden aktarılırlar. Normal alellerde instabilite, paternal aktarımda ve kesintisiz 30 tekrar uzunluğuna sahip alellerde daha sık görülmüştür. Popülasyonda sıklıkla 20-40 tekrar arası CGG kümelenmesi görülür. En sık karşılaşılan tekrar sayısı ise popülasyonlara göre değişmekle birlikte 29-30'dur (109).

FMR1 geninde translasyonel verimliliğinin 30 tekrar sayısında en yüksek değere ulaştığının gösterilmesinin ardından 23 ve altındaki CGG tekrar sayıları için “düşük normal kopya tekrarı” ifadesi tanımlanmıştır (110). Düşük normal kopya tekrarlarının fenotipik etkisi net olarak bilinmemektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu kopya sayısındaki kadınlarda kontrol grubuna kıyasla meme ve uterus kanserinde artışa neden olduğu saptanmıştır (111).

2.4.2.1.2. Gri zon alelleri

Gri zon alelleri 45-54 arası CGG tekrarından oluşmaktadır. Bu aralıkta bulunan alellerde instabiliteye yatkınlık olsa da tek seferde gri zondan full mutasyona ilerleme bildirilmemiştir. Genellikle full mutasyona ekspansiyon birkaç kuşak sonra gerçekleşmektedir ve AGG kesintilerindeki kayıpların bu duruma yatkınlık oluşturabildiği bilinmektedir (84, 85)

Gri zonda FMR1 mRNA miktarı premutasyon alellerinde olduğu gibi toksik seviyeye ulaşabilir. Artmış mRNA ve azalmış translasyonun, gri zonda bulunan kişilerde bazı klinik etkilenimlere sebep olabileceği düşünülmektedir. Hareket bozuklukları ve hafıza problemleri bu durumlara örnek verilebilir. Bu gruptaki hastalarda fenotipik etkilenim ile ilgili çalışmalar devam etmekle birlikte sebep sonuç ilişkisi henüz kurulamamıştır (85).

2.4.2.1.3. Premutasyon alelleri

Premutasyon alelleri, 55-200 arası CGG tekrarından oluşur. FMR1 geninde henüz hipermetilasyon yoktur. FMR1 mRNA seviyesi nöronlarda ve kraniyal dokularda normalin 10 katına kadar artmıştır (112). Sonraki kuşaklarda stabil olmayan bu aleller full mutasyona ilerleyebilir. Tek kuşakta full mutasyona ilerleyen minimum CGG tekrar sayısı 56’dır (113).

Premutasyondan full mutasyona ekspansiyon genelde maternal kaynaklı olmaktadır. PM babalardan kız çocuklara aktarımda CGG tekrar sayısında genellikle stabilite veya kontraksiyon gözlenir. PM annelerden erkek çocuklara aktarımda ise genellikle ekspansiyon gözleendiğinden, bu annelere ve tüm premutasyon taşıyıcısı ebeveynlere gebelik öncesi genetik danışma verilmesi gerekmektedir (114-116)

Ekspansiyonda etkili birkaç faktör bulunmaktadır. Bunlar; AGG kesinti sayısı, alel boyutu, aktarılan alelin parental kaynağıdır. Premutasyon taşıyıcılığı yalnızca yavruya aktarımda ekspansiyon açısından değil, bazı hastalıklara yatkınlık oluşturması açısından da önemlidir. Klinik özellikler daha sonraki bölümlerde bahsedilecek olmakla birlikte, premutasyon taşıyıcılarında hiçbir klinik bulgu olmasa dahi taşıyıcının aile üyeleri FXPD açısından mutlaka test edilmelidir. Herhangi bir taşıyıcılık durumu saptanan bireyler, yaşa bağlı değişken penetrasyona sahip FXTAS gibi hastalıklar açısından takip edilmelidir. Ayrıca, dinamik mutasyon doğası gereği hem premutasyon alellerinde hem de full mutasyon alellerinde size ve metilasyon mosaisizmi yüksek orandadır. Premutasyon aleline sahip bir kişide mutlaka full mutasyon mosaisizmi araştırılmalı ve klinik bulgular açısından dikkatli olunmalıdır (109, 117).

2.4.2.1.4. Full mutasyon alelleri

Full mutasyon alelleri, 200 üzeri CGG tekrarından oluşur. Artan CGG tekrar sayısı ile birlikte FMR1 geninde hipermetilasyon gerçekleşir. Gende metilasyon paterni değişimi ile FMR1 mRNA ve FMRP üretilemez. FMRP eksikliği ve bunun sonucunda bu proteinin negatif düzenleyicisi olduğu bazı proteinlerin artışı ile AMPA reseptör yolağındaki defisitler klasik fenotipe ve ZY'ye katkıda bulunur (5, 86).

FM alellerde genomik instabilite yaygındır. Her hasta hücreler arası veya hücre içerisinde varyasyonlar gösterebilir. Bu nedenle premutasyon taşıyıcılarında olduğu gibi size ve metilasyon mosaisizmi açısından dikkatli olunmalıdır (40).

2.4.2.1.5. Mozaisizm

Mozaisizm; tek bir zigotta genetik açıdan farklılık gösteren 2 ya da daha fazla hücre hattının bulunmasıdır. Frajl X ilişkili çalışmalarda literatürde yalnızca FM ve PM hastalarda mozaisizm saptanmıştır (19).

FXS'de iki çeşit mozaisizm mevcuttur: size/boyut mozaisizmi ve metilasyon mosaisizmi. Size mosaisizmi, farklı CGG tekrar sayısına sahip hücre alt gruplarına sahip bireyi ifade eder. Örneğin bir hücre hattı premutasyonlu ve normal metilasyon paternine sahipken diğer hücre hatları FM ve hipermetile olabilir. Postzigotik ekspansiyon ya da kontraksiyonlar farklı büyüklüklerde aleller için mozaisizmle

sonuçlanabilir (10). Mozaik erkek hastaların incelendiği bir çalışmada, hastalar çoğunlukla full mutasyon-premutasyon mozaizmine sahipken, az sayıda hastada full mutasyon-normal alel mozaizmi, full mutasyon-delesyon mozaizmi ve metilasyon mozaizmi vardı (118).

Mozaisizm FXS’de yaygın bir fenomendir. Tahmini sıklığı % 10-40 arasında değişir (11). Mosaisizm varlığında normal büyüklükte aleller diğer yüksek tekrar sayısındaki alellere kıyasla genelde daha düşük yüzdede bulunur (19).

Size mozaizmine ek olarak bazı bireylerin metillenmiş alelleri ve premutasyondan full mutasyona değişen CGG tekrar sayısı ile metillenmemiş alellerinde metilasyon mozaikliği vardır. Metilasyon derecesi doku içinde veya dokular arasında bireyde farklılık gösterebilir. Postzigotik dönemde meydana gelen delesyonların da *size*-metilasyon mozaizmi yapabildiği düşünülür. Metillenmemiş aleller transkripsiyonel olarak aktiftir ve genelde FMRP üretir. Bu durum kişiler arası klinik etkilenimde farklılıklara sebep olabilir (119). Literatürde metilasyon mozaizmine sahip FM üniversite mezunu erkek vakalar bildirilmiştir (120).

FMRP ekspresyonu ve CGG tekrar sayısı arasında negatif korelasyon bulunur. PM taşıyıcılarda FMRP eksikliği beklenmemekle birlikte muhtemelen, PM üst tekrar sayısında bulunan alellerde tranlasyonel etkilerindeki eksiklikle birlikte azalmış ekspresyon görülmektedir (121).

Size ve metilasyon mozaizmine ek olarak mozaiklik spektrumunda, 1bp den birkaç MB’ye kadar değişen delesyonlar durumu daha da karmaşık hale getirebilir. Küçük delesyonlarla birlikte genin promotör bölgesinin iptali ya da transkripsiyona başlangıç bölgesi etkilenimi olabilir. Bu durum klinik değişkenliğe sebep olabilir (118, 122).

2.4.2.2.FMR1 genindeki delesyonlar ve nokta mutasyonları

Tüm FXS vakalarının % 1-2’sinden sorumlu olan delesyon ve nokta mutasyonları ile ilgili 2010 yılına kadar az sayıda mutasyon tanımlanmıştır. Bunlardan biri *missence* (I304N) mutasyonu iken diğer ikisi küçük delesyon mutasyonlarıdır (7). FMRP kaybına neden olacak şekilde FMR1 geninin tamamının silinmesi ya da exon 1’deki kritik bölge delesyonu FXS fenotipine yol açar. Yeni nesil dizileme (NGS) teknolojisinin gelişimi ve laboratuarlarda kullanımıyla birlikte bu konuda tanımlanan

mutasyon sayısı her geçen gün artmaktadır. İnsan Genom Mutasyon Veritabanı'nda (HGMD) bugüne kadar bu konu ilişkili 100'den fazla varyant bildirilmiştir. Bu varyantlar ekzonik, ntergenik, *splice* bölgesi gibi farklı bölgelerde tanımlanmıştır (123).

2010'da açıklanamayan gelişimsel geriliği olan ve CGG tekrar sayısı normal aralıkta bulunan üç erkek hastada FMR1 geni promotöründe; c.-332G>C, c. -293T>C ve c. -254A>G mutasyonları kaydedilmiştir. Yapılan fonksiyonel çalışmalarla bu mutasyonların genin promotör aktivitesini azalttığı gösterilmiş ve muhtemel patojenik oldukları sonucuna varılmıştır (7).

Yüksek verimli dizileme teknolojisi kullanılarak Hagerman Frajil X skorlamasında ortalama 15 puan alan 5 ZY'li erkek hastayla yapılan bir diğer çalışmada ise; üç erkek kardeşte literatürde daha önce tanımlı olan 17. ekzonda hemizigot delesyon saptanmıştır. Aralarında akrabalık bulunmayan diğer iki hastada ise biri de novo c.990+1G4A, diğeri maternal orijinli c.420-8A4G varyantı saptanmıştır (124).

Gelişim geriliği, OSB ve DEHB ile takipli 10 yaşında bir erkek çocuk hastada bu bulgular ve klasik FXS fenotipi varlığı nedeniyle yapılan testte CGG tekrar sayısı 24 olarak bulunmuştur. Hasta NGS ile tekrar değerlendirildiğinde FMR1 geninde exon 5'de (c.413G>A) *missence* mutasyon saptanmıştır. Bu mutasyonun genin nükleer lokalizasyon sinyalinde, korunmuş bir bölgeyi değiştirdiği daha önceki bir diğer hastada bildirilmiştir (123).

Her iki erkek kardeşte de FMR1 geninde delesyon saptanması nedeniyle test yapılan bir annede periferik kandan elde edilen DNA ile yapılan analizde, delesyon saptanmaması annede gonadal germinal mozaizizm varlığını düşündürmüştür (125). Ailesel vakalarda gonadal mozaizizm varlığının yanı sıra FXS'lu hastalarda somatik delesyon mozaizmi akılda tutulmalıdır (108).

2.4.3. FMRP ve fonksiyonu

FMR1 geninde birçok farklı mRNA transkripti bulunur. Ancak sıklıkla 4,4 kb'lık mRNA kodlanır. Sonucunda oluşan FMRP 80 kDA ağırlığındadır (92, 126).

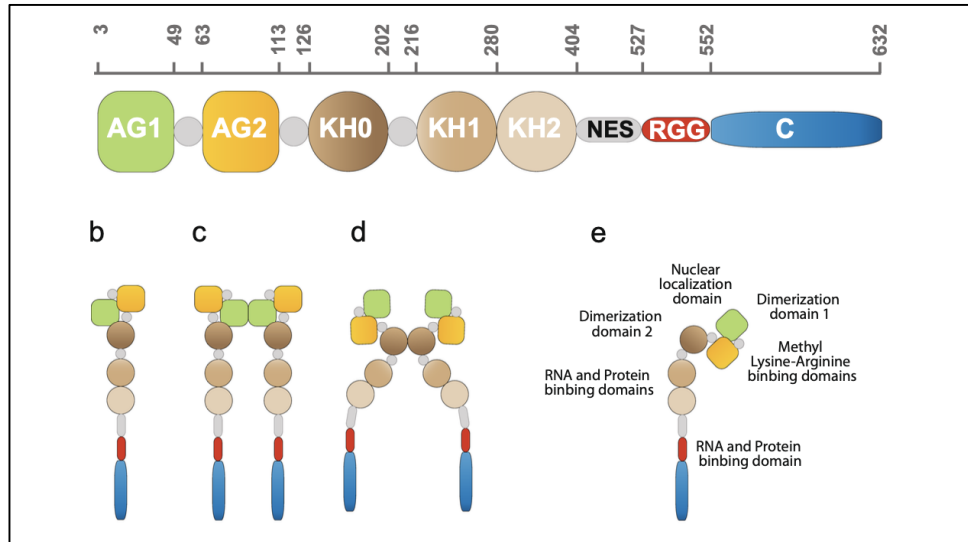
FMRP, poliribozomlarla ilişkilendirilen ve translasyonda negatif düzenleyici görevi olan seçici bir RNA bağlayıcı proteindir. Bu protein, sinir hücrelerinde dendritte

lokalize edilmiş belirli mRNA'lar tarafından kodlanan proteinlerin sentezini düzenler ve sinaptik plastisitede rol oynar. FMRP'nin düzenleyici potansiyeli üç KH alanı ve bir RGG (arjinin-glisin) kutusu içeren modüler mimarisinden kaynaklanır. 3 bağlanma alanından RNA veya protein bağlama kapasitesi olduğu anlaşılır. FMRP çoğu zaman kendi kendine iki farklı bölge aracılığıyla etkileşime girebilir. İki dimerizasyon bölgesine sahiptir ve bunun önemi net olarak bilinmez. RNA'ya bağlanması haricinde birçok proteinle etkileşime girer. ADAR, RBP14, NUFIP nükleer proteinleri bu proteinlere örnek gösterilebilir (6, 92, 127-129).

FMRP'nin bir çift Agenet alanı ve bağlantılı olduğu Tudor alanı vardır. Agenet alanı proteinlerde metile arjinin lizin kalıntıları ile etkileşir. FMRP, protein RNA ve kromatin kombinasyonlarını birbirine bağlama potansiyeline sahiptir. Bu da nöronlarda pleotropik işleve katkıda bulunur (130).

FMRP aynı zamanda alternatif *splicing*, DNA onarımı ve RNA düzenlemede ve kendi yerel protein üretiminin *down* regülasyonunda da görevlidir (5, 6). Farklı mekanizmalarla translasyonu baskılar. Nöronal uyarımın postsinaptik aşamasında hızlıca defosforile olur ve bağlı olduğu mRNA ligandlarından ayrılır. Bu sayede sinaptik plastisiteyi kolaylaştırır ve hızlı translasyon gerçekleşebilir (131, 132). FMRP yapısına katılan bölgeler şekil 5'de gösterilmiştir.

Şekil 6. FMRP ve yapısal bölgeleri (6)



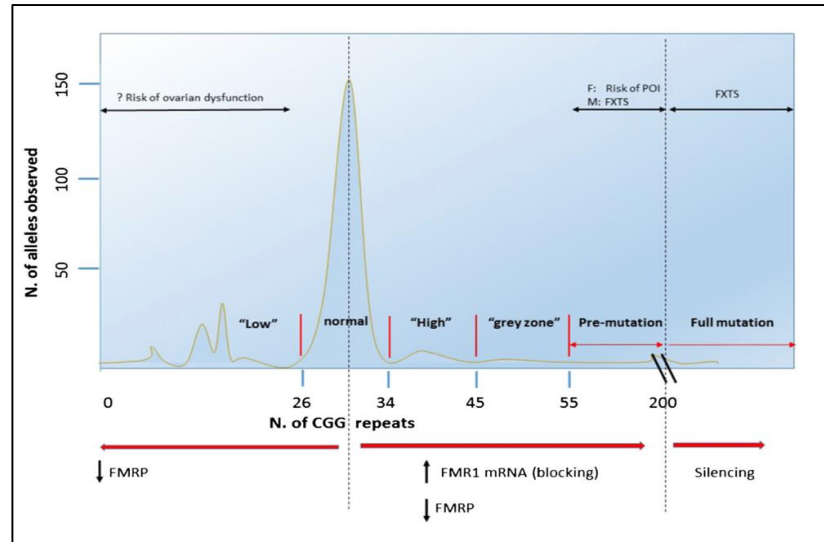
Not: AG: Agenet domain, KH: KH domain, NES:Nükleer eksport sekansı, RGG: RGG kutusu, C: C terminal domain

FMRP eksikliği başta ZY olmak üzere, OSB, eklem laksitesi, makroorşidizm ile sonuçlanan FXS'de görülen majör patolojik bozukluklara yol açar. FMRP, dokular arasında farklı düzeyde sentezlenir. Yapılan bir çalışmada insanın beyin, plasenta, akciğer ve böbrek dokusunda ekspresyon düzeyi yüksek, buna karşılık karaciğer ve pankreas dokularında düşük saptanmıştır. FMRP insanda en yüksek beyinde , hücre tiplerinden nöronlarda, hücre komponentlerinden ise sitoplazmada bulunur (90, 133).

Fetal insan beyinde FMR1 ekspresyonunun gelişim evrelerine göre değişimini ve yerini saptamak için yapılan çalışmalarda, gelişimin erken dönemlerinde fetusun spinal kord ve ganliyonlarında; daha ileri gelişim evrelerinde ise merkezi sinir sistemi, serebral korteks, serebellum, talamik nukleuslarında yüksek düzeyde eksprese edildiği saptanmıştır. Fetus büyüdükçe testis ve merkezi sinir sistemindeki yüksek ekspresyon devam ederken diğer dokulardaki ekspresyonun azaldığı gözlenmiştir (134).

CGG tekrar sayısı ve FMRP miktarı arasında lineer bir bağlantı yoktur. 30 CGG tekrarında maksimum translasyon verimine ulaşılır (5). CGG tekrar sayısına göre FMRP değişimi şekil 6'da gösterilmiştir.

Şekil 7. CGG tekrar sayısına göre FMRP değişimi (5)



2.4.4.Üçlü tekrar ekspansiyon ve kontraksiyonlarının oluşumu ve tekrar hastalıklarında ana mekanizmalar

Kısa tandem tekrarlar (STR), 2-12 bp uzunluğunda tekrarlardan oluşur. STR'lar genomun yüzde üçünde hem kodlayan hem kodlamayan bölgelerde bulunur. Bu bölgeler instabiliteye yatkın olup, hem insanda hem de diğer canlılarda da polimorfiktir (135, 136). STR uzunluğundaki küçük dalgalanmalar DNA metilasyonu veya alternatif splicing aracılı gen ifadesini etkileyebilir. Değişen metilasyon ile gen ifadesi protein ekspresyonunu değiştirerek FXS'de de olduğu gibi hastalıklara özgü fenotipi ortaya çıkartır (137).

Tekrar hastalıkları, nükleotit dizilerinin mikrosatellit bölgelerindeki genişlemelerden kaynaklı 50'den fazla bir grup hastalıktır (138). Huntington, Spinocerebellar Ataksi, Miyotonik Distrofi ve FXS bu gruba dahil hastalıklardır. En sık tekrar motifi üçlü olmakla birlikte onikili motifler de vardır. Bu hastalıkların büyük bir çoğunluğu sinir sistemini tutar ve daha az sıklıkta da kas sistemini etkiler (139).

STR genişlemeleri temelde iki kategoriye ayrılır:

1. Kodlama bölgelerini etkileyen ve genelde proteinlerde anormal uzun poliglutamin (poliQ) oluşumuna neden olan tekrarlar
2. Proteinlerde polialanin (poliA) oluşumuna neden olan ve kodlamayan bölgeleri değiştiren tekrarlar

FXS; 2.kategoride yer almaktadır. İlk kategoride bulunan hastalıklar, poliQ genişlemesini sergileyen proteini içeren nöronal inklüzyonlarla ilişkilidir. Oluşan inklüzyonlar anormal poliQ zincirlerinin moleküller arası çapraz beta oligomerizasyonu ve çözünmez fibriler agregat oluşumuna yol açar. Bu da genellikle protein düzeyinde, toksik bir işlev kazanımı olarak tanımlanır (140).

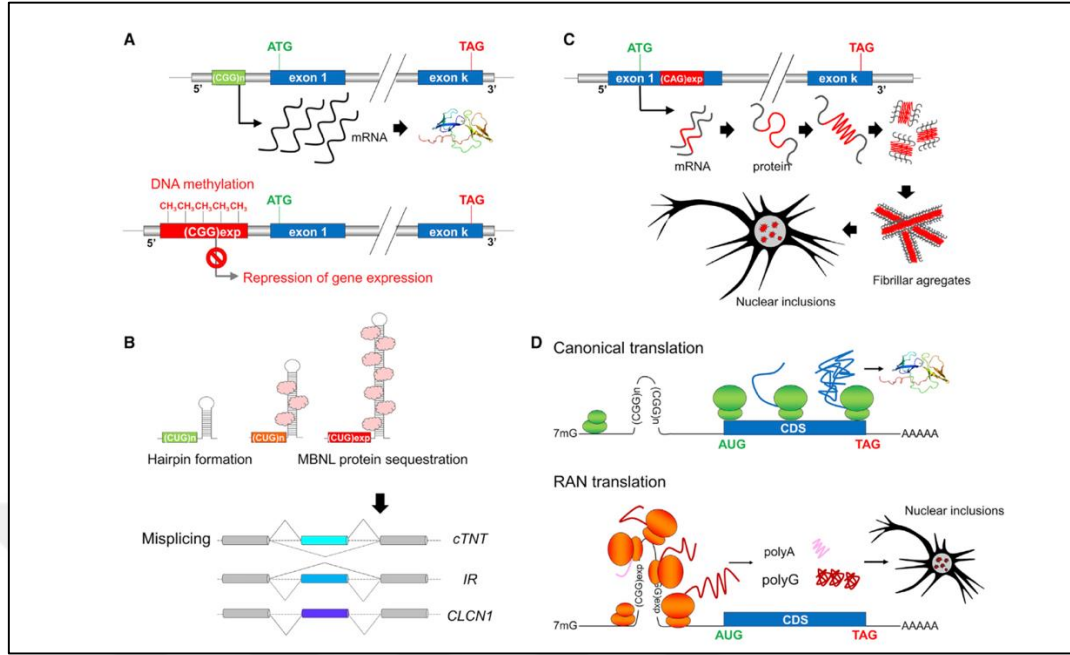
İkinci kategoride yer alan poliA genişlemeleri, poliQ genişlemeleri gibi beta tabaka yapıları oluşturabilir. Ancak poliQ'ya kıyasla genelde daha sınırlı boyuttadır. Meydana geldikleri protein veya gen işlevine bağlı olarak işlev kazanımı/kaybına neden olabilir. İkinci kategoride yer alan ve kodlamayan bölgelerde bulunan tekrar genişlemelerinin etkileri gen içindeki tekrar motifinin türüne, konumuna ve uzunluğuna bağlıdır (141).

Tekrar genişlemeleri ile ilişkili ana mekanizmalar dört kategoride incelenir. Bu mekanizmalara ilişkin görseller Şekil 7’de gösterilmiştir. Bunlar;

1. Epigenetik gen susturma: GC bakımından zengin genişlemeler ve CpG bölgelerindeki DNA hipermetilasyonu ile ilişkilendirilen bu mekanizmada metilasyonla birlikte gen yapısında kromatin konfigürasyonunda değişimler işlev kaybına neden olur. FMR1’deki full mutasyon ve Scott Baratela sendromu bu epigenetik susturmaya örnek verilebilir.
2. RNA bağlayıcı splicing faktörlerinin sekestrasyonu: Genişlemiş tekrarlar RNA molekülünde saç tokası gibi ikincil stabil yapılar oluşturabilir. Bu yapılar spesifik RNA bağlayıcı *splicing* faktörlerine bağlandığında yüksek afinite göstererek çekirdekte inklüzyon oluşumuna neden olur. Transkripsiyon esnasında bu faktörlere ihtiyaç uyan bazı tepkimelerde aksama meydana gelir. CTG/CAG tekrarı ile DMPK bu mekanizmaya örnektir.
3. Protein yanlış katlanması ve toplanması: Kodlama genişlemeleri, nöronal intranükleer protein inklüzyonlarına yol açar. Bu mekanizma, anormal derecede uzun poliQ zincirlerinin çözünmez fibriler agregatlar oluşturmaya eğilimli beta tabaka yapıları oluşturma kabiliyetinden kaynaklanır.
4. Tekrarla ilişkili AUG olmayan (RAN) çeviri: Genişletilmiş tekrarların bulunduğu bölgelerde AUG kodonu yokluğunda peptit sentezi, kanonik olmayan protein sentezine yönelebilir. DNA’nın her iki ipliğinde ve tüm okuma çerçevelerinde gerçekleşebilen bu süreç sonunda altı farklı polipeptit üretilir. Üretilen peptitlerden bazıları toksik olabilir. FXTAS ve FXPOI patogeneğinde RAN translasyonunun etkili olduğu düşünülmektedir (106, 138, 142, 143).

Bahsedilen mekanizmalar aynı dokuda çoğu zaman iç içe geçmiş durumdadır. Örneğin RAN çevirisi sonucunda biriken bazı peptitler her hücrede oluşmaz. Bunun, belirli bozukluklarda doku özgüllüğü için zemin hazırlayan bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. DM1 ve CPORF72-FTD/ALS hastalıklarında etkilenmiş dokularda hem toksik RNA hem de RAN translasyonunu içeren agregatların varlığı iç içe geçmiş mekanizmaların bir kanıtıdır (138).

Şekil 8. Tekrar hastalıklarına ilişkin mekanizmalar (138)



Not: Yukarıdaki şekilde 4 farklı tekrar hastalığı mekanizması gösterilmiştir. A kısmında epigenetik susturma, B kısmında RNA bağlayıcı splicing faktörlerin sekestrasyonu, C kısmında protein yanlış katlanması sonucu agregat oluşumu, D kısmında ise RAN çeviri mekanizması gösterilmektedir.

Tekrarlar mitotik instabiliteye sahiptir. DNA polimerazın hücre bölünmesi sırasında, tekrarlayan DNA dizilerini kopyalarken kayarak tekrar genişlemesine neden olduğu düşünülmüştür. Bazı tekrarların DNA polimerazın duraklamasını destekleyen; *hairpin* (saç tokası), *stem-loops*(kök halka), *cruciform* (haç şeklinde) veya *tetrapleksler* gibi katlanmış kararlı yapılar oluşturma yeteneği süreci desteklemiştir (144, 145).

FXS’da ekspansiyon ve kontraksiyon mekanizmasına ayrıca değinecek olursak;

FXS’da üçlü tekrarlar, G(guanin) ve C(sitozin) açısından zengin olan zincirde DNA’da *hairpin* yapısı oluşturur. Replikasyon esnasında öncü zincir sentezlenirken *hairpin* yapısı üçlü tekrarlar genişlemeye sebep olurken, geciken zincirde ise delesyon/kontraksiyona neden olur. Bu olay, erken embriyonik dönemde mitoz bölünmelerde ya da germ hücrelerinin oluşumunda mayoz bölünme esnasında gerçekleşebilir (146).

Hairpin yapısı fizyolojik şartlarda her iki zincirde de görülebilir. Ancak sitozince zengin zincirde daha fazladır. Nükleer magnetik rezonans tekniği kullanılarak, sitozin zengin zincirlerin katlanması sonucu *hairpin* yapısı oluştuğu gösterilmiştir. Özellikle CpG bölgesinde sitozin-sitozin yanlış eşleşmeleri bölgesel esneklik oluşturur. Sitozin üstünlüğü ve beraberinde getirdiği *hairpin* yapısı FMR1 geninin CpG adalarında spesifik metilasyonuna neden olur (147). Bunlarla beraber bölünmeyen hücreler de vardır ve bu hücrelerde de ekspansiyon ve kontraksiyonların gösterilmesi başlangıçta sayılan mekanizmalara ek mekanizmalar olduğunu göstermiştir. Tekrar genişlemelerinin somatik stabilite veya instabilitesinin DNA *mismatch repair* süreciyle yüksek derecede bağlantılı olduğu fare modellemelerinde gösterilmiştir. Birçok tekrar genişlemesi somatik mozaizizmle ilişkilidir. Mozaizizm derecesi dokular arası büyük farklılıklar gösterebilir. Alternatif tekrar motifleri DNA replikasyonu ve onarımı esnasında ekspansiyonu stabilize etme eğilimindedir (138).

Ekspansiyon FXS için CGG tekrar sayısı artışını, kontraksiyon ise tekrar sayılarındaki azalmayı ifade eder. Tekrar hastalıklarının hepsinde ortak bir ekspansiyon mekanizması olup olmadığı halen tartışmalı bir konudur. Bazı tekrar hastalıklarında ve fare modellemelerinde ekspansiyon riskinin ortak genetik faktörlere bağlı olduğu ile ilgili kanıtlar vardır. Ancak ekspansiyon ve kontraksiyon mekanizmasının sebebi aynı değildir. İnsanda premutasyon taşıyıcılarından elde edilen lenfoblastlarda 5-floro'deoksiüridin ile muamele replikasyonun yavaşlamasına sebep olur. Bu yavaşlamalar kontraksiyonlara neden olurken ekspansiyonlara neden olmaması bu düşüncayı destekler niteliktedir (148) .

CGG ekspansiyonunu etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar: CGG tekrar uzunluğu, AGG kesinti sayısı, FMR1 geninde 3'uçta kesintisiz CGG tekrar sayısı, aktarımın parental kaynağıdır. Genomik instabilite ve ekspansiyon riski gri zon ya da normal tekrar sayılı alellerde de olmakla birlikte özellikle premutasyon taşıyıcılarında artış gösterir. Premutasyon taşıyıcılarında FXS'li çocuk doğurma riski vardır. Aynı zamanda full mutasyona sahip aleller de metile olduğunda ekspansiyona yatkın hale gelir (10, 149).

AGG kesintileri, FMR1 geninde ortalama 9-10 CGG tekrarında bir bulunur. DNA replikasyonu esnasında DNA polimerazın kayma riskini azaltır ve parental

aktarımlarda CGG tekrar stabilitesini artırır. Genel popülasyonun %94'ü 1 veya 2 AGG kesintisi içerir. 3 veya 4 AGG kesintisiyse daha nadirdir. Büyük premutasyon alelleri daha az AGG kesintisi bulundurma eğilimindedir (1). AGG kesintileri özellikle gri zon ve küçük premutasyon alellerin stabilitesini önemli ölçüde artırır (150). Bu nedenle AGG kesintilerinin kaybının, maternal (premutasyon) alelin belirli bir tekrar boyutundan tam mutasyon alelinin aktarılma olasılığını artırdığı düşünülmektedir.

PM ve FM taşıyıcılarda FMR1 lokusunda meydana gelen olayları neyin en iyi biçimde açıklayacağı hala net değildir. Araştırmacılar FXS'de full mutasyona ekspansiyonun genellikle 4 evre sonucunda meydana geldiğini düşünür. Bu evreler:

1. İlk evre gri zon (45-54) ve bir ya da sıfır AGG kesintisi içeren predispozan alelleri,
2. İkinci evre predispozan alellerin küçük ekspansiyonlar sonucu küçük PM alellere dönüşümünü içerir.
3. Üçüncü evrede küçük PM aleller büyük PM alellere dönüşürken,
4. Son aşamada büyük PM alel full mutasyona genişler (151).

