



İDİOPATİK MENTAL RETARDASYONLARDA FRAJİL-X SENDROMU ARAŞTIRILMASI*

INVESTIGATION OF FRAGILE X SYNDROME IN IDIOPATHIC MENTAL RETARDATION

Cumhur GÜNDÜZ¹
Gül SAPMAZ¹

Özgür ÇOĞULU²
Mehmet KÖSEM¹

Cihangir ÖZKINAY²
Ferda ÖZKINAY²

Sarenur TÜTÜNCÜOĞLU²

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

Anahtar Sözcükler: frajil X sendromu, mental retardasyon

Key Words: fragile X syndrome, mental retardation

ÖZET

Frajil-X sendromu insanlarda kalıtsal zeka geriliğinin en sık nedenidir. Kalıtsal ve kalıtsal olmayan mental retardasyon nedenleri dikkate alındığında Down sendromundan sonra ikinci sırada gelmektedir.

Frajil-X tanısı sitogenetik olarak folattan fakir besiyeri kullanılarak elde edilen lenfosit kültürlerindeki metafaz kromozomları inceleyerek konulmaktadır. Son yıllarda Frajil-X geni tanımlanmış ve DNA analizi ile moleküler tanı olanağı sağlanmıştır.

Bu çalışmada Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik Laboratuvarına Frajil-X sitogenetik araştırması için yollanan mental retardasyonlu 66 olgu araştırıldı. Olguların hepsinde hem standart yöntemlerle hem de Frajil-X için folattan fakir besiyeri ile elde edilen metafazlarda kromozomlar değerlendirildi. Frajil-X için her olguda en az 100 metafaz değerlendirildi. Metodun frajil bölge göstermedeki uygunluğu kromozomlardaki yapısal frajil bölgeler saptanarak yapıldı.

Çalışılan altmış altı olgudan 18'i Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalı Genetik ve Nöroloji Bilim Dallarından klinik değerlendirmelerden geçmiş olgulardı. Diğerleri için çeşitli hastanelerden materyal yollanmıştı. Onsekiz olgunun klinik bulguları değerlendirildiğinde hepsinde olan bulgu mental retardasyondur. Geliş yakınmaları içinde ilk 3 sırayı gelişme geriliği, konvülsiyon ve konuşma güçlüğü alıyordu. Tüm olgular (66 olgu) içinde sitogenetik olarak 2 olguda (%3.03) Frajil-X tanısı konuldu. Bir olguda 49,XXXXY karyotipi saptandı.

Çalışma sonucunda Frajil-X sıklığı mental retardasyonlu topluluklarda yapılan frajil tarama çalışmaları sonucu ile uygunluk gösterdi. Fakültemizde ilk kez uygulanan sitogenetik tanı yönteminin rutin çalışmalarda kullanılabileceği, olguların sitogenetik çalışmaya alınmadan önce iyi bir klinik seçimden geçmelerinin uygun olacağı kanısına varıldı.

SUMMARY

The fragile X syndrome is the most common cause of inherited mental deficiency and the second most frequent chromosomal cause of mental deficiency after Down syndrome.

Yazışma adresi: Cumhur Gündüz, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

Makalenin geliş tarihi: 31.05.2000; kabul tarihi: 01.08.2000

Cytogenetic diagnosis of the fragile X syndrome can be made by analyzing the metaphase chromosomes from lymphocytes culturing in folat-timidin deficient medium. Recently the gene causing fragile X syndrome has been cloned and molecular diagnosis has become available.

in this study 66 mentally retarded patients who were referred to Ege University Medical Faculty Genetics Laboratories (both in Pediatrics Department and in Medical Biology Department) for cytogenetic analysis were investigated.

For all cases we applied both standard and fragile X (using folat deficient medium) cytogenetic studies. In every patient 100 metaphases were analyzed to diagnose fragile X. Constitutional fragile sites which had been described before in normal individuals were evaluated to control whether the fragile X medium worked.

18 patients out of 66 patients were examined by pediatric neurologist and a clinical geneticist in Pediatrics department of Ege University Medical Faculty. Blood samples from the remaining patients were sent by the other hospital in Aegean region.

The clinical findings of 18 patients were evaluated in detail. The common finding in all cases was mental retardation. On admission the first three complaints were developmental delay, convulsions and speech difficulties.

Two cases of 66 (3.03%) were diagnosed as having fragile X cytogenetically. One case had the chromosome composition of 49,XXXXY.

Our results were coincided to the results, which have been reported in similar studies on the same type of populations. It is widely known that molecular methods are more reliable in the diagnosis of fragile X syndrome. However this is, at present, not available in our hospital. Our study has shown that cytogenetic method can be effectively used for diagnosis of fragile X until the molecular methods are available.

GİRİŞ

Ağır mental geriliğin kadınlara göre erkeklerde % 25 kadar daha fazla olduğu uzun yıllardır dikkati çekmiştir. Bunun X'e bağlı olarak geçen, 15 farklı hastalık nedeniyle olduğu bugün bilinmektedir. Bu bozuklukların en başta geleni de frajil-X sendromudur (1, 2).

