



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

KONTRAKTÜRLÜ MİYOPATİLERİN KLİNİK VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Gulshan YUNİSOVA

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hacer DURMUŞ TEKÇE

İSTANBUL

2019



Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından TTU-2018-30902 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren, tecrübe, bilgi ve birikimlerini her zaman benimle paylaşan başta Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Betül Baykan olmak üzere tüm öğretim üyelerine,

Uzmanlık eğitimim sürecinde her zaman bilgi ve yardımlarını gördüğüm, nöromüsküler hastalıklar konusunda güncel bilgilerini aktaran, yetişmemde çok büyük emekleri olan, nörolojik muayeneyi ben dahil tüm asistanlara severek ve yorulmadan anlatan, öğreten ve bizlere nörolojiyi sevdiren başta Prof Dr. Yeşim Parman olmak üzere Prof. Dr Feza Deymeer ve Prof. Dr. Piraye Serdaroğlu Oflazer'e

Tezimin her aşamasında bana yardımcı olan, aynı anda çok iyi bir klinisyen ve çok iyi bir araştırmacı olabilmenin imkanı olduğunu gösteren, tez çalışması süresince ve diğer her konuda hep yanımda olan, engin bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Doç. Dr. Hacer Durmuş Tekçe'ye,

Asistanlık eğitimim ve tez çalışmam sürecince EMG laboratuvarının kapılarını bize ve hastalarımıza açık tutan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Prof Dr. Ali E. Öge, Prof.Dr. Barış Baslo ve Prof.Dr. Elif Kocasoy Orhan'a,

Tüm asistanlığım sürecince yetişmemde büyük emekleri olan Prof. Dr. Oğuzhan Çoban, Prof. Dr. Mefkure Eraksoy, Prof. Dr. Hakan Gürvit, Prof. Dr. Zuhale Yapıcı, Prof. Dr. Haşmet Hanağası, Prof. Dr. Başar Bilgiç, Prof. Dr. Nerses Bebek, Prof. Dr. Candan Gürses, Prof.Dr. Murat Kürtüncü, Prof.Dr. Nilüfer Yeşilot, Doç. Dr. Pınar Tektürk, Doç. Dr.Esme Ekizoğlu, Uzm.Dr.Tuncay Gündüz, Uzm.Dr. Nermin Görkem Şirin ve Uzm.Dr. Zeynep Tüfekçioğlu'na

Coşkun Özdemir Nöromüsküler Hastalıklar inceleme laboratuvarında çalışan ve bu çalışmanın gerçekleşmesinde çok büyük emeği geçen, çalışma sürecinde desteğini esgirmeyen sevgili Hatice Taşlı, Sevil Kabadayı, Aygül Atas ve Emel Davran'a

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde büyük emeği geçen, çalışma sürecinde bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. Serdar Ceylaner başta olmak üzere tüm 'İntergen' Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi çalışanlarına

Nöromüsküler Hastalıklar Bilim Dalında tez süresi boyunca bana ve hastalarımıza her konuda desteğini ve yardımını esirgemeyen çok sevgili sekreterlerimiz Yasemin Badur ve Merve Ahıs'a

Kliniğimizde hastalarımıza eşsiz hizmet veren, kliniğimizin olmazsa olmaz hemşire ekibine, başta Asiye Ayvaz, Bayse Akbaş, Nevin Özgür, Hülya İncekara, Gülnur Evmek olmak üzere tüm sevgili hemşirelerimize,

Uzmanlık eğitimim sürecinde her zaman yanımda olan, tez sürecinde desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen sevgili uzman ve asistan arkadaşlarım Gülnar İbrahimova, Zerrin Karaaslan, Canan Duman İlki, Arman Çakar, Ayşenur Özdağ Acarlı, Çağla Çınar Balcıoğlu, Erdi Şahin, Özge Uygun, İnci Şahin, Serkan Emekli, Çağrı Ulukan, Volkan Taşdemir, Özgü Kizek, Çağla Akı, Tural Talıbov, Faruk Uğur Doğan, Minare Çerkezli, Ozan Dörtkol, Meltem İnci, İrem Çiftçi, Reşat İsmayilov, Ebru Karaağaç, Sevil Yusufli, Atakan Aydoğan ve Haşim Gezegen'e

Ve tüm yaşamım boyunca bana hep destek olan aileme, kuzenlerime, Fidan Khalilova ve Adile Adilli dahil tüm arkadaşlarıma

Teşekkür ederim!

Gulshan YUNİSOVA, İstanbul 2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
KISALTMALAR	vi
ÖZET	7
SUMMARY	8
1. GİRİŞ	9
2. GENEL BİLGİLER	12
2.1. EMERY-DREIFUSS MÜSKÜLER DİSTROFİSİ-EDMD	12
2.1.1. EDMD Alt Tipleri	13
2.1.2. EDMD'nin Patojenezi ve Moleküler Mekanizması	15
2.1.3. Nükleer Zarf ve Proteinleri	16
2.1.4. İç Nükleer Zar Proteinler	17
2.1.5. NZ proteinlerinin Fonksiyonları:	24
2.1.6. X'e bağlı kalıtılan EDMD: EDMD-1 ve EDMD-6	26
2.1.7. OD ve OR kalıtılan EDMD	27
2.2. KLİNİK ÖZELLİKLERİ	29
2.2.1. Nöromusküler Bulgular	29
2.2.2. Kardiyak Bulgular	32
2.2.3. Laboratuvar İncelemeler	34
2.2.4. Genetik İnceleme Planı	37
2.2.5. Kardiyak İnceleme Planı	38
2.2.6. Tedavi Planı ve Prognoz	40
2.3. AYIRICI TANI	43
2.3.1. Kollajen VI ilişkili Miyopatiler	43
2.3.2. Rijit Omurga Sendromu Musküler Distrofisi (ROSMD)	47