Premutasyon taşıyıcısı annelerde tekrar sayısına bağlı ekspansiyon riskini belirlemek için yapılan çalışmalarda; full mutasyona genişleme riskinin 70-75 CGG tekrar aralığında dramatik olarak arttığı ve 90-99 CGG aralığında bu riskin neredeyse yüzde yüze yaklaştığı görülmüştür (149). AGG kesintisinin ekspansiyondaki rolünü araştıran çalışmalarda ise annelerde 70 tekrar altında etkili olduklarını ancak 80 ve üzeri CGG tekrarında AGG kesintisi olsa bile instabiliteye yatkın oldukları görülmüştür (1).

Küçük genişlemelere daha çok paternal aktarımda daha büyük ekspansiyonlar ise genelde maternal aktarımda gerçekleşmektedir (10) Paternal geçişlerde genellikle alel sayısı korunur veya kontraksiyon gerçekleşir. Full mutasyona sahip erkek hastaların spermelerinde yalnızca PM alelleri bulunması bu görüşü destekler.(152)

2.5.Premutasyon Taşıyıcılarında Klinik Yansımalar

2.5.1.Frajl X ilişkili tremor ataksi sendromu (FXTAS)

FXTAS, geç başlangıçlı (genellikle >50 yaş), intansiyonel tremor, ataksi ve parkinsonizm bulgularının ön planda olduğu nörodejeneratif bir hastalıktır. Erkek taşıyıcılarda tremor her zaman saptanacak derecede şiddetli değildir. Hastaların yarısında hafif tremor, %17'sinde ise daha şiddetli orta tremor vardır. Patolojik ayırt edici bulgu; beyin nöron ve astrositlerinde tipik intranükleer inklüzyon cisimleridir (82, 153).

Hastalık erkeklerde kadınlardan daha sık görülür ve yaşla birlikte penetransı artar. 50 yaş erkek hastaların %17'sinde görülürken, 80 ve üzeri yaşta bu oran %75'tir. Hem tremorun hem de ataksinin CGG tekrar sayısı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (75). 2022'de yapılan bir çalışmada CGG tekrar sayısı 70'in altında PM taşıyıcılarında 70 CGG tekrarı üzerinde olan kişilere göre, FXTAS riskinin belirgin derecede düşük olduğu saptanmıştır (153).

FXTAS hastalarında tremor ve ataksiye ek olarak, otonomik ve nöropatik disfonksiyon bulguları saptanmıştır. Bu bulgular; distal alt ekstremitelerde azalmış vibrasyon hissi, ortostatik hipotansiyon, impotans, ilerleyici bağırsak kontrol kaybı, koku fonksiyon bozukluğu...vb.'dir. FXTAS hastalarının %80'inde koku bozukluğu saptanmıştır. Ayrıca bu hastalarda beyinde multisistem atrofisine sekonder frontotemporal demans benzeri kognitif kayıplar da görülür (75, 154).

FXTAS tanı kriterleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. FXTAS tanı kriterleri (155)

a.Moleküler bulgular
-major: 55-200 CGG tekrar sayısı (premutasyon taşıyıcılığı)
b.Radyolojik bulgular
-major: MR'da orta serebellar pedinkülde beyaz cevher lezyonu
-minör: MR'da serebral beyaz cevherde lezyonlar
-minör: Orta-ağır jeneralize atrofi
c. Klinik bulgular:
-major: İntansiyonel tremor
-major: Yürüyüş ataksisi
-minör: Parkinsonizm
-minör: Kısa süreli hafızada orta- şiddetli seviye bozukluk
-minör: Yürütme işlevinde bozukluk
d.Nöropatolojik bulgular:
-major: FXTAS inklüzyonları

Tablo 2'deki tanı kriterlerine göre FXTAS; kesin, ihtimali ve olası 3 kategoriye ayrılır. Bunlar genişletilmiş CGG tekrarının varlığı ile şunlardır;

1. KESİN: Bir majör radyolojik bulgu + bir majör klinik bulgu ya da FXTAS inklüzyon varlığı
2. MUHTEMEL: Bir majör radyolojik bulgu ve bir minör klinik bulgu veya iki majör klinik bulgu
3. İHTİMAL (OLABİLİR): Bir minör radyolojik bulgu ve bir majör klinik bulgunun varlığı

FXTAS'ın heterojen ve değişken bir kliniğe sahiptir. Bu nedenle aşağıdaki durumlardan herhangi birinin varlığında FXTAS'dan şüphelenilmeli ve mutlaka FMR1 gen mutasyonu için test yapılmalıdır: (75)

1. 50 yaş üzeri nedeni bilinmeyen serebellar ataksi varlığı
2. Bilişsel gerileme veya parkinsonizm bulguları olan 50 yaş üstü kişilerde aksiyon tremoru olması
3. Serebellar alt tipli multisistem atrofisi ön tanısı olan hastanın MR T2/FLAİR görüntülerinde FXTAS uyumlu MCP (orta serebellar pedinkül) işareti olması
4. FXTAS ile uyumlu belirtileri olan hastanın ailesinde veya kendisinde infertilite/erken menapoz öyküsü varlığı
5. FMR1 mutasyonu pozitif aile öyküsü varlığı

FXTAS'da sıklıkla 50 yaş sonrası tanı alınsa da literatürde 30 yaşında FXTAS tanısı alan vaka bildirilmiştir (156). Bu nedenle premutasyon taşıyıcılarında, erken dönemde hareket bozuklukları ve tremor açısından fizik muayenede dikkatli olunmalıdır.

FXTAS patogenezinde önerilen iki ana mekanizma vardır. Bunlar; RNA toksisitesi ve tekrarlarla ilişkili olmayan (RAN) çeviridir (157). FMR1 mRNA'nın RNA bağlayıcı proteinlere bağlanarak toksik etki yaptığı düşünülmektedir. Tipik inklüzyon cisimciklerinin ileri immünohistokimyasal incelemesi ve kütle spektrometri analizleri sonucunda, bu cisimciklerin FMR1 mRNA ve 20'yi aşkın proteinle ilişkisi olduğu gösterilmiştir (158). Sekestrasyona uğradığı gösterilen proteinlerden bazıları,

heterojen nükleer ribonükleoprotein (hnRNP A2/B1), Pur α , Sam68, TDP43 ve Di George sendromu kritik bölge 8 proteini (DGCR8)'dir. hnRNP sekestrasyona uğradığında dentritik transportun değişimine neden olur. Pur α ise DNA replikasyonu, nöronal mRNA transportu ve translasyonunda rol oynar. FXTAS patogeneğinde rol alan ikinci mekanizma, CGG tekrarlarının polipeptitlere RAN translasyonu yoluyla aktarımıdır. Baskın tür FMR polyG'dir ve bu peptidin yakın zamanda nükleer lamina proteinleri ile etkileşerek lamina mimarisinin bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir. FMR1 mRNA ve polyG peptidi postmortem beyin dokuda inklüzyonlarda saptanmış ve hastalığa katkısı olduğu düşünülmüştür (157).

FXTAS semptomu olan ve olmayan PM taşıyıcılarının beyin ve fibroblast örneklerinde, FXTAS'ta mitokondriyal disfonksiyonun rolünü araştıran çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların sonucunda FXTAS klinik tutulumu öncesinde mitokondriyal proteinlerinin azaldığı gösterilmiştir. Patolojik sürecin inklüzyon cisimcikleri oluşumundan önce, daha düşük CGG tekrar sayılarında da başladığı, düşük CGG tekrarlarında FXTAS gelişme bile diğer muhtemel hareket bozukluklarının (örneğin parkinsonizm) ortaya çıkabildiği saptanmıştır (159).

Full mutasyonla birlikte FMRP ve FMR1 mRNA ortadan kalkacağı için FXTAS oluşması beklenmez. Ancak yine de unmetile FMR1 promotör bölgesi olan FM erkeklerde FXTAS gözlenebilir. FMR1 geni aktiftir ve IQ'ları 70'ten fazla olan bu hastalar yüksek fonksiyonlu olarak tanımlanır (156).

Son zamanlarda FXTAS tanı kriterlerine premutasyon alel aralığına ek olarak CGG tekrar sayısı 45-54 arasında değişen gri zon taşıyıcılarının ve FM FMR1 mRNA üretimi devam eden hastaların dahil edilmesi önerilmiştir. Ancak henüz kabul görmemiştir (155).

2.5.2.Frajl X ilişkili prematür ovaryan yetmezlik (FXTAS)

POY; 40 yaş altı kadınlarda en az 4 ay devam eden düzensiz/devamsız adet siklusları ile en az 1 ay arayla ölçülen minimum 2 FSH seviyesinin menopozal referans aralığında olması ile karakterizedir (160). Toplumda üreme çağındaki kadınlarda POY riski %1'dir. FMR1 premutasyonu taşıyıcı kadınlarda ise % 16-26 POY gelişir. Premutasyon taşıyıcılarında azalmış ovaryan rezervin bir göstergesi olarak FSH,

serum AMH, inhibin B, inhibin A ve progesteron gibi biyobelirteçlerde değişim saptanır (161).

PM taşıyıcılarında POY riskini etkileyen sebepler arasında X inaktivasyon oranı ve parental orijin gibi birçok faktör öne sürülmüştür. X inaktivasyon oranının etkili olmadığı yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır. Paternal geçişli premutasyon alellerinde POF riski %28'ken maternal geçişte bu oran %3.7 bulunmuştur (162).

POY riskini etkileyen bir diğer faktör CGG tekrar sayısıdır. CGG tekrar sayısı ve POY arasında lineer bir bağlantı yoktur. Premutasyon taşıyıcılarında POY riski 59-99 CGG tekrar aralığında anlamlı şekilde arttığı, bu aralıkta da en yüksek riskin 80-99 CGG tekrar aralığında olduğu; 100 ve üzeri CGG tekrar aralığında riskin azalmaya başladığı gösterilmiştir (163, 164).

POY'un belki de en acil sonucu azalmış fertilite veya infertilitedir. FXPOY tanısı olan ve spontan gebe kalımı bildirilmiş vakalar olsa da bu hastalarda yardımcı üreme tekniklerine başvuru oranı yüksektir. Premutasyon taşıyıcılarında oosit sayısı ve CGG tekrar sayısı arasında doğrusal olmayan ilişki saptanmıştır. Son zamanlarda bu konuyla ilişkili maksimum mRNA birikimi ve minimum ovaryan rezervin 80-120 CGG tekrar aralığında bulunduğu çalışmalar vardır (161).

2.6.FXS ve Güncel Tedavi Yaklaşımları:

2.6.1.Full mutant hastalarda tedavi:

FXS'de uygulanan tedavileri nonfarmakolojik (ilaç dışı), psikofarmakolojik ve hedefe yönelik tedaviler olarak gruplandırabiliriz. Nonfarmakolojik tedavilerde, egzersiz, konuşma ve dil terapisi, fizik terapi, bilişsel davranışsal terapi, müzik terapi veya uygulamalı davranışsal terapi gibi ilaç dışı etkinliği farklı klinik çalışmalarda kanıtlanmış tedaviler mevcuttur (165).

Psikofarmakolojik tedaviler özellikle FXS'de sık görülen DEHB, anksiyete, davranış bozuklukları, uyku sorunları ve epilepsi nöbetlerine yönelik tedavilerdir.(166) DEHB'de metilfenidat, amfetamin türevi stimülan ilaçlar ve alfa 2 adrenajik reseptör agonistleri önerilmektedir. Anksiyete bozukluklarında SSRI grubu ilaçlar, uyku bozukluklarında melatonin kullanılabilir. Epilepsi nöbetlerinde Levatirasetam, Valproik asit, fenitoin ve fenobarbital sık kullanılan ilaçlardır (165).

Hedefe yönelik tedaviler; FXS’de karşılaşılan nörobiyolojik yolak anomalilerine yönelik tedavilerdir (167). Bunlar; WNT yolağı, PI3K/AKT/mTOR yolağı, ERK/MAPK yolağı ve endokanabinoid sistemdir (168). Örneğin SSRI, antipsikotik ve stimülan ilaçların birçoğu aynı zamanda WNT yolağını da modüle etmektedir. Azalan FMRP sonucu Glutamat ve GABA nörotransmitterlerindeki değişim ve dengesizlik meydana gelir. FMR1 *knock out* farelerde bu nörotransmitter dengesizliğine yönelik prelinik çalışmalar devam etmektedir. FXS’li hastalarda cAMP seviyeleri nedeni tam olarak anlaşılmassa da azalmaktadır ve cAMP artırımına yönelik fosfodiesteraz 4D inhibitörleri, bozulmuş endokanabinoid sisteme yönelik kanabidiol, mTOR yolağında düzenlemeye yol açan ve obeziteye karşı da yardımcı metformin ve normal nöronal gelişim, sirkadiyan ritmi düzenlemeye yardımcı minosiklin bu başlık altında kullanılan veya çalışmaları devam eden ilaçlardır (165).

Ayrıca bu başlıklar dışında FXS’de epigenetik değişimlere yönelik tedavi çalışmaları devam etmektedir. FMR1 geninde metilasyon zamanlaması net olarak bilinmemekle birlikte CVS ile yapılan çalışmalarda 12,5 gestasyon haftasında FM hastalarda FMRP’nin komple kaybolduğu gösterilmiştir. Unmetile FM erkek hastalarda tıpkı PM hastalarda olduğu gibi FMR1 mRNA miktarında artış gözlenmesi ve FMRP miktarının normal insanların %30-40’ı kadar olmasından ilham alarak FM hastalardaki metilasyon paternini değiştirmeye yönelik gerçekleştirilen çalışmalardır (103). Histon deasetilaz inhibitörleri ve 5-azadC (5 azadeoksitidin) bu çalışmalara örnektir. Ancak bu ilaçların FMR1 haricinde global diğer genleri de etkileyebilmesi ve kanser hastalarında kullanılırken karşılaşılan toksik yan etki profili nedeni ile FXS’e spesifik tedavi hedeflerinin geliştirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (169).

DNA metilasyonu ve heterokromodizasyonunu etkileyen *long noncoding RNA* ve mikro RNA’lara yönelik çalışmalar devam etmektedir. Tüm bunlara ek olarak viral vektör aracılı gen tedavisi ve CRISPR tabanlı gen tedavisi hücre hatlarında çalışmaları süren ve gelecekte umut vadeden tedaviler olarak karşımıza çıkmaktadır (169).

2.6.2.Premutasyon taşıyıcılarında tedavi

Premutasyon taşıyıcılarında FXS ilişkili zihinsel yetersizlik beklenmemesine rağmen birçok sorun ve hastalığı beraberinde getirmektedir. Özellikle bu grup hastalarda

mRNA toksitesi kaynaklı kalsiyum disregülasyonu, mitokondriyal disfonksiyon, bazı proteinlerin sekestrasyonu ve bunlarla birlikte nöronal fonksiyonlarda azalma, oksidatif stres ve nöron ölümü gerçekleşir (14).

Bu grupta depresyon ve anksiyete en sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklardır. Psikoterapi yanı sıra SSRI ve SNRI grubu ilaçlar sıklıkla tercih edilmektedir. DEHB birlikteliği olan hastalarda SNRI grubu ilaçlar da kullanılır (170).

FXTAS'da sıklıkla nörolojik komponent görülmeye başlamadan hastalarda psikolojik bulguların başladığı gösterilmiştir. SSRI grubu ilaçlar FXTAS hastalarında kullanılabilir. PM erkeklerin %15'inde OSB, tanı almış kadınlarınsa yarısında genişletilmiş otizm bulgularından biri görülmektedir. Otizme yönelik nanfarmakolojik tedaviler önerilmektedir (14).

PM kadın hastalarda POY ile beraber, erken menapoz semptomları ve değişen hormonal döngüde kemik erimesine karşı hormon replasman tedavisi kullanılabilir. Ancak sigara kullanımı ya da koagülasyon bozukluklarına karşı dikkatli olunmalıdır. Premutasyon taşıyıcısı kadınlarda migren, kronik yorgunluk, ağrı, hipotiroidiye yönelik semptomatik tedavi önerilir (171).

FXTAS için temelde dört kategoride tedavi uygulanır. Bunlar hareket bozukluğu, kognitif bozukluk, psikiyatrik bulgular ve nöropatik ağrıdır. NMDA antagonistleri son zamanlarda bilişsel fonksiyonların iyileştirilmesi için denenmiş ancak henüz onay almamış tedavilerdendir (14).

RNA toksitesine yönelik tedavi seçeneklerinde, allepregnolonun nöronal çıkıntılardaki bozuk paternde iyileşme sağladığı gösterilmiştir. PM taşıyıcılarında çinko ve demir birikimi gösterilmiştir. Oksidatif stres, mitokondriyal hasar ve biriken elementlere yönelik folik asit, ginseng, koenzim Q kullanımı önerilmiş ancak hastalarda işe yaradığına dair net sonuca ulaşılamamıştır. FM hastalarda kullanımının yanı sıra PM taşıyıcılarda da metformin hem beden kitle indeksinin azaltılmasında hem de oksidatif stresin azaltılmasında önerilir (14, 159).

Nonfarmakolojik tedavi seçeneklerinde; psikoterapi, bilişsel davranışsal terapi ve mindfulnes çalışmalarının PM taşıyıcısı annelerde klinik yararı kanıtlanmıştır (14). Hem FM hastalarda hem de PM taşıyıcılarda, tedavi seçenekleri yakında takip

edilmeli, gerekli koşullarda hastalar mutlaka ilgili hekimlere yönlendirilerek tedaviye başlanmalıdır.

2.7.FXS Tanısında Kullanılan Yöntemler

FXS tanı testi temelde 3 nedenden dolayı yapılmaktadır. Bunlar;

1. FXS düşündüren klinik tablo,
2. Ailede nedeni bilinmeyen zihinsel yetersizlik öyküsü veya FXS varlığı,
3. FXS'in fetüs tarafından kalıtılma riskidir (17).

Tanıda kullanılan yöntemler sitogenetik ve moleküler yöntemler olarak ikiye ayrılmaktadır. Frajil X sitogenetik testinde daha önce belirsiz ya da pozitif sonuç elde edilen her hastada mutlaka ikinci bir doğrulama testi ile FMR1 gen mutasyonu bakılmalıdır. Obstetrik açıdan ailesinde FXS ya da nedeni bilinmeyen ZY bulunan kadın ya da eşi, ailesinde erken menapoz öyküsü olan kadın ve FX taşıyıcısı olduğu bilinen hamile bir kadının fetüsünde prenatal dönemde FMR1 gen mutasyonuna bakılması önerilir (17).

2.7.1.Sitogenetik yöntemler

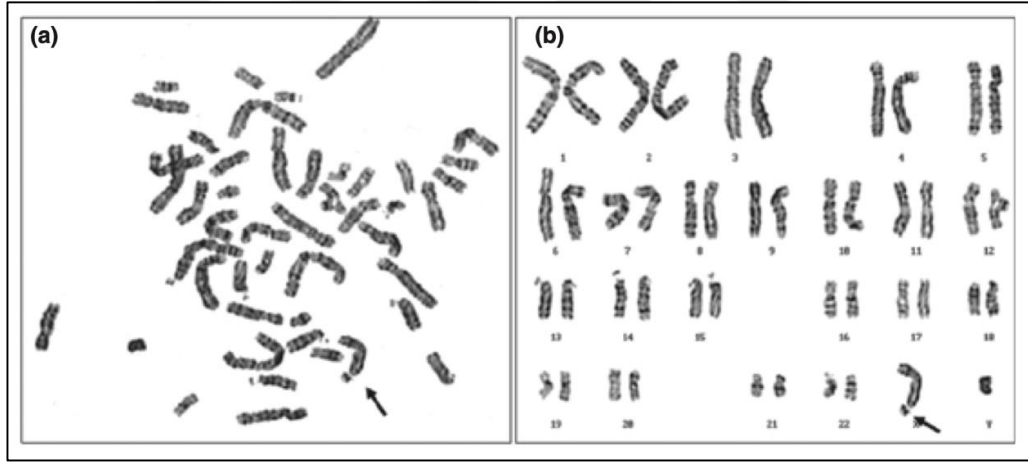
Frajl bölge; replikasyon stresiyle beraber metafaz plaklarında kırık ya da boyanmamış görünen özel kromozom bölgeleridir. Frajilite DNA'da geç ya da eksik replikasyon sonucu meydana gelir. Kırılğan bölgelerin kromozomlar üzerinde sabit bir nokta olarak tanımlanması ilk kez Southerland tarafından olmuştur (172).

DNA sentezini inhibe eden ajan varlığında veya folik asitten fakir besiyerinde DNA sentezi yavaşlar ve frajil alanlar ortaya çıkar. Bu bölgeler nadir kırılğan bölgeler ve sık kırılğan bölgeler olarak iki kategoride incelenir. Spontan ya da kimyasal uyarı ardından birçok insanda ortaya çıkabilen sık kırılğan bölgelerin sayıları 200'ün üzerindedir ve çift zincir kırıklarına neden olduklarından kromozomal yeniden düzenlemeye yatkındırlar. Nadir kırılğan bölgeler ise her bireyde rastlanmayan ve folata duyarlı olduklarından çoğunlukla folatsız besiyerinde görülebilen alanlardır. Folat, DNA replikasyonunda önemli ara basamakların yapısında bulunur. Genellikle tekrar dizi artışı olan bölgelerde görülür. FRAXA, daha nadir olmakla birlikte FRAXE ve FRA11B nadir kırılğan bölge örnekleridir. FRAXA; moleküler düzeyde

tanımlanan ilk kırılğan bölgedir ve FXS ilişkilidir. FRAXE ise hafif zihinsel yetersizlikle ilişkilidir (173).

FMR1 geni tanımlanmadan ve moleküler tanı yöntemleri gelişmeden önceki dönemlerde, FXS tanısında folik asitten fakir kültürle sitogenetik analiz yöntemi tercih edilirdi. Ancak bu subjektif bir yöntemdir. Hastaların tüm metafaz plaklarında ya da her zaman her hastada frajilite gözlemlenemez. Premutasyon taşıyıcısı kadın ve erkekler bu yöntemle tespit edilemez. FRAXA ve FRAXE aynı kromozom üzerinde birbirine yakın bölgelerde yer alan kırılğan bölgelerdir. FRAXE’de frajil bölge ekspresyonu FRAXA ekspresyonu olarak yanlış yorumlanabilir. (173, 174). FXS tanılı hastanın karyotipinde ve metafaz plağında frajil bölge şekil 8’de gösterilmiştir. Sitogenetik yöntemle frajilite değerlendirmesi günümüz teknolojisinde özgüllüğü ve duyarlılığı yetersiz olmasından kabul edilebilir bir yöntem değildir (9).

Şekil 9. 46,XYfra (X)(q27.3) karyotipli hastaya ait metafaz ve karyotip görüntüsünde frajil bölgenin gösterilmesi (175)



Uluslararası İnsan Sitogenomik Adlandırma Sistemi (ISCN)’nin 2020 klavuzuna göre, kromozom kuruluşu kadın olan hastalarda frajil bölge 46,X, fra(X)(q27.3), erkek hastalarda 46,Y, fra(X)(q27.3) şeklinde gösterilmektedir (176).

2.7.2.Moleküler yöntemler

FXS’nun FMR1 geninde CGG tekrar artışı sonucu oluştuğu anlaşılmış, ardından sitogenetik tetkikle hastaların %50’sinin saptanabilmesi ve PM taşıyıcıların saptanamaması nedeniyle moleküler tanı yöntemleri ön plana çıkmıştır. FXS için

Southern Blot analizi ve PCR analizi olmak üzere temelde iki yöntem kullanılır. İki testin alel boyut hassasiyeti birbirinden farklıdır. Laboratuvarlar, FMR1 geninde full mutasyonun tüm yönlerini karakterize etmek tek bir testle her zaman mümkün olmadığından sıklıkla birkaç farklı test kullanımına ihtiyaç duyarlar (9).

Southern Blot analizinde metilasyon paterni ile birlikte FM ve büyük tekrar sayısına sahip PM aleller tanımlanır. PCR ise CGG tekrar sayısı daha düşük olan normal alel, gri zon ya da premutasyon alellerini daha doğru şekilde belirler (17). Full mutasyon ve premutasyon içeren bir mosaisizmde yalnızca geleneksel PCR yöntemi kullanımında PM aleller çoğaltılıp FM alt küme atlanabilir. Konvansiyonel PCR'a ek Southern Blot analizinin birlikte kullanımı önerilir. TP-PCR ve MS-PCR yöntemlerinin geliştirilmesiyle birlikte her numunede Southern Blot kullanım ihtiyacı azalmıştır (9).

FXS, her ne kadar FMR1 geninde 5'UTR bölgesinde CGG tekrar sayısı artışına bağlı oluşan bir hastalık olsa da bireyler arası bazı farklılıklar genotiplemeyi zorlaştırıp karmaşaya yol açabilir. Bunlar; metilasyon mosaisizmi ya da size mosaisizmi, FMR1 geninde anormal metilasyon paterni, kadın hastalarda iki X kromozomu varlığıyla rastgele olmayan inaktivasyon paterni ve prenatal örneklerin henüz metilasyonunu tamamlamamış olması ve eksik metilasyon paternidir (18, 177).

Moleküler yöntemlerin sonuçlarında standart isimlendirme ile birlikte, sağlık profesyonellerine daha doğru bir iletim şekli sağlanacaktır. Bu amaçla ACMG ve CAP'in 2021 Frajil X klavuzunda; HGVS'ye uygun bazı tavsiyeleri vardır. AGG kesintilerinin değerlendirilip değerlendirilmemesine göre kısa dizi tekrarlarında isimlendirme değişir. AGG değerlendirilmediği takdirde referans DNA dizisi NM_002024.5 baz alınır, c.-129 konumunda başlayan tekrarlar için;

-Erkek: c.-129CGG[X]

-Kadın: c.-129CGG[X_X] şeklindedir.

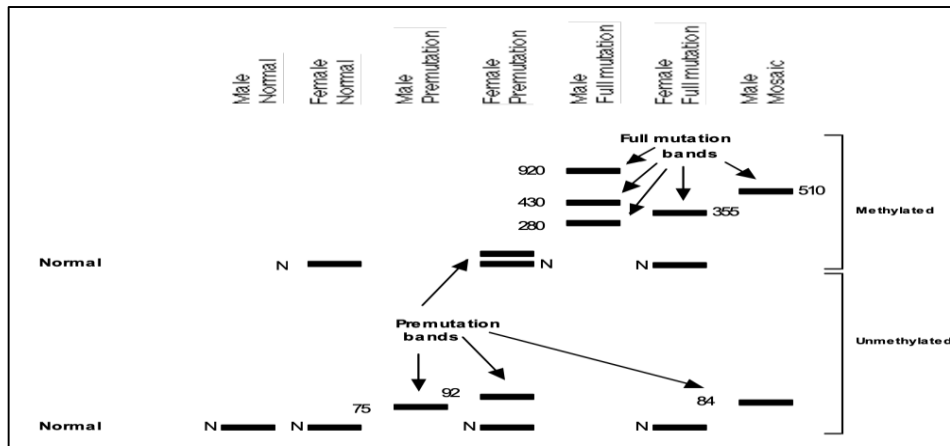
-129 tekrarın değişken başlangıcı; X ile belirtilen üçlü tekrar sayısıdır. Örneğin Southern Blot analizinde full mutasyonlarda tekrarın net boyut değerlendirilmesi yapılamaz. Bu durumda köşeli parantez yerini (X) alır. HGVS, size mozaisizmi için öneride bulunmamıştır. Klinisyen ve laboratuvar uzmanları yaygın isimlendirmeleri kullanabilirler (9).

2.7.2.1.Southern blot analizi

Southern blot yöntemiyle hem metilasyon hem de boyut saptanabilmesine rağmen yapımı zahmetli, uzun ve sonucu değerlendirmek deneyim odaklıdır. PCR tabanlı yöntemlere göre daha fazla genomik DNA'ya ihtiyaç duyulur (18). Bu yöntemde mutasyon boyutu tam olarak belirlenemez, alel boyutu güvenilir bir şekilde tahmin edilmeye çalışılır. FM mozaik vakalarda oluşan düzensiz smear görüntüsünü ayırt etmek zordur ve deneyim gerektirir. FMR1 tanısında uzunca bir süre laboratuvarlarda altın standart tanı yöntemi olarak kullanılmıştır (177).

Bu yöntemde hasta örneğinden elde edilen DNA farklı boyutta parçalara bölünür. Hem metilasyona duyarlı (EagI, NruI veya BssHII gibi) hem de metilasyona duyarlı olmayan (EcoRI veya HindIII gibi) enzimler kullanılır. Ortaya çıkan DNA parçalarında CGG tekrarlarını içeren parçalar da vardır. Çift sindirime uğramış DNA'da StB12.360 veya Ox1.961 probu kullanılarak yapılan analizde premutasyon ve full mutasyon alelleri tespit edilebilir. DNA parçaları jelde elektrik akımı ile boyutlarına ayrılır. Kısa uzunlukta DNA parçaları uzunlara göre daha hızlıdır ve daha uzağa hareket edebilir. Metile FMR1 geninde bir mutasyon olmadığında tek parça, mutasyon varlığında ise daha uzun parçalar saptanır. Leke şeklinde görünen DNA parçalarının naylon bir tabakaya aktarımının ardından radyoaktif işaretli FMR1 gen probu ile eşleşme sağlanır. X ışınına maruz bırakılır ve kısa siyah çizgiler şeklinde görülen bant oluşumu beklenir (17). Bantlar hastanın mutasyon durumuna veya cinsiyetine göre farklılık gösterir. Bantlara özgü paternler 9'da gösterilmektedir (17).

Şekil 10. Southern Blot analizinde bant paternleri (17)



Not: Şekilde 7 duruma ait bantlanma paterni gösterilmektedir. Bunlar: 1)Normal erkek:normal ve unmetile tek bant, 2)normal kadın:normal boyutta biri metile diğeri unmetile iki bant, 3)premutant erkek: genişlemiş boyutta tek bant, 4)premutant kadın: premutasyon ve normal alele ait metile ve unmetile dört bant paterni, 5)full mutant erkek: >200 tekrarda metile bant/bantlar, 6)full mutant kadın: >200 tekrarda metile bant/bantlar ve normal alele ait unmetile bant, 7)mozaik erkek: metile full mutasyon ve unmetile premutasyon alelleri

2.7.2.2.PCR tabanlı metodlar

PCR yöntemi Southern Blot'a kıyasla daha hızlı ve kolaydır. Ancak GC zengin parçaların amplifikasyonu ve genişleme ilişkili metilasyon modeli incelenmesiyle bazı teknik zorlukları beraberinde getirir (19). Kullanılan PCR yöntemi özellikle birden fazla alel içeren örneklerde (örneğin mozaik, kadın) artan CGG sayısını tespit edebilse dahi tercihli olarak daha az sayıda tekrarlı aleli amplifiye edebilir. Bu da sonuçların yanlış yorumlanmasına neden olabilir (9).

Normal alel aralığından FM aralığındaki alelleri tespit edebilmek amacıyla birçok farklı PCR yöntemi geliştirilmiştir. Örneğin; *flank* primer kullanılarak yapılan konvansiyonel PCR testi, MS-PCR, TP-PCR, TP-MS-PCR... vb. Premutasyon aralığını tespit edebilen geleneksel bir PCR ardından amplifiye olmayan erkek hastalarda ve tek normal boyutu olan kadın hastalarda alternatif başka bir yönteme geçilir. Erkek hastalarda bant yokluğu full mutasyona işaret edebilir. Homozigot normal alele sahip dişiler, tüm dişilerin %18'ini oluşturmaktadır (18, 19).