Frajil-X sendromunu insanlarda kalıtsal zeka geriliğinin en sık nedenidir. Prevalansı erkeklerde 1/1667, kadınlarda 4/10000 olarak bildirilmektedir. Hafif öğrenme güçlüğü, hafif emosyonel zorluklar gösteren olgular da dikkate alındığında bu prevalans daha da artmaktadır (3).

Frajil-X sendromunun uzun yıllardır X'e bağlı olarak kalıtıldığı kesin olarak bilinmekle birlikte, X kromozomundaki frajil bölge önce sitogenetik olarak Lubs tarafından 1969 yılında gösterilmiş, 1991 yılında da moleküler genetik temeli ortaya konmuştur (4,-6). Frajil-X mental retardasyon sendromundan sorumlu olan, frajil-X mental retardasyon 1 (FMR1) geni Xq27.3 bölgesindedir. Bu genin hasta kişilerde CGG üçlü nükleotid dizilerinin tekrarı şeklinde uzadığı görülmüştür. Bu nükleotid dizisinin uzunluğu hastalığın bulgularını klinik olarak gösterip göstermeme ile yakından ilgilidir. Frajil-X sendromu bulgularının olduğu kişilerde bu üçlü baz dizisi tekrarının sayısı 200 den fazladır ve hem bu üçlü dizilerde hem de komşu bölgelerdeki CpG' lerde hipermetilasyon vardır (5, 6). Frajil-X sendromu olan ailelerde, sendromun bulgularını

vermeyen sadece 50-200 civarında metillenmemiş CGG üçlü nükleotid tekrarını taşıyan premutasyon taşıyıcısı olarak adlandırılan kişiler bu sendromu çocuklarına geçirirler.

Frajil-X sendromunun klinik önemi, çok sayıda kişinin risk altında olması, genetik konsültasyon ve prenatal tanı ile önlenmesi nedeniyledir.

Frajil-X sendromunun başlıca klinik bulguları, dar ve uzun yüz, öne çıkıntılı alın ve çene yapısı, büyük kulaklar, çeşitli bağ dokusu ile ilgili bozukluklar, ve en önemlisi hafif dereceden ağır derecelere kadar değişebilen zeka geriliğidir (7, 8).

Klinik olarak frajil-X den kuşku edilen ailelerde önce iyi bir fizik muayene yapılır, aile ağacı çizilir. Daha sonra sitogenetik ve moleküler genetik tekniklerle araştırma yapılır. Taşıyıcı olan veya hastalık riski içinde olan kişiler belirlenir ve genetik danışma yoluyla aydınlatılır. Hastalığın tedavisi olmadığı için prenatal tanı seçeneği sunulurken önlenmesi yoluna gidilir.

Bu çalışmadaki amacımız, mental retardasyonlu ve çeşitli birimlerden Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Laboratuvarlarına yollanan ve frajil-X kuşkusu olan hastalarda sitogenetik yöntemle frajil-X aranması ve bu yöntemin tanı koymada yeterliliğinin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik laboratuvarlarına 1993 - 1997 yılları arasında gönderilen frajil-X ve karyotip analizi istenen 66 (60 erkek, 6 kız) hasta araştırmamıza alındı.

Hastalardan alınan periferik kandan aşağıdaki açıklanan yöntemler ile lenfosit kültüründen karyotip elde edildi. Lenfosit kültüründe iki farklı değerlendirme ve buna paralel iki farklı besiyeri kullanıldı. Her hastadan frajil-X ekspresyonunu sağlayan bir ortam (Modified RPMI 1640 100 ml, Fetal Bovin Serum 5 ml, Fitohemaglutinin 5 ml, L-Glutamin 1 mL, Penisilin - Streptomisin 1 ml) ile frajil-X analizi ve normal ortam (RPMI 1640 100 mL, Fetal Bovin Serum 25 ml, Fitohemaglutinin 5 mL, L-Glutamin 1 mL, Penisilin - Streptomisin 1 mL) ile karyotip analizi yapıldı.

Hastadan heparinize enjektöre alınan 2 mL periferik kan, 0.3 ml olacak şekilde hücre kültür tüpündeki iki farklı ortama eklendi. Yavaşça karıştırılarak homojenize edildi ve 37° C lik etüve kondu.

Normal karyotip analizinde, 71. saatte 0,3 (µg / mL olacak şekilde kolşisin ilave edildi ve 72. saatte harvest işlemine geçildi.

Frajil-X analizinde ise 72. saatte 10⁻⁷ M olacak şekilde metotreksat (MTX) ilave edildi ve 95. saatte 0,3 µg / mL olacak şekilde kolşisin ilave edildi, 96. saatte harvest işlemine geçildi.