3. HASTALAR VE YÖNTEM.....	49
3.1. HASTA GRUBU VE ÇALIŞMAYA ALINMA KRİTERLERİ.....	49
3.1.1. Genetik İnceleme Planı.....	50
4. BULGULAR.....	55
4.1. EDMD-1: KLİNİK VE LABORATUAR BULGULAR	55
4.1.1. Klinik Bulgular	57
4.1.2. Laboratuar Bulgular	58
4.1.3. Kardiyak Bulgular.....	63
4.1.4. Ekstremitte Kas MR Görüntüleme Bulguları	65
4.1.5. Moleküler Bulgular.....	67
4.1.6. Kadın Taşıyıcıların Klinik ve Laboratuar Bulguları.....	67
4.2. EDMD-2: KLİNİK VE LABORATUAR BULGULAR	71
4.2.1. Klinik Bulgular	71
4.2.2. Laboratuar Bulgular	72
4.2.3. Kardiyak Bulgular.....	72
4.2.4. Moleküler Bulgular.....	72
4.3. EDMD-3: KLİNİK VE LABORATUAR BULGULAR.	73
4.3.1. Klinik Bulgular (Tablo 7)	73
4.3.2. Laboratuar Bulgular (Tablo 8).	75
4.3.3. Kardiyak Bulgular.....	75
4.3.4. Moleküler Bulgular.....	75
4.4. KOLLAJEN 6 İLİŞKİLİ MİYOPATİLER: KLİNİK VE LABORATUAR ÖZELLİKLERİ	77
4.4.1. Klinik Bulgular (Tablo 11).	78
4.4.2. Laboratuar Bulgular (Tablo 12).	79
4.4.3. Ekstremitte Uyluk MR Görüntüleme Bulguları (Tablo 14)	84
4.4.4. Moleküler Bulgular (Tablo15).....	84
4.5. GENETİK TANISI KESİNLEŞEMEYEN HASTA GRUBU	86
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	88
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	100
7. KAYNAKLAR	102
8. ÖZGEÇMİŞ	124

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Genetiği tanımlanmış olan EDMD alt tipleri.	15
Tablo 2: Genetik inceleme şeması	51
Tablo 3: EDMD-1 (emerinopati) tanısı alan 19 erkek hastanın klinik özellikleri	59
Tablo 4: EDMD-1 tanısı alan 19 erkek hastanın laboratuvar özellikleri	61
Tablo 5: EDMD-1 tanısı alan 7 hastanın uyluk ve krus kas MR görüntüleme bulguları....	65
Tablo 6: Sekiz indeks hastanın <i>EMD</i> geninde saptanan mutasyon tipleri ve özellikleri	67
Tablo 7: Laminopati tanısı alan hastaların klinik özellikleri	69
Tablo 8: Laminopati tanısı alan hastaların laboratuvar özellikleri	69
Tablo 9: İki indeks hastanın <i>Lamin A/C</i> geninde saptanan mutasyon tipleri.....	72
Tablo 10: Emerinopati ve laminopati tanısı alan hastaların fenotipik özellikleri.....	76
Tablo 11: COL VI ilişkili miyopati tanısı alan 7 hastanın klinik özellikleri	80
Tablo 12: Kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı alan 7 hastanın laboratuvar özellikleri.....	81
Tablo 13: Kollajen ilişkili miyopati tanısı alan hastaların fenotipik özellikleri	83
Tablo 14: COL VI ilişkili miyopati tanısı alan 3 hastanın uyluk ve krus kas MRG görüntüleme bulguları.....	84
Tablo 15: Yedi indeks hastanın <i>COL6</i> genlerinde saptanan mutasyon tipleri ve özellikleri.....	86

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: Nükleus Ve Organelleri.	17
Şekil 2: Kontraktürlü miyopati ön tanısı ile çalışmaya alınan ve elde edilen sonuçların hastalar arasında dağılımı	55
Şekil 3: Hasta 9-IV/4. 16 yaşında hasta, parmak ucunda yürüme ve kollarını dirsekten tam açamama şikayeti mevcut.....	56
Şekil 4: EDMD-1 hastalarında eklem kontraktür dağılımı	57
Şekil 5: CK düzeyinin yaş aralığına göre dağılımı.....	58
Şekil 6: Emerinopati tanısı alan hastaların aile ağacı.....	62
Şekil 7: Hasta no 10-V/1.	63
Şekil 8: Hasta 10-V/1.	64
Şekil 9: Hasta 11-VI/3.....	64
Şekil 10: Hasta 6-IV/1.....	66
Şekil 11: Hasta 9-IV/4.....	66
Şekil 12: Laminopati tanısı alan üç aileden olan 4 hastanın aile.....	70
Şekil 13: EDMD-3 tanısı alan ailenin etkilenmiş bireyi -hasta 21-IX/2	74
Şekil 14: EDMD-3 tanısı alan ailenin etkilenmiş diğer bireyi-hasta 20-IX/1.....	74
Şekil 15: Hasta 29-XVII/1.....	77
Şekil 16: Bethlem fenotipinde olan iki hasta (Hasta 24-XII/1 ve 25-XIII/1	78
Şekil 17: Kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı alan 7 hastanın aile ağacı	82
Şekil 18: Hasta 28-XVI/1.....	85
Şekil 19: Hasta 29-XVI/1.....	85