2.7.2.2.1.Floresan PCR

Konvansiyonel floresan PCR yöntemi ile normal ve FM bir alel için mozaicism olmadığı sürece tüm normal aleller tespit edilebilir. PCR sonucunda atipi ya da ailesinde FXS öyküsü olan hastalarda size mozaicism riskine karşılık Southern Blot ya da *Long range* PCR ile test edilmesi önerilir. Geleneksel yaklaşımda, fPCR ön tarama testi olarak kullanılıp amplifiye olmayan erkeklerde ve tek alel gösteren kadınlarda Southern analizine geçilirdi (18).

2.7.2.2.2.TP- PCR/ üç tekrarlı primer PCR

TP-PCR, CGG tekrar bölgesine bağlanan ve PCR ürünlerinin hızlı şekilde tespit edilmesini sağlayan kimerik bir primere sahiptir. Bir primer tekrar bölgesinin dışında bir bölgeye, bir primer CGG tekrarı ve ona bitişik tekrarlamayan diziye son primer

ise CGG tekrar bölgesinin dışına sabitlenir. Son primer ve karşıt sabitlenmiş primer eşleşerek CGG tekrarı üzerinde amplifiye olur. TP PCR, AGG kesintilerinin yeri ve sayısı hakkında da bilgi verebilir. Normal ve PM alel tespiti ve boyutlandırmasına, full mutasyon tespitine olanak sağlar. TP-PCR ve artan sensiviteyle %10'a kadar mozaik erkek hastaları tespit etmek kolaylaşır (9).

FX testi için yönlendirilen kadın hastaların yüksek tekrar sayılı PM-FM sınırında olduğunda mutlaka metilasyon paternine bakılması gerekir. FMR1 mPCR kiti ile metilasyon paterni ve yüzdesine bakabilir. Ancak kadınlarda çarpık X inaktivasyonu nedeniyle tetkik sonucu tüm dokuları kapsamayacağından fenotip ciddiyetini net şekilde yansıtmayabilir. Bu yöntem Southern Blot analizine göre daha kısa sürede sonuç verebilme ve daha az emek harcama avantajına sahiptir (18).

2.7.2.2.3.MS-PCR/ metilasyona özgü PCR

Metilasyona özgü PCR, metilasyon spesifik kesin enzimleri kullanımının ardından alel spesifik PCR'ı içerir. Tüm bu ürünler kapiller elektroforez kullanılarak ayrıştırılır. Metilasyon durumunu ve 250 tekrara kadar alel boyutunu belirleyebilir. Daha yüksek tekrar sayılarında Southern Blot analizi önerilir (9).

2.7.2.2.4.Real time PCR

Real time PCR'da, MS-PCR kullanılarak, erime eğrisi analizi yapılabilir. Erime analizi ile farklı GC içeriğinde metile ve unmetile aleller eş zamanlı çoğaltılıp, erime sıcaklıklarındaki farklılıklarla ayrıştırılabilir. Metile alel erkeklerde oldukça yüksek hassasiyetle saptanırken kadınlarda daha az hassasiyete sahiptir (9).

2.7.2.3.Multiplex ligasyon prob amplifikasyonu (MLPA)

Bu teknikte, diziye özgü problemler metile ve unmetile alellere hibridize edilerek metillenmiş FXS aleline sahip erkek hastalar tanımlanabilir. Problemler aynı anda bağlandığında metilasyona duyarlı bir kesim enzimi (HhaI) ile sindirilir. Evrensel bir primer seti yalnızca problemlerin bağlandığı bölgeyi çoğaltır. Bağlanmış ve parçalanmamış metile aleli gösterir (9).

2.7.2.4.Yeni nesil dizileme (NGS)

GC bakımından zengin bölgelerde, kısa okuma ve yakalama tabanlı NGS teknolojisi kullanıldığında hem tekrarlayan elementler yeterince etkili haritalanamaz hem de

daha küçük tekrar sayısına sahip alelin amplifiye olma ihtimali artar. 2. Nesil NGS platformunda çalışılan örneklerde nokta mutasyonları tespit edilirken, PCR içermeyen NGS teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte tekrar eden diziler daha doğru ve kolay şekilde tanımlanmaya başlamıştır. Tek moleküllü gerçek zamanlı uzun okuma dizileme (SMRT) ile, yaklaşık 2 kb'dan oluşan full mutasyon aleli dizilenebilir. Aynı zamanda AGG kesinitleri hakkında bilgi sahibi olunabilir. Farklı biyoinformatik araçlarla birlikte SMRT yaygınlaşana dek ,TP PCR ve Southern Blot analizi halen genişletilmiş CGG tekrarının saptanmasında altın standart olmaya devam etmektedir (9).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı polikliniklerine 2012- 2023 yılları arasında başvurmuş, ön tanısında FXS veya premütasyon taşıyıcılığı düşünülmüş FMR1 geni TP PCR testi sonucu CGG tekrar sayısı 40 ve üzeri olan toplam 130 hasta dahil edildi. Çocuk hastalarda ailelerinden ve yetişkin hastalarda kendilerinden aydınlatılmış onam alınmıştı.

Hastaların klinik ve genotip bilgilerine yönelik retrospektif dosya taraması yapıldı. FMR1 geni CGG tekrar sayısı, AGG kesinti sayısı, size mosaisizm varlığı, hastaların başvuru endikasyonu, tanı yaşı, cinsiyet, FXS düşündürülen dismorfizm bulgusu, makroorşidizm, ZY, OSB, DEHB, self mutilasyon, hırçınlık, tekrarlayan el hareketleri, dil ve konuşmada gecikme, ilk adet yaşı, adet düzensizliği, POY, ailede erken menapoz öyküsü ve tremor sorgulandı. 4'ü geniş ve 17'si çekirdek aile olmak üzere toplamda 21 aile taraması yapıldı. Bu aile taramalarından, 26 ebeveyn ve 38 çocuk hastanın CGG ve AGG aktarım paterni incelendi.

3.1.Genomik DNA izolasyonu:

QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanılarak EDTA'lı tüpte alınmış periferik kan ve kültüre edilmiş amniyosentez materyalinden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Kit protokolü şu şekildedir;

Protokol:

1. Hastaya ait 200 µl numune, 20 µl Proteinaz K ve 200 µl AL tampon 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplere konulmuştur. 200 µl tam kan ve kültüre edilmiş amniyosentez örneği için 200 µl PBS kullanılmıştır.
2. Numunelere 15 saniye vurum-vorteks uygulanmıştır.
3. Vortekslenen numuneler ısı bloğuna alınarak 56°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Ardından kapağın içinden damlaları çıkarmak için kısaca mikrosantrifüj uygulanmıştır.
4. Numunelerin üzerine 200 µl % 96-100'lük etil alkol eklenmiş ve sonrasında 15 saniye vurum-vorteks uygulanmıştır. Vorteksin ardından kapağın

içindeki damlaların çıkarılması için mikrosantrifüj tüpleri tekrar kısaca santrifüjlenmiştir.

5. Vortekslenen örnekler 2 ml'lik toplama tüpüne aktarılmış ve 8000 x rpm' da 1 dakika boyunca santrifüjlenmiştir.
6. Her bir örneğe ait spin kolon 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarılmıştır. Filtratı içeren tüp atılmıştır.
7. Örnekler 500 µl AW1 tampon solüsyon eklenerek 8000 x rpm devirde 1 dakika santrifüjlenmiştir.
8. Toplama tüpündeki sıvı atılarak her bir örnek yeni toplama tüpüne yerleştirilerek 500 µl AW2 yıkama bufferı eklenmiştir.
9. Örnekler 14000 x rpm devirde 3 dakika santrifüjlenmiştir.
10. Her bir örneğe ait spin kolon hasta numaraları belirlenmiş, 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
11. Aktarılan örnekler 14000 x rpm devirde 1 dakika santrifüj uygulanmıştır.
12. Ardından filtratı içeren toplama tüpü atılarak, spin kolon yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
13. Numunelerin üzerine 200 µl AE tampon solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında bir dakika inkübe edilmiştir.
14. Ardından örnekler 8000 x rpm devirde 1 dakika santrifüjlenmiştir.
15. Spin kolonun atılmasının ardından, 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpte genomik DNA elde edilmiştir.

DNA izolasyon yapıp PCR reaksiyonu başlamadan önce DNA konsantrasyonu ve saflık derecesi ölçülmüştür. Laboratuvarımızda florometrik yöntemle Qubit® Florometre (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) cihazı kullanılarak ve ve Quant-iT dsDNA HS (high sensitivity) Assay kiti ile DNA konsantrasyonu ve saflık derecesi ölçümü yapılmıştır.

Florometrik yöntemler absorbans tabanlı yöntemlere kıyasla daha yüksek hassasiyet sağlar. Nükleik asit örnekleri (DNA, RNA) 260 nm, proteinler ise 280 nm dalga

boylarında maksimum absorbansa sahiptirler. Bu iki dalga boyunun oranı saflık derecesini verir. 230 nm dalga boyunda elde edilen absorbanlar ise kontaminasyon olarak kabul edilir. Saf bir DNA örneğinde $A_{260nm}/A_{280nm} = 1.8$ 'dir. Bu oranda daha düşük değerler çoğunlukla protein kontaminasyonu daha yüksek değerler ise RNA kontaminasyonunu düşündürür.

3.2.PCR aşaması

Çalışmamızda; FMR1 geninde CGG tekrar sayısı 3 farklı kitle saptanmıştır. 2012-2018 yılları arası FMR Sizing PCR kit (Abbott, Chicago, USA), 2018- 2021 yılları arası AmplideXTM FMR1 PCR kit (Asuragen, Austin, USA), 2021-2023 yılları arasında ise LabGscanTM FRAXA PCR kiti (Diagnostica Longwood, Zaragoza, Spain) kullanılmıştır. Kitlere ait PCR protokolleri aşağıda belirtilmiştir. AmplideXTM FMR1 PCR kitinde 2 µL (40 ng/µL) DNA, LabGscanTM FRAXA PCR kitinde 2 µL (10-50 ng/µL) ve FMR Sizing PCR (Abbott) kitinde ise 3 µL (10-25 ng/µL) genomik DNA kullanılmıştır.

3.2.1.LabGscan FRAXA PCR kit protokolü

1. FMR1 Primer Mix ve GC Rich Amp Buffer oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Çözünmüş rekatifler kullanımdan önce santrifüjlenmek üzere, pipet veya vorteks yardımıyla karıştırılmıştır.
2. Tablo 3'te belirtilen oranlara göre Master Mix solüsyonu hazırlanmış ve her bir tüpe 18 µL mix dağıtılmıştır.

Tablo 2. LabGscan FRAXA PCR kiti Master Mix solüsyonu bileşenleri

Bileşenler	1 reaksiyon başına hacim (µL)
FMR1 Primer Mix	1
GC Rich Amp Buffer	12
Polimeraz Mix	0.5
D.W.	4.5
Reaksiyon başına total volüm	18

3. 2 µL genomik DNA örneği (10-50 ng/ µL) mix dağıtılan tüplere eklenerek, vorteks ve santrifüj uygulanmıştır.
4. Ardından Thermal cyler protokolü tablo 4'te belirtilen şekilde uygulanmıştır.

Tablo 3. LabGscan FRAXA PCR kiti Thermal cycler protokolü

Sıcaklık	Zaman	Siklus Sayısı
98 °C	5 dakika	_*
97°C	35 saniye	10 siklus
62°C	35 saniye	
68°C	4 dakika	
97°C	35 saniye	20 siklus
62°C	35 saniye	
68°C	4 dakika	
72°C	10 saniye	_*
4°C	Sonsuz	_*

Not:* = belirtilen saniye kadar beklet

6. Hazırlanan PCR ürünleri kapiller elektroforez aşamasına aktarılmıştır.

3.2.2.AMPLİDEX FMR1 PCR kit protokolü

1.Polimeraz Mix haricindeki reaktifler 10 dakika oda ısısında çözdürülmüştür. GC Rich Polimeraz Mix buz aküsünün üzerinde muhafaza edilerek Polimeraz Mix haricinde diğer reaktiflere kısa bir süre vorteks uygulanmıştır.

2.Tüm bileşenler tablo 5’de belirtilen sırayla 1.5 ml’lik tüpe eklenmiştir.

Tablo 4. Amplidex FMR1 PCR kiti Master mix solüsyonu bileşenleri

Bileşenler	Gen spesifik PCR	CGG RP PCR
GC-Rich Amp Buffer	11.45 µL	11.45 µL
<i>FMR1</i> F,R FAM-Primerleri	0.50 µL	0.50 µL
<i>FMR1</i> CGG Primer	0 µL	0.50 µL
Diluent	1.00 µL	0.50 µL
GC-Rich Polymerase Mix	0.05 µL	0.05 µL
DNA Örneği	2.00 µL	2.00 µL
Reaksiyon başına toplam hacim	15.00 µL	15.00 µL

3.PCR karışımları tüplere aktarılmadan önce 3-5 kez pulse vorteks uygulanmıştır.

4.Her bir tüpe 13 µL master mix eklenmiş ve ardından 2 µL (10-40 ng/µL) genomik DNA örneği eklenerek en az iki kez pipetaj uygulanmıştır.

5.Vortekslenen örneklerle tablo 6’da belirtilen şekilde Thermal cycler protokolü uygulanmıştır.

Tablo 5. Amplidex FMR1 PCR kiti Thermal cycler protokolü:

Gen Spesifik PCR		
Sıcaklık	Zaman	Siklus Sayısı
98 °C	5 dakika	-*
97 °C	35 saniye	25 siklus
62 °C	35 saniye	
72 °C	4 dakika	
72 °C	10 dakika	-*
4 °C	Sonsuz	
CGG RP PCR		
Sıcaklık	Zaman	Siklus Sayısı
95 °C	5 dakika	-*
97 °C	35 saniye	10 siklus
62 °C	35 saniye	
68 °C	4 dakika	
97 °C	35 saniye	20 siklus
62 °C	35 saniye	
68 °C	4 dakika	
72 °C	10 dakika	
4 °C	Sonsuz	-*

Not: * = belirtilen saniye kadar beklet

6.Hazırlanan PCR ürünleri kapiller elektroforez aşamasına aktarılır.

3.2.3.ABBOTT FMR sizing PCR kit protokolü

1.Tüm PCR ürünleri buzdolabı dışında çözündürülerek buz aküsü üzerinde muhafaza edilmiştir.

2.Soğukta bekletilen reaktifler vortekslenmiş, ardından master mix solüsyonu tablo 7’de belirtilen sıra ile hazırlanmıştır.

Tablo 6. ABBOTT FMR sizing PCR kiti Master mix bileşenleri

Reaktif ismi	1 PCR reaksiyonu başına hacim (µL)
High GC PCR Buffer	13.0
Gender Primers	0.6
Fragile X Primers	0.8
TR PCR Enzyme Mix	1.2
DNase/RNase bulunmayan su	1.4
Toplam	17.0

3.Hazırlanan master mix solüsyonu vortekslenmiştir.

4.Master mix ve DNA dağıtımı aşamasında PCR plakaları soğuk blok ya da buz üzerinde muhafaza edilerek her bir tüpe 17 µL master mix solüsyonu eklenmiştir.

5.Tüm örnekler vorteklenerek her bir karışıma 3 µL (10-25 ng/ µL) genomik DNA örneği eklenmiştir.

6.10 ila 20 saniye arası 500-2000 g'de santrifüj uygulanan örneklerle Tablo 8'de belirtilen Thermal cycle programı uygulanmıştır.

Tablo 7. ABBOTT FMR sizing PCR kiti Thermal Cycle Protokolü

Sıcaklık	Zaman	Siklus sayısı
98.5 °C	10 saniye	15 siklus
58 °C	1 dakika	
75 °C	6 dakika	
98.5 °C	10 saniye	
56 °C	1 dakika	
75 °C	6 dakika	
4 °C	Sonsuz	-*

Not:* = belirtilen süre miktarınca bekletilebilir

PCR ürünleri bir sonraki aşamaya aktarılmadan önce clean up aşamasından geçirilmiştir. 3 µL Clean Up Enzim Mix 0.2'lik PCR tüpüne aktarılmış ve üzerine 2 µL PCR ürünü eklenmiştir. Hazırlanan karışıma 10-20 saniye vorteks ve santrifüj işlemi uygulandıktan sonra, Thermal cycler'da 10 dakika 75°C ve ardından 4°C'de bekletme protokolü uygulanmıştır.

3.3 Kapiller Elektrophorez Uygulaması

Genomik DNA izolasyonu ve PCR aşamasının ardından kapiller elektrophorez uygulaması aşamasına geçilmiştir.

1.Hi-Di Formamide ve ROX 1000 Size Ladder oda sıcaklığında çözündürülmüş, ardından kullanmadan hemen önce 15 saniye vorteks ve spin uygulanmıştır.

2. Hi-Di Formamide ve ROX 1000 Size Ladder ile master mix solüsyonu hazırlanmıştır. Master mix solüsyonlarının kitlelere göre karışım oranı tablo 9'da belirtilmiştir.

Tablo 8. Kitlere göre master mix solüsyonu içerik miktarları

	Hi-Di Formamide	ROX 1000 Size Ladder	Toplam Hacim
Asuragen	11 µL	2 µL	13 µL
Labgenomics	8 µL	1 µL	9 µL
Abbott	17 µL	3 µL	20 µL

3.Karıştırılan tüm reaktiflere 3-5 kez pulse vorteks uygulanmıştır.

4.Her bir kuyucuğa master mix solüsyonu ve kit üreticisinin talimatlarına göre PCR ürünü eklenmiş, karışıma kısa bir süre vorteks uygulanarak Thermal cycler cihazına aktarılmıştır. Master mix solüsyonu ve eklenen PCR ürün miktarının kitlere göre değişimi tablo 10’da belirtilmiştir.

Tablo 9. Kitlere göre master mix ve ürün karışım miktarları

	Master mix	PCR ürünü	Toplam Hacim
Asuragen	13 µL	2 µL	15 µL
Labgenomics	9 µL	1 µL	10 µL
Abbott	20 µL	5 µL	25 µL

5.Kapiller elektroforez cihazına yüklenmeden bileşimlere Thermal Cycler protokolü uygulanmıştır. (Tablo 11)

Tablo 10. Kitlere göre thermal cycler adımları

	1.adım	2.adım
Asuragen	95°C’de 2 dk denatürasyon	4°C’de beklet
Labgenomics	95°C’de 2 dk denatürasyon	4°C’de beklet
Abbott	93°C’de 30 sn denatürasyon	25°C’de beklet

6.Denatüre edilen örnekler kapiller elektroforez cihazına yüklenmiş ve CGG tekrar sayısı için analiz programı aşamasına geçilmiştir.

3.4.Fragman Analizi

1.Kapiller elektroforez aşamasının ardından fragman analizi yapılabilmesi için veri dosyaları GeneMapper[®] programında içe aktarılmış ve ROX 1000 standartlarına göre pikler her bir örnek için kontrol edilmiştir. Kontrollerde boyut standartları doğru adlandırılmadığında manuel tanımlama yapılmıştır.

2.Elektroforogram görüntülerinden gen spesifik pikler ve CGG pikleri tanımlanarak pik boyutları CGG tekrar sayısına dönüştürülmüştür.

3.GC yönünden zengin PCR ürünleri kapiller elektroforezde size standartlara göre daha hızlı göç yeteneğine sahiptir. Bu hız farkından kaynaklanabilecek herhangi bir hata payına karşılık kit üreticisinin talimatlarına göre düzeltme işlemleri uygulanmıştır.

4.CGG tekrar sayısı hesaplamasında üretici firmanın talimatına göre değişen şekilde şu formüller uygulanmıştır:

Amplidex ve LabGscan kitleri için; CGG tekrar sayısı: (tekrar bp-231,6)/2,995

Abbott FMR Sizing kiti için; CGG tekrar sayısı: (tekrar bp-193)/3

5. Hesaplanan değerlerle birlikte veri yorumlama aşamasına geçilmiştir.

6.Alellerin belirli genotip kategorileriyle ilişkilendirilmiş ve mozaizm saptanan premutant ve full mutant kategoriler belirtilmiştir. Full mutasyon alelleri >200 tekrar sayısı olarak belirtilmiştir.

7.Genotip kategorisi ayrımında ACMG kriterlerine göre ayırım yapılmıştır. Kategorilere göre tekrar sayısı değişimi tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 11. ACMG kriterlerine göre Frajil X grupları

Genotip Kategorisi	CGG tekrar sayısı
Normal	<45
Gri zon	45-54
Premutasyon	55-200
Full mutasyon	>200

Bu çalışmada hasta dışlama kriterleri;

-Hastalara ait CGG tekrar sayısının 39 ve altı tekrarda olması

Bu bilgiler ışığında kendi hasta grubumuzdaki hastaları dışlama ve ACMG kriterlerine göre yeniden değerlendirdiğimizde CGG tekrar sayılarına göre değişim Tablo 13’te gösterilmiştir.

Tablo 12. Dışlanma ve ACMG kriterlerine göre hastalara ait genotip kategorileri

Genotip Kategorisi	CGG tekrar sayısı
Normal	40-44
Gri zon	45-54
Premutasyon	55-200
Full mutasyon	>200

Farklı Frajil X gruplarında Gene Mapper analiz görüntüleri istatistiksel değerlendirme sonrasında gösterilmiştir.

3.5.Etik Onay

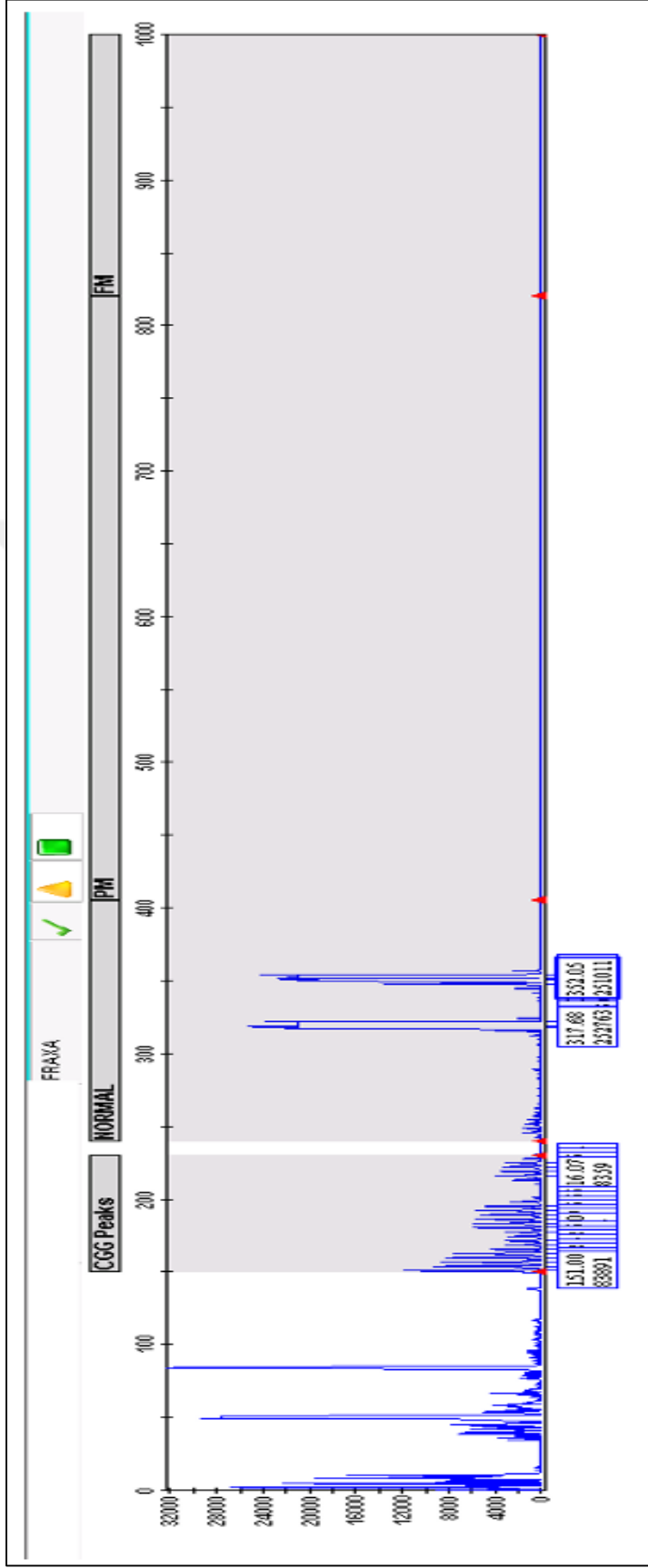
Bu çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 05.03.2023 tarihli başvuru ve 2023/73 nolu izin kararı ile başlanmıştır.

3.6.İstatistiksel Değerlendirme

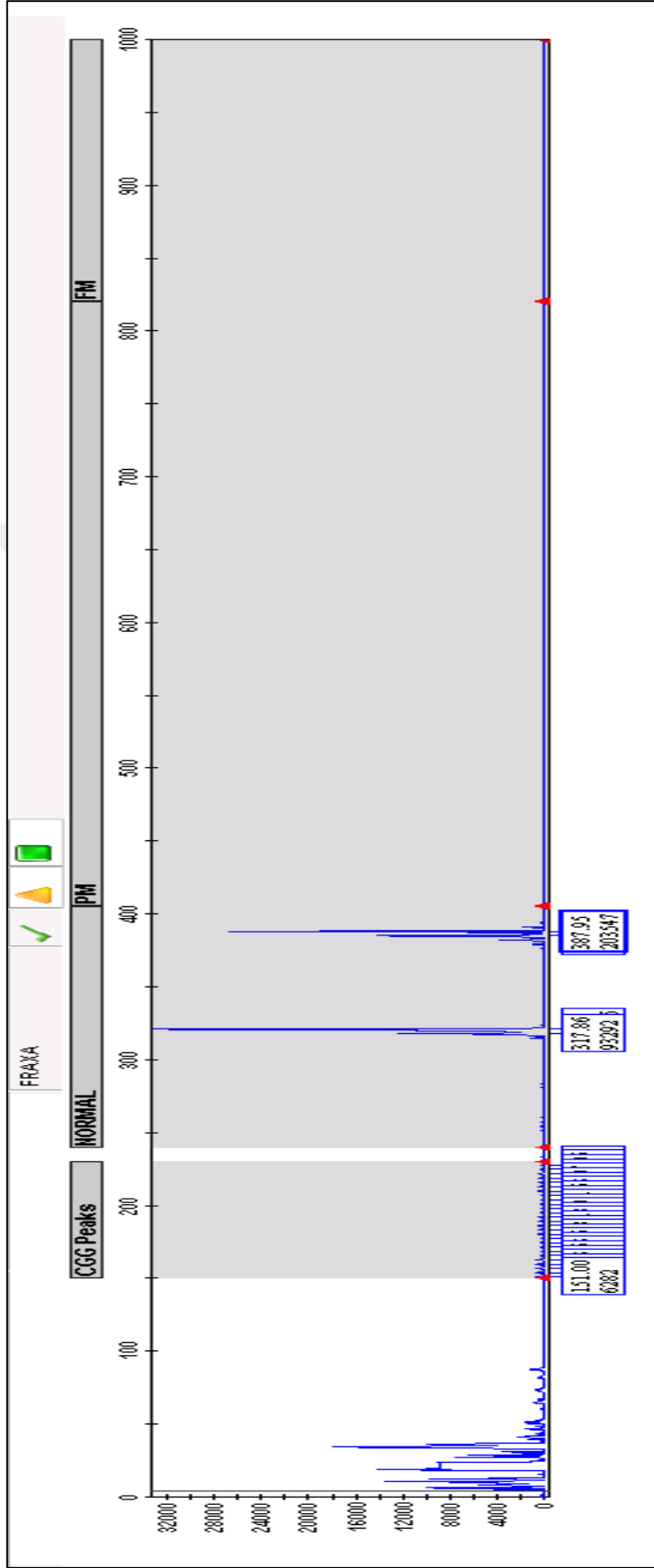
Bu çalışmada, istatistiksel analizler SPSS 25.0 programı kullanılarak yapılmıştır. İlk olarak, tanımlayıcı değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Nominal değişkenler ise yüzde ve frekans olarak verilmiştir. Bazı nominal değişkenler grafik olarak gösterilmiştir. Ardından, parametrik test varsayımlarının karşılanıp karşılanmadığını belirlemek için normallik testi yapılmıştır. Bu testin sonucuna göre, normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

İki değişken arasındaki ilişkinin varlığını ve bu ilişkinin ne kadar güçlü olduğunu ölçmek için Sperman rho korelasyon testi kullanılmıştır.

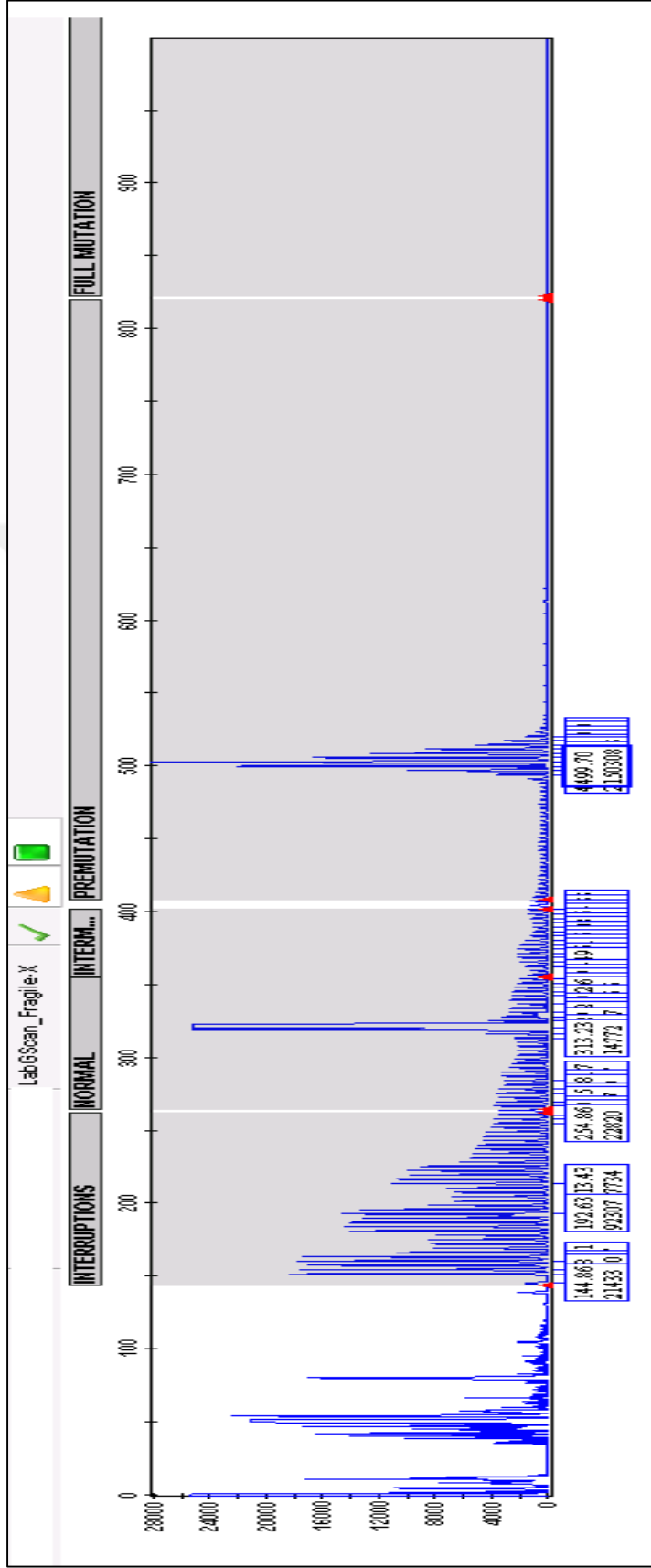
Kategorik iki değişkeni incelemek için ise ki-kare testi kullanılmıştır. Ki-kare testini değerlendirirken Fisher's Exact test ve Continuity Correction kullanılmıştır. Farklılıklar için $p<0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.