Harvest: Kültür süresi biten hücre kültür tüpleri, 1000 rpm' de 10 dakika santrifüje edildi, süpernatant atılarak üzerine 7 cc hipotonik solüsyon (% 0,5 KCl) eklendi ve 37° C de 20 dakika bekletildi. Süre bitiminde 1000 rpm' de 10 dakika santrifüje edildi ve süpernatant atıldı. Üzerine 7 mL fiksatif [metanol : glacial asetik asit (3:1)] ilave edildi ve 1000 rpm' de 10 dakika santrifüjlendi. İki kez daha fiksatif ilave edilerek santrifüje edildi. Üçüncü yıkamanın sonunda süpernatant 0,5 mL kalacak şekilde bırakıldı, çökelti homojenize edildi ve daha önce temizlenmiş lamlara 4 damla olacak şekilde damlatıldı ve tozsuz ortamda kurutulmaya bırakıldı.

Her iki yöntemler elde edilen preparatlara % 5' lik tripsin solüsyonu ile GTG bantlama uygulandı.

Preparatların değerlendirmesi:

Tüm hastaların karyotip analizi, araştırma mikroskopunda immersiyon büyütmesinde GTG bantlama uygulanan preparatlardaki 15 metafazın analizi ile yapıldı.

Tüm hastaların Frajil-X analizi ise araştırma mikroskopunda immersiyon büyütmesinde özel yöntemle kültürü yapılarak elde edilen preparatlardaki en az 100 metafazın X kromozomunun sitogenetik değerlendirmesi yapılarak

gerçekleştirildi. Belli özellikler içeren metafazların fotoğrafları çekildi.

Çalışmaya alınan 66 hastadan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Nöroloji ve Genetik bilim dallarına başvuran 18 hastanın detaylı öyküleri ve klinik bulguları incelendi.

BULGULAR

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesinde çeşitli Anabilim ve Bilim Dallarından ve İzmir' deki çeşitli sağlık kuruluşlarından yollanan, yakınmaları arasında hafiften orta dereceye kadar değişen zeka geriliği olan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo V de gösterilmiştir.

Tablo 1. Mental retardasyonlu ve Frajil-X analizi için yollanan hastaların yaş ve cins dağılımı.

Yaş Grubu	Erkek	Ortalama±SD	Kadın	Ortalama±SD
0-5	8	3,66±1,30	-	-
6-10	17	7,94±0,83	2	7±1,41
11-15	24	12,08±1,72	3	13,33±1,15
16-20	6	17,00±1,55	-	-
21-25	2	22,00±1,41	-	-
30-35	2	32,5±3,54	1	32
45-49	1	46,00	-	-
	60	12,85±7,90	6	14,33±9,24

Çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Laboratuvarına çeşitli kaynaklardan yollanan ve frajil-X araştırılması istenen 66 olgu analiz edildiğinde bulgular şöyledir.

Analiz için yollanan 66 olgudan 18' i Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nörolojisi ve Çocuk Genetik hastalıkları bilim dalına başvurmuştu. Bu hastaların yaşları 2 ile 14 arasında değişiyordu. Ortalama 7.28±3.23 idi. Geriye kalan hastalar İzmir içindeki veya çevre illerdeki çeşitli hastanelerden yollanmıştı ve hepsinde ortak özellik mental retardasyonlu olmalarıydı.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı' na kayıtlı olan 18 hastanın başvurma yakınmaları ve klinik bulguları Tablo 2 ve 3 de gösterilmiştir.

Tablo 2. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD başvuran, analiz için yollanan 18 hastanın başlıca yakınmaları.

Yakınma	Sayı
Gelişme geriliği	12
Konvülsiyon	9
Konuşma güçlüğü	6
Hiperaktivite	4
Enürezis noktrüna	2
Gözde kayma	1
Öğrenme güçlüğü	1
Huzursuzluk	1
İşitme kaybı	1

Tablo 3. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD başvuran, analiz için yollanan 18 hastanın fizik muayene bulguları.

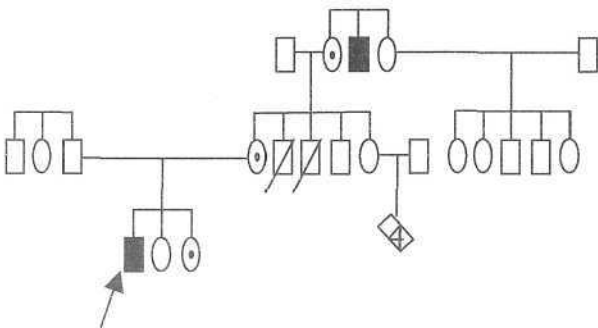
Bulgular	Sayı
Mental retardasyon	18
MRI' da bozukluk	7
EEG' de anomali	7
Yelken kulak	4
Motor gelişme geriliği	4
Hiperaktivite	4
Boy kısalığı	3
iskelet sistemi bozukluğu	2
VSD	2
Hipertelorizm	1
Antimongoloid göz yapısı	1
Uzun yüz yapısı	1
Prognatizm	1

18 hastanın 4 (% 22) tanesinin anne ve babası arasında akraba evliliği vardı.