KISALTMALAR

AV	: Atrio-ventriküler
BM	: Bethlem Miyopatisi
CK	: Kreatin kinaz
EDMD	: Emery-Dreifuss Müsküler Distrofisi
EMG	: Elektromiyografi
İNZ	: İç nükleer zar
İHC	: İmmünohistokimya
DNZ	: Dış nükleer zar
LGMD	: Limb Girdle (kavşak) Müsküler Distrofisi
MRG	: Manyetik rezonans Görüntüleme
NZ	: Nükleer Zarf
LBR	: Lamine bağlı peptitler
LAP	: Lamin association peptid
OD	: Otozomal Dominant
OR	: Otozomal Resessif
ROB	: Rijit Omurga Bulgusu
UKMD	: Ullrich Konjenital Müsküler Distrofisi
SUN	: Sad1-UNC homolog domein proteinleri
ST	: Spektrin tekrarı
XR	: X'e bağlı resessif

ÖZET

KONTRAKTÜRLÜ MİYOPATİLERİN KLİNİK VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

GİRİŞ; Kontraktürlü miyopatiler, erken kontraktür gelişimi ile karakterize genetik ve klinik olarak heterojen bir grup hereditör kas hastalığıdır. En sık gözlenen Emery-Dreifuss müsküler distrofi (EDMD), Bethlem miyopatisi (BM) ve Ullrich konjenital müsküler distrofisidir (UKMD).

AMAC; Bu çalışmada, İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Nöromüsküler Hastalıklar Polikliniğinde 1989-2018 yılları arasında kontraktürlü miyopati tanıları ile izlenen, akraba olmayan 31 aileden 50 hastanın klinik ve genetik özellikleri ayrıntılı incelenmiştir.

BULGULAR; Çalışmamızın sonucunda 18 ailede (%58) kontraktürlü miyopatiye neden olan bozukluk genetik olarak gösterildi. Akraba olmayan 8 aileden (%25) on dokuz hasta EDMD-1, iki aileden (%6) iki hasta EDMD-2, bir aileden (%3) iki hasta EDMD-3, yedi aileden (%22) yedi hasta kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı aldı. EDMD-1 grubunda hastalığın ortalama başlangıç yaşı $5,5 \pm 2,4$ yıldır, hastalığın en sık başlangıç bulgusu Aşil kontraktürüne bağlı parmak ucunda yürümeydi, hastaların zaaflarının dağılımı skapuloperonealdı. Takiplerinde hastaların %90'da kardiyak tutulum gelişmişti, %55'e *pace maker* takılmıştı. Ayrıca, kadın taşıyıcıların %40'da ciddi kardiyak ileti kusuru saptandı. *EMD* geninde 4 "novel" mutasyon (c.416_417delTT; c.248_252delTACTC; c.19delC; Q44X[c.130C>T]) saptandı.

OD-laminopati hastalarımızın sayısı çok olmasa da, bu grupta hastalığın EDMD-1'e göre başlangıç yaşının daha erken olduğu ve hastalık bulgularının daha ağır olduğu gözlemlendi. Moleküler incelemede *LMNA* geninde iki hastada heterozigot (c.1357C>T; c.127G>A), bir hastada homozigot "novel" mutasyon (c.71C>G) saptandı.

Diğer gruptaki hastalardan beşi BM, biri UKMD, biri ise kavşak tip müsküler distrofi fenotipindeydi. *Col6A* genlerinde saptanan yedi mutasyondan dördü "novel" mutasyondur (c.838G>T; c.901-1G>C; c.428+1G>T; c.6063+5G>A).

SONUÇ; Çalışmamızda, Türkiye'deki kontraktürlü miyopati hastalarının klinik ve genetik özellikleri ayrıntılı olarak incelenmiş, sadece nadir ve yeni fenotipler gözlenmekle kalmamış, popülasyonumuza özgün yeni mutasyonlar da saptanmıştır.

SUMMARY

STUDYING CLINICAL AND GENETIC CHARACTERISTICS OF MYOPATHIES WITH EARLY CONTRACTURE

INTRODUCTION; Myopathies with early contracture are the heterogeneous hereditary muscle disorders characterized by early contractures and muscle weakness. The most common groups are Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EDMD), Bethlem myopathy (BM) and Ullrich congenital muscular dystrophy (UCMD).

OBJECTIVE: In this study, the clinical and genetic characteristics of 50 patients from 31 unrelated families who followed up between 1989-2018 years at the Neuromuscular Disorders Unit, Department of Neurology, Istanbul Faculty of Medicine were examined.

RESULTS; The genetic cause of the myopathy with early contracture was found in 18 families (58%). Nineteen patients from eight unrelated families (25%) with EDMD-1, two patients from two families (6%) with EDMD-2, two patients from one family (3%) with EDMD-3, seven patients from seven families (22%) related collagen 6 were diagnosed. In EDMD-1 group, the mean onset age of disease was 5.5 ± 2.4 years, the most common initial sign was toe walking due to Achilles contracture. Scapuloperoneal muscle weakness distribution was the most common phenotypical feature. Cardiac involvement was observed in 90% of the patients during follow-up period and pace maker was implanted in 55% of the patients. Furthermore, 40% of female carriers had severe cardiac conduction defect. Four novel mutations were identified in the *EMD* gene c.416_417delTT; c.248_252delTACTC; c.19delC; Q44X [c.130C> T]).