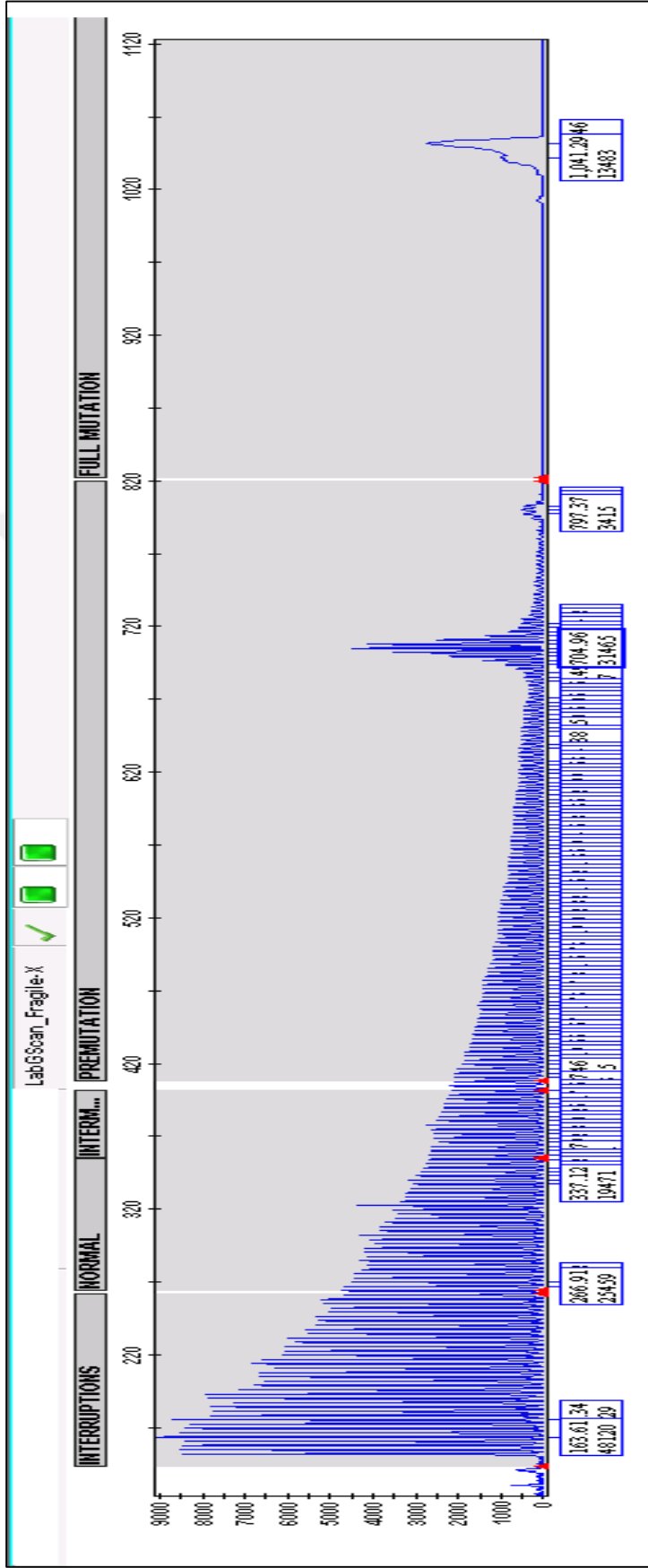
Şekil 11. 29 ve 41CGG tekrar sayılı alelleri, 3 AGG kesintisi olan female hastada Gene Mapper analiz görüntüsü



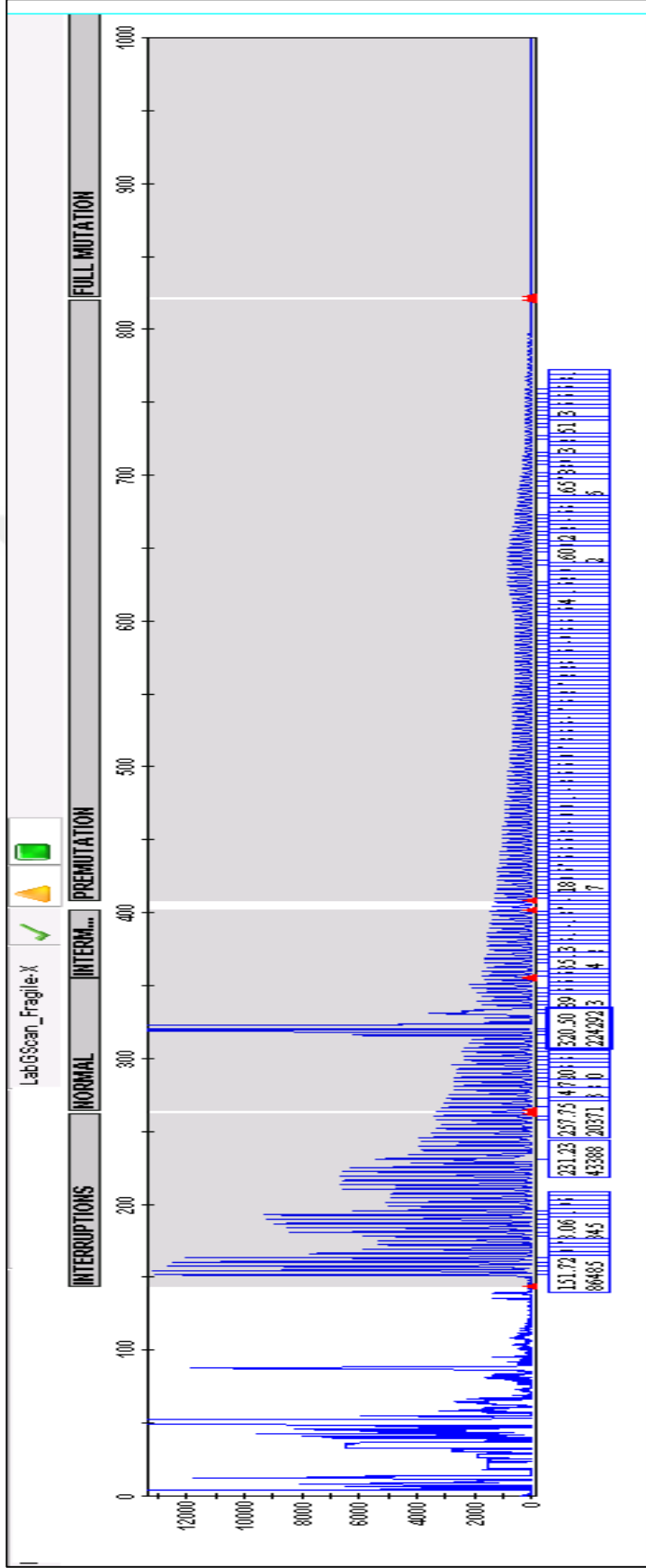
Şekil 12. 30 ve 52 CGG tekrar sayılı alelleri, 2 AGG kesintisi olan female hastada Gene Mapper analiz görüntüsü



Şekil 13. 27 ve 90 CGG tekrar sayılı alelleri, 2 AGG kesintisi olan female hastada Gene Mapper analiz görüntüsü

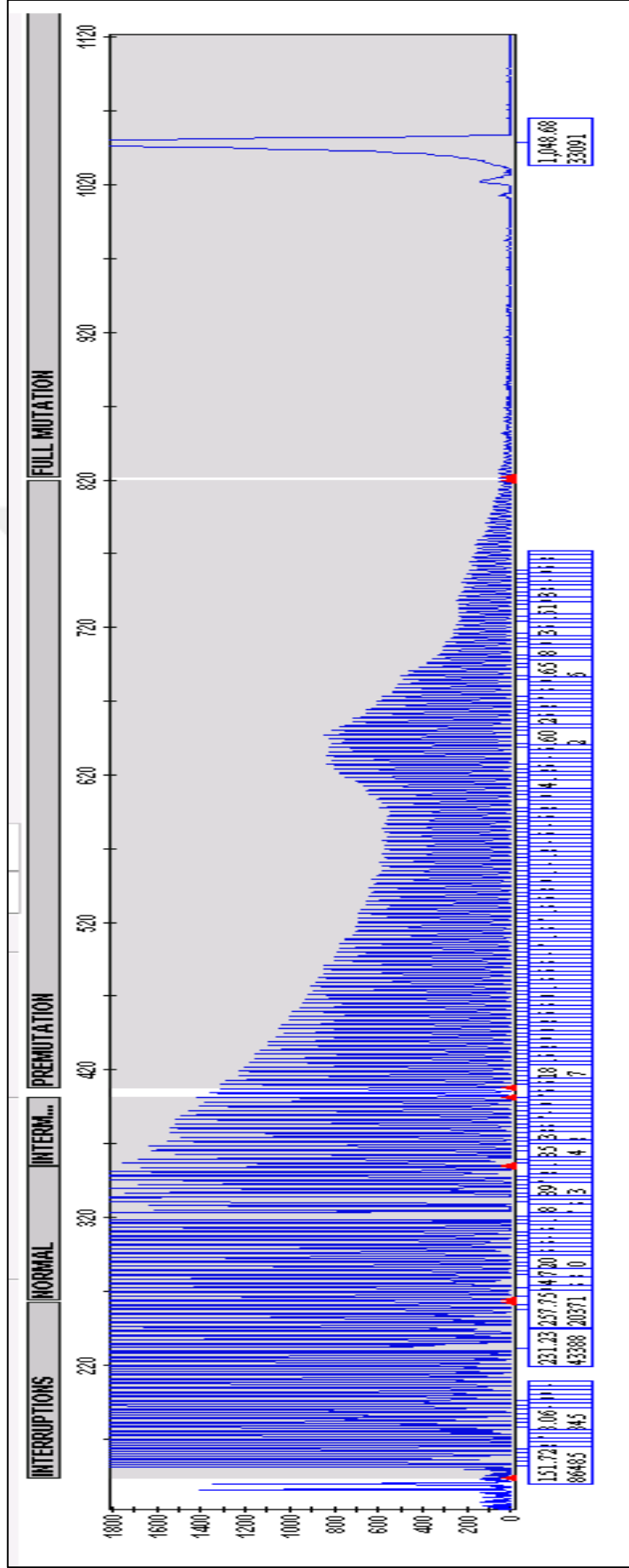


Şekil 16. 157, 188 ve >200 CGG tekrar sayılı aleller ile 0 AGG kesintisine sahip full mutant mozaik male hastada Gene Mapper analiz görüntüleri



Şekil 17. 30 ve >200 CGG tekrar sayılı alelleri, 2 AGG kesintisi olan mozaik female hastada Gene Mapper analizi görüntüsü

Not: Hastaya ait full mutant ve Premutant piklerin büyütülmüş görüntüleri bir sonraki resimde



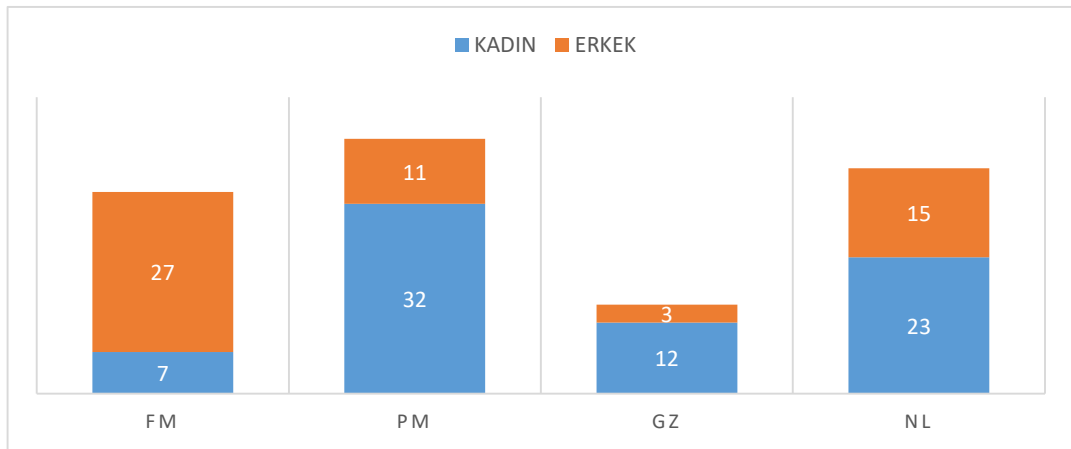
Sekil 18. Full mutant mozaik female hastada, 132 ve >200 CGG tekrarlarına ait Gene Mapper analiz görüntüsü

4.BULGULAR

Bu çalışmada FMR1 geninde CGG tekrar sayısı 40 ve üzeri olan yaşları prenatal dönem ile 81 yaş arası değişen 130 hastanın genotip ve fenotip profili retrospektif olarak incelendi.

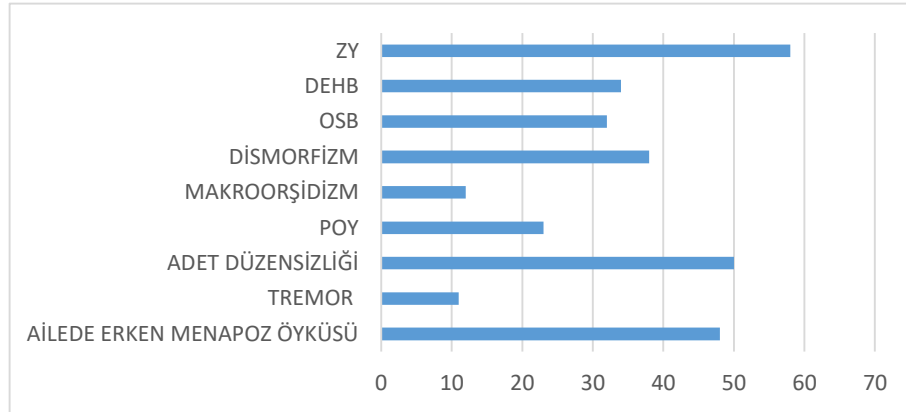
Hastaların 74'ü (%56.9) kadın, 56'sı (% 43.1) erkekti. Hasta başvurularına göre yaş dağılımı incelendiğinde, hastaların 3'ü (%2.3) fetüs, 57'si (% 43.9) çocuk ve 70 (%53.8) hastamız yetişkindi. Erkek hastalarda yaş ortalaması $15\pm17,4$; kadın hastalarda ise yaş ortalaması $27,4\pm12,4$ 'dür. Mutasyonel kategorilere göre yaş ortalamalarına bakıldığında ise; FM hastalarda $15,5\pm14,6$, PM hastalarda $31,5\pm17,2$, gri zon hastalarında $22,4\pm10,8$ ve normal alel aralığında bulunan hastalarda $16,7\pm11,7$ bulunmuştur. Hastaların 34'ü (%26.2) FM, 43'ü (%33.1) PM, 15'i (%11.5) gri zon ve 38'i (%29.2) normal alel aralığındaydı. 27 (%21.6) hastada sıfır, 15 (%12) hastada bir, 60 (%48) hastada iki, 17 (%13.6) hastada üç, 6 (%4.8) hastada ise 4 AGG kesintisi saptandı. 58 (%45.7) hastada ZY, 34 (%26.8) hastada DEHB, 32 (%25.2) hastada ise OSB mevcuttu. 38 (%29.9) hastada FXS düşündürülen dismorfizm bulguları, erkek hastalardan 12 (%21.4) hastada makroorşidizm vardı. 23 (%33.8) kadın hastada POY, 50 (%73.5) kadın hastada adet düzensizliği, 11 (%8.6) hastada ise tremor vardı. 48 hastanın ailesinde erken menapoz öyküsü mevcuttu. Tüm hastaların mutasyonel kategori ve cinsiyete göre ayrımı şekil 18, klinik özelliklere göre hasta sayıları şekil 19'da gösterilmiştir.

Şekil 19. Mutasyonel kategori ve cinsiyete göre hastaların dağılım grafiği



Not: FM: full mutant , PM:premutant, GZ: gri zon , NL: normal alel

Şekil 20. Klinik özelliklere göre hastaların dağılımı



Not: ZY:Zihinsel yetersizlik, DEHB:Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, OSB: Otizm spektrum bozukluğu, POY:Prematür ovaryan yetmezlik

34 FM hastanın 27'si (%79) erkekti. Full mutant erkeklerin başvuru yaş dağılımı incelendiğinde 1 fetus, 23 çocuk, 3 yetişkin hasta vardı. 1 fetus dışlandığında tüm erkek hastalarda ZY vardı. Mevcut full mutasyon tanılarına ek olarak, 19 (%73) hastada DEHB, 17 (%65) hastada OSB vardı. Bu hastaların ek psikiyatrik hastalıklar açısından ilaç kullanım durumu bilinmiyordu. FM erkeklerde, 21 (%77) hastada FXS düşündürülen dismorfik bulgular, 12 (%44) hastada ise makroorşidizm vardı. Ayrıca 2 hastada tremor vardı ve her iki hasta da çocuktur.

Fetüsün annesinde full mutasyon olması nedeni ile amniyosentez işlemi uygulanmış, CGG tekrar sayısına göre full mutasyon saptanması üzerine aile kararı ile termine edilmişti. 5 çocuk ve 2 yetişkin hasta aile taraması, 18 çocuk ve 1 yetişkin hasta ise ZY nedeni ile kliniğimize başvuruda bulunmuştu.

FM erkek hastaların AGG kesinti sayıları incelendiğinde, 20 hastada sıfır, 5 hastada bir, 2 hastada ise iki AGG tekrarı vardı. 12 (%44) hastada size mosaisizmi saptandı. Mosaisizm saptanan tüm FM erkek hastalar full mutasyon-premutasyon mosaisizmine sahipti.

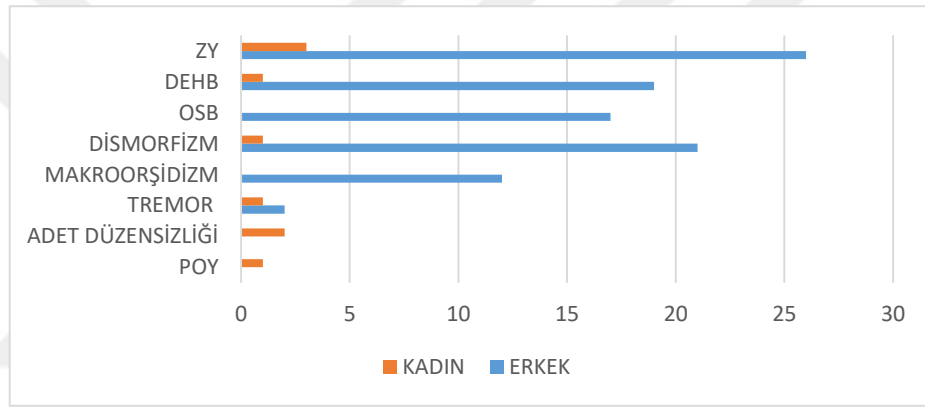
FM kadın hasta sayısı 7'dir. Bu hastaların 5'i yetişkin 2'si çocuktur. 2 çocuk ve 1 yetişkin olmak üzere toplamda 3 (%42) FM kadın hastada ZY vardı. 2 yetişkin hastada ise ZY tanısı bulunmamasına rağmen tıbbi genetik dosya notlarında mental durum muayene sonuçları şüpheliydi. 1 (%14) FM kadın hastada FXS fenotipik bulgusu vardı. Aynı hasta DEHB ile çocuk psikiyatri kliniğinde takipliydi. FM kadın

hastaların ikisinde (%28) etyolojisi bilinmeyen adet düzensizliği, bu hastalardan birinde aynı zamanda tremor öyküsü vardı.

FM kadın hastalarda; 5 yetişkin ve 1 çocuk hasta aile taraması, 1 çocuk hasta ise zihinsel yetersizlik nedeni ile tanı aldı.

FM kadın hastaların AGG kesinti sayıları incelendiğinde, 6 hastada iki, bir hastada üç AGG kesintisi vardı. 4 (%57) FM kadın hastada size mosaisizmi saptanmıştır ve bu hastaların her biri full mutasyon-premutasyon mosaisizmine sahiptir. FM hastalarda klinik özelliklere göre dağılım şekil 20’de gösterilmiştir.

Şekil 21. FM hastalarda klinik özelliklerin dağılımı



Not: ZY:Zihinsel yetersizlik, DEHB:Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, OSB:Otizm spektrum bozukluğu, POY:Prematür ovaryan yetmezlik

32’si (%74) kadın, 11’i (%26) erkek 43 hastada premutasyon taşıyıcılığı vardı. PM kadın hastaların başvuru anındaki yaş dağılımı incelendiğinde; 2 hasta çocuk, 30 hasta yetişkindi. Aile taraması nedeni ile gelen kadın hastaların 13’ünün çocuklarında FXS vardı. PM kadın hastalardan yalnızca birinde ZY varken, 20 (%62) hastada adet düzensizliği, 15 (%47) hastada POY vardı. PM kadın hastaların ilk adet yaşı ortalaması 12.9’dur. Bu hesaplama ergenliğe girmemiş bir hasta ve ilk adet yaşı bilinmeyen iki hasta dahil edilmemiştir. İnfertilite kaynaklı yardımcı üreme tekniği/ hormon replasman tedavisi gören 7 (% 21) hasta vardı. Mevcut yaşları 31 ve 26 olan iki kadın hastada nedeni bilinmeyen tremor vardı. PM kadın hastaların hiçbirinde DEHB veya OSB tanısı yoktu.

PM kadın hastaların geliş endikasyonları incelendiğinde; 29 hasta aile taraması, 3 hasta adet düzensizliği/infertilite nedeni ile başvurmuştu.

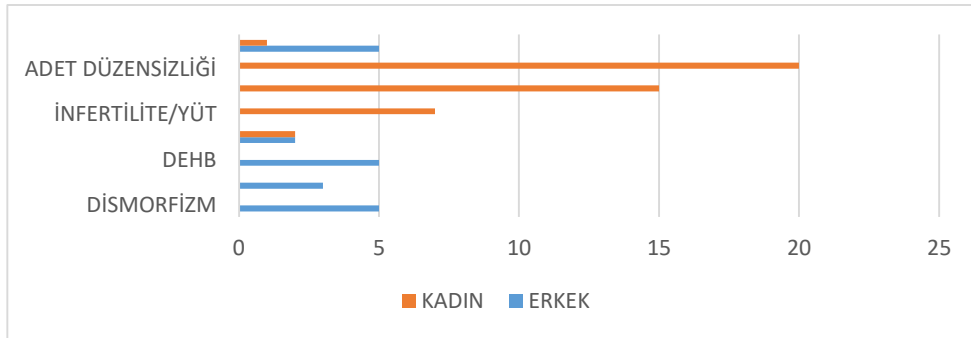
PM kadın hastaların AGG kesintileri incelendiğinde, 2 hastada sıfır, 4 hastada bir, 23 hastada iki, 3 hastada üç AGG kesintisi vardı. 20 PM (% 62) kadın hastada *size* mozaizmi saptandı. Bu hastalardan 2'sinde premutasyon-gri zon mozaizmi; 1'inde premutasyon-gri zon-normal alel mozaizmi, kalan hastalarda ise premutasyon-premutasyon mozaizmi vardı.

11 PM erkek hasta, başvuru anında tanı yaşlarına göre değerlendirildiğinde 6 (%54) hasta çocuk, 5 (%46) hasta yetişkindi. 1 yetişkin ve 4 çocuk toplamda 5 PM erkek hastada FXS düşündürülen dismorfizm bulgusu vardı. 5 PM erkek hasta DEHB ile, 3 PM erkek hasta ise OSB ile takipliydi. OSB'si olan tüm hastaların aynı zamanda DEHB tanısı da vardı. Yaşları 66 ve 67 olan aralarında akrabalık bulunmayan iki PM erkek hastada intansiyonel tremor vardı. Her iki hasta da aile taraması nedeniyle başvurduğunda hareket bozukluğu nedeniyle nöroloji polikliniğinde takipli oldukları öğrenildi.

PM erkek hastalardan; 7 hasta aile taraması, 4 hasta ise ZY nedeni ile kliniğimize başvurmuştu.

PM erkek hastaların AGG kesintileri incelendiğinde; 6 hastada sıfır, 2 hastada bir ve 3 hastada iki AGG kesintisi mevcuttu. 8 (%72) hastada *size* mozaizmi saptandı. Bu hastalardan 1 hastada premutasyon-gri zon-normal alel mozaizmi, 1 hastada premutason-normal alel mozaizmi, 2 hastada premutasyon-gri zon mozaizmi kalan hastalarda ise premutasyon-premutasyon mozaizmi vardı. PM hastalarda klinik özelliklere göre dağılım şekil 21'de gösterilmiştir.

Şekil 22. PM hastalarda klinik özelliklere göre dağılım



Not: ZY:Zihinsel yetersizlik, DEHB:Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, OSB:Otizm spektrum bozukluğu, POY:Prematür ovaryan yetmezlik

3'ü (%20) erkek, 12'si (%80) kadın olmak üzere 15 hasta gri zondaydı. Bu hastaların 5'i çocuk, 10'u yetişkin dönemde başvurmuştu.

Gri zon kadın hastalardan 3'ünde ZY, 1'inde DEHB vardı. DEHB ile takipli hastada aynı zamanda ZY mevcuttu. 10 hastada adet düzensizliği, 2 hastada POY, mevcut yaşı 37 olan bir hastada tremor vardı. Hastaların AGG kesintileri incelendiğinde; 1 hastada sıfır, 2 hastada bir, 5 hastada iki, 1 hastada üç, 3 hastada ise 4 AGG kesintisi vardı.

Gri zonda bulunan kadın hastaların geliş endikasyonları incelendiğinde, 9 hasta adet düzensizliği, 1 hasta infertilite, 1 hasta ZY, 1 hasta ise ailede ZY öyküsü ile başvurmuştu.

Gri zonda bulunan erkek hastaların ikisi ZY, bir tanesi ise dismorfik bulgu nedeniyle çocukluk döneminde başvurmuştu. Toplamda iki hastada FXS düşündüreren dismorfik bulgular vardı. 1 gri zon erkek hastada DEHB tanısı vardı. Hastaların hepsinde iki AGG kesintisi saptandı.

38 hasta, 40 ve üzeri CGG tekrar sayısı ile normal alel aralığındaydı. Cinsiyete göre dağılımda, 15 (%40) erkek ve 23 (%60) kadın hasta vardı. Bu hastaların başvuru anında yaş dağılımında ise 2 fetus, 17 çocuk, 19 yetişkin hasta vardı.

ZY bulunan normal alel aralığında kız çocuk hastalardan 5 hastada ZY, 2 hastada DEHB, 4 hastada OSB vardı. 2 çocuk ve 16 yetişkin toplam 18 normal alel kadın hastada adet düzensizliği vardı. 9 hastada infertilite, 5 hasta POY, yaşları 23, 24 ve 48 olan üç hastada tremor vardı. Bu gruptaki kadın hastaların AGG kesintileri incelendiğinde; 1 hastada sıfır, 9 hastada iki, 11 hastada üç, 2 hastada ise dört AGG kesintisi vardı.

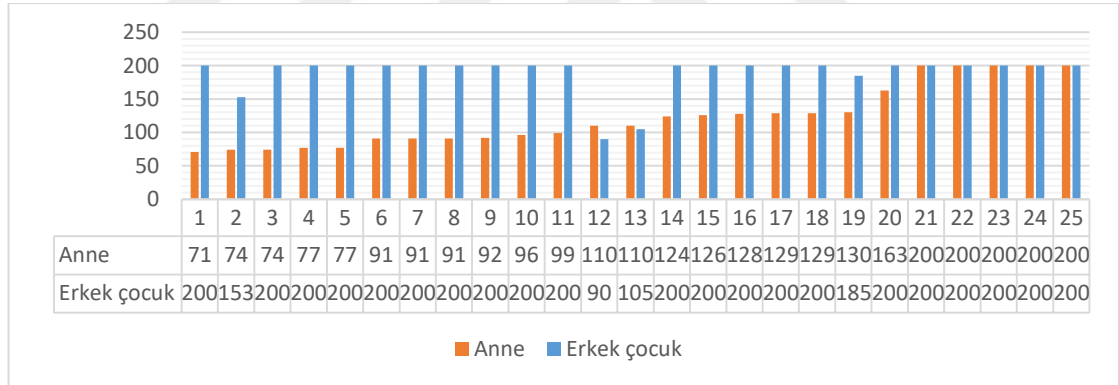
Normal alel aralığında kadın hastaların geliş nedeni incelendiğinde, yetişkin dönemde başvuran hastaların hepsi adet düzensizliği, 5 çocuk hasta ZY ve 1 çocuk hasta OSB nedeniyle konsülte edilmişti. Her 2 fetüse de annelerinde adet düzensizliği olması ve ailede ZY öyküsü varlığı nedeni ile test yapılmıştı. Fetüslardan biri erkek diğeri kız cinsiyetteydi.

1'i fetüs, 1'i yetişkin ve 13'ü çocuk toplamda 15 erkek hasta normal alel aralığındaydı. Normal alel aralığında 13 hastada ZY, 6 hastada OSB, 5 hastada

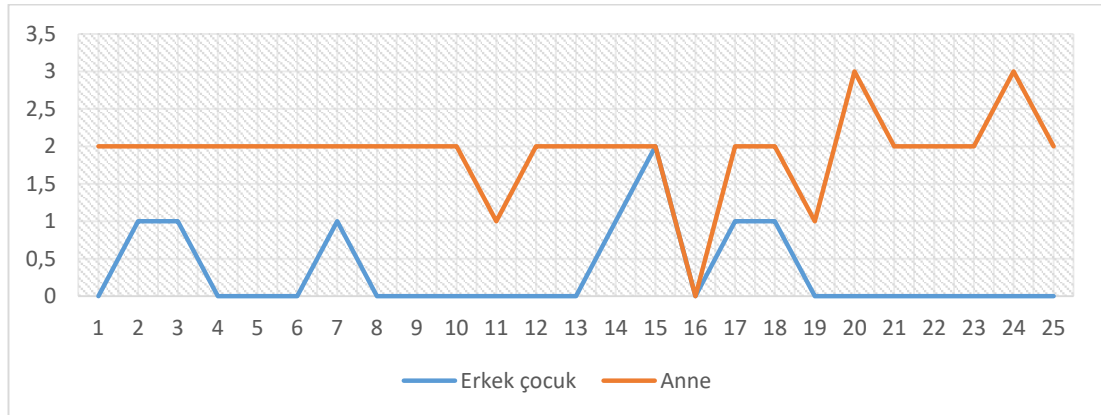
DEHB tanısı vardı. 7 hastada FXS düşündürülen dismorfik bulgular vardı. Bu gruptaki erkek hastaların AGG kesintisi incelendiğinde; 1 hastada bir, 9 hastada iki, 1 hastada üç, 1 hastada dört AGG kesintisi vardı. 3 hastanın AGG kesinti sayısı bilinmiyordu. 1 yetişkin ve 12 çocuk hasta ZY, 1 çocuk hasta ise OSB ile kliniğimize başvurmuştu. 4'ü geniş (1 aile haricinde en az üç kuşakta aktarım paterni incelenen) ve 17'si çekirdek aile olmak üzere toplamda 21 aile taraması yapılmıştır. Segregasyon analizinde 21 anne ve 25 erkek çocuk, 5 baba ve 13 kız çocuk CGG tekrar sayıları ve AGG sayıları değerlendirilmiştir.