İncelenen toplam 66 hastadan 2 (% 3.03) hastada sitogenetik olarak Frajil-X sendromu tanısı konuldu. Bu iki hasta Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalına başvuran hastalar arasındaydı. Bir olguda da 49,XXXXY karyotipi elde edildi.

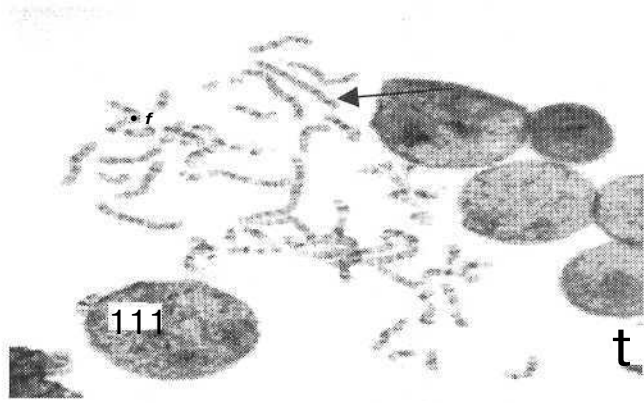
Frajil X tanısı alan 2 olgunun ve 49,XXXXY karyotipi olan olgunun özellikleri şöyleydi:

Olgu I. 10 yaşındaki erkek çocuk (OY), konvülsiyon geçirme, aşırı hareketlilik yakınmaları ile hastaneye getirilmişti. Hastanın annesinin dayısında zeka geriliği olduğu belirtildi (Şekil 1). Doğar doğmaz ağlamadığı, mor doğduğu ve doğum kilosunun 2000 g olduğu belirtildi. Fizik bakıda boy 50 persentilde, kilo 25-50 persentil arasında, mental retardasyon mevcut ve hiperaktivite vardı. Diğer sistem muayeneleri normal bulundu. Laboratuvar testlerinden rutin kan sayımı, rutin idrar bakısı, kan şekeri, üre elektrolitler normal bulundu, idrar ve kan aminoasit kromatografisi, tiroid fonksiyon testleri, idrarda leke test, FeCl₃ testi normal bulundu. Çekilen EEG' de epileptik deşarjlar gözlemlendi.



Şekil 1. Olgu V in aile ağacı

Olgunun Frajil-X ortamı ile yapılan sitogenetik analizinde 100 metafazdan 4' ünde X kromozomunda q 27.3 bölgesinde frajil bölge görüldü (Şekil 2).

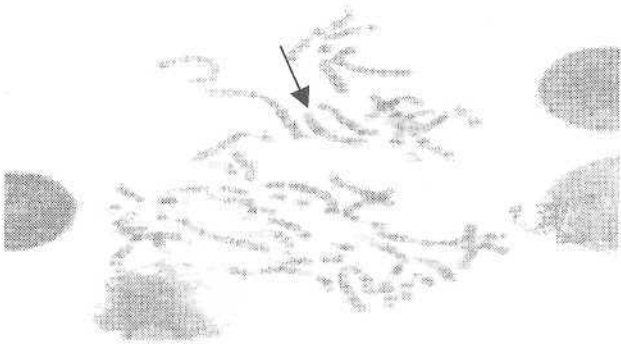


Şekil 2. Olguda Frajil-X saptanan metafazlardan biri

Olgu II. 8 yaşında erkek olgu (BK) gelişme ve zeka geriliği, konuşma güçlüğü, bir yaşındayken nöbet geçirme, aşırı hareketlilik yakınmaları ile getirildi. Normal spontan doğum ile 3200 g olarak doğduğu belirtildi. Ailede benzer birey yoktu.

Fiziki bakıda kilo 25-50 persentil arasında, boy 25-50 persentii arasında, baş çevresi normaldi. Fizik bakıda yelken kulak, uzun yüz yapısı, prognatizm saptandı. Diğer sistem muayeneleri normal bulundu. Laboratuvar testlerinde rutin kan ve idrar bakısı, kan şekeri ve üre, kan elektrolitleri normal bulundu. Kan ve idrar aminoasit kromatografisi, idrarda FeCl₃ testi, leke testi ve sodyum nitropurüsid testleri normal bulundu. IQ sınırda, diğer testlerde ilgi dağınık, algılama zayıf, ilişki kurma zayıf, renk tanıma normal, aşırı hareketli, konuşma bozuk ve hırçın bulguları elde edildi. Uykü EEG' sinde sol hemisferde parieto-occipital bölgede epileptik aktivite, subkortikal epileptik dalgalar elde edildi.

Sitogenetik çalışmada sayılan metafazlarda % 8 oranında Frajil-X olduğu gözlemlendi (Şekil 3)



Şekil 3. Olguda Frajil-X saptanan metafazlardan biri

49,XXXXY karyotipi elde edilen olgu:

13 yaşındaki erkek oğlu (YC) konuşma güçlüğü, okulda başarısızlık, saçını çekme gibi yakınmalarla hastaneye yatırıldı.