Although the number of OD-laminopathy patients were limited, the age of onset in EDMD-2 patients were earlier and symptoms were more severe than EDMD-1. Molecular examination revealed heterozygous mutation (c.1357C>T; c.127G>A) in two patients and homozygous novel mutation (c.71C> G) in one patient.

Five of the patients in the collagen VI related myopathy group were BM, one was UCMD and one was OD collagen VI related LGMD phenotype. Four novel mutations were detected in the Col6A genes (c.838G>T; c.901-1G>C; c.6063+5G>A; c.8377_8379delGTC).

CONCLUSION; In our study, we detailed the clinical and genetic characteristics of myopathy patients with early contractures, as well as several novel mutations were identified.

1. GİRİŞ

Araştırmanın Konusu:

Kontraktürlü miyopatiler, erken kontraktür gelişimi ile karakterize genetik ve klinik olarak heterojenik bir grup herediter kas hastalığıdır. En sık gözlenen Emery-Dreifuss müsküler distrofi (EDMD), Bethlem ve Ullrich miyopatileridir.

EDMD yavaş ilerleyici kas zaafı ve ölümcül kardiyak tutulum ile seyreden, geç çocukluk ya da ergenlik döneminde ortaya çıkan nadir görülen bir kalıtsal kas distrofisidir. Hastalık, 1) erken dönemde aşıl tendonunda, dirsekte ve servikal kaslarda kontraktür gelişmesi, 2) humeroperoneal kaslarda baskın olan ılımlı ve ilerleyici kas zaafı ve 3) ileti kusurları ile seyreden kardiyomiyopatilerin eklenmesi ile karakterizedir. İlk bulguları tendon kontraktürlerinin neden olduğu eklem hareket kısıtlılığı ile başladığından çoğu zaman hastalığın doğru tanı alması gecikir. Uzun vadede kardiyak ileti blokları ile bu hastalar arasında ani ölümler sık görülmektedir.

Four and a half LIM domain (FHL1) proteini dışında, EDMD patogeneğinde anahtar rol oynayan emerin, lamin A/C, nesprin 1/2 ve transmembran 43/LUMA (TMEM43) proteinleri nükleer zarf proteinleridir. Bu proteinlerden herhangi birinin yetersiz üretilmesi nükleer zarfın bütünlüğünün bozulmasına ve buna ikincil hücrenin ölümüne neden olur. X'e bağlı resesif (XR), otozomal dominant (OD) ve otozomal resesif (OR) kalıtılan sorumlu geni belirlenmiş 7 tipi vardır.

Ullrich konjenital müsküler distrofisi (UKMD) ve Bethlem miyopatisi (BM) ekstrasellüler matriks protein olan kollajen VI proteinin sentez bozukluğu ile seyreden genellikle otozomal resesif geçişli kas hastalıklarıdır. COL6 miyopatisinin en iyi bilinen fenotipi, erken başlangıçlı kas güçsüzlüğü, distal eklemlerin hiperlaksitesi, proksimal eklemlerde kontraktür, skolyoz ve solunum yetmezliği ile karakterize edilen Ullrich konjenital müsküler distrofisidir. Bethlem miyopatisi ise genellikle ilk 2 yılda başlayarak yavaşça ilerleyen kas güçsüzlüğü ile birlikte, genellikle bilek, dirsek ve ayak bileği eklemlerinde kontraktürlerle karakterize olan daha hafif bir fenotip olarak kabul edilen bir

başka COL6 miyopatisidir. *COL6A1*, *COL6A2* ve *COL6A3* kollajen VI sentezinden sorumlu genlerdir. Her gen, kollajen VI proteinine birleştirilmiş olan bir kollajen VI alfa zincirini şifreler. Bu protein, çoğu dokularda bulunan bir ekstraselüler matriks proteindir, kasta yokluğu veya aberan oluşumu kas hastalıklarıyla sonuçlanır.

Bu çalışmada ayrıca, İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Nöromusküler Hastalıklar Polikliniğinde kayıtlı olan, klinik ve patolojik özellikleri EDMD, UKMD ve BM tanısı ile uyumlu bulunan, Türkiye'nin farklı bölgelerinden akraba olmayan 31 aileden, 50 hastanın ayrıntılı klinik ve laboratuvar özelliklerinin araştırılması planlanmıştır.

Alt Problemler:

Bu çalışmada ayrıca, EDMD, UKMD ve Bethlem miyopatili hastaların ayrıntılı nörolojik muayene ve rutin kan incelemeleri, kas patolojisi ve elektromiyografi (EMG) gibi tanısal incelemeler dışında kardiyak incelemeleri ve alt ekstremitte kaslarının manyetik rezonans görüntülemeleri (MRG) de yapılmıştır.

Araştırmanın amacı:

İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Nöromusküler Hastalıklar Polikliniğinde kayıtlı ve uzun yıllardan beri takip edilen, klinik ve kas patolojisi bulguları, oldukça nadir bir hastalık olan EDMD, Ullrich ve Bethlem müsküler distrofileri ile uyumlu bulunan hastaların fenotipik karakteristikleri ve hastalığın doğal seyri konusundaki gözlemlerimizin literatürdeki mevcut bilgileri arttırmaya olanak sağlayacağı, hastalarımızın olası sistemik ve özellikle kardiyak tutulumlar açısından da, bugüne kadar bildirilen hastalardan daha ayrıntılı ve sistematik bir şekilde değerlendirilmiş olmasının, literatüre yapılacak bu katkıyı attıracağı düşünülmüştür.