Anne-oğul aktarımları incelendiğinde, CGG tekrar sayılarının anneden oğula geçişlerde artış gösterdiği, şekil 22'ye göre 12 ve 13 numaralı geçişte CGG tekrar sayısında azalma olduğu saptanmıştır. AGG kesintilerinde anneden oğula geçişlerde azalma/kayıp yaşandığı, şekil 23'e göre 15 ve 16 numaralı geçişte ise AGG kesinti sayısının aynı kaldığı saptanmıştır. (Şekil 22 ve 23)

Şekil 23. Anne oğul CGG tekrar sayısı segregasyonu

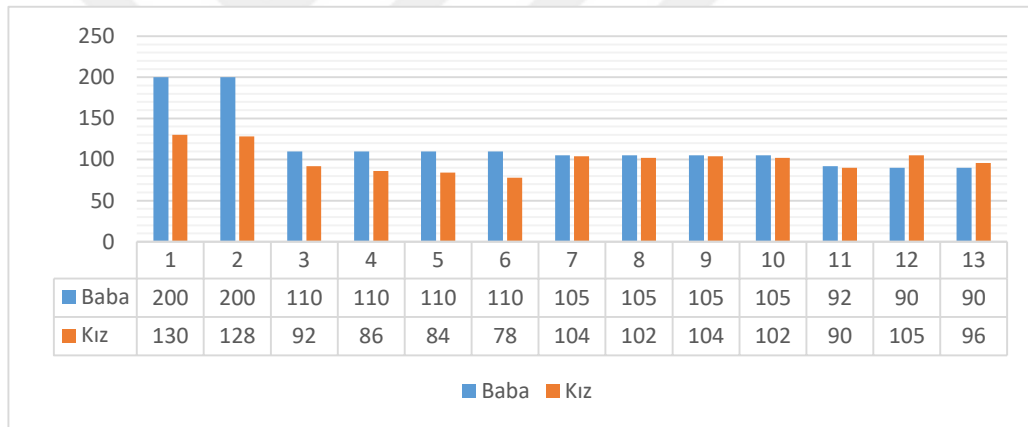


Şekil 24. Anne oğul AGG kesintisi segregasyonu

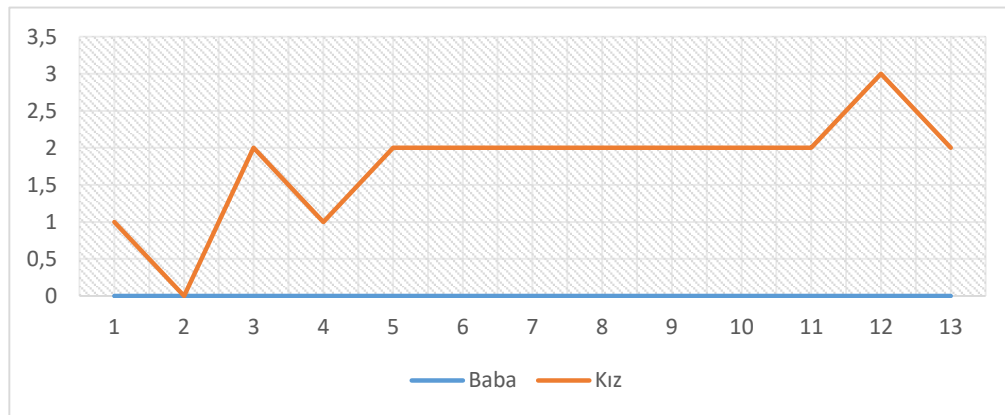


Baba kız aktarımları incelendiğinde ise CGG tekrar sayısının genellikle babadan kız çocuğuna geçişlerde azaldığı, FM iki aktarımın da premütasyonla sonuçlandığı, şekil 24'e göre 12 ve 13 numaralı geçişlerde ise CGG tekrar sayısının artış gösterdiği saptandı. 12 ve 13 numaralı geçişe ait ebeveynin aynı kişi olduğu bilinmekte olup, bu ebeveyne ait analizde babada size mozaizmi bulunduğu saptanmıştır. Hastanın majör CGG tekrar sayısı 90 olup, 77 CGG tekrar sayısına sahip mozaik piki bulunmaktadır. AGG kesintileri değerlendirmesinde tüm babalarda sıfır AGG kesintisi vardı. Kızlara ait AGG kesinti sayısı şekil 25'e göre 2 numaralı geçiş haricinde babaların AGG sayısından fazlaydı. 2 numaralı geçişte baba ve kızı sıfır AGG kesintisine sahiptir. Bu gruptaki kızların annelerine ait AGG kesinti sayısı bilinmemektedir.

Şekil 25. Baba kız CGG tekrar sayısı segregasyonu



Şekil 26. Baba kız AGG kesinti sayısı segregasyonu



Çalışma grubumuzdaki hastalarda 3 kuşak segregasyon analizi yapılmış 3 aileye ait CGG tekrar sayısı değişimi tablo 14’de gösterilmiştir.

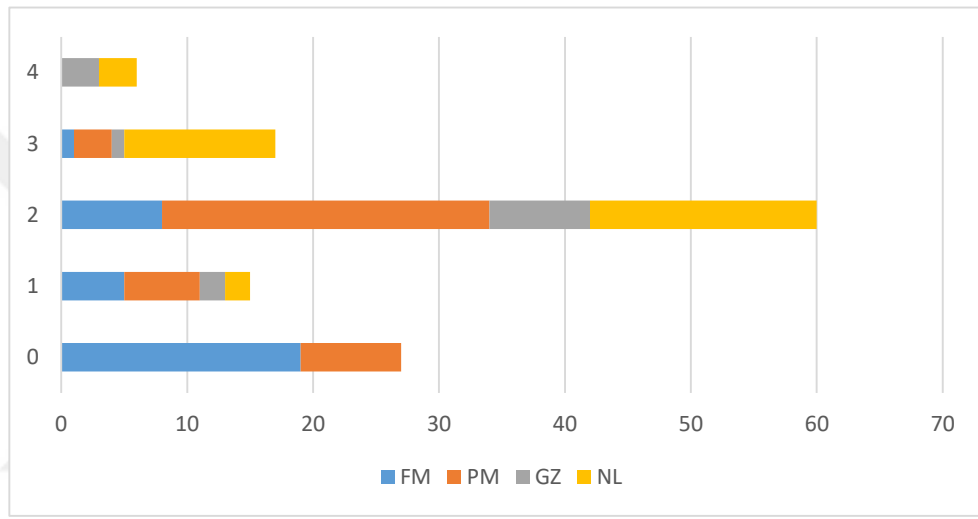
Tablo 13. Geniş ailelerde CGG segregasyonu

1.kuşak	2.kuşak	3.kuşak	4.kuşak
1)MB. (110)-male Mozaik (40,50)	1.1)NA. (46,92)-female Regüler 1.2)DA. (44,86)-female Regüler 1.3)MU. 46,84)-female Regüler 1.4)ŞÇ. (31,78)-female Mozaik (65)	1.1.1)AA. (>200)-male Regüler	
2)ZK. (37,77)-female Regüler	2.1)MK. (>200)-male Regüler 2.2)AK. (>200)-male Mozaik (122)	2.1.1)FD. (38,130)-female Regüler 2.1.2)MS. (39,128)-female Regüler	2.1.1.1)ED. (185)-male Mozaik (90) 2.1.2.1)AS. (>200)-male Regüler
3)CB. (29,110)-female Mozaik (39,47,61,85)	3.1)HB. (105)-male Mozaik (93) 3.2)İ.B. (90)-male Mozaik (77)	3.1.1)KB. (30,102)-female Mozaik (144) 3.1.2)SB. (29,104)-female Mozaik (139) 3.1.3)HB. (28,104)-female Mozaik (142) 3.1.4)S.Ç. (30,102)-female Mozaik (143) 3.2.1)D.B (37,105)-female Mozaik (55) 3.2.2)M.B. (30,96)-female Mozaik (52,63)	

Not: Tablo 14’de bahsi geçen regüler ifadesi hastalarda size mozaizizm varlığının saptanmamış olması, mozaik ifadesi ise size mozaizizm saptandığı anlamına gelmektedir. Ayrıca mozaizizm saptanan hastalarda hasta isminin yanında parantez içinde belirtilen CGG tekrar sayıları, analiz sonucunda elde edilmiş baskın piklere ait tekrar sayılarını; alt satırlarda belirtilen CGG tekrar sayıları ise mozaizizm saptanan piklere ait CGG tekrar sayılarını belirtmektedir.

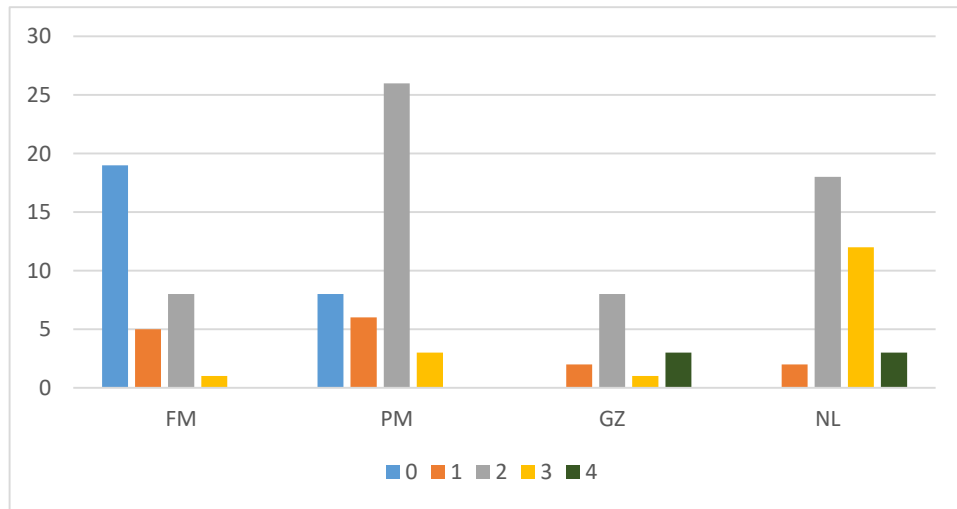
5 hastaya ait AGG sayısı bilinmiyordu. 25'i erkek olmak üzere 27 hastada sıfır AGG kesintisi vardı. Sıfır AGG sayısı olan hastaların hepsi FM ve PM'dı. 8 erkek ve 7 kadın toplam 15 hastada bir AGG kesintisi vardı. 43'ü kadın 60 hastada iki AGG kesintisi vardı. İki AGG kesintisi olan hastalar (n:25) en sık PM aralığıydı. 16 kadın ve 1 erkek hastada üç AGG kesintisi vardı. Üç AGG kesintisi olan hastaların %64'ü (n:11) normal alel aralığındaydı. 5 kadın ve 1 erkek hastada dört AGG kesintisi vardı. Bu hastaların her biri gri zon ve normal alel aralığındaydı. (Şekil 26-27)

Şekil 27. AGG sayılarına göre hastaların dağılımı



Not: FM: full mutant, PM:premutant, GZ: gri zone , NL: normal alel aralığı

Şekil 28. Mutasyonel kategorilere göre AGG kesinti sayısının değişimi



Not: FM: full mutant, PM:premutant, GZ: gri zone , NL: normal alel aralığı

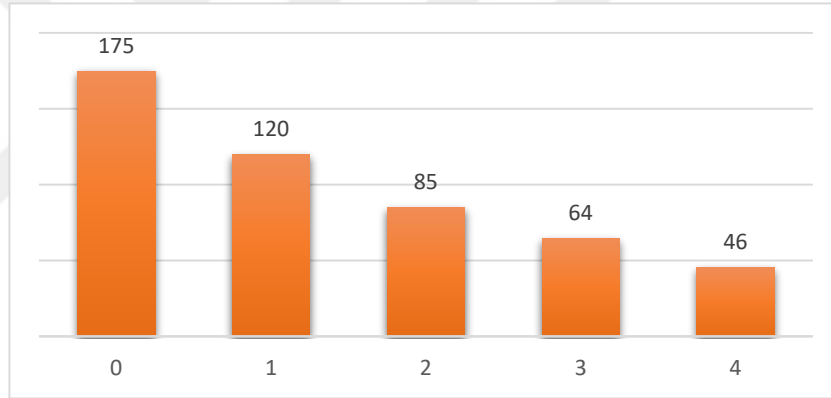
Hastaların CGG tekrar sayıları ve AGG sayısı değerlendirildiğinde, aralarında negatif yönlü orta şiddetli korelasyon bulunmaktadır (Spearman's rho : -0,604, $p < 0,001$) (Tablo 15). Bu sonuç, CGG değeri arttıkça AGG sayısının azaldığı veya CGG değeri azaldıkça AGG sayısının arttığı anlamına gelmektedir. AGG sayısı gruplarına göre hastaların CGG ortalamaları şekil 28'de gösterilmektedir.

Tablo 14. CGG tekrar sayıları ve AGG sayısı arasındaki korelasyon durumları

CGG Tekrar Sayısı	CGG Tekrar Sayısı		AGG sayısı
	r	1,000	-,604
AGG sayısı	p		,000
	n	130	125
	r	-,604	1,000
CGG Tekrar Sayısı	p	,000	
	n	125	125

Not: r=Spearman's rho korelasyon kat sayısı

Şekil 29. AGG sayısı gruplarına göre CGG tekrar ortalamaları



44 hastada size mozaisizm saptanmıştır. 20 hasta erkek ve 24 hasta kadın cinsiyettedir. Bu hastaların dağılımı incelendiğinde hastaların hepsi FM (n:16) ya da premutasyon taşıyıcısıdır (n:28). Gri zon ve normal alel aralığında size mosaisizmi saptanan hasta yoktur.

Mozaik hastalarda saptanan minimum CGG tekrar sayısı; PM kadınlarda 39, PM erkeklerde 40, FM kadınlarda 80, FM erkeklerde 57'dir. Tablo 16'da tüm mozaik hastalara ait cinsiyet ve CGG tekrar sayıları belirtilmiştir.

Tablo 15. Mozaik hastalarda cinsiyet ve CGG tekrar sayısı

Hasta adı	Cinsiyeti	Allel 1	Allel 2	Pik saptanan diğer aleller
Y.R.A	Erkek	>200		135, 185
R.C.E	Erkek	>200		99, 117
A.B.	Erkek	>200		139
M.T.	Erkek	>200		57
M.Ö.	Erkek	>200		139, 175
B.K.	Erkek	>200		180
A.B.	Erkek	>200		147
N.Y.F.	Erkek	>200		157, 188
A.K.	Erkek	>200		122
M.K.T.	Erkek	>200		81
A.Y.Y.	Erkek	>200		102, 111
M.B.G.	Erkek	>200		142
H.U.	Kadın	30	>200	80, 161
N.Y.	Kadın	30	>200	132, 169
İ.B.U.	Kadın	32	>200	98
Y.B.	Kadın	28	>200	89
S.A.	Erkek	55		41
Ç.İ.	Erkek	59		45
Ö.K.	Erkek	76		53
İ.B.	Erkek	90		77
H.B.	Erkek	105		93
M.B.	Erkek	110		40, 50
M.T.	Erkek	151		130
E.D.	Erkek	185		90
Ö.K.	Kadın	31	57	76
Ş.Ç.	Kadın	31	78	65
E.Ç.	Kadın	35	84	68
S.G.	Kadın	25	88	73
F.A.	Kadın	31	90	62, 75
N.K.	Kadın	30	91	46, 55
M.B.	Kadın	30	96	52, 63
G.T.	Kadın	31	96	82
Y.Ö.	Kadın	23	99	71
H.Ş.	Kadın	30	99	66
S.Ç.	Kadın	30	102	143
K.B.	Kadın	30	102	144
S.B.	Kadın	29	104	139
H.B.	Kadın	28	104	142
D.B.	Kadın	37	105	55
C.B.	Kadın	29	110	39, 47, 61, 85
Z.A.	Kadın	33	126	80, 100
N.G.	Kadın	31	129	116
N.G.	Kadın	31	129	116
M.S.	Kadın	32	163	117

Mozaisizm saptanan hastalarda her iki mutasyon grubunda ayrı ayrı cinsiyete göre hasta oranları Fisher's Exact Test uygulanarak değerlendirilmiştir. Testin sonucuna göre FM ve PM hastalarda mozaiklik durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 17).

Tablo 16: FM ve PM hastaların cinsiyete göre mozaiklik durumlarının karşılaştırılması:

			Mozaik olan n(%)	Mozaik olmayan n(%)	Total	p
Full mutant	Cinsiyet	E	12(%75)	15(%88,2)	27	0,98
		K	4(%25)	2(%11,8)	6	
	Total		16	17	33	
Premutant	Cinsiyet	E	8(%28,6)	3(%20)	11	0,719
		K	20(%71,4)	12(%80)	32	
	Total		28	15	43	

Not: E:erkek, K:kadın

PM kadın hastalarda mozaisizm varlığına göre POY ve adet düzensizliği durumları karşılaştırıldı. Mozaisizm ve POY karşılaştırmasında Continuity Correction test, Mozaisizm ve adet düzensizliği karşılaştırmasında ise Fisher's Exact test uygulandı. PM kadınlarda mozaisizme göre hem POY ($\chi^2=0,262$, $p=0,0609$) hem de adet düzensizliği arasında ($p=0,706$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

3 fetusa ait mental statü dışlandığında; hastaların %45.6'sında (n:58) ZY vardı. Bu hastaların mutasyonel kategoriye göre dağılımı incelendiğinde; 29 (%50) hasta FM, 6 (%10) hasta PM, 5 (%9) hasta gri zon ve 18 (%31) hasta normal alel aralığındaydı. Hastaların 46'sı erkek ve 12'si kadındı. ZY saptanan hastaların %84'ü (49) çocuk, %16'sı (9) yetişkindi.

Mutasyonel kategorilere bağlı olarak hastaların ZY durumları FM hastalar ile PM, gri zon ve normal alel grupları arasında karşılaştırıldı. FM ve gri zonda bulunan ZY olan hasta sayıları arasındaki farkı değerlendirmek için Fisher's Exact test uygulandı. Test sonuçlarına göre, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$) (Tablo 18). FM ve normal alel aralığındaki ZY'li bulunan hasta sayıları arasındaki farkı değerlendirmek için Continuity Correction Test uygulandı. Test sonuçlarına göre, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($\chi^2=9,697$ $p=0,002$) (Tablo 19). FM ve PM kategoride bulunan ZY'si olan hasta sayıları arasındaki farkı değerlendirmek için Continuity Correction Test uygulandı. Test sonuçlarına göre, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($\chi^2=38,149$ $p<0,001$) (Tablo 20). FM grupta ZY bulunan hasta sayısının, hem PM, hem gri zon hem de normal alel grubuna göre yüksek çıkması istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Tablo 17. FM ve gri zonda olan hastaların ZY durumlarının karşılaştırılması.

		Full Mutant n(%)	Gri Zon n(%)	Total	p
ZY	var	29 (%87,9)	5 (%33,3)	34	<0,001*
	yok	4 (%12,1)	10(%66,7)	14	
Total		33	15	48	

* Fisher's Exact testi uygulandı.

ZY: Zihinsel yetersizlik

Tablo 18. FM ve normal alel olan hastaların ZY durumlarının karşılaştırılması.

		Full Mutant n(%)	Normal Alel n(%)	Total	İstatistik	p
ZY	var	29(%87,9)	18(%50)	47	$\chi^2=9,697$	0,002*
	yok	4(%12,1)	18(%50)	22		
Total		33	36	69		

* Continuity Correction testi uygulandı.

ZY: Zihinsel yetersizlik

Tablo 19. FM ve PM hastaların ZY durumlarının karşılaştırılması.

		Full mutant n(%)	Premutant n(%)	Total	İstatistik	p
ZY	var	29(%87,9)	6(%14)	35	$\chi^2=38,149$	<0,001
	yok	4(%12,1)	37(%86)	41		
Total		33	43	76		

* Continuity Correction testi uygulandı.

ZY: Zihinsel yetersizlik

3 fetus dışlandığında, hastaların %26'sı (n:34) DEHB ile takipliydi. Bu hastaların dağılımı incelendiğinde; %58'i (n:20) FM, 5'i (%14,7) PM, 2'si (%5.8) gri zon ve 7'si (%12) normal alel aralığındaydı. 25 (%73.5) çocuk ve 9 (%26.5) yetişkin hasta vardı. Cinsiyete göre değerlendirmede, erkek hastalar (n:30) çoğunlukta idi. DEHB ile takipli hastalarda FM, PM ve diğer iki kategorideki (normal alel+gri zon) hasta sayıları arasındaki farkı değerlendirmek için Continuity Correction Test uygulandı. Test sonuçlarına göre, FM hastalarda DEHB görülme oranı ile FM olmayan hastalardaki DEHB oranı karşılaştırıldığında; her iki grup arasında saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. PM hastalarda DEHB görülme oranı ile PM olmayan hastalardaki DEHB oranı karşılaştırıldığında da; her iki grup arasında saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($\chi^2=23,755$, $p<0,001$, $\chi^2=6,482$ $p=0,011$,) (Tablo 21).

Tablo 20. DEHB olan hastaların FM, PM ve diğer (gri zon+normal alel) aralıkta olup olmama durumlarına göre karşılaştırılması.

		DEHB		Total	İstatistik	p
		Var n(%)	Yok n(%)			
Full mutant	var	20(%58,9)	13(%14)	33	$\chi^2=23,755$	<0,001
	yok	14(%41,1)	80(%86)	94		
Total		34	93	127		
Premutant	var	5(%14,7)	38(%40,9)	43	$\chi^2=6,482$	0,011
	yok	29(%85,3)	55(%59,1)	84		
Total		34	93	127		
GZ+NA	var	9(%26,4)	42(%45,2)	51	$\chi^2=2,883$	0,089
	yok	25(%73,6)	51(%54,8)	76		
Total		34	93	127		

* Continuity Correction testi uygulandı.

DEHB=dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, GZ+NA: Gri zon ve normal alel aralığı

32 (%24.6) hastada OSB tanısı vardı (3 fetus değerlendirmeye dahil edilmemiştir). Bu hastalardan 17 (%53) hasta FM, 3 (%9) hasta PM, 2 (%6) hasta gri zon ve 10 (%31) hasta ise normal alel aralığındaydı. Cinsiyete göre ayırmda hastaların %87.5'u (n:28) erkekti. OSB tanısı olan erkek hastalar çoğunlukla FM ve PM iken, kadın hastaların hepsi normal alel aralığındaydı. Ayrıca hastaların başvuru yaş dağılımı incelendiğinde %90'ı (n: 29) çocuktu.

Mutasyonel kategorilere göre OSB hasta sayıları arasındaki farkı değerlendirmek için, FM-PM, FM-gri zon ve FM-normal alel aralığında hastalar Continuity Correction Test ile karşılatırıldı. Test sonuçlarına göre, FM hastalarda OSB hasta sayısı, hem PM ($\chi^2=15,395$ p<0,001) (Tablo 22) hem de gri zonda ($\chi^2=4,791$ p=0,029<0.05) (Tablo 23) bulunan OSB hasta sayısına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıktadır. FM ve normal alel aralığında bulunan hastalarda OSB olan hasta sayıları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı değildir ($\chi^2=3,137$ p=0,077) (Tablo 24).

Tablo 21. FM ve PM hastaların OSB durumları açısından karşılaştırılması

		Full mutant n(%)	Premutant n(%)	Total	İstatistik	p
OSB	var	17(%51,6)	3(%7)	20	$\chi^2=15,395$	<0,001*
	yok	16(%49,4)	40(%93)	56		
Total		33	43	76		

* Continuity Correction testi uygulandı.

OSB: Otizm spektrum bozukluğu

Tablo 22. FM ve gri zondaki hastaların OSB durumları açısından karşılaştırılması

		Full mutant n(%)	Gri zon n(%)	Total	İstatistik	p
OSB	var	17(%51,6)	2(%13,3)	19	$\chi^2=4,791$	0,029
	yok	16(%49,4)	13(%86,7)	29		
Total		33	15	48		

* Continuity Correction testi uygulandı.

OSB:Otizm spekturum bozukluğu

Tablo 23. FM ve normal aleldeki hastaların OSB durumları açısından karşılaştırılması

		Full mutant n(%)	Normal n(%)	Total	İstatistik	p
OSB	var	17(%51,6)	10(%27,8)	27	$\chi^2=3,137$	0,077
	yok	16(%49,4)	26(%72,2)	42		
Total		33	36	69		

* Continuity Correction testi uygulandı.

OSB: Otizm spektrum bozukluğu, Normal: Normal alel aralığı

38 hasta FXS düşündürücü fenotipe (uzun ince yüz, kepçe kulak..vb) sahipti. Bu hastaların 36'sı (%95) erkek, 2'si (%5) kadındı. Hastalar mutasyonel durumlarına göre gruplandırıldığında; hastaların %58'i (n:22) FM'ydi. 5 (%13) hasta PM, 3 (%8) hasta gri zon ve 8 (%21) hasta da normal alel aralığındaydı. Hastalarda mutasyonel duruma göre fenotipik bulgu saptanan hasta sayısı değişimi FM ve diğer üç kategorideki hastalarda ayrı ayrı Continuity Correction Test uygulanarak karşılaştırıldı. Test sonuçlarına göre FM hastalardaki FXS düşündürücü fenotipik bulgu saptanan hasta sayısı, normal alel ($\chi^2=12,090$, $p=0,001$) (Tablo 25), gri zon ($\chi^2=7,226$, $p=0,007$) (Tablo 26) ve PM ($\chi^2=22,349$, $p<0,001$) (Tablo 27) hastalardaki FXS düşündürücü fenotipik bulgu saptanan hastaların sayısına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıktadır.

Tablo 24. FM ve normal alel aralığında olan hastaların FXS düşündüren fenotipik bulgu açısından karşılaştırılması.

		Full mutant n(%)	Normal n(%)	Total	İstatistik	p
FB	var	22(%66,7)	8(%22,2)	30	$\chi^2=12,090$	0,001*
	yok	11(%33,3)	28(%77,8)	39		
Total		33	36	69		

* Continuity Correction testi uygulandı.

FB: FXS düşündüren fenotipik bulgular, normal: normal alel aralığı

Tablo 25. FM ve gri zondaki hastaların FXS düşündüren fenotipik bulgu açısından karşılaştırılması

		Full mutant n(%)	Gri zon n(%)	Total	İstatistik	p
FB	var	22(%66,7)	3(%20)	25	$\chi^2=7,226$	0,007*
	yok	11(%33,3)	12(%80)	23		
Total		33	15	48		

* Continuity Correction testi uygulandı.

FB: FXS düşündüren fenotipik bulgular

Tablo 26. FM ve PM hastaların FXS düşündüren fenotipik bulgu açısından karşılaştırılması

		Full mutant n(%)	Premutant n(%)	Total	İstatistik	p
FB	var	22(%66,7)	5(%11,6)	27	$\chi^2=22,349$	<0,001*
	yok	11(%33,3)	38(%88,4)	49		
Total		33	43	76		

* Continuity Correction testi uygulandı.

FB: FXS düşündüren fenotipik bulgular

Ergenliğe girmemiş hastalar ve fetuslar dışlandığında kadın hastalarda, 23 hasta POY ile takipliydi. Hastaların dağılımına bakıldığında, 15 hasta (%65) PM, 1(%4) hasta FM, 2 (%9) hasta gri zon ve 5 (%22) hasta normal alel aralığındaydı. PM hastalardaki POY oranı diğer (FM+gri zon+normal alel) hastalardaki POY oranı ile Continuity Correction testi kullanılarak karşılaştırılmış, PM grupta bu oran diğer hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta bulunmuştur (Tablo 28).

Tablo 27. PM ve diğer gruplardaki hastaların POY açısından karşılaştırılması.

		Diğer n (%)	Premutant n(%)	Total	İstatistik	p
POY	var	8(%21,6)	15(%48,4)	23	$\chi^2=4,269$	0,038*
	yok	29(%78,4)	16(%51,6)	45		
Total		37	31	68		

* Continuity Correction testi uygulandı.

POY: Prematür ovaryan yetmezlik, diğer: premutant, gri zon ve normal alel aralığında bulunan hastalar

PM hastalar alel sayılarına göre 3 farklı subgruba ayrılmış ve bunun sonucunda; 3 hasta 55-79; 10 hasta 80-99 ve 2 hasta 100-199 CGG tekrar aralığında bulunmuştur.

Tüm PM hastalarda POY olan hastaların CGG ortalaması ($90 \pm 18,39$) iken, POY negatif hastaların CGG ortalaması ($107,56 \pm 21,22$)'dır (Tablo 29).

Tablo 28. PM hastalarda POY olan ve olmayan hastalarda CGG tekrar sayısı ortalamasının karşılaştırılması

	POY	n	Med.	Min	Max	p değeri
PM	var	15,00	90	57,00	130,00	0,006*
	yok	16,00	107,56	74,00	163,00	

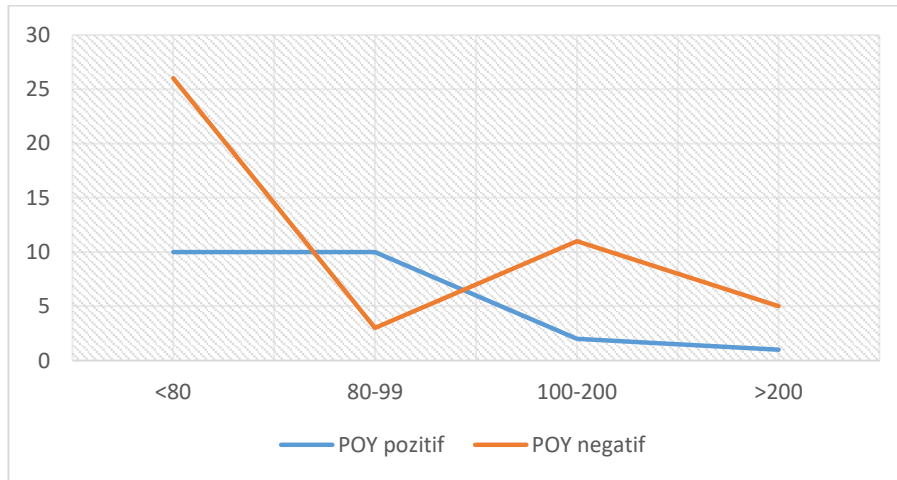
*Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

POY=erken menopoz öyküsü, PM: premutant, med:medyan

POY olan ve olmayan hastalar CGG tekrar sayılarına göre, <80, 80-99, 100-200 ve >200 CGG tekrarı olacak şekilde dört gruba ayrıldığında; POY olan hastaların çoğunlukla <80 ve 80-99 CGG tekrarı olan grupta ve eşit sayıda olduğu saptanmıştır. POY olmayan hastalarda ise maksimum hasta sayısı <80 olan grupta olup, böyle bir dağılım saptanmamıştır (şekil 29).

PM kadın hastalarda CGG tekrar sayısı 80-99 aralığında bulunan hastalar ile, CGG tekrar sayısı bu aralıkta bulunmayan PM kadın hastalardaki POY oranları Fisher Exact Test ile karşılaştırılmıştır. Test sonucuna göre 80-99 CGG tekrar aralığında bulunan hastalarda POY oranı diğer hastalardaki POY oranına yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 30).

Şekil 30. POY olan ve olmayan hastaların CGG tekrar sayısına göre gruplara dağılımı



Not: POY:Prematür ovaryan yetmezlik

Tablo 29. CGG tekrar sayısı 80-99 aralığında olan ve bu aralıkta olmayan PM hastalarda POY oranının karşılaştırması

		CGG sayısı		Total	p
		80-99 n(%)	Diğer n(%)		
POY	var	10 (%76,9)	5(%27,7)	15	0,011*
	yok	3 (%23,1)	13(%72,3)	16	
Total		13	18	31	

* Fisher's Exact testi uygulandı.