Özgeçmişinde gebeliğin 3 ayında düşük tehdidi olduğu, 3400 g olarak doğduğu, güç ağırladığı, 1 yaşında oturduğu, 2 yaşında yürüdüğü, tek kelimeleri 3-4 yaşında söylediği, hala idrar kontrolünün tam olmadığı belirtildi. 12 yaşında sağlıklı bir kardeşi var, anne baba arasında akrabalık yoktu. Geldiğinde yapılan fizik bakıda ağırlık 10-25 Persantil, boy 25 persantil baş çevresi 50 persantil olarak ölçüldü; hafif soluk görünümde, başta alopesi areata (saçını hasta kendisi yolmuştu), ağızda yaygın diş çürükleri, hiperaktif mental retardasyon vardı.

Laboratuvar testlerinde rutin idrar ve kan bakısı metabolik testler, tiroid testleri normal bulundu. Gaitada Giardia intestinalis kistleri saptandı. Yapılan sitogenetik analiz sonucu karyotipinin 49,XXXXY yapısında olduğu gözlemlendi.

Tüm hastalarda, frajil-X besiyeri ile yapılan çalışmada, Xq27.3 bölgesi dışında çeşitli kromozomlardaki yapısal frajil bölgeler gözlemlendi. Bu frajil bölgeler ve rastlanma oranları Tablo 4 de gösterilmiştir.

Tablo 4. Gözlenen yapısal frajil bölgeler ve görülme sıklığı

Frajil Bölge	Gözlenme oranı (%)
Fra(1)(p31)	24,14
Fra(2)(q31)	10,34
Fra(3)(p14)	31,03
Fra(6)(q26)	58,62
Fra(7)(q32)	24,14
Fra(7)(q36)	13,79
Fra(8)(q24)	10,34
Fra(10)(q25)	20,69
Fra(16)(q23)	17,24
Fra(X)(p22)	3,45
Fra(X)(q21)	3,45

TARTIŞMA

Frajil-X sendromu erkeklerde görülen ailesel mental retardasyonun en sık nedenidir. Mental retardasyonlu erkeklerde, rastgele yapılan geniş epidemiyolojik çalışmalarda prevalansı 1/1226 olarak saptanmıştır (9). Her iki cins dikkate alındığında insanlarda trizomi 21 den sonra gelen en sık mental retardasyon nedenidir. Bizim ülkemizde yapılan prevalans çalışması henüz yoktur.

Son yıllarda tanı için geliştirilen sitogenetik ve moleküler genetik teknikler klinisyenlerin konuya daha dikkatli yaklaşımına yol açmış ve laboratuvarlara bu konuda talep artmıştır.

Laboratuvarımıza materyal yollanan ortak özellikler mental retardasyon olan hastaların 18' i Ege Üniversitesi Tıp Fakültesinde muayene edilen hastalar olduğu için ancak bu hastaların klinik özellikleri kapsamlı olarak incelenmiştir. Diğer hastalar başka hastanelerden mental retardasyonu olan ancak tarafımızdan muayene ve tetkik edilmemiş olan hastalar olduğu için bunlara ilişkin bulgular verilemedi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi Çocuk Sağlığı, Çocuk Nörolojisi ve Genetik bilim dallarına başvuran hastalarda ayırıcı tanı için çeşitli tetkikler yapıldığını ve bilinen mental retardasyon nedenleri elimine edildikten sonra bölümümüze yollandığını saptadık.

Tablo 2' de görüldüğü gibi doktora getirilen 18 hastanın 12'sinin yakınmaları arasında gelişme geriliği olduğu halde hastanede yapılan muayenede 18 hastada da mental ve/veya motor retardasyon olduğu görülmektedir. Olguların bir kısmında, mental retardasyonun aile tarafından konuşma güçlüğü şeklinde ifade edildiğini gözlemledik. Bunun nedeni, ailenin çocuğunun zekası için doğrudan bir yorumdan kaçınması veya gerçeği kabullenmekte zorlanması olarak düşünülebilir. Simko ve arkadaşları 1976 ve 1979 yılları arasında sitogenetik çalışma ile Frajil-X tanısı konulan ve 8 yaşın altında olan 20 olguyu değerlendirmişlerdir. Bu olgulardan hiç birisinin ön tanısının Frajil-X olmadığını sadece mental retardasyon nedeniyle ayırıcı tanı için yollandıklarını belirtmişlerdir. Bu olgularda ailenin yakınmalarının başında gelişme geriliği gelmektedir. Tüm olgularda (20 olgu) gelişme geriliği yakınması olduğunu saptamışlardır. Yirmi hastalarından 19 unda aynı zaman da konuşma güçlüğü yakınmasının da olduğunu gözlemlemişlerdir (10).

Olguların gönderilme nedenleri arasında birinci sırayı mental retardasyon aldığı görülmektedir. Doktoru sitogenetik çalışma istemeye yönlendirmede özellikle mental retardasyonun önemli olduğunu söyleyebiliriz. İncelenemeye yollanan olguların 9' unda konvülsiyon ya kınması vardı. Frajil-X sendromlu olgularda konvülsiyonun % 58 gibi bir oranla sık rastlanılan bulgulardan olduğu belirtilmektedir (11, 12). Bu nedenle konvülsiyonun hastalığın bulgularından biri olarak düşünülmesi beklenir.