Literatürde, en sık X'e bağlı resesif ve OD geçiş gösteren EDMD formunun sıklığı %40-50 civarında gösterilse de ülkemizde akraba evlilikleri yaygın olduğundan OR geçişli alt tipin de sık bulunduğu düşünülmektedir. Türkiye'de kontraktürlü miyopatilerin klinik ve genetik özellikleri şimdiye kadar ayrıntılı incelenmemiştir. Araştırmamız sonucunda kontraktürlü miyopati ile takip edilmekte olan hastalarımızın klinik özelliklerinin ayrıntı incelenmesi, EDMD, UKMD, BM, fenotipi ile uyumlu hastalarda genotip-fenotip korelasyonunun yapılması ve hastalığa neden olabilecek olası yeni genlerin bulunması hedeflenmiştir. Çalışmamızda, ilk aşamada EDMD'ye sık neden olan *EMD* ve *LMNA* genlerine bakılması, kendi popülasyonumuza özgü mutasyonların belirlenmesi ve ailelere genetik danışmanlık verilmesi hedeflenmiştir. Bu genlerde mutasyon saptanmayan

hastalara daha nadir görülme ihtimali olan *COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3*, *KLHL40*, *LAMA2*, *MYH7*, *RYR1*, *SEPN1*, *SYNE1*, *SYNE2*, *TMEM43* genleri için tüm kodlayan bölgelere yönelik bir panel oluşturulacak ve yeni nesil dizi analizi çalışması yapılacaktır.

Ayrıca, kohortumuza dahil olan çok sayıda etkilenmiş bireyin bulunduğu geniş aileler, genetik olarak heterojen olduğu düşünülen bu hastalığa neden olabilecek daha önce bildirilmemiş genetik hata veya hataları saptamaya olanak vereceği öngörülmüştür.

Hipotez:

Kontraktürle seyreden miyopatilerin diğer kas distrofileri ile örtüşen klinik ve patofizyolojik özellikleri olsa da, EDMD, UKMD ve BM klinik ve genetik olarak özgün kas distrofileridir.

Varsayılan:

Hastalığın fenotipik ve patolojik özelliklerinin oldukça benzer olması, hastalarda ortak bir genetik bozukluğunu düşündürmektedir.

Araştırmanın Önemi:

Kontraktürlü miyopatilerin klinik ve genetik özelliklerinin ayrıntılı olarak belirlenmesi hastalığın tanısında yardımcı olacak önemli ipuçları sağlayacaktır. Uzun yıllardan beri kliniğimizde izlenen hastalardan elde edilen deneyimlerin toplanması ile, bu hastaların takibinde ve hastalığın doğal gidişi konusunda yardımcı olacak veriler de elde edilecektir. Çalışmamızda, genetik mutasyon saptanan hastaların tanısı kesinleşmiş olacaktır. Klinik ve genetik incelemeler sonucunda taşıyıcı bireyler de belirlene bilecektir. Tanısı kesinleşen hastalara genetik danışmanlık verilecektir.

Hastalar, ayrıca hastalığın seyrinde önemli ölçüde mortalite ve morbiditeye neden olan kardiyak tutulum açısından da ayrıntılı değerlendirilecektir. Ülkemizde bu konuda yapılmış kapsamlı bir çalışma olmaması nedeniyle, elde edilecek sonuçlar, hastalarımızın mortalite ve morbidite oranlarının düşürülmesi yönünde alınabilecek önlemler açısından da önem taşımaktadır.

Ayrıca araştırmamızdan elde edilecek verilerin, hastalığa neden olan genetik hata veya hataların bulunmasının önünü açacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EMERY-DREIFUSS MÜSKÜLER DİSTROFİSİ-EDMD

İlk kez 1900'lü yılların başında Cestan ve Le Jonne (1), daha sonra ise Schenk ve Mathias (2, 3) tarafından erken kontraktür gelişimi ile seyreden kas distrofili hastalar tarif edilmiştir. EDMD, X'e bağlı kalıtılan skapuloperoneal miyopati adı altında ise, ilk kez 1961 yılında Dreifuss ve Hogan (4), 1966 yılında Emery ve Dreifuss (5), 1971 yılında McKusick tarafından (6, 7) aynı ailenin üç kuşağında etkilenmiş sekiz erkek hastada bildirilmiştir. Hastalığının klinik seyrinin Becker müsküler distrofiden çok farklı olduğu, bulguların 4-5 yaşlarda üst ekstremitelerde proksimal, alt ekstremitelerde hem proksimal hem distal kas zaafı ile başladığı ama kas zaafının yavaş seyirli olduğu, çoğunlukla psödohipertrofinin eşlik etmediği, biceps ve baldır kaslarında belirgin kontraktürlerin hastalığa özgü olduğu ve sadece erkeklerin etkilendiği yeni bir müsküler distrofi adı altında literatüre yazarlar tarafından dahil edilmiştir. Klinik izlemde, 25 yaş üzerinde olan etkilenmiş bireylerin hepsinde atrialatrialfibrilyasyon veya atrio-ventriküler (AV) blok şeklinde kardiyak tutulumun olduğu, kreatin kinaz (CK) seviyesinin genelde normal veya en fazla 4-5 kat yüksek seyrettiği bu aile uzun yıllar "Emery-Dreifuss" müsküler distrofisi ailesi olarak izlenmiş, sonradan bu hastalığa "Emery-Dreifuss" müsküler distrofisi (EDMD) adı verilmiştir (2, 5). Genel olarak EDMD prevalansı bilinmemekle birlikte, X'e bağlı kalıtılan formun prevalansının 1:100 000 olduğu tahmin edilmektedir (6). Hopkins ve Warren, EDMD-1'n Duchenne ve Becker müsküler distrofisinden sonra X'e bağlı kalıtılan üçüncü en yaygın kas distrofisi olduğunu tahmin etmiştir (1, 6, 8).