POY: Prematür ovaryan yetmezlik, diğer: 80-99 CGG tekrar sayısı haricindeki premutant kadın hastalar

Ailesinde erken menapoz öyküsü olan 48 hasta vardı. Bu hastaların %85'i, PM (n:23) ve FM (n:18) hastalardan oluşmaktadır. 3 (%6) hasta gri zon ve 4 (%9) hasta normal alel aralığındadır. Hastaların cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde, 21 hasta erkek, 27 hasta kadındır. Aile öyküsünde erken menapoz olan erkek hastaların hepsi FM veya premutasyon taşıyıcısıdır. Kadın hastalarda ise her kategoriden hasta bulunurken, bu şekilde bir dağılım saptanmamıştır.

Ergenliğe girmemiş hastalar ve fetuslar dışlandığında, 50 hastanın başvuru anında ya da takiplerinde adet düzensizliği vardı. Bu hastaların %40'ı (n:20) premutasyon taşıyıcısıdır. 18 (%36) hasta normal alel aralığında, 10 (%20) hasta gri zonda ve 2 (%4) hasta ise FM'dir. Hastaların yaş grubuna göre ayrımında, 46 hasta yetişkin (%92), 4 hasta (%8) çocuktur. PM hastalarda adet düzensizliği olan hasta sayısı ile diğer (normal alel+gri zon+FM) hastalardaki adet düzensizliği sayısı karşılaştırıldığında, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($\chi^2=0,316$, $p=0,574$) (Tablo 31).

Tablo 30. PM ve diğer gruplarda bulunan hastaların adet düzensizliği durumları açısından karşılaştırılması.

		Diğerleri n(%)	Premutant n(%)	Total	İstatistik	p
Adet d.	var	30(%71)	20(%62,5)	50	$\chi^2=0,316$	0,574*
	yok	12(%29)	12(%37,5)	24		
Total		42	32	74		

* Continuity Correction testi uygulandı.

Adet d: adet düzensizliği, diğerleri: full mutant, gri zon ve normal alel aralığında bulunan hastalar

35 PM, 17 normal alel, 10 gri zon ve 8 FM olmak üzere 70 yetişkin hastadan 22 (%31) hasta infertilite nedeniyle yardımcı üreme tekniğine başvurmuştu. Bu hastaların hepsi kadındı. 7 hasta PM, 6 hasta gri zon ve 9 hasta normal alel aralığındaydı. FM hastaların hiçbirinde infertilite öyküsü yoktu. İnfertilite saptanan hastaların yardımcı üreme tekniği yardımı ile çocuk sahibi olma durumu hakkında bilgi bulunmamaktadır.

11 hastada tremor vardı. 3 hasta FM, 4 hasta PM, 1 hasta gri zon ve 3 hasta normal alel aralığındaydı. Premutasyon taşıyıcısı iki erkek hastada tremora ek denge kaybı öyküsü vardı. Her iki hasta da nöroloji kliniğinde takipliydi. Tremoru olan hastaların yalnızca iki tanesi çocuk yaş grubundayken 7 hasta 18-50, 2 hasta ise 50 yaş üzeri kategorideydi.

5.TARTIŞMA

FXS; tüm ZY nedenleri arasında ikinci sırada, kalıtılabilir ZY nedenleri arasında ise ilk sırada yer almaktadır (2). FMR1 geninde CGG tekrarlarının sayısına göre; full mutasyon, premutasyon, gri zon ve normal alel olmak üzere 4 kategori bulunur. FM hastalarda ZY, OSB, DEHB; premutasyon taşıyıcılarında ise FXPOY, FXTAS, FXİNH görülmektedir. Nesiller arası aktarım ve antisipasyon ile birçok halk sağlığı problemine neden olabilen bu hastalık grubunda; tanı, tedavi, aile taraması ve genetik danışma oldukça önemlidir (13).

FXS'li bireylerin aileleri gerçekleştirilen aile taramalarını incelediğimizde; Rousseau ve ark. (1994) 318 aile taramış, çalışma sonucunda hastaların %31'i FM, %24'ü PM ve %40'ı ise normal alel aralığında bulunmuştur. Cinsiyete göre dağılımda tüm katılımcıların %54'ü, FM hastaların %70'i, PM hastaların %12'si ve normal alel aralığında bulunan kişilerin %40'ı erkek cinsiyettedir (178). 511 katılımcıyla gerçekleştirilen bir diğer aile taramasında hastaların %25'i FM, %26'sı PM ve %44'ü normal alel aralığında bulunmuştur. Bu hastalarda, FM hastaların %60'ı, PM hastaların %15'i, normal alel aralığında bulunan hastaların %52'si erkek cinsiyettedir (179). Devam eden bir popülasyon kohort çalışmasında ise gri zonda bulunan kişilerde kadın:erkek oranı 1,87; CGG tekrar sayısı 41-44 aralığında olan bireylerde 1,50 bulunmuştur (180). Çalışma grubumuzdaki hastaların genel cinsiyet dağılımı ile FM ve premutasyon kategorilerindeki hastaların cinsiyet dağılımı literatürle benzerlik göstermektedir. Gri zondaki hastalarımızın kadın cinsiyet dominansı (kadın erkek oranı: 4/1) hastaların geliş endikasyonu ile ilişkili olabilir. Bu kategorideki hastaların geliş endikasyonları çoğunlukla adet düzensizliğidir.

Çalışma grubumuzdaki hastaların yaklaşık yarısında ZY vardı. Bu hastaların yaş dağılımı incelendiğinde çoğunluğu çocuk hastalardan oluşuyordu. Bu durum özellikle çocuk yaş grubundaki hastalarımızın genellikle ZY nedeniyle başvurmasıyla ilişkili olabilir.

Normal popülasyonda zihinsel yetersizlik oranı %2-3 arasında değişmektedir. FM hastalarda ZY oranı ise %60-100 arasındadır (181). 544 FM hastanın zihinsel durumunun değerlendirildiği bir çalışmada, erkeklerin %100'ünde, kadınların ise %59'unda ZY saptanmıştır (178). Alanay ve ark. (2007) 24 FM erkek hasta ile

yaptığı çalışmada, tüm hastalarda ZY bulunmuştur (68). Rousseau ve ark. (1994) çalışmasında, 279 premutasyon taşıyıcısının %6'sında, 411 normal alel aralığında bireyin ise %2,6'sında ZY saptanmıştır (178). Çalışma grubumuzdaki full mutasyona sahip ZY'li hasta oranı; premutasyon, gri zon ve normal aleldeki hastalardaki ZY'li hasta oranından yüksek saptanmıştır. Bu durum literatürle benzerlik göstermektedir.

Ada ve ark. (2015) ZY'ye sahip 50 hastada yaptığı çalışmada, hastaların %14'ünde full mutasyon, %2'sinde premutasyon saptanmış, kalan hastalar normal alel aralığında bulunmuştur. Aynı çalışmada normal alel aralığında bulunan hastaların CGG tekrar sayıları değerlendirildiğinde, hastalarda en sık görülen CGG tekrar sayısı 28 ve 29 olarak bulunmuştur (133). FXS şüphesi ile başvuran ve ZY'si olan 53 çocuk hastada yapılan bir diğer çalışmada, hastaların %11,3'ü FM, %3,7'si gri zon ve %85'i normal alel aralığında bulunmuştur (182). Çalışma grubumuzdaki ZY'ye sahip hastaların yarısı FM ve %30'u normal alel aralığındaydı. Literatürle uyumlu olarak PM ve gri zonda bulunan ZY'li hastalarımız düşük yüzdede saptandı. Literatürün aksine, ZY'ye sahip hastalarımızın dağılımı normal alel aralığından daha çok full mutasyon grubundaydı. Ada ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi ZY'ye sahip hastalar en sık 28,29 CGG tekrarında yığılım gösterdiğinden ve biz bu hastaları çalışmamıza dahil etmediğimizden ZY'ye sahip hastalar en sık full mutasyon grubunda çıkmış olabilir.

Literatürde, hem PM hastalarda hem de gri zon hastalarında yürütücü bellek işlevlerinde azalma ve hafıza kaybı ilişkili çalışmalar mevcuttur (85, 183). Ancak hem premutant, hem gri zon hem de 40 ve üzeri CGG tekrar sayısına sahip hastalarda, CGG tekrar sayısına bağlı olarak ZY'yi açıklayacak bir bilgi ile karşılaşmadık. Kendi klinik pratiğimizde ZY ile başvuran tüm hastalarımıza ilk basamak test olarak FXS'e yönelik test yapmaktayız. Full mutasyon saptanmayan hastalarda moleküler karyotipleme veya tek gen hastalıklarına yönelik ek tetkikler uygulanmaktadır. Normal alel, gri zon veya premutasyon taşıyıcılığı olan hastalarımızın ZY'sini açıklayacak ek tanıları olabilir.

ZY hem genel toplumda hem de FM hastalarda erkeklerde kadınlara göre daha yaygındır (178, 181, 184). Batı Karadeniz popülasyonunda, 1909 ZY'li çocuğun değerlendirildiği bir çalışmada tüm hastaların %64'ü, ağır ZY'li hastaların %60'ı

erkekti (185). Kanada popülasyonunda yapılan bir diğer çalışmada ZY saptanan 255 hastada erkek:kadın oranı 1,3:1 bulunmuştur (186). Çalışma grubumuzda ZY saptanan hastaların cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde literatürle uyumlu şekilde erkek hastalar kadın hastalara göre fazla sayıdaydı (Erkek:kadın=3.8/1). ZY'si olan FM hastalarımız literatürle benzer şekilde erkeklerde kadınlara göre fazla sayıda olmasına karşın literatüre göre yüksek oranda bulunmuştur. Bu durum FXS ön tanısıyla genetik polikliniklerine yönlendirilen hastaların genellikle erkek hastalardan oluşması, kadın hastalarinsa genellikle gözden kaçırılması veya konsülte edilmemesiyle ilişkili olabilir.

Çalışmamızdaki FM erkek hastalarda literatürle benzer şekilde %100 ZY mevcutken, FM kadın hastalarda ZY oranı literatüre göre düşük oranda saptanmıştır (68, 69, 119). Bu durum FM kadın hasta sayısının az olması ile ilişkili olabilir. Ayrıca bu hastalarda mental durum değerlendirmesi ve IQ skoruna ilişkin veriler olmadığından, hafif/sınırdaki ZY'li olan hastalar gözden kaçırılmış olabilir.

FXS'da full mutasyon genellikle premutasyon taşıyıcısı annelerden ekspansiyon sonucu yavru hücrelerde oluşmaktadır. 267 PM annenin aktarım paterninin incelendiği bir çalışmada; full mutasyona ekspansiyon riskinin 70-75 CGG tekrar aralığında daha düşük tekrar sayısındaki annelere göre dramatik olarak arttığı, 90-99 CGG tekrar aralığında ise neredeyse yüzde yüz olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada ekspansiyon riski CGG tekrar sayısı ile orantılı iken AGG sayısı ile ters orantılıdır (149). Nolin ve ark. (2015) CGG tekrar sayıları 45-90 arasında değişen 726 annede aktarım paternini incelemiş ve çalışma sonucunda full mutasyona ekspansiyon olan minimum CGG tekrar sayısı 59 olarak bulunmuştur. Annelere ait AGG sayıları değerlendirilmiş, çoğunluğun 0,1,2 AGG 'ye sahip olduğu, 3 AGG'ye sahip annelerin daha düşük tekrar sayısına sahip annelerde olduğu görülmüştür (1). Literatürde full mutasyona ekspansiyonda genellikle anneden yavru hücreye geçişlerde AGG kaybı yaşandığı ve aynı zamanda ekspansiyonun yüksek CGG tekrarı ve düşük AGG kesinti sayısına sahip annelerden yavrulara aktarımda gerçekleştiği görülmüştür (109, 116, 187). Çalışma grubumuzda segregasyon analizi yapılan hastalarda, maternal aktarım paternleri incelendiğinde, full mutasyona genişleyen minimum CGG tekrar sayısı 71'dir. 25 anne-oğul aktarımı değerlendirilmiş ve full mutasyona ekspansiyon riski literatüre göre CGG tekrar

sayısı ile doğru orantılı şekilde artması beklenirken literatürün aksine; daha düşük tekrar sayılı CGG subgrubunda bulunan hastalarda daha yüksek yüzdede saptanmıştır. Bu durum antisipasyon paterni incelenen anne sayısının düşük olması ile ilişkili olabilir. Çalışma grubumuzdaki premutasyon taşıyıcısı annelerde literatürle uyumlu şekilde çoğunlukla 0,1 ve 2 AGG saptanmıştır. Tüm anne çocuk AGG aktarımları incelendiğinde ise yine literatürle benzer şekilde anneden erkek çocuğa aktarımlarda AGG sayısının azaldığı (%92), küçük bir kısmında ise aynı kaldığı saptanmıştır.

Literatürde babadan kız çocuklarına aktarım paternleri incelendiğinde paternal alellerde genellikle daha düşük CGG tekrar sayılarında ekspansiyon gözlenirken, daha yüksek premutasyon alellerinde veya full mutasyon alellerinin kontrakte olduğu veya stabil kaldığı gözlenmektedir (114, 115). Bu durumu destekler şekilde, Nolin ve ark. (1996) çalışmasında, <80 CGG tekrarına sahip babalardan yavrulara aktarımda genellikle ekspansiyon görülürken, 80 ve üzeri CGG tekrar sayısına sahip babalardan yavru hücrelere aktarımda ise CGG tekrar sayısının artışı ile birlikte kontraksiyona yatkınlık saptanmıştır (188). Çalışma grubumuzda 5 baba ve 13 kıza ait aktarım paternleri incelendiğinde; babalara ait CGG tekrar sayısı 90 ve >200 arasında değişmekteydi. Literatürle uyumlu şekilde, aynı babaya ait iki aktarım haricinde, babadan kız segregasyonunda kontraksiyon mevcuttu. Beklenen paterne uymayan söz konusu babanın analizinde size mozaizmi saptanmış olup, mozaik diğer pikin 80 CGG tekrarı altında olduğu görülmüştür. Bu durum, <80 altı CGG tekrarına sahip pikin gamete aktarılma olasılığını akla getirmiştir.

Baba kız segregasyonlarında, AGG sayılarını incelediğimizde tüm babaların 0 AGG kesintisine sahip olduğu ve kızların ise 1 kız hariç, 1-2-3 AGG kesintisine sahip olduğu görülmüştür. Bu durum AGG kesinti sayısı incelenen kız hastaların annelerine ait AGG sayısı hakkında bilğimiz olmaması ile ilişkili olabilir.

Genel popülasyonun %94'ünde 1 veya 2 AGG kesintisi bulunur (1). Normal alellerde en sık 2 AGG kesintisi daha az sıklıkta da 1 ve 0 AGG kesintisi bulunurken, premutasyon taşıyıcılarında en sık 1 AGG kesintisi bulunur. 3 ve 4 AGG kesintisi ise daha nadir görülür. Rastgele seçilen 406 kan bağışçısı ile yapılan bir çalışmada katılımcıların %67'sinde 2, %24'ünde 1, %4.3'ünde 0, %3.3'ünde 3 ve %0.2'sinde

ise 4 AGG kesintisi saptanmıştır (189). AGG kesintilerinin dokuz farklı popülasyonda 3065 alel incelenmiş çalışma sonucunda AGG kesintilerinin 0 ve 3 arasında değiştiği, tüm popülasyonlarda en sık 2 AGG kesintisinin görüldüğü ancak en az görülen AGG sayısının toplumlara göre farklılık gösterdiği (0 ve 3) saptanmıştır (190). Çalışma grubumuzdaki hastalarda literatürle uyumlu olarak en sık 2, en az 4 AGG kesintisine sahip hasta saptadık

AGG kesinti sayıları mutasyonel kategorilere göre de farklılık göstermektedir. Tassone ve ark. (2012) yaptığı çalışmada normal alel aralığında en sık 2-3, premutasyon taşıyıcılarında ise 0-2 AGG kesintisi saptanmıştır. Daha büyük premutasyon alellerinde AGG sayısının daha düşük sayıda olduğu görülmüştür (149). Ardui ve ark. (2018) çalışmasında PM kadın hastalarda en sık 2 ve 1 AGG kesintisi bulunmuştur (191). Guo ve ark. (2021) çalışmasında ise, popülasyon tabanlı tarama ile 39458 kadın taranmıştır. Bu tarama sonucunda 105 premutasyon taşıyıcısında azalan sırayla 0,1 ve 2 AGG kesintisi, 4 FM hastanın her birinde ise 0 AGG kesintisi saptanmıştır. Rastgele seçilen 105 normal alele sahip kişide ise hiç 0 AGG kesintisi saptanmazken en sık 2 AGG kesintisi saptanmıştır (192). Literatürde FM hastalarda AGG sayısı ile sınırlı çalışma vardır. Çalışma grubumuzdaki FM erkek hastalarda Guo ve ark. (2021) çalışması ile uyumlu olarak en sık 0 AGG kesintisi saptanırken, FM kadın hastalarımızda ise erkek hastalarımızdan farklı olarak 2 ve 3 AGG kesintisi saptanmıştır. PM, gri zon ve norma alel aralığında bulunan hastalarımızdaki AGG kesinti sayısı literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir (191-193)

Tassone ve ark. (149) çalışmasına benzer şekilde çalışma grubumuzdaki hastalarda yüksek AGG sayısına sahip hastalar çoğunlukla düşük CGG tekrar sayısına sahipken, düşük AGG sayısına sahip hastalar yüksek CGG tekrar sayısına sahiptir.

Size mosaisizmi FM ve PM hastalarda tanımlanmış olup, farklı CGG tekrarına sahip hücre hatlarının aynı bireyde olmasıdır (10).

Nolin ve ark. (1994) 158 FM erkek hasta ile yaptığı çalışmada hastaların %41'inde size mosaisizmi saptanmıştır. Mozaisizm saptanan hastaların dağılımları incelendiğinde, hastaların çoğunluğunun full mutasyon-premutasyon mozaisizmine sahip olduğu, yaklaşık %5'lik kısmında ise normal alel veya delesyon mozaisizmi

olduğu bulunmuştur (118). 218 FM erkek hastada yapılan Merenstein ve ark. (1996) yaptığı çalışmada hastaların %21'inde size mozaicism saptanmıştır (194). Aynı aileden dört kuşakta toplamda 6 hastanın (2 erkek ve 4 kadın) değerlendirildiği bir diğer çalışmada 2 erkek hastada size mozaicismi saptanmıştır (195). Full mutasyon-gri zon mozaicismi (196), full mutasyon-gri zon- normal alel mozaicismi (119) saptanan vakalar da mevcuttur. Çalışma grubumuzdaki FM erkek hastalardaki mozaicism oranı literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermekte olup, Nolin ve ark. (1994) çalışmasına benzer şekilde en sık full mutasyon-premutasyon mozaicismine sahiptir.

63 ailenin tarandığı bir çalışmada FM kadın hastalarda size mozaicismi oranı %19'ken, daha yüksek sayıda katılımcının tarandığı bir diğer aile taramasında bu oran %6 bulunmuştur (178, 179) Çalışma grubumuzdaki FM kadın hastalardaki size mozaicism oranı diğer iki çalışmaya göre yüksek oranda saptanmıştır. Bu durum incelenen hasta sayımızın az olması ile ilişkili olabilir.

Mailick ve ark. (2018) çocuklarında FXS tanısı olması nedeniyle 100 premutasyon taşıyıcısı anneyi değerlendirmiş ve sonucunda hastaların %55'inde size mozaicismi saptamıştır. Mozaicism saptanan hastaların çoğunluğu premutasyon-premutasyon mozaicismini sahipken geri kalan hastalarda ise premutasyon-full mutasyon mozaicismi bulunmuştur (197). Çalışmamızdaki PM kadın hastalardaki size mozaicism oranı ve en sık premutasyon-premutasyon mozaicismi saptanması Mailick ve ark. (2018) çalışmasıyla uyumludur. Ancak çalışma grubumuzdaki hastalarda premutasyon-full mutasyon mozaicismine sahip hasta olmaması, premutasyon-gri zon ve premutasyon-gri zon-normal alel mozaicismine sahip hastaların olması farklılık göstermektedir.

Literatür taramalarında PM mozaik erkek hastalarla ilgili sınırlı sayıda bilgi vardır. Pretto ve ark. (2014) 18 premutasyon taşıyıcısı erkek hastanın postmortem beyin dokularında farklı bölgelerden örnekler ile yaptığı çalışmada, 3 hastada dokular arası size mozaicismi saptamışlardır. Bu hastaların hepsinde premutasyon-premutasyon mozaicismi bulunmaktadır (198). Çalışma grubumuzdaki size mozaicismi saptanan PM erkek hastalarımızın oranı (%72), Pretto ve ark. (2014) çalışmasına göre yüksek

orandayken, bu çalışmayla benzer şekilde hastalarımızda en sık premutasyon-premutasyon mozaizmi saptanmıştır.

Uzun ince yüz ve kepçe kulaklar gibi FXS düşündüren dismorfik bulgular FM hastaların ortalama olarak %80'inde görülür. Bu oran cinsiyete göre farklılık göstermektedir (70). FXS'li hastalarla yapılan çalışmalarda Mei ve ark. (2023) hastaların %92'sinde, Charalsawadi ve ark. (2017) hastaların %48'inde uzun ince yüz ve belirgin kepçe kulaklar saptamışlardır (199, 200). Guruju ve ark. (2009) çalışmasında ise 20 FM kadın hastanın %20'sinde tipik FXS dismorfik bulguları saptanmıştır (201). Çalışma grubumuzdaki FM hastaların yarısından fazlasında literatürle uyumlu olarak FXS ile uyumlu dismorfik bulgu saptanmıştır.

Behery ve ark. (2008) 34 FM ve 166 FXS olmayan erkek hasta ile yaptıkları çalışmada, FXS hastaların %53'ünde, FXS olmayan hastalarinsa %15'inde FXS düşündüren dismorfik bulgular saptanmıştır (202). Benzer bir diğer çalışmada ZY'li bulunan hastalardan FXS olanların %88'inde , FXS olmayan hastaların ise %29'unda FXS düşündüren dismorfik bulgular saptanmıştır (201). FM ve PM hastaların dismorfik bulgularının değerlendirildiği 51 FM erkek, 15 FM kadın ve 9 premutasyon taşıyıcısı kadın hastanın modelleme teknikleri ile 3 boyutlu yüz analizleri yapılmış, FM hem kadın hem de erkek hastaların ince uzun yüz hatları premutasyon taşıyıcısı kadınlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (203). Biz de çalışma grubumuzdaki hastaların FXS düşündüren dismorfik bulgu yüzdelerini karşılaştırdığımızda, literatürle benzer şekilde FM hastalarımızdaki dismorfizm oranı FXS olmayan hastaların (premutasyon, gri zon ve normal alel) dismorfizm oranına göre yüksek saptanmıştır.

Charalsavadi ve arkadaşlarının çalışmasında 67 FM erkek hastanın %53'ünde (200); Merenstein ve arkadaşlarının çalışmasında (194), 218 FM erkek hastanın prepubertal dönemde %40-54, postpubertal dönemde %83-92'sinde makroorşidizm saptanmıştır. Çalışma grubumuzdaki makroorşidizm saptanan erkek hastalar çoğunlukla prepubertal dönemdeydi. Bu hastalardaki makroorşidizm oranı Merenstein ve arkadaşlarının prepubertal dönemdeki hastalarda saptadıkları makroorşidizm oranıyla benzerlik göstermektedir.

Guruju (201) ve Behery (202)'nin çalışmalarında, FXS olmadığı moleküler yöntemlerle gösterilmiş hastalarda makroorşidizm oranı %0,6-9,9 arasında değişmektedir. Çalışmamızda, Guruju ve Behery'nin çalışmalarından farklı olarak FXS olmayan hastalarımızda makroorşidizm saptanmamıştır.

OSB genellikle çocuk yaş grubunda tanı alan ve erkeklerde kadınlara göre yüksek sıklıkta gözlenen bir durumdur (204-208). Çalışma grubumuzdaki hastalar da literatürle uyumlu olarak çoğunlukla çocuk yaş grubundaydı ve erkek hastalardan oluşuyordu. Hastalarımızın yaklaşık %25'inde OSB mevcuttu. Oranın bu denli yüksek olması hasta popülasyonumuzun rastgele seçim olmadan, özellikle çocuk yaş grubunda ZY'li hastalardan oluşmasıyla ilişkili olabilir.

FXS, tüm OSB vakalarının %2-6'sından sorumlu olup, OSB'nin bilinen en sık monogenik nedenidir. Hem FM hastalarda hem de premutasyon taşıyıcılarında normal popülasyona göre OSB sıklığı artmıştır (208). FM erkek hastalarla yapılan çalışmalarda Bailey ve ark. (1998) hastaların %25'inde (tanı yaşı:24-84 ay), Rogers ve ark. (2001) ise hastaların %33'ünde (tanı yaşı: 24-48 ay) OSB saptamışlardır (206, 207). 64 FM ve 50 premutasyon taşıyıcısı ile bu hastaların FXS olmayan 38 akrabasında OSB araştırılan bir çalışmada FM erkek hastaların % 67'sinde, FM kadın hastaların %23'ünde, premutasyon taşıyıcısı kadınların %14'ünde ve premutasyon taşıyıcısı erkeklerin %5'inde OSB saptanmıştır. FXS olmayan aile bireylerinden yalnızca bir kişide (% 2,6) OSB belirti ve bulguları mevcuttur. Hem FM hastalarda hem de premutasyon taşıyıcılarında FXS olmayan kişilere göre OSB istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (78). Çalışma grubumuzdaki FM erkek hastalardaki OSB yüzdesi literatür ile benzerlik göstermektedir. FM kadın hastalarımızda OSB saptanmamıştır. Bu durum bu gruptaki hasta sayımızın az olması ile ilişkili olabilir. Çalışmamızdaki OSB saptanan premutasyon taşıyıcılarının hepsi erkek cinsiyettedir; Clifford ve arkadaşlarının çalışmasıyla benzer yüzdededir (78).

DEHB, çocuklarda daha sık görülmekle birlikte özellikle çocuk hastaların %60'ının şikayetlerinin yetişkin dönemde devam etmesi ile beraber yetişkin dönemde de sık karşılaşılan bir bulgudur (209). Normal popülasyonda çocuklarda ve adölesanlarda, prevalansı %2-7 arasında değişmekle birlikte ortalama %5'tir (210). Erkek:kadın oranı 2:1-10:1 arasında değişmektedir (211). FM hastalarda en sık görülen

bulgularından biri olup aynı zamanda premütasyon taşıyıcılarında da normal popülasyona göre yüksek oranda görülmektedir (212). FM hastalar ile yapılan çalışmalarda DEHB oranı, %23 (68) ile %64 (199) arasında değişmektedir. Premütasyon taşıyıcısı erkek çocuk hastalarda yapılan bir çalışmada, proband olarak başvuran erkek hastaların (n:14) %93'ünde, proband olmayan aile taraması nedeniyle taranan hastaların (n:13) %38'inde DEHB saptanmıştır (37). Özel eğitim alan bir grup çocukla yapılan bir çalışmada ise FM hastaların (n:11) %27'sinde, gri zon ve premütasyon taşıyıcısı hastaların (n:27) %25.9'unda DEHB saptanmış olup; tüm DEHB hastaların %91'i ise normal alel aralığında saptanmıştır (213). Çalışma grubumuzdaki hastaların %26'sında DEHB mevcuttu. FM hastalarımızda DEHB oranı Hunter ve ark (212) çalışmasına benzer şekilde %60 saptanmıştır. PM hastalarımızdaki DEHB oranı ise %11 olarak bulunmuştur.

POY prevalansı yaş gruplarına göre değişmekle birlikte, 30 yaş altı kadın hastaların %0,1'inde, 40 yaş altı kadınların %1'inde görülmektedir. Bu oran popülasyonlara göre değişiklik göstermektedir. Li ve ark. (2023) çalışmasında global POY prevalansı %3,5 olarak bulunmuştur (214). Ailesel ve sporadik POY vakaları incelendiğinde tüm vakaların sırasıyla %14 ve %2'sinden premütasyon taşıyıcılığının sorumlu olduğu görülmüştür (74). Çalışma grubumuzdaki 48 hastanın ailesinde erken menapoz öyküsü vardı. Bu hastaların cinsiyet dağılımı incelendiğinde kadın erkek oranının benzer olduğu, ailesinde erken menapoz öyküsü olan erkek hastaların mutasyonel dağılımı incelendiğinde ise premütasyon taşıyıcısı veya FM oldukları saptanmıştır. Cinsiyet belirtmeksizin bu hastaları incelediğimizde yine çoğunluğun FM ve premütasyon taşıyıcılarından oluştuğu görülmüştür. Bu durum çalışma grubumuzdaki erkek hastalarımızın annelerinin çoğunlukla premütasyon taşıyıcısı olması ve POY'un premütasyon taşıyıcılarında diğer gruplara göre yüksek oranda olması ile ilişkili olabilir. Ayrıca ailesinde erken menapoz öyküsü olup aynı zamanda POY olan hastaların dağılımı incelendiğinde ise çoğunluğun premütasyon taşıyıcılarından oluşması bu durumu destekler niteliktedir.

Toksik fonksiyon kazanım mekanizması sonucunda FXPOY, premütasyon taşıyıcısı kadın hastaların %13-26'ında görülmektedir. Bu hasta grubunda normal topluma göre artmış POY riski (4-25 kat) bulunmaktadır (33, 163). FXPOY, tüm POY vakalarının %1,6-3,3'ünden sorumludur (32, 215). POY, özellikle PM hastalarda

olmakla birlikte gri zon ve normal alelde yüksek CGG tekrar seviyesinde artmış oranda görülmektedir. FXS aile taramalarından seçilen 760 kadın hastada, premutasyon taşıyıcısı kadınların %16'sında POY saptanırken, FM hastaların hiçbirinde POY saptanmamıştır (33) Ishizuka ve arkadaşlarının çalışmasında, 128 POY ve 98 normal menstürel siklusa sahip kadın hastanın CGG tekrar sayılarına bakıldığında, POY olan grupta 2 hasta premutasyon taşıyıcısı iken 6 hasta gri zonda saptanmıştır. 40 ve üzeri CGG tekrar sayısına sahip aleller, yalnızca POY grubundaki hastalarda saptanmıştır (216). Hindistan'da yapılan bir diğer çalışmada ise 80 POY kadın hastanın CGG tekrar sayıları incelendiğinde, hiçbir hastada premutasyon taşıyıcılığı saptanmamıştır (217). Murray ve ark. (1998), 147 POF ile 634 kontrol hastasının CGG tekrar sayısını ölçtüğünde, 3 hasta premutasyon taşıyıcısı iken 4 hasta gri zonda saptanmıştır. Kontrol grubundaki hastaların hiçbirisi premutasyon taşıyıcısı değilken, hem kontrol grubunda hem de POF vakalarında FM hasta saptanmamıştır (32). Çalışma grubumuzdaki kadın hastaların yaklaşık 1/3'ünde POY tanısı mevcuttu. Bu hastaların dağılımı incelendiğinde hastaların yarısından fazlasının premutasyon taşıyıcısı olduğu görülmüştür. Çalışmamızdaki premutasyon taşıyıcısı kadınlardaki POY oranına baktığımızda ise hastaların %46'sında POY mevcuttur. Bu durum kliniğimize POY tanısı ile başvuran hasta sayısının fazla olması ile ilişkili olabilir.