Ayrıca sitogenetik olarak Frajil-X tanısı konulan her iki olgumuzda da konvülsiyon geçirme yakınması olduğunu gözlemledik.

Hastaların geliş yakınmaları değerlendirildiğinde, üçüncü sırada konuşma güçlüğü yakınması vardı ve bunu aşırı hareketlilik yakınması izlemektedir (Tablo 2). Sitogenetik yöntemlerle Frajil-X tanısı doğrulanana olgularımızdan birinde (I. Olgu) konuşma güçlüğü yakınması varken, her iki olguda da hiperaktivite yakınması olduğu görüldü. Simko ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da Frajil-X sendromu tanısı olanların çoğunun yakınmaları arasında

konuşma gecikmesi (% 95) ve hiperaktivite (%65) olduğu belirtilmektedir (24). Frajil-X li çocuklarda hiperaktif davranışların 2 yaş civarında başladığı ve puberte döneminde hafiflediği ileri sürülmektedir (13, 14).

Dosyaları incelenen 18 hastadan 4 ünde akrabalık mevcuttu. Bu Türkiye' deki akraba (%22) evliliklerinin sıklığına uyan bir rakamdır. Anne baba akrabalığı olanlarda Frajil-X sendromunun yanında otozomal resesif hastalıkların mental retardasyon nedeni olabilen bozukluklarda akla gelmektedir. Ancak otozomal resesif hastalıklar için yapılan testler negatif ise ayırıcı tanıda Frajil-X sendromunda araştırılması gerekmektedir.

Frajil-X sendromu tanısı için sitogenetik analize yollanan, dosyaları incelenen 18 hastada da bulgular arasında en sık rastlanan bulgu beklendiği gibi mental retardasyondur (Tablo 3). Diğer bulgular Tablo 4' de özetlendiği gibi bazıları yelken kulak gibi Frajil-X sendromunda oldukça sık rastlanan bulgular, bazıları ise Frajil-X sendromuna özgün olmayan boy kısalığı hipertelorizm gibi bulgulardır. Grubun sadece Frajil-X sendromu kuşkusu olan bir grup olması ve yaşlarının küçük olmasının hastalardaki dismorfolojik bulguları etkilediğini düşünüyorum. Frajil-X tanısı alan olgulardan olgu II' de BT çekilmiş ve normal bulunmuştur. Diğer olguda ise nöroanatomik lezyon bakımından inceleme yapılamamıştır. Diğer incelenen hastaların 7' sinde MRI incelemesi yapılmış ve anomali gözlenmemiştir. Frajil-X sendromlu hastalarda yapılan görüntüleme çalışmaları hastaların bir kısmında santral sinir sistemine özgün nöroanatomik bulgular olduğu gösterilmiştir (15). Bunlar hafif ventriküler genişleme hafif, frontal ve parietal atrofi ve serebellar anomali gibi bulgulardır (15, 16)

Frajil-X sendromu ön tanısı ile yollanan 66 hastadan birinde 49,XXXXY karyotipi saptandı. Bu hasta Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalında yatırılarak izlenmiştir.

Frajil-X sendromu ile birlikte Down, Klinefelter sendromu ve XXX karyotipi olabileceği belirtilmektedir (17, 18, 19). Bizde 49,XXXXY karyotipi gösteren olguda özellikle X kromozomlarını frajil bölge bakımından değerlendirdik. Ancak incelenen metafazlardaki X kromozomlarında q27.3 bölgesi gözlenmedi.

Frajil-X sendromu için sitogenetik araştırma yapılmak üzere yollanan 66 olgudan ikisinde (%3,3) X kromozomunda frajil bölge gösterilebildi (Şekil 2,3). Mawiczack ve arkadaşları, mental retardasyonlu erkeklere bakım verilen bir enstitüde inceledikleri 201 olgunun 65' sinde (%2.9) Frajil-X kromozomu olduğu göstermişler (20).

Perroni ve arkadaşları 1982 ve 1995 yılları arasında 453 mental retardasyonlu olguyu incelemişler ve Frajil-X pozitifliği sıklığını % 22 olarak bulmuşlardır. Bu yüksek oran kendilerine sitogenetik çalışma yollanan olguların klinikçiler tarafından iyi bir seçimden geçirilmesine bağlıdır (21).

Bize yollanan olguların bir çoğu klinik genetikçi tarafından değerlendirilmemiştir. Frajil-X sitogenetik çalışması mental retardasyonun nedeninin bulunamadığı olgularda, olguyu değerlendiren çeşitli doktorlar tarafından istendiği için iyi bir ön seçimden geçirildiğini söyleyemeyiz. Bu nedenle bizim çalışma grubuna Mazurczak ve arkadaşlarının çalışma grubuna daha çok benzemektedir ve bu çalışmadaki (%2.9) oranına Frajil-X pozitifliği (%3.3) daha yakındır.