Avrupa Nöromüsküler Merkezi (European Neuromuscular Centre) çalışma grubu 1991 yılından şimdiye kadar farklı zamanlarda EDMD'nin klinik ve genetik özelliklerine dayanarak çeşitli sınıflamalar önermiştir. 1991 yılında fenotipik ve nöropatolojik özelliklere dayanan ilk sınıflanma:

1. Erken kontraktür gelişimi ve ilerleyici miyopati
2. Humero-peroneal kaslar baskın ilerleyici kas zaafı

3. Atrio-ventriküler ileti bloğu ve olası kardiyomiyopati
4. Miyopatik ve olası distrofik özellikler gösteren kas biyopsi bulguları

ile karakterize edilmiştir ancak o zamanlarda hastalığın sadece X'e bağlı katılım gösterdiği bilinmemekteydi (9-11). 1998 yılında ise benzer fenotipik özelliklerde sporadik ve otozomal katılım gösteren vakalar bildirilmeye başlanmıştır (12). XR ve OD kalıtılan tipler tanımlandıktan sonra 2000 ve 2002 yılında tekrar toplanan çalışma grupları altta yatan moleküler özellikleri de kapsayan sınıflandırma önerilmiştir (10). O zamandan bu güne kadar 6 gende (*EMD/STA*, *LAMIN A/C*, *SYNE-1*, *SYNE-2*, *FHL-1*, *TMEM43*) bulunan çeşitli mutasyonların XR, OD ve OR kalıtım gösteren 7 EDMD fenotipine neden olduğu bulunmuştur (Tablo 1). Prevalansı net bilinmemekle birlikte, Norwood ve arkadaşlarının, 2009 yılında Kuzey İngiltere'de yaptığı çalışmada genetik olarak doğrulanmış EDMD vakaları prevalansının 0,33/100.000 (13), tüm EDMD formlarının tahmin edilen prevalansının ise 100.000'de ≥ 1 olduğu bildirilmektedir (14).

2.1.1. EDMD Alt Tipleri

EDMD nükleer zarfta bulunan protein bozukluklarından kaynaklanan kalıtsal kas hastalığıdır (9, 15, 16). Nükleer zarf (NZ) bozuklukları, nükleer zarf proteinlerini kodlayan genlerde oluşan mutasyonlara bağlı gelişen ve hızla genişleyen bir grup kalıtsal hastalıktır (1, 6, 17-19). En sık ve en iyi bilinen tipi EDMD olup, tipik olarak yavaş ilerleyen kas zaafı, eklem kontraktürleri ve kalp tutulumunun görüldüğü çocukluk çağı ile yaşamın ikinci on yılı arasında ortaya çıkan kas distrofisidir (1, 6, 8, 20). EDMD patogenezinde anahtar rol oynayan proteinler NZ'de bulunan emerlin, lamin A/C, nesprin, ve LUMA/TMEM43 zarf proteinleridir (21-23). Bu proteinler çekirdeği sitoplazmadan ayıran NZ'de bariyer görevi yapıyor ve nükleer şekli korumak için gereklidir (24, 25). Bu proteinlerden herhangi birinin yetersiz üretilmesi NZ bütünlüğünü bozulmasına ve böylece hücre fonksiyonunun engellenmesine neden oluyor (26). NZ bozuklukları ile seyreden hastalıklar genetik olarak çok heterojen olup, değişken şekilde kalıtım paterni göstermektedir (21, 25-27). İlk tarif edilen hastalık X'e bağlı kalıtılan EDMD-1 olup, NZ proteini olan emerlini kodlayan ve *EMD* olarak adlandırılan *STA* gen mutasyonlarından kaynaklandığı 1994 yılında bulunmuştur (28).

1999 yılında Bonne ve ark., tarafından diğer NZ proteini olan lamin A/C bozukluğu ile seyreden, X'e bağlı kalıtılan fenotiple benzer klinik tablo oluşturan ama kadın ve

erkekleri eşit etkileyen, otozomal dominant (OD) kalıtılan ve *LMNA* gen mutasyonlarından kaynaklanan EDMD-2 tanımlandı (29). Daha sonra, EDMD fenotipine sahip bir ailede otozomal resesif (OR) kalıtılan *LMNA* mutasyonundan kaynaklanan EDMD-3 di Barletta ve ark., tarafından rapor edildi (30).

Son 15 yılda Puckelwartz ve ark., diğer NZ proteini olan nesprin-1'i kodlayan *SYNE1* gen heterozigot mutasyonlarının EDMD-4'e (31), Zhang ve ark., ise nesprin 2'i kodlayan *SYNE2* geni heterozigot mutasyonlarının ise EDMD-5'e (31, 32) neden olduğunu buldu. *SYNE1* homozigot mutasyonları ayrıca miyojenik artrogripozis ve ilerleyici spinoserebellar ataksi (SCAR) dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açtığı bilinmektedir (31, 32).