POY tanısı olan hastalarımızdan yalnızca bir hasta FM'dı. Aynı hastada full mutasyon-premutasyon mozaizmi vardı. Bu durum hastada full mutasyona bağlı POY beklenmezken, mozaizim ile birlikte ovaryan dokuda PM hücre yoğunluğu oranıyla ilişkili olabilir.

Çalışma grubumuzdaki premutasyon taşıyıcısı hastalar ile diğer hastalarda (FM-gri zon-normal alel) POY oranı değerlendirilmiş, premutasyon taşıyıcılığı literatürle uyumlu şekilde diğer gruptaki hastalara kıyasla anlamlı derecede yüksek yüzdede saptanmıştır. Literatürde hastaların hangi CGG tekrar aralığında en yüksek POY riskine sahip olduğu ile ilgili yapılan çalışmalarda, Allen ve ark. (2021) 70-100 CGG aralığında riskin maksimum seviyeye ulaştığını saptamışlardır (218). Tejada ve ark. (2008) çalışmasında ise 80-99 CGG aralığındaki kişilerde POY riski, 100 ve üzeri CGG tekrarına sahip kişilerdekine göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (219). CGG tekrar sayısı 40 üzeri olan 948 kadın hasta ile yapılan çalışmada da diğer

alışmalara benzer şekilde maksimum risk 80-99 CGG aralığında saptanmıştır (220). Çalışmamızdaki premutasyon taşıyıcısı ve POY olan hastaların CGG ortalaması literatürle uyumlu şekilde 80-99 aralığındayken, bu grupta POY olmayan hastaların CGG ortalaması 100'ün üzerinde bulunmuştur. Ayrıca POY olan PM hastaların dağılımı incelendiğinde 80-99 CGG aralığında bulunan PM hasta oranı, <80 ve 100-199 aralığında bulunan PM hastalara göre yüksek oranda saptanmıştır. Bu durum literatürle benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızdaki tüm kadın hastaların CGG tekrar sayısı dağılımı incelendiğinde ise, POY olan hastalarda 100 ve üzeri CGG tekrar aralığında hasta sayısının azaldığı, POY olmayan gupta ise böyle bir dağılım olmadığı ancak bu grupta da minimum hasta sayısının 80-99 CGG tekrar aralığında olduğu saptanmıştır.

98'inde size mozaizizmi bulunan 320 PM kadın hastada menapoz yaşının değerlendirildiği bir çalışmada, mozaik olan ve olmayan hastalar arasında POY açısından bir farklılık saptanmamıştır (218). Çalışma grubumuzdaki PM kadın hastalarda Allen ve ark. (2021) çalışmasına benzer şekilde POY ve mozaizizm arasında bağlantı saptanmamıştır.

Çalışma grubumuzdaki kadın hastaların yarısından fazlasında adet düzensizliği mevcuttu. Bu hastaların dağılımı incelendiğinde ise çoğunluğun premutasyon taşıyıcısı (n=20) ve normal alel aralığında (n=18) bulunan kadın hastalardan oluştuğu görülmüştür. Utine ve ark. (2018) çalışmasında 107 premutasyon taşıyıcısı kadın hastanın %10'unda (n=11) adet düzensizliği saptanmıştır (221). Schwartz ve ark. (1994) çalışmasında toplamda 240 kadın hastanın menstüral sikluları incelenmiş ve çalışma sonucunda; PM taşıyıcıların %38'inde, taşıyıcı olmayan (FM veya premutasyon taşıyıcısı olmayan) kadınların %24'ünde adet düzensizliği saptanmıştır (222). Çalışma grubumuzdaki PM kadın hastalardaki adet düzensizliği oranı %62,5 olup bu oran Schwartz (222) ve Utine'nin (221) çalışmasına göre yüksek yüzdede bulunmuştur.

Çalışmamızdaki PM hastalardaki adet düzensizliği ile diğer gruplarda (FM, gri zon ve normal alel aralığı) bulunan hastaların adet düzensizliği oranı karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Adet düzensizliğinin PM taşıyıcılığı haricinde; Turner sendromu, Triple X sendromu, tek gen hastalıkları veya ilaç

kullanımı gibi birçok sebebi bulunmaktadır. Adet düzensizliği saptanan diğer gruplarda bulunan hastalarımızda etyolojiyi açıklayacak ek tetkiklere ihtiyaç vardır.

İnfertilite genel popülasyonun %8-12'sini etkilemektedir (223). Çalışma grubumuzdaki çocuk hastalar dışlandığında hastaların %31'inde infertilite vardı. Bu hastaların hepsi kadın cinsiyetteydi. Allen ve ark. (2021) çalışmasında 75-120 CGG aralığında bulunan PM kadın hastalarda normal alel aralığında bulunan hastalara göre artmış infertilite saptanmıştır (218). Literatürde PM ve gri zonda bulunan hastalarda artmış infertilite oranından bahseden çalışmalar olsa da bu konuda henüz bir görüş birliği bulunmamaktadır. Çalışmamızdaki PM hastaların %20'sinde, gri zonda bulunan hastaların %60'ında infertilite saptanmıştır.

Premutasyon taşıyıcılarında 50 yaş ve üzeri erkek hastaların %40'ında kadın hastalarinsa %16'sında FMR1 geninde toksik fonksiyon kazanım mekanizması sonucu FXTAS görülmektedir (82). Literatürde tremor tanımlanan gri zon vakaları da mevcuttur (226). Ancak premutasyon taşıyıcılığı haricinde FM, gri zon ve normal alelde kanıtlanmış tremor ilişkisi bulunmamaktadır. Biz de çalışma grubumuzda 11 hastada tremor saptadık ve bu hastaların 4'ü premutasyon taşıyıcısıydı. Premutasyon taşıyıcısı iki hastanın öykülerinde ileri yaşla birlikte tremor ve hareket bozukluğu olması FXTAS ile uyumlu olduklarını düşündürmektedir. Diğer hastalar daha genç yaşta olup tremor etyolojisine yönelik ek tetkikler önerilmektedir.

Sonuç olarak FXS, kalıtlılabilir ZY'nin en sık nedenidir. FM hastalarda ZY, premutasyon taşıyıcılarında ise hem FM çocuk sahibi olma hem de FXTAS, FXPOY gibi bazı hastalıklarda risk oluşturmaları açısından önem taşımaktadır. Ayrıca FM hastalarda ve premutasyon taşıyıcılarında OSB ve DEHB, normal popülasyona göre artmış sıklıktadır. Her iki gruptaki hastalarda kanıtlanmış bu hastalıkların aksine, gri zonda bulunan kişilerde hareket bozuklukları ve adet düzensizliği gibi klinik etkilenimlerle ilgili yapılan çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. FXS, dinamik bir mutasyon sonucu oluşmaktadır. Mitotik instabilite ile kişinin kendi dokuları arasında, mayotik instabilite ile yavrulara aktarımda CGG tekrar sayısında değişimler görülmektedir. Bu durumla birlikte kuşaklar arası aktarımda CGG tekrar sayısı artabilmekte; farkedilmeyen/tanı konulmayan premutasyon taşıyıcıları ve gri zon hastalarının çocuklarında veya torunlarında ZY'ye, OSB, DEHB ve beraberinde

birçok klinik bulguya neden olabilmektedir. FXS’de full mutasyon ve premutasyon tanısı koymak özellikle önem arz etmektedir. Tanı alan kişilere ve ailelerine genetik tanışma verilmesi, gebelik öncesi planlama yapılması, hiçbir semptomu olmasa dahi test yapılması ve takip edilmesi gereklidir.

Biz de kliniğimize son 11 yılda başvuran, CGG tekrar sayısı 40 ve üzeri olan hastalarda genotip ve fenotip bulgularını araştırmak istedik. Bu amaçla hastalara ait klinik dosyalardan muayene notlarını, aile ağacı bilgilerini, segregasyon yapılmış hastalarda bu analizin sonuçlarını, Frajil X PCR testi sonuçlarından ise CGG tekrar sayılarını, AGG kesinti sayılarını, mosaisizm durumunu değerlendirdik. Ve bu çalışma sonucunda kendi klinik pratiğimizi de FXS açısından revize etmeyi amaçladık. Çalışmamız; yalnızca premutasyon taşıyıcıları ve FM hastaları kapsamaması, mitotik instabilitenin artmaya başladığı CGG tekrar sayısı 40 ve üzeri olan hastaları incelemesi açısından önemlidir. Çalışmamızdaki daha düşük tekrar sayısındaki hastalar tek kuşakta full mutasyona ilerlemeyecek olsa dahi klinik bulgularının takibi ve nesiller arası aktarımda diğer aile üyeleri açısından önem taşımaktadır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1.Sonuçlar

1. Çalışmaya CGG tekrar sayısı 40 ve üzeri olan 130 hasta dahil edildi. Bu hastaların 74'ü kadın, 56'sı erkekti. Erkek hastaların yaş ortalaması $15\pm 17,4$; kadın hastalarda ise yaş ortalaması $27,4\pm 12,4$ 'tü
2. 34 hasta FM, 43 hasta PM, 15 hasta gri zon ve 38 hasta normal alel aralığındaydı.
3. Çalışmada; 58 hastada ZY, 34 hastada DEHB, 32 hastada OSB, 38 hastada FXS dismorfik bulguları, 12 hastada makroorşidizm, 23 hastada POY, 50 hastada adet düzensizliği, 48 hastanın ailesinde erken menapoz öyküsü ve 11 hastada tremor vardı.
4. 26 FM erkek ve 3 FM kadın hastada ZY mevcuttu. ZY oranı FM erkek hastalarda %100, kadın hastalarda %42'ydi.
5. Çalışmadaki PM kadın hastalarda, 20 hastada adet düzensizliği, 15 hastada POY vardı.
6. 2 PM erkek hastada FXTAS ile uyumlu şekilde denge kaybı ve tremor vardı.
7. Gri zonda bulunan 10 kadın hastada adet düzensizliği ve 2 hastada POY vardı.
8. Çalışmada 4'ü geniş 17'si çekirdek aile olmak üzere 21 aile taraması yapıldı.
9. Çalışmada anne-oğul aktarım paternleri incelendiğinde tek kuşakta full mutasyona ekspansiyon olan minimum CGG tekrar sayısı 71'di.
10. Anne oğul geçişlerinde genellikle CGG tekrar sayısında artış, AGG sayısında azalma saptandı.
11. PM ya da FM babadan kız çocuklarına geçişlerde genellikle CGG tekrar sayısında kontraksiyon, AGG kesinti sayısında artış saptandı. Babaya ait CGG tekrar sayısı 110 ve üzerinde ise kontraksiyon daha belirgindi.
12. Çalışmadaki hastalarda en sık AGG sayısı 2'ydi. 4 AGG kesintisi sadece gri zon ve normal alel aralığında bulunan hastalarda; 0 AGG kesintisi ise sadece FM ve PM hastalarda saptandı.

13. Hastalarda CGG tekrar sayısı ve AGG sayıları arasında negatif yönde korelasyon saptandı. CGG tekrar sayısı arttıkça AGG sayısı azalıyordu.
14. 16 FM, 28 PM hastada size mosaisizmi saptandı.
15. Çalışmadaki FM hastaların %47'si, PM hastaların %65'i size mozaisizmi vardı.
16. Mozaisizm saptanan minimum CGG tekrar sayısı PM kadınlarda 39, PM erkeklerde 40, FM kadınlarda 80 ve FM erkeklerde 57'dir.
17. PM kadın hastalarda mozaisizm varlığına göre POY ve adet düzensizliği arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.
18. Çalışmadaki FM hastalarda ZY oranı, PM, gri zon veya normal alel aralığında bulunan hastalardaki ZY oranına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta saptandı.
19. FM hastalarda DEHB oranı, PM hastalardaki DEHB oranına göre istatistiksel anlamlı farklılıktaydı.
20. FM hastalarda OSB oranı PM veya gri zondaki hastaların OSB oranına göre FM lehine istatistiksel olarak anlamlıydı.
21. FXS düşündürülen dismorfik bulguları olan hastaların yarısından çoğu FM'tı.
22. Premutasyon taşıyıcısı hastalarda POY oranı, FM+gri zon+normal alel aralığında bulunan hastalardaki POY oranına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıktaydı.
23. POY olan hastalardaki CGG ortalaması ($90\pm18,39$), POY olmayan kadın hastalardaki CGG ortalaması ($107,56\pm21,22$)'ydi.
24. 80-99 CGG tekrar sayısı aralığında bulunan PM hastalardaki POY oranı, bu aralıkta bulunmayan diğer PM kadın hastalardaki POY oranına göre yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
25. Kadın hastalarda POY sayısı, 100 ve üzeri CGG tekrar sayısında azalmaya başlıyordu.
26. Ailesinde erken menapoz öyküsü olan hastaların %85'i PM veya FM'dı.
27. Çalışmadaki adet düzensizliği olan hastalarda, premutasyon taşıyıcılığı ve diğer üç kategori arasında anlamlı fark saptanmadı.

6.2.Öneriler

- OMÜ Tıp Fakültesi, Orta Karadeniz bölgesinin en büyük hastanelerinden birisi olmakla birlikte Doğu ve Batı Karadeniz bölgesinden de yoğun bir hasta akışı içerisinde. Bu da hasta popülasyonumuzun ve çalışma sonuçlarımızın yalnızca Samsun'a sınırlı olmadığını Karadeniz bölgesini temsil edebileceğini düşündürmektedir.
- Sebep olduğu hastalıklar açısından bu denli önemli bir hastalıkta, her geçen gün bilgilerimiz artmaya devam etmektedir. Özellikle çocuk nöroloji, çocuk psikiyatri, kadın hastalıkları ve doğum, aile hekimi ve nöroloji hekimlerinde farkındalık oluşturulmalı, bu hastaların genetik polikliniklerine yönlendirilmesi konusunda iş birliği içinde olunmalıdır.
- FM hastaların genotipik değerlendirmesinde, bu hastalarda hem *size* hem de metilasyon mozaizmi olabileceği ve bunların hastaların klinik bulgularını etkileyeceği akılda tutulmalıdır.
- FXS ön tanısı olan hastalarda CGG tekrar sayısı mevcut patolojiyi açıklamadığında hastalara tüm FXS nedenleri sıralandığında hastalığın %1'inden sorumlu olsa da delesyon, nokta mutasyonu gibi mutasyonlar için ileri incelemede NGS önerilmelidir.
- Aile taraması ve hasta takibi yalnızca PM ve FM hastalarda değil, gri zon ve mitotik instabilitenin başladığı 40 ve üzeri CGG tekrar sayısında bulunan bireyleri kapsar şekilde olmalıdır.
- Hastaların tanı almasının ardından tıbbi genetik ve çocuk genetik hekimlerinin önderliğinde multidisipliner bir yaklaşımla hasta takibi yapmak, klinik bulguları henüz kanıtlanmamış gruplarda hasta takiplerine devam etmek ve genetik danışma vermek önem arz etmektedir.

KAYNAKÇA:

1. 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. *Genetics in Medicine*. 2015;17(5):358-64.
2. HAGERMAN RJ, McBOGG P, HAGERMAN PJ. The Fragile X Syndrome: History, Diagnosis, and Treatment. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*. 1983;4(2):122-30.
3. Hagerman RJ, Amiri K, Cronister A. Fragile X checklist. *American journal of medical genetics*. 1991;38(2-3):283-7.
4. 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. *The American Journal of Human Genetics*. 2009;85(4):503-14.
5. Noto V, Harrity C, Walsh D, Marron K. The impact of FMR1 gene mutations on human reproduction and development: a systematic review. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2016;33:1135-47.
6. Dockendorff TC, Labrador M. The fragile X protein and genome function. *Molecular neurobiology*. 2019;56:711-21.
7. Collins SC, Bray SM, Suhl JA, Cutler DJ, Coffee B, Zwick ME, et al. Identification of novel FMR1 variants by massively parallel sequencing in developmentally delayed males. *American journal of medical genetics Part A*. 2010;152(10):2512-20.
8. Lubala TK, Lumaka A, Kanteng G, Mutesa L, Mukuku O, Wembonyama S, et al. Fragile X checklists: A meta-analysis and development of a simplified universal clinical checklist. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2018;6(4):526-32.
9. Spector E, Behlmann A, Kronquist K, Rose NC, Lyon E, Reddi HV, et al. Laboratory testing for fragile X, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*. 2021;23(5):799-812.
10. Hayward BE, Usdin K. Mechanisms of genome instability in the fragile X-related disorders. *Genes*. 2021;12(10):1633.
11. Geisler D. Educational Case: Fragile X Syndrome with Size Mosaicism. *Academic Pathology*. 2019;6:2374289519877550.
12. Saldarriaga W, Tassone F, González-Teshima LY, Forero-Forero JV, Ayala-Zapata S, Hagerman R. Fragile X syndrome. *Colombia medica*. 2014;45(4):190-8.
13. Johnson K, Herring J, Richstein J. Fragile X premutation associated conditions (FXPAC). *Frontiers in Pediatrics*. 2020;8:266.

14. Sodhi DK, Hagerman R. Fragile X premutation: medications, therapy and lifestyle advice. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. 2021;1689-99.
15. Jacobs PA, Mayer M, Matsuura J, Rhoads F, Yee SC. A cytogenetic study of a population of mentally retarded males with special reference to the marker (X) syndrome. *Human Genetics*. 1983;63:139-48.
16. Özer O, Demirhan O, Tunç E, Bağcı H, Karahan D, Tanrıerdi N, et al. Cytogenetic and molecular investigation in children with possible fragile X syndrome. 2012.
17. Taylor AK. Fragile X DNA testing: A guide for physicians and families. *Fragile X Foundation Educational files*. 1994;2.
18. Macpherson J, Sharif A, editors. Practice guidelines for molecular diagnosis of Fragile X Syndrome. *Clinical Molecular Genetics Society (CMGS) workshop*; 2005.
19. Biancalana V, Glaeser D, McQuaid S, Steinbach P. EMQN best practice guidelines for the molecular genetic testing and reporting of fragile X syndrome and other fragile X-associated disorders. *European journal of human genetics*. 2015;23(4):417-25.
20. D'Adamo P, Menegon A, Lo Nigro C, Grasso M, Gulisano M, Tamanini F, et al. Mutations in GDI1 are responsible for X-linked non-specific mental retardation. *Nature genetics*. 1998;19(2):134-9.
21. Brooks SS, Wisniewski K, Brown WT. New X-linked mental retardation (XLMR) syndrome with distinct facial appearance and growth retardation. *American journal of medical genetics*. 1994;51(4):586-90.
22. Martin JP, Bell J. A pedigree of mental defect showing sex-linkage. *Journal of neurology and psychiatry*. 1943;6(3-4):154.
23. Lubs HA. A marker X chromosome. *American journal of human genetics*. 1969;21(3):231.
24. Lubs HA, Watson M, Breg R, Lujan E, Opitz JM. Restudy of the original marker X family. *American Journal of Medical Genetics*. 1984;17(1):133-44.
25. Krawczun M, Jenkins E, Brown W. Analysis of the fragile-X chromosome: localization and detection of the fragile site in high resolution preparations. *Human genetics*. 1985;69:209-11.
26. Poustka A, Dietrich A, Langenstein G, Toniolo D, Warren ST, Lehrach H. Physical map of human Xq27-qter: localizing the region of the fragile X mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991;88(19):8302-6.
27. 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.

28. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu Y-H, 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.
29. Oberlé I, Boué J, Croquette M, Voelckel M, Mattei M, Mandel J. Three families with high expression of a fragile site at Xq27. 3, lack of anomalies at the FMR-1 CpG Island, and no clear phenotypic association. *American journal of medical genetics*. 1992;43(1-2):224-31.
30. 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. *Nature genetics*. 1994;8(1):88-94.
31. Backes M, Genc B, Schreck J, Doerfler W, Lehmkuhl G, Von Gontard A. Cognitive and behavioral profile of fragile X boys: correlations to molecular data. *American Journal of Medical Genetics*. 2000;95(2):150-6.
32. Murray A, Webb J, Grimley S, Conway G, Jacobs P. Studies of FRAXA and FRAXE in women with premature ovarian failure. *Journal of medical genetics*. 1998;35(8):637-40.
33. Allingham-Hawkins DJ, Babul-Hirji R, Chitayat D, Holden JJ, Yang KT, Lee C, et al. Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: the International Collaborative POF in Fragile X study—preliminary data. *American journal of medical genetics*. 1999;83(4):322-5.
34. Jacquemont S, Hagerman RJ, Hagerman PJ, Leehey MA. Fragile-X syndrome and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: two faces of FMR1. *The Lancet Neurology*. 2007;6(1):45-55.
35. Hagerman RJ, Leehey M, Heinrichs W, Tassone F, Wilson R, Hills J, et al. Intention tremor, parkinsonism, and generalized brain atrophy in male carriers of fragile X. *Neurology*. 2001;57(1):127-30.
36. Amiri K, Hagerman RJ, Hagerman PJ. Fragile X–associated tremor/ataxia syndrome: an aging face of the fragile X gene. *Archives of neurology*. 2008;65(1):19-25.
37. Farzin F, Perry H, Hessel D, Loesch D, Cohen J, Bacalman S, et al. Autism spectrum disorders and attention-deficit/hyperactivity disorder in boys with the fragile X premutation. *Journal of developmental & behavioral pediatrics*. 2006;27(2):S137-S44.
38. Maes B, Fryns J-P, Ghesquière P, Borghgraef M. Phenotypic checklist to screen for fragile X syndrome in people with mental retardation. *Mental retardation*. 2000;38(3):207-15.

39. Bagni C, Tassone F, Neri G, Hagerman R. Fragile X syndrome: causes, diagnosis, mechanisms, and therapeutics. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(12):4314-22.
40. Garber KB, Visootsak J, Warren ST. Fragile X syndrome. *European journal of human genetics*. 2008;16(6):666-72.
41. Rajaratnam A, Shergill J, Salcedo-Arellano M, Saldarriaga W, Duan X, Hagerman R. Fragile X syndrome and fragile X-associated disorders. *F1000Research*. 2017;6.
42. Schaefer GB, Mendelsohn NJ. Genetics evaluation for the etiologic diagnosis of autism spectrum disorders. *Genetics in Medicine*. 2008;10(1):4-12.
43. Turner G, Daniel A, Frost M. X-linked mental retardation, macro-orchidism, and the Xq27 fragile site. *The Journal of pediatrics*. 1980;96(5):837-41.
44. Nielsen KB. Growth pattern in boys with fragile X. *American Journal of Medical Genetics*. 1988;30(1-2):143-7.
45. Jacobs PA, Glover TW, Mayer M, Fox P, Gerrard JW, Dunn HG, et al. X-linked mental retardation: A study of 7 families. *American journal of medical genetics*. 1980;7(4):471-89.
46. Prouty LA, Rogers RC, Stevenson RE, Dean JH, Palmer KK, Simensen RJ, et al. Fragile X syndrome: Growth, development, and intellectual function. *American Journal of Medical Genetics*. 1988;30(1-2):123-42.
47. Thake A, Todd J, Bunday S, Webb T. Is it possible to make a clinical diagnosis of the fragile X syndrome in a boy? *Archives of disease in childhood*. 1985;60(11):1001-7.
48. de Vries BB, Robinson H, Stolte-Dijkstra I, Gi CVTP, Dijkstra PF, van Doorn J, et al. General overgrowth in the fragile X syndrome: variability in the phenotypic expression of the FMR1 gene mutation. *Journal of medical genetics*. 1995;32(10):764-9.
49. Mattei J, Mattei M, Aumeras C, Auger M, Giraud F. X-linked mental retardation with the fragile X. A study of 15 families. *Human Genetics*. 1981;59(4):281-9.
50. Hagerman RJ, Altshul-Stark D, McBogg P. Recurrent otitis media in the fragile X syndrome. *American Journal of Diseases of Children*. 1987;141(2):184-7.
51. Lieberthal AS, Carroll AE, Chonmaitree T, Ganiats TG, Hoberman A, Jackson MA, et al. The diagnosis and management of acute otitis media. *Pediatrics*. 2013;131(3):e964-e99.
52. Berry-Kravis E. Epilepsy in fragile X syndrome. *Developmental medicine and child neurology*. 2002;44(11):724-8.

53. Musumeci S, Hagerman R, Ferri R, Bosco P, Bernardina BD, Tassinari C, et al. Epilepsy and EEG findings in males with fragile X syndrome. *Epilepsia*. 1999;40(8):1092-9.
54. Berry-Kravis E, Knox A, Hervey C. Targeted treatments for fragile X syndrome. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. 2011;3(3):193-210.
55. Berry-Kravis E, Raspa M, Loggin-Hester L, Bishop E, Holiday D, Bailey Jr DB. Seizures in fragile X syndrome: characteristics and comorbid diagnoses. *American journal on intellectual and developmental disabilities*. 2010;115(6):461-72.
56. Lozano R, Hare EB, Hagerman RJ. Modulation of the GABAergic pathway for the treatment of fragile X syndrome. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2014;1769-79.
57. Chonchaiya W, Tassone F, Ashwood P, Hessler D, Schneider A, Campos L, et al. Autoimmune disease in mothers with the FMR1 premutation is associated with seizures in their children with fragile X syndrome. *Human genetics*. 2010;128:539-48.
58. Hayek E, Gring CN, Griffin BP. Mitral valve prolapse. *The Lancet*. 2005;365(9458):507-18.
59. Sreeram N, Wren C, Bhate M, Robertson P, Hunter S. Cardiac abnormalities in the fragile X syndrome. *Heart*. 1989;61(3):289-91.
60. Crabbe LS, Hornstein L, Bensky AS, Schwartz DC. Cardiovascular abnormalities in children with fragile X syndrome. *Pediatrics*. 1993;91(4):714-5.
61. Waldstein G, Mierau G, Ahmad R, Thibodeau SN, Hagerman RJ, Caldwell S. Fragile X syndrome: skin elastin abnormalities. *Birth defects original article series*. 1987;23(1):103-14.
62. Lozano R, Azarang A, Wilaisakditipakorn T, Hagerman RJ. Fragile X syndrome: A review of clinical management. *Intractable & rare diseases research*. 2016;5(3):145-57.
63. Mindell JA, Meltzer LJ, Carskadon MA, Chervin RD. Developmental aspects of sleep hygiene: findings from the 2004 National Sleep Foundation Sleep in America Poll. *Sleep medicine*. 2009;10(7):771-9.
64. Marcus CL, Brooks LJ, Ward SD, Draper KA, Gozal D, Halbower AC, et al. Diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome. *Pediatrics*. 2012;130(3):e714-e55.
65. Montplaisir J, Bédard M-A, Richer F, Rouleau I. Neurobehavioral manifestations in obstructive sleep apnea syndrome before and after treatment with continuous positive airway pressure. *Sleep*. 1992;15(suppl_6):S17-S9.

66. Arad-Cohen N, Cohen A, Tirosh E. The relationship between gastroesophageal reflux and apnea in infants. *The Journal of pediatrics*. 2000;137(3):321-6.
67. Hatton DD, Buckley E, Lachiewicz A, Roberts J. Ocular status of boys with fragile X syndrome: a prospective study. *Journal of American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*. 1998;2(5):298-302.
68. Alanay Y, Ünal F, Turanlı G, Alikasıfoğlu M, Alehan D, Akyol U, et al. A multidisciplinary approach to the management of individuals with fragile X syndrome. *Journal of Intellectual Disability Research*. 2007;51(2):151-61.
69. Bailey Jr DB, Raspa M, Holiday D, Bishop E, Olmsted M. Functional skills of individuals with fragile X syndrome: A lifespan cross-sectional analysis. *American Journal on Intellectual and Developmental Disabilities*. 2009;114(4):289-303.
70. Ciaccio C, Fontana L, Milani D, Tabano S, Miozzo M, Esposito S. Fragile X syndrome: a review of clinical and molecular diagnoses. *Italian journal of pediatrics*. 2017;43:1-12.
71. Reches A. Fragile X Syndrome: Introduction. *Fragile-X Syndrome: Methods and Protocols*. 2019:3-10.
72. Jorge P, Garcia E, Gonçalves A, Marques I, Maia N, Rodrigues B, et al. Classical fragile-X phenotype in a female infant disclosed by comprehensive genomic studies. *BMC Medical Genetics*. 2018;19:1-5.
73. Reiss AL, Abrams MT, Greenlaw R, Freund L, Denckla MB. Neurodevelopmental effects of the FMR-1 full mutation in humans. *Nature medicine*. 1995;1(2):159-67.
74. Sherman SL. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. *American journal of medical genetics*. 2000;97(3):189-94.
75. Berry-Kravis E, Abrams L, Coffey SM, Hall DA, Greco C, Gane LW, et al. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: clinical features, genetics, and testing guidelines. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 2007;22(14):2018-30.
76. Bourgeois JA, Seritan AL, Casillas EM, Hessl D, Schneider A, Yang Y, et al. Lifetime prevalence of mood and anxiety disorders in fragile X premutation carriers. *The Journal of clinical psychiatry*. 2010;71(2):10354.
77. L Seritan A, A Bourgeois J, Schneider A, Mu Y, J Hagerman R, V Nguyen D. Ages of onset of mood and anxiety disorders in fragile X premutation carriers. *Current psychiatry reviews*. 2013;9(1):65-71.

78. 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. *Journal of autism and developmental disorders*. 2007;37:738-47.
79. Hagerman RJ, Protic D, Rajaratnam A, Salcedo-Arellano MJ, Aydin EY, Schneider A. Fragile X-associated neuropsychiatric disorders (FXAND). *Frontiers in Psychiatry*. 2018;9:564.
80. Conde V, Palomar FJ, Lama MJ, Martínez R, Carrillo F, Pintado E, et al. Abnormal GABA-mediated and cerebellar inhibition in women with the fragile X premutation. *Journal of Neurophysiology*. 2013;109(5):1315-22.
81. Song G, Napoli E, Wong S, Hagerman R, Liu S, Tassone F, et al. Altered redox mitochondrial biology in the neurodegenerative disorder fragile X-tremor/ataxia syndrome: use of antioxidants in precision medicine. *Molecular Medicine*. 2016;22(1):548-59.
82. Jalnapurkar I, Rafika N, Tassone F, Hagerman R. Immune mediated disorders in women with a fragile X expansion and FXTAS. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2015;167(1):190-7.
83. Gruber N, Haham LM, Raanani H, Cohen Y, Gabis L, Berkenstadt M, et al. Female fragile X premutation carriers are at increased risk for metabolic syndrome from early adulthood. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2022;32(4):1010-8.
84. Hall DA, Nag S, Ouyang B, Bennett DA, Liu Y, Ali A, et al. Fragile X gray zone alleles are associated with signs of parkinsonism and earlier death. *Movement Disorders*. 2020;35(8):1448-56.
85. Debrey SM, Leehey MA, Klepitskaya O, Filley CM, Shah RC, Kluger B, et al. Clinical phenotype of adult fragile X gray zone allele carriers: a case series. *The Cerebellum*. 2016;15:623-31.
86. Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Human reproduction update*. 2002;8(2):141-54.
87. Mazzocco MM. Advances in research on the fragile X syndrome. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews*. 2000;6(2):96-106.
88. Sihombing NRB, Winarni TI, Utari A, van Bokhoven H, Hagerman RJ, Faradz SM. Surveillance and prevalence of fragile X syndrome in Indonesia. *Intractable & Rare Diseases Research*. 2021;10(1):11-6.
89. Bilgen T, Keser I, Mihci E, Haspolat S, Tacoy S, Luleci G. Molecular analysis of fragile X syndrome in Antalya Province. *Indian journal of medical sciences*. 2005;59(4):150-5.