Mental retardasyonlulardan Frajil-X için sitogenetik çalışma için yollanan örneklerde, diğer kromozom bozukluklarını ekarte etmek için önce standart yöntemle karyotip yapılmakta daha sonra da Frajil-X ortamından elde edilen kültürlerde Frajil-X araştırılmaktadır (21, 22)

Bize yollanan örnekleri de hem standart metodlarla hem de Frajil-X için önerilen metodla çalıştık, incelediğimiz olguların arasında yukarıda da belirttiğimiz gibi bir olguda önce standart metodla 49,XXXXY kromozom yapısını saptadık. Daha sonra Frajil-X ortamından elde edilen karyotiplerde bu olguda da Frajil-X olup olmadığı araştırıldı. Frajil-X uygulanan metodun frajil bölgeyi göstermede yeterli olup olmadığını belirtmek için X dışındaki diğer kromozomlarda normalde oluşabilecek frajil bölgelerin değerlendirilmesi önerilmektedir (1, 2). Olguların diğer kromozomlarındaki frajil bölgeler açısından da araştırıldı ve Tablo 4' te gösterildiği bu olguların diğer kromozomlarda da frajil bölgeler ortaya çıktığı gözlemlendi. Bu bölgeler normal kişilerde ortaya konduğu için, hastanın hastalığıyla bağlantılı olmadan metodun çalıştığı bulgusu olarak yorumlandı.

Frajil-X' li olgularda uygulanan folattan yoksun ortamlarda dahi sınırlı sayıda lenfositte frajil bölge ekspresyonu (1/50 gibi) gözlenmektedir. Bu nedenle sitogenetik analizde 100-150 hücre değerlendirilmektedir. Bu oldukça uzun zaman alan bir yöntemdir. Buna rağmen olguların bir kısmında tanı koymak mümkün olmamaktadır. Son yıllarda geliştirilen moleküler analiz teknikleri sitogenetik metodla tanısı konulamayan olgularda tanının kesinleşmesini sağladığı gibi, sitogenetik tanı konulan olguların ailelerinde taşıyıcıların belirlenmesini de sağlamıştır (23, 24, 25). DNA analiz teknikleriyle frajil bölgeyi oluşturan CGG tekrar sayısına bakarak normal (50 ye kadar CGG tekrarı olanlar), premutasyon taşıyıcısı (60-200 CGG tekrarı gösterenler) ve tam mutasyon taşıyıcıları (200 den fazla CGG tekrarı gösterenler) yüzde yüze yakın bir doğrulukla gösterilmektedir. Daha önce sitogenetik olarak Frajil-X

tanısı olan olguların ailelerinde son yıllarda bu tekniklerle yapılan çalışmalar risk içindeki bir çok bireyin taşıyıcılık durumunu ortaya koyduğu gibi bir çok olguda prenatal tanı olanağı da sağlamıştır (20, 21, 26, 27).

Frajil-X olguların toplumdaki sıklığını araştırmak için normal ve mental retardasyonlu tüm olguların araştırılması gerekmektedir. Frajil-X için toplum taraması kar-zarar açısından tartışılmalıdır. Her bir olgu için prenatal taramanın Down sendromuna göre daha pahalı olduğu hesaplanmıştır (27).

Moleküler metodların geliştirilmesiyle yakın gelecekte Frajil-X taramasının da karlı olabileceği ve yaygın kullanıma girebileceği düşünülmektedir (28).