EDMD için yeni nedensel genlerin araştırılmasında, genom çapında taramalar sayesinde *FHL1* gen mutasyonlarının XR-geçişli EDMD-6'a neden olduğu bulunmuştur (33). İnsanlarda, *FHL1* geninde 30'dan fazla mutasyonun *FHL1* ilişkili hastalıklara-izole hipertrofik kardiyomiyopatiye (34), X'e bağlı dominant skapuloperoneal miyopatiye (XDSPM) (35), postüral kas atrofisi ile seyreden X'e bağlı dominant miyopatiye (36), reducing body miyoptiye (37), rijit omurga sendromuna (38) ve overlap sendromlara (39) neden olduğu bilinmektedir. Bu sendromlar, ilerleyici kas kaybı, rijid omurga, kontraktürler, kanat skapula ve kardiyak tutulum dahil olmak üzere birçok ortak özelliğe sahiptirler (40). *FHL1* proteinleri nükleer zarf proteinleri olmasa da, *FHL1*, A tipi laminlerle ve emerlin ile benzer fonksiyonel özellikler gösterdiği için gelecekte daha fazla araştırılması gerekmektedir (33).

Son olarak, 2011 yılında Liang ve ark., EDMD-7 olarak adlandırılan, bir NZ proteini olan LUMA proteinini kodlayan *TMEM43* genindeki heterozigot mutasyonlarla ilişkili kalp yetmezliğinin eşlik ettiği, erişkin başlangıçlı atrofi ve proksimal kas zaafının görüldüğü akrabaları bulunmayan farklı ailelerden iki hasta bildirmişlerdir (41). Bu gen mutasyonuna bağlı bildiren diğer bir hastalık OD geçişli Aritmojenik Sağ Ventriküler displazisi-5 (ASVD-5) hastalığıdır (42).

EDMD'li hastaların sadece yaklaşık %40-50'sinde bilinen NZ genlerinden birinde mutasyon bulunur, bunların yaklaşık %30'u *EMD* ve *LMNA* genlerindeki mutasyonlardır. Bonne ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı bir çalışmada, EDMD hastalarının %28'nin *LMNA*, %8'nin *EMD* ve %2'den daha az oranın ise *FHL1* geninde mutasyon taşıdığını bulmuşlar (6). Bu, da NZ proteinlerini kodlayan ve hala bilinmeyen genlerin EDMD

patogenezinde rol oynadığını göstermektedir. Şimdiye kadar genleri bilinen 7 EDMD fenotipi literatürde tanımlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1: Genetiği tanımlanmış olan EDMD alt tipleri.

Gen	Protein	Protein lokalizasyonu	Kalıtım paterni	EDMD alt tipleri	Genler arasında mutasyon dağılımı
<u>STA/EMD</u>	Emerin	İNZ ve kalp kasının interkalar diskleri	XR	EDMD-1	~ %10-20
<u>LMNA</u>	Lamin A/C	İç nükleer zar	OD OR	EDMD-2 EDMD-3	~ %20-30 bilinmiyor
<u>SYNE1</u>	Nesprin-1	İç nükleer zar	OD	EDMD-4	Nadir
<u>SYNE2</u>	Nesprin-2	İç nükleer zar	OD	EDMD-5	Nadir
<u>FHL1</u>	FHL1A	Sarkomerin I-bandı ve Z hattında, Kostamerlerde (iskelet kasında baskın ve kalpte orta seviyede)	XR	EDMD-6	~ %2-10
	FHL1B	Çekirdek ve sitoplazma arasındaki mekikte (beyin, iskelet, kalp kası)			
	FHL1C	Çekirdekte (testis, iskelet kası ve kalp kası)			
<u>TMEM43</u>	LUMA	İç nükleer zar	OD	EDMD-7	Nadir

EDMD'nin patogenezinde anahtar rol oynayan proteinler (FHL1 dışında), çoğu müsküler distrofilerin aksine sarkolemmada değil, nükleer zarfta yer almaktadır. EDMD patogenezini iyi anlamak için NZ proteinlerinin tanımı, lokalizasyonu, birbiriyle ilişkileri ve fonksiyonları hakkında geniş bir bilgiye sahip olmak gerekmektedir.

2.1.2. EDMD'nin Patojenezi ve Moleküler Mekanizması

NZ proteinleri ve bunları kodlayan genlerin bulunması çeşitli hastalıkların patofizyolojisini açıklamaya yardım etti. Örneğin, *LMNA* gen mutasyonları kardiyak ileti bloğu ile seyreden izole kardiyomiyopatiye (43), kalıtsal aksonal nöropatiye (44), daha da şaşırtıcı olan, bu genin lipodistrofi sendromları ve mandibuloakral displaziden kısıtlayıcı