90. Eichler EE, Richards S, Gibbs RA, Nelson DL. Fine structure of the human FMR1 gene. *Human molecular genetics*. 1993;2(8):1147-53.
91. Brackett DM, Qing F, Amieux PS, Sellers DL, Horner PJ, Morris DR. FMR1 transcript isoforms: association with polyribosomes; regional and developmental expression in mouse brain. *PloS one*. 2013;8(3):e58296.
92. Penagarikano O, Mulle JG, Warren ST. The pathophysiology of fragile x syndrome. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2007;8:109-29.
93. Nobile V, Pucci C, Chiurazzi P, Neri G, Tabolacci E. Dna methylation, mechanisms of FMR1 inactivation and therapeutic perspectives for fragile X syndrome. *Biomolecules*. 2021;11(2):296.
94. Kumari D, Gabrielian A, Wheeler D, Usdin K. The roles of Sp1, Sp3, USF1/USF2 and NRF-1 in the regulation and three-dimensional structure of the Fragile X mental retardation gene promoter. *Biochemical Journal*. 2005;386(2):297-303.
95. Beilina A, Tassone F, Schwartz PH, Sahota P, Hagerman PJ. Redistribution of transcription start sites within the FMR1 promoter region with expansion of the downstream CGG-repeat element. *Human molecular genetics*. 2004;13(5):543-9.
96. Lim JH, Booker AB, Fallon JR. Regulating fragile X gene transcription in the brain and beyond. *Journal of cellular physiology*. 2005;205(2):170-5.
97. Willemsen R, Bontekoe CJ, Severijnen L-A, Oostra BA. Timing of the absence of FMR1 expression in full mutation chorionic villi. *Human genetics*. 2002;110:601-5.
98. Naumann A, Hochstein N, Weber S, Fanning E, Doerfler W. A distinct DNA-methylation boundary in the 5'-upstream sequence of the FMR1 promoter binds nuclear proteins and is lost in fragile X syndrome. *The American Journal of Human Genetics*. 2009;85(5):606-16.
99. Hermann A, Goyal R, Jeltsch A. The Dnmt1 DNA-(cytosine-C5)-methyltransferase methylates DNA processively with high preference for hemimethylated target sites. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(46):48350-9.
100. Illingworth RS, Gruenewald-Schneider U, Webb S, Kerr AR, James KD, Turner DJ, et al. Orphan CpG islands identify numerous conserved promoters in the mammalian genome. *PLoS genetics*. 2010;6(9):e1001134.
101. Ueda Y, Okano M, Williams C, Chen T, Georgopoulos K, Li E. Roles for Dnmt3b in mammalian development: a mouse model for the ICF syndrome. 2006.
102. Wu SC, Zhang Y. Active DNA demethylation: many roads lead to Rome. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2010;11(9):607-20.

103. Tabolacci E, Chiurazzi P. Epigenetics, fragile X syndrome and transcriptional therapy. *American journal of medical genetics Part A*. 2013;161(11):2797-808.
104. Kumari D, Usdin K. The distribution of repressive histone modifications on silenced FMR1 alleles provides clues to the mechanism of gene silencing in fragile X syndrome. *Human molecular genetics*. 2010;19(23):4634-42.
105. Sparmann A, van Lohuizen M. Polycomb silencers control cell fate, development and cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6(11):846-56.
106. Handa V, Saha T, Usdin K. The fragile X syndrome repeats form RNA hairpins that do not activate the interferon-inducible protein kinase, PKR, but are cut by Dicer. *Nucleic Acids Research*. 2003;31(21):6243-8.
107. Suhl JA, Warren ST. Single-nucleotide mutations in FMR1 reveal novel functions and regulatory mechanisms of the fragile X syndrome protein FMRP. *Journal of experimental neuroscience*. 2015;9:JEN. S25524.
108. Coffee B, Ikeda M, Budimirovic DB, Hjelm LN, Kaufmann WE, Warren ST. Mosaic FMR1 deletion causes fragile X syndrome and can lead to molecular misdiagnosis: a case report and review of the literature. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2008;146(10):1358-67.
109. Nolin SL, Glicksman A, Tortora N, Allen E, Macpherson J, Mila M, et al. Expansions and contractions of the FMR1 CGG repeat in 5,508 transmissions of normal, intermediate, and premutation alleles. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2019;179(7):1148-56.
110. Chen L-S, Tassone F, Sahota P, Hagerman PJ. The (CGG) n repeat element within the 5' untranslated region of the FMR1 message provides both positive and negative cis effects on in vivo translation of a downstream reporter. *Human molecular genetics*. 2003;12(23):3067-74.
111. Mailick MR, Hong J, Rathouz P, Baker MW, Greenberg JS, Smith L, et al. Low-normal FMR1 CGG repeat length: phenotypic associations. *Frontiers in genetics*. 2014;5:309.
112. Tassone F, Beilina A, Carosi C, Albertosi S, Bagni C, Li L, et al. Elevated FMR1 mRNA in premutation carriers is due to increased transcription. *Rna*. 2007;13(4):555-62.
113. Fernandez-Carvajal I, Posadas BL, Pan R, Raske C, Hagerman PJ, Tassone F. Expansion of an FMR1 grey-zone allele to a full mutation in two generations. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2009;11(4):306-10.

114. Sullivan AK, Crawford DC, Scott EH, Leslie ML, Sherman SL. Paternally transmitted FMR1 alleles are less stable than maternally transmitted alleles in the common and intermediate size range. *The American Journal of Human Genetics*. 2002;70(6):1532-44.
115. 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. *The American Journal of Human Genetics*. 1998;63(3):776-85.
116. Villate O, Ibarluzea N, Maortua H, De la Hoz AB, Rodriguez-Revenga L, Izquierdo-Álvarez S, et al. Effect of AGG interruptions on FMR1 maternal transmissions. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2020;7:135.
117. Pandelache A, Baker EK, Aliaga SM, Arpone M, Forbes R, Stark Z, et al. Clinical and molecular differences between 4-year-old monozygous male twins mosaic for normal, premutation and fragile X full mutation alleles. *Genes*. 2019;10(4):279.
118. Nolin SL, Glicksman A, Houck Jr GE, Brown WT, Dobkin CS. Mosaicism in fragile X affected males. *American journal of medical genetics*. 1994;51(4):509-12.
119. Tassone F, Jiraanont P, Kumar M, Tang H-T, Espinal G, Hagerman PJ, et al. Size and methylation mosaicism in males with Fragile X syndrome. *Expert review of molecular diagnostics*. 2017;17(11):1023-32.
120. Jarmolowicz AI, Baker EK, Bartlett E, Francis D, Ling L, Gamage D, et al. Fragile X syndrome full mutation in cognitively normal male identified as part of an Australian reproductive carrier screening program. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2021;185(5):1498-503.
121. Jiraanont P, Kumar M, Tang H-T, Espinal G, Hagerman PJ, Hagerman RJ, et al. Size and methylation mosaicism in males with Fragile X syndrome. *Expert review of molecular diagnostics*. 2017;17(11):1023-32.
122. Kenneson A, Zhang F, Hagedorn CH, Warren ST. Reduced FMRP and increased FMR1 transcription is proportionally associated with CGG repeat number in intermediate-length and premutation carriers. *Human molecular genetics*. 2001;10(14):1449-54.
123. Sitzmann AF, Hagelstrom RT, Tassone F, Hagerman RJ, Butler MG. Rare FMR1 gene mutations causing fragile X syndrome: a review. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2018;176(1):11-8.
124. Quartier A, Poquet H, Gilbert-Dussardier B, Rossi M, Casteleyn A-S, Portes Vd, et al. Intragenic FMR1 disease-causing variants: a significant mutational mechanism

- leading to Fragile-X syndrome. *European Journal of Human Genetics*. 2017;25(4):423-31.
125. Prior TW, Papp AC, Snyder PJ, Sedra MS, Guida M, Enrile BG. Germline mosaicism at the fragile X locus. *American journal of medical genetics*. 1995;55(3):384-6.
 126. Kim M, Ceman S. Fragile X mental retardation protein: past, present and future. *Current Protein and Peptide Science*. 2012;13(4):358-71.
 127. Bhogal B, Jepson JE, Savva YA, Pepper AS, Reenan RA, Jongens TA. Modulation of dADAR-dependent RNA editing by the *Drosophila* fragile X mental retardation protein. *Nature neuroscience*. 2011;14(12):1517-24.
 128. Shamay-Ramot A, Khmeresh K, Porath HT, Barak M, Pinto Y, Wachtel C, et al. Fmrp interacts with adar and regulates RNA editing, synaptic density and locomotor activity in zebrafish. *PLoS genetics*. 2015;11(12):e1005702.
 129. Filippini A, Bonini D, Lacoux C, Pacini L, Zingariello M, Sancillo L, et al. Absence of the Fragile X Mental Retardation Protein results in defects of RNA editing of neuronal mRNAs in mouse. *RNA biology*. 2017;14(11):1580-91.
 130. Alpatov R, Lesch BJ, Nakamoto-Kinoshita M, Blanco A, Chen S, Stützer A, et al. A chromatin-dependent role of the fragile X mental retardation protein FMRP in the DNA damage response. *Cell*. 2014;157(4):869-81.
 131. Hou L, Antion MD, Hu D, Spencer CM, Paylor R, Klann E. Dynamic translational and proteasomal regulation of fragile X mental retardation protein controls mGluR-dependent long-term depression. *Neuron*. 2006;51(4):441-54.
 132. Nalavadi VC, Muddashetty RS, Gross C, Bassell GJ. Dephosphorylation-induced ubiquitination and degradation of FMRP in dendrites: a role in immediate early mGluR-stimulated translation. *Journal of Neuroscience*. 2012;32(8):2582-7.
 133. ADA Y, AKBAROVA Y, GÜMÜŞ H, DÜNDAR M. SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ JOURNAL OF HEALTH SCIENCES.
 134. Abitbol M, Menini C, Delezoide A-L, Rhyner T, Vekemans M, Mallet J. Nucleus basalis magnocellularis and hippocampus are the major sites of FMR-1 expression in the human fetal brain. *Nature genetics*. 1993;4(2):147-53.
 135. Olsen UDGIHTBEPWPWSSTDNCJ-F, 9 RGSCSYFAHMYTTAITKCWHTY, Genoscope, 10 CU-WJHRSWAFBPBTPERCWP, Department of Genome Analysis IoMBRAPMNGTSRA, 11 GSCSDRD-SLRMWKLHMDJ, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *nature*. 2001;409(6822):860-921.
 136. Kruglyak S, Durrett RT, Schug MD, Aquadro CF. Equilibrium distributions of microsatellite repeat length resulting from a balance between slippage events and

- point mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(18):10774-8.
137. Quilez J, Guilmatre A, Garg P, Highnam G, Gymrek M, Erlich Y, et al. Polymorphic tandem repeats within gene promoters act as modifiers of gene expression and DNA methylation in humans. *Nucleic acids research*. 2016;44(8):3750-62.
 138. Depienne C, Mandel J-L. 30 years of repeat expansion disorders: What have we learned and what are the remaining challenges? *The American Journal of Human Genetics*. 2021;108(5):764-85.
 139. Malik I, Kelley CP, Wang ET, Todd PK. Molecular mechanisms underlying nucleotide repeat expansion disorders. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2021;22(9):589-607.
 140. Stoyas CA, La Spada AR. The CAG–polyglutamine repeat diseases: a clinical, molecular, genetic, and pathophysiologic nosology. *Handbook of clinical neurology*. 2018;147:143-70.
 141. Messaëd C, Rouleau G. Molecular mechanisms underlying polyalanine diseases. *Neurobiology of disease*. 2009;34(3):397-405.
 142. Cumming SA, Hamilton MJ, Robb Y, Gregory H, McWilliam C, Cooper A, et al. De novo repeat interruptions are associated with reduced somatic instability and mild or absent clinical features in myotonic dystrophy type 1. *European Journal of Human Genetics*. 2018;26(11):1635-47.
 143. Ruggieri A, Naumenko S, Smith MA, Iannibelli E, Blasevich F, Bragato C, et al. Multiomic elucidation of a coding 99-mer repeat-expansion skeletal muscle disease. *Acta Neuropathologica*. 2020;140:231-5.
 144. Sinden RR, Pytlos-Sinden MJ, Potaman VN. Slipped strand DNA structures. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. 2007;12(13):4788-99.
 145. Pearson CE, Edamura KN, Cleary JD. Repeat instability: mechanisms of dynamic mutations. *Nature Reviews Genetics*. 2005;6(10):729-42.
 146. Singer RH. Triplet repeats and human disease. *Molecular Medicine Today*. 1996;2(2):65-9.
 147. McMurray CT. Mechanisms of DNA expansion. *Chromosoma*. 1995;104(1):2-13.
 148. Bjerregaard VA, Garribba L, McMurray CT, Hickson ID, Liu Y. Folate deficiency drives mitotic missegregation of the human FRAXA locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018;115(51):13003-8.

149. 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. *Genetics in Medicine*. 2012;14(8):729-36.
150. Yrigollen CM, Martorell L, Durbin-Johnson B, Naudo M, Genoves J, Murgia A, et al. AGG interruptions and maternal age affect FMR1 CGG repeat allele stability during transmission. *Journal of neurodevelopmental disorders*. 2014;6(1):1-12.
151. Zhong N, Yang W, Dobkin C, Brown WT. Fragile X gene instability: anchoring AGGs and linked microsatellites. *American journal of human genetics*. 1995;57(2):351.
152. Reyniers E, Vits L, De Boulle K, Roy BV, Velzen DV, de Graaff E, et al. The full mutation in the FMR-1 gene of male fragile X patients is absent in their sperm. *Nature genetics*. 1993;4(2):143-6.
153. Martin EM, Zhu Y, Kraan CM, Kumar KR, Godler DE, Field M. Men with FMR1 premutation alleles of less than 71 CGG repeats have low risk of being affected with fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Journal of medical genetics*. 2022;59(7):706-9.
154. Pugliese P, Annesi G, Cutuli N, Arabia G, Nicoletti G, Annesi F, et al. The fragile X premutation presenting as postprandial hypotension. *Neurology*. 2004;63(11):2188-9.
155. Hagerman R, Hagerman P. Advances in clinical and molecular understanding of the FMR1 premutation and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *The Lancet Neurology*. 2013;12(8):786-98.
156. Hwang YT, Aliaga SM, Arpone M, Francis D, Li X, Chong B, et al. Partially methylated alleles, microdeletion, and tissue mosaicism in a fragile X male with tremor and ataxia at 30 years of age: A case report. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2016;170(12):3327-32.
157. Kong HE, Lim J, Linsalata A, Kang Y, Malik I, Allen EG, et al. Identification of PSMB5 as a genetic modifier of fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022;119(22):e2118124119.
158. Greco C, Hagerman RJ, Tassone F, Chudley A, Del Bigio M, Jacquemont S, et al. Neuronal intranuclear inclusions in a new cerebellar tremor/ataxia syndrome among fragile X carriers. *Brain*. 2002;125(8):1760-71.
159. Ross-Inta C, Omanska-Klusek A, Wong S, Barrow C, Garcia-Arocena D, Iwahashi C, et al. Evidence of mitochondrial dysfunction in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Biochemical Journal*. 2010;429(3):545-52.

160. Fink DA, Nelson LM, Pyeritz R, Johnson J, Sherman SL, Cohen Y, et al. Fragile X associated primary ovarian insufficiency (FXPOI): case report and literature review. *Frontiers in genetics*. 2018;9:529.
161. Elizur SE, Lebovitz O, Derech-Haim S, Dratviman-Storobinsky O, Feldman B, Dor J, et al. Elevated levels of FMR1 mRNA in granulosa cells are associated with low ovarian reserve in FMR1 premutation carriers. *PLoS One*. 2014;9(8):e105121.
162. Hundscheid RD, Sistermans EA, Thomas CM, Braat DD, Straatman H, Kiemeny LA, et al. Imprinting effect in premature ovarian failure confined to paternally inherited fragile X premutations. *The American Journal of Human Genetics*. 2000;66(2):413-8.
163. Sullivan A, Marcus M, Epstein M, Allen E, Anido A, Paquin J, et al. Association of FMR1 repeat size with ovarian dysfunction. *Human Reproduction*. 2005;20(2):402-12.
164. Hunter JE, Epstein MP, Tinker SW, Charen KH, Sherman SL. Fragile X-associated primary ovarian insufficiency: evidence for additional genetic contributions to severity. *Genetic Epidemiology: The Official Publication of the International Genetic Epidemiology Society*. 2008;32(6):553-9.
165. Protic DD, Aishworiya R, Salcedo-Arellano MJ, Tang SJ, Milisavljevic J, Mitrovic F, et al. Fragile X syndrome: from molecular aspect to clinical treatment. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(4):1935.
166. Ballinger EC, Cordeiro L, Chavez AD, Hagerman RJ, Hessel D. Emotion potentiated startle in fragile X syndrome. *Journal of autism and developmental disorders*. 2014;44:2536-46.
167. McDuffie A, Thurman AJ, Hagerman RJ, Abbeduto L. Symptoms of autism in males with fragile X syndrome: A comparison to nonsyndromic ASD using current ADI-R scores. *Journal of autism and developmental disorders*. 2015;45:1925-37.
168. Salcedo-Arellano MJ, Cabal-Herrera AM, Punatar RH, Clark CJ, Romney CA, Hagerman RJ. Overlapping molecular pathways leading to autism spectrum disorders, fragile X syndrome, and targeted treatments. *Neurotherapeutics*. 2021;18:265-83.
169. Shitik EM, Velmiskina AA, Dolzkiy AA, Yudkin DV. Reactivation of FMR1 gene expression is a promising strategy for fragile X syndrome therapy. *Gene Therapy*. 2020;27(6):247-53.
170. DeMartini J, Patel G, Fancher TL. Generalized anxiety disorder. *Annals of internal medicine*. 2019;170(7):ITC49-ITC64.
171. Li L, Wang Z. Ovarian aging and osteoporosis. *Aging and aging-related diseases: mechanisms and interventions*. 2018:199-215.

172. Sutherland GR. Heritable fragile sites on human chromosomes I. Factors affecting expression in lymphocyte culture. *American journal of human genetics*. 1979;31(2):125.
173. AKIN H AE. Tıbbi Genetikte Kullanılan Yöntemler. Tıbbi Genetik Laboratuar ve Klinik. 2017.
174. Kara N. Frajil-X sendromlu hastaların ve taşıyıcıların tanısında sitogenetik ve moleküler genetik yöntemlerin kullanılması. 1999.
175. Winarni T, Utari A, Mundhofir F, Hagerman R, Faradz S. Fragile X syndrome: clinical, cytogenetic and molecular screening among autism spectrum disorder children in Indonesia. *Clinical genetics*. 2013;84(6):577-80.
176. McGowan-Jordan J, Hastings RJ, Moore S. ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020). Reprint Of: Cytogenetic and Genome Research 2020, Vol. 160, No. 7-8: Karger, S; 2020.
177. Rousseau F, Labelle Y, Bussi eres J, Lindsay C. The fragile x mental retardation syndrome 20 years after the FMR1 gene discovery: an expanding universe of knowledge. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2011;32(3):135.
178. Rousseau F, Heitz D, Tarleton J, MacPherson J, Malmgren H, Dahl N, et al. A multicenter study on genotype-phenotype correlations in the fragile X syndrome, using direct diagnosis with probe StB12. 3: the first 2,253 cases. *American journal of human genetics*. 1994;55(2):225.
179. Rousseau F, Heitz D, Biancalana V, Blumenfeld S, Kretz C, Bou   J, et al. Direct diagnosis by DNA analysis of the fragile X syndrome of mental retardation. *New England Journal of Medicine*. 1991;325(24):1673-81.
180. Maenner MJ, Baker MW, Broman KW, Tian J, Barnes JK, Atkins A, et al. FMR1 CGG expansions: prevalence and sex ratios. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2013;162(5):466-73.
181. Mandel J, Biancalana V. Fragile X mental retardation syndrome: from pathogenesis to diagnostic issues. *Growth hormone & IGF research*. 2004;14:158-65.
182. Kavak FF. Mental retardasyonlu hastalarda frajil X analizi: Sağlık Bilimleri Enstit  s  .
183. Seritan AL, Nguyen DV, Mu Y, Tassone F, Bourgeois JA, Schneider A, et al. Memantine for fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *The Journal of clinical psychiatry*. 2013;74(3):11577.
184. Purugganan O. Intellectual disabilities. *Pediatrics in Review*. 2018;39(6):299-309.

185. Ayoglu FN, Cabuk F, Kiran S, Ocakci A, Sahin Z, Dursun A. The prevalence of mental retardation by gender, age of diagnosis and location in Zonguldak province, Turkey. *Neurosciences Journal*. 2008;13(1):57-60.
186. Bradley EA, Thompson A, Bryson SE. Mental retardation in teenagers: prevalence data from the Niagara region, Ontario. *The Canadian Journal of Psychiatry*. 2002;47(7):652-9.
187. Domniz N, Ries-Levavi L, Cohen Y, Marom-Haham L, Berkenstadt M, Pras E, et al. Absence of AGG interruptions is a risk factor for full mutation expansion among Israeli FMR1 premutation carriers. *Frontiers in Genetics*. 2018;9:606.
188. Nolin SL, Lewis 3rd F, Ye LL, Houck Jr GE, Glicksman AE, Limprasert P, et al. Familial transmission of the FMR1 CGG repeat. *American journal of human genetics*. 1996;59(6):1252.
189. Eichler EE, Hammond HA, Macpherson JN, Ward PA, Nelson DL. Population survey of the human FMR1 CGG repeat substructure suggests biased polarity for the loss of AGG interruptions. *Human molecular genetics*. 1995;4(12):2199-208.
190. Yrigollen CM, Sweha S, Durbin-Johnson B, Zhou L, Berry-Kravis E, Fernandez-Carvajal I, et al. Distribution of AGG interruption patterns within nine world populations. *Intractable & rare diseases research*. 2014;3(4):153-61.
191. Ardui S, Race V, De Ravel T, Van Esch H, Devriendt K, Matthijs G, et al. Detecting AGG interruptions in females with a FMR1 premutation by long-read single-molecule sequencing: a 1 year clinical experience. *Frontiers in Genetics*. 2018;9:150.
192. Guo Q, Chang Y-Y, Huang C-H, Hsiao Y-S, Hsiao Y-C, Chiu I-F, et al. Population-based carrier screening and prenatal diagnosis of fragile X syndrome in East Asian populations. *Journal of Genetics and Genomics*. 2021;48(12):1104-10.
193. Tassone Y, Carolyn M, 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. *Genetics in Medicine*. 2012;14(8):729-36.
194. Merenstein SA, Sobesky WE, Taylor AK, Riddle JE, Tran HX, Hagerman RJ. Molecular-clinical correlations in males with an expanded FMR1 mutation. *American journal of medical genetics*. 1996;64(2):388-94.
195. Saldarriaga W, González-Teshima LY, Forero-Forero JV, Tang H-T, Tassone F. Mosaicism in fragile X syndrome: A family case series. *Journal of Intellectual Disabilities*. 2022;26(3):800-7.
196. Schmucker B, Seidel J. Mosaicism for a full mutation and a normal size allele in two fragile X males. *American journal of medical genetics*. 1999;84(3):221-5.

197. Mailick MR, Movaghar A, Hong J, Greenberg JS, DaWalt LS, Zhou L, et al. Health profiles of mosaic versus non-mosaic FMR1 premutation carrier mothers of children with fragile X syndrome. *Frontiers in genetics*. 2018;9:173.
198. Pretto DI, Mendoza-Morales G, Lo J, Cao R, Hadd A, Latham GJ, et al. CGG allele size somatic mosaicism and methylation in FMR1 premutation alleles. *Journal of medical genetics*. 2014;51(5):309-18.
199. Mei L, Hu C, Li D, Wang Y, Li H, Zhang K, et al. The incidence and clinical characteristics of fragile X syndrome in China. *Frontiers in Pediatrics*. 2023;11:1.
200. Charalsawadi C, Wirojanan J, Jaruratanasirikul S, Ruangdaraganon N, Geater A, Limprasert P. Common clinical characteristics and rare medical problems of fragile X syndrome in Thai patients and review of the literature. *International Journal of Pediatrics*. 2017;2017.
201. Guraju MR, Lavanya K, Thelma B, Sujatha M, OmSai V, Nagarathna V, et al. Assessment of a clinical checklist in the diagnosis of fragile X syndrome in India. *Journal of clinical neuroscience*. 2009;16(10):1305-10.
202. Behery AK. Fragile x-syndrome: clinical and molecular studies. *J Egypt Public Health Assoc*. 2008;83(3-4):273-83.
203. Heulens I, Suttie M, Postnov A, De Clerck N, Perrotta CS, Mattina T, et al. Craniofacial characteristics of fragile X syndrome in mouse and man. *European Journal of Human Genetics*. 2013;21(8):816-23.
204. Loomes R, Hull L, Mandy WPL. What is the male-to-female ratio in autism spectrum disorder? A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 2017;56(6):466-74.
205. Brugha TS, Spiers N, Bankart J, Cooper S-A, McManus S, Scott FJ, et al. Epidemiology of autism in adults across age groups and ability levels. *The British Journal of Psychiatry*. 2016;209(6):498-503.
206. Bailey DB, Mesibov GB, Hatton DD, Clark RD, Roberts JE, Mayhew L. Autistic behavior in young boys with fragile X syndrome. *Journal of autism and developmental disorders*. 1998;28:499-508.
207. Rogers SJ, Wehner EA, Hagerman R. The behavioral phenotype in fragile X: symptoms of autism in very young children with fragile X syndrome, idiopathic autism, and other developmental disorders. *Journal of developmental & behavioral pediatrics*. 2001;22(6):409-17.

208. Hatton DD, Sideris J, Skinner M, Mankowski J, Bailey Jr DB, Roberts J, et al. Autistic behavior in children with fragile X syndrome: prevalence, stability, and the impact of FMRP. *American journal of medical genetics Part A*. 2006;140(17):1804-13.
209. Faraone SV, Biederman J, Mick E. The age-dependent decline of attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis of follow-up studies. *Psychological medicine*. 2006;36(2):159-65.
210. Sayal K, Prasad V, Daley D, Ford T, Coghill D. ADHD in children and young people: prevalence, care pathways, and service provision. *The Lancet Psychiatry*. 2018;5(2):175-86.
211. Mowlem FD, Rosenqvist MA, Martin J, Lichtenstein P, Asherson P, Larsson H. Sex differences in predicting ADHD clinical diagnosis and pharmacological treatment. *European child & adolescent psychiatry*. 2019;28:481-9.
212. Hunter JE, Epstein MP, Tinker SW, Abramowitz A, Sherman SL. The FMR1 premutation and attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): evidence for a complex inheritance. *Behavior genetics*. 2012;42:415-22.
213. Chandrasekara B, Wijesundera S, Chong S, Perera H. Prevalence of Fragile X Syndrome among children receiving special education and carrier states in first degree relatives. *Ceylon Medical Journal*. 2017;62(2):92-6.
214. Li M, Zhu Y, Wei J, Chen L, Chen S, Lai D. The global prevalence of premature ovarian insufficiency: a systematic review and meta-analysis. *Climacteric*. 2023;26(2):95-102.
215. Kenneson A, Cramer DW, Warren ST. Fragile X premutations are not a major cause of early menopause. *The American Journal of Human Genetics*. 1997;61(6):1362-9.
216. Ishizuka B, Okamoto N, Hamada N, Sugishita Y, Saito J, Takahashi N, et al. Number of CGG repeats in the FMR1 gene of Japanese patients with primary ovarian insufficiency. *Fertility and sterility*. 2011;96(5):1170-4.
217. Chatterjee S, Maitra A, Kadam S, Patel Z, Gokral J, Meherji P. CGG repeat sizing in the FMR1 gene in Indian women with premature ovarian failure. *Reproductive biomedicine online*. 2009;19(2):281-6.
218. Allen EG, Charen K, Hipp HS, Shubeck L, Amin A, He W, et al. Refining the risk for fragile X-associated primary ovarian insufficiency (FXPOI) by FMR1 CGG repeat size. *Genetics in Medicine*. 2021;23(9):1648-55.
219. Tejada M-I, García-Alegría E, Bilbao A, Martínez-Bouzas C, Beristain E, Poch M, et al. Analysis of the molecular parameters that could predict the risk of manifesting

- premature ovarian failure in female premutation carriers of fragile X syndrome. *Menopause*. 2008;15(5):945-9.
220. Allen E, Sullivan A, Marcus M, Small C, Dominguez C, Epstein M, et al. Examination of reproductive aging milestones among women who carry the FMR1 premutation. *Human reproduction*. 2007;22(8):2142-52.
 221. Utine GE, Şimşek-Kiper PÖ, Akgün-Doğan Ö, Ürel-Demir G, Alanay Y, Aktaş D, et al. Fragile x-associated premature ovarian failure in a large Turkish cohort: Findings of Hacettepe Fragile X Registry. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2018;221:76-80.
 222. Schwartz C, Dean J, Howard-Peebles P, Bugge M, Mikkelsen M, Tommerup N, et al. Obstetrical and gynecological complications in fragile X carriers: a multicenter study. *American journal of medical genetics*. 1994;51(4):400-2.
 223. Vander Borcht M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical biochemistry*. 2018;62:2-10.
 224. Karimov C, Moragianni V, Cronister A, Srouji S, Petrozza J, Racowsky C, et al. Increased frequency of occult fragile X-associated primary ovarian insufficiency in infertile women with evidence of impaired ovarian function. *Human reproduction*. 2011;26(8):2077-83.
 225. De Geyter C, M'Rabet N, De Geyter J, Zürcher S, Moffat R, Bösch N, et al. Similar prevalence of expanded CGG repeat lengths in the fragile X mental retardation I gene among infertile women and among women with proven fertility: a prospective study. *Genetics in medicine*. 2014;16(5):374-8.
 226. Liu Y, Winarni TI, Zhang L, Tassone F, Hagerman RJ. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in grey zone carriers. *Clinical genetics*. 2013;84(1):74-7.

EKLER

EK-1. İntihal Raporu

FMR1 GENİNDE CGG TEKRAR SAYISI 40 VE ÜZERİ OLAN
HASTALARIN GENOTİP PROFİLİ VE GENOTİP-FENOTİP İLİŞKİSİ:
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ DENEYİMİ

ORJİNALLİK RAPORU

%**3**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**2**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%**1**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

2

www.researchgate.net

İnternet Kaynağı

<%**1**

3

Submitted to Gaziantep Aniversitesi

Öğrenci Ödevi

<%**1**

4

www.vhbio.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

Sengul Tural, Akin Tekcan, Nurten Kara,
Mehmet Elbistan, Davut Güven, Haydar Ali
Tasdemir. " gene mutation screening by TP-
PCR in patients with premature ovarian failure
and fragile-X ", Gynecological Endocrinology,
2014

Yayın

<%**1**

6

acikerisim.dicle.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

Submitted to Atatürk University

EK-2 Etik Kurul Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/120 -209

05.05.2023

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Engin ALTUNDAĞ

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz FMR1 Geninde CGG Tekrar Sayısı 40 ve Üzeri Olan Hastaların Genotip Profili ve Genotip Fenotip İlişkisi : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneyimi başlıklı OMÜ KAEK 2023/73 Karar nolu Dosya taraması nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları açısından Klinik Araştırmalar Etik Kurulu yönergesine göre incelenmiş ve etik açıdan bir sakınca olmadığına, çalışmanın süresi 6 ayı geçerse 6 aylık bildirimlerinin yapılmasına, çalışma tamamlandıktan sonra sonucunun tarafımıza en geç üç(3) ay içerisinde bildirilmesine 08.03.2023 tarihli Etik kurulumuzda oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.