Sonuç olarak Frajil-X tanısı için laboratuvarımızda uyguladığımız sitogenetik yöntemin frajil bölgeleri göstermede uygun olduğunu ve son yıllarda geliştirilen moleküler genetik yöntemlerle daha güvenilir sonuçlar elde etmek için gerekli olanaklar sağlanıncaya kadar uygulanabileceğini söyleyebiliriz. Ancak hasta popülasyonu içinde Frajil-X olgusu sıklığını düşük bulmamız çalışmaya alınan olguların, materyal laboratuvara yollanmadan önce iyi bir klinik elemenden geçmesini gerektiğini de ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. Girand F, Aymes S, Maltei MG. Constitutional chromosome breakage. *Hum Genet* 1976; 34: 125-36.
2. Harvey J, Judge C, Wiener S. Familial X linked retardation with an X Chromosome Abnormality. *J Med Genet* 1977; 14: 46-50.
3. Sherman S. Epidemiology. Hagerman RJ, Silverman AC ed. *Fragile-X Syndrome*. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1991: 72-3.
4. Lubs AH. A marker X chromosome. *Am J Hum Genet* 1969; 21: 231-4.
5. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS et al. Identification of a gen (FMR-I) containing a cgg repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile x syndrome. *Celi* 1991; 65: 905-14.
6. Pieretti M, Zhang F, Fu YH et al. Absence of expression of FMR-I gene in fragile x syndrome. *Celi*, 1991; 66: 817-22.
7. Jones KL: Smith's recognizable patterns of human malformations. Philadelphia, London: WB Saunders Co, 1988: 126-7.
8. Lubs HA: X-Linked mental retardation and the Fragil-X. Emery A EH ed. *Principles and Practice of Medical Genetics*. Edinburg, London: Churchill Livingstone Co, 1990: 301-9.
9. Heitz D, Deuys D, Imbert G, Kretz C, Mandel JL, "Inheritance of the Fragile X Syndrome: Size of the Fragile X Premutation is a Major Determinant of the Transition to full mutation", *J Med Genet* 1992; 29: 794-801.
10. Simpson NE, Newman BJ, Partington MW. Fragile-X syndrome: III. Dermatoglyphic studies in male. *Am J Med Genet* 1984; 17: 195-207.
11. Musumeci SA, Ferri R, Colognole RM, Neri G, Sanfilippo S, Bergonzi P. Prevalance of a novel epileptogenic EEG pattern in the Martin-Bell syndrome. *Am J Med Genet* 1988; 30: 207-12.
12. Harvey J, Judge C, Weiner S. Familial X-linked mental retardation with an X-chromosome abnormality. *J Med Genet* 1977; 14: 46-50.
13. Largo Rh, Schinzel A, "A: Developmental and Behavioral Disturbances in 13 Boys with Fragile X Syndrome", *Eur J Pediatrics* 1985; 143:269-75.
14. Fryns JP: X-linked mental retardasyon. Alan R, Lisa ed. *Medical Genetics: Past, Present and Future*. Newyork: 1985: 309-19.
15. Winiewski KE, Segan SM, Mizejeski CM, Sersen EA, Rudelli RD. The Fragile X syndrome. Neurological electrophysiological and neuropathological abnormalities. *Am J Med Genet* 1991; 38: 47-80.
16. Reiss AL, Patel S, Kumar AJ, Freund L. Preliminary communication: Neuroanatomical variations of the posterior fossa in man with Fragile X (Martin-Bell) Syndrome. *Am J Med Genet* 1988; 31: 407-14.
17. Fryns JP, Vanden Berge H. The concurrence of Klinefelter syndrome and Fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 1988; 30: 109-13.
18. Fuster C, Templado C, Miro R, Barrios L, Egozcuc J. Concurrence of the triple-X syndrome and expression of the fragile site Xq27,3. *Hum Genet* 1988; 78:293.
19. Watson MR, Breg Wri Pouls D, Brown WT, Carroll A, Howard Peebles PN, Meryash D, Shapiro LR. Aneuploidy and the Fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 1988; 30: 115-21.
20. Mazurczak T, Bocian E, Milevski Michel, Obersiyty E, Stanczak H, Bal J, Szamotulska K, Kawarch, MW. Frequency of Fragile X syndrome among institutionalized mentally retarded males in Poland. *Am J Med Genet* 1996; 64: 134-6.
21. Perroni, L, Grasso M, Amusti A, Lo Nigro C, Croci GF, Zelante L, Garani GP, Bricarelli DF. Molecular and cytogenetics analysis of the fragile X syndrome in a series of 453 mentally retarded subjects: A study of 87 families. *Am J Med Genet*, 1996; 64: 176-80.
22. Jack P. Cytogenetics. Hageman RJ, Silverman AC ed. *Fragile-X Syndrome: Diagnosis, treatment and Research*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1991: 98-145.
23. Kremer EJ, Pritchard Mi, Lynch M, Yu S, Holman Ki, Baker E, Warnen ST, Schlessinger D, Sutherland Gr, Richard RI, Mapping of DNA instability at the Fragile X to a trinucleotide repeat sequence p(CCG),. *Science* 1991; 252: 1711-14.
24. Oberlé I, Rousseau F, Heitz D, Kretz C, Devys S, Hanauer A, Boué J, Bertheas MF, Mandel JL. Instability of a 5500-base Pair DNA segment. *Science* 1991; 252: 1097-1102.

25. Hallmayer J, Pintado E, Lotspeich L, Spiker D, McMahon W, Petersen PB, Nicholas P, Pingree C, Kramer HC, Wong DL, Ritvo E, Lin A, Hebert J, Cavalli-Sforza LL, Ciaramello RD. Molecular analysis and test of linkage between FMR-I gene and infantile autism in multiplex families. *Am J Hum Genet* 1994; 55: 951-9.
26. Crasso M, Perroni L, Dagba-Bricarelli F, Antonietta R, Robledo R, Siniscako M, Filippi G. Premutation for the Martin beli syndrome analyzed in a large Sardinian family. *Am J Med Genet* 1996; 64: 283-6.
27. Pergolizzi RG, Erster SH, Goonewardeno P, Brown WT. Detection of full Fragile-X mutation. *Lancet* 1992; 339: 271-2.
28. White Carolina. Screening for Fragile X is cost effective and accurate. *BMJ* 1997; 7102: 208.

*Bu çalışma E.Ü. Araştırma Fon Saymanlığınca desteklenmiştir.