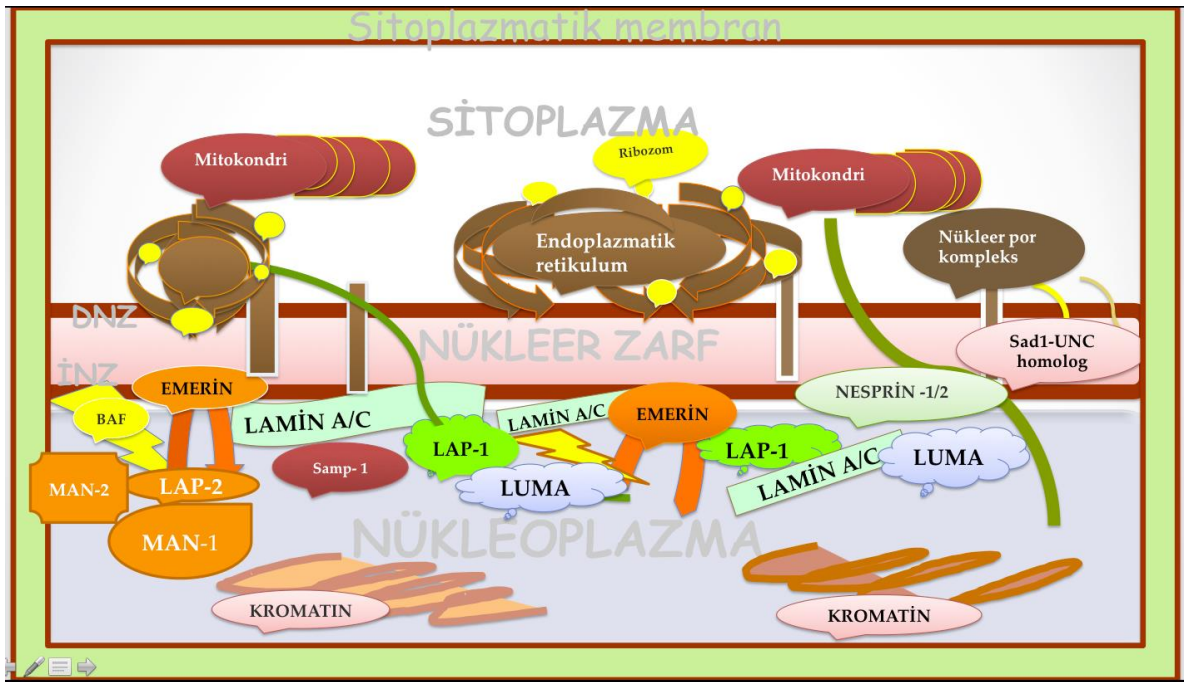
dermopatiye kadar geniş bir erken yaşlanma sendromu spektrumunu içeren bir dizi hastalıkların nedeni olduğu bulundu (45). Nükleer zarfta gözlenen en büyük fenotip spektrumunun en çok *lamin A/C* gen kusurları ile bağlantılı olması, değişik fenotiple seyreden laminopatilerin ortaya çıkmasına neden olmuştur (45). Günümüzde NZ yapısını inceleyen yoğun araştırmalar yapılmakta ve şu anda çok büyük miktarda veri üretilmektedir. Bu veriler, zarf bozukluğu ile seyreden hastalıkların moleküler ve patofizyolojik mekanizmalarındaki karmaşıklığını ortaya koymaya yardım etse de, tek bir genin “*LMNA* geninin” bu kadar heterojen fenotip oluşmasından nasıl sorumlu olduğu hala açık değildir. Günümüzde yapılan araştırmalar, NZ proteinlerinin fonksiyonlarının daha iyi anlaşılmasına, yeni genlerin tanımlanmasına ve yeni terapötik yaklaşımların araştırılmasına olanak tanımaya yardımcı olmaktadır. Çalışmalar devam etmekte ve önümüzdeki yıllarda NZ proteinlerinin kompleks fonksiyonlarını açıklığa kavuşmasını vaat eden gelişmelere olanak sağlamaktadır.

2.1.3. Nükleer Zarf ve Proteinleri

Ökaryotik hücreler, genomu kendinde barındıran ve sitoplazmadan nükleer zarf ile ayrılan çekirdeğin varlığı ile prokaryot hücrelerden ayırt edilir (*Şekil 1*). Genom DNA replikasyonu, transkripsiyon ve RNA işleme gibi çeşitli nükleer işlemlerin uygun şekilde düzenlenmesini kolaylaştırmak için çekirdek içinde farklı bölgelere yerleşiktir (46). Hücre döngüsünün sağlanması için gerekli olan transkripsiyonel düzenleme NZ’nin iç kısmında yerleşen kromozomların konumuna bağlıdır (46, 47). Nükleer çevre ise, transkripsiyonel sürecin baskılayıcılarından, bol bulunan gen baskılama ve heterokromatinin lokalizasyonu ile ilişkili bir bölgedir. Buna karşılık, NZ iç kısmında transkripsiyonel aktivatörleri biriktirerek, gen transkripsiyonu ve kromatinin lokalizasyonuna zemin hazırlar (46-48). Bununla birlikte, nükleer zarftaki proteinlerin kromatin organizasyonuna katkıda bulunduğuna dair kanıtlar ortaya çıkmaktadır (48).

NZ, ökaryotik hücrenin nükleer ve sitoplazmik bölümlerini bir birinden ayıran çift membranlı bir yapıdır (49). NZ; dış (DNZ) ve iç nükleer zar (İNZ), nükleer por kompleksleri (NPK) ve nükleer laminadan oluşan lipitten zengin çift membranlı yapıdır (*Şekil 1*). (49, 50). DNZ ve İNZ birbirinden luminal bir boşlukla ayrılır, ancak çekirdek ve sitoplazma arasındaki iletişimi sağlayacak NPK’lerin aracılığı ile çekirdek devamlı olarak sitoplazmayla iletişim halinde olur (51). İç ve dış zarlar biyokimyasal olarak bir birlerinden

belirgin farklı yapılardan oluşmuştur. DNZ endoplazmik retikulum (ER) ile sürekli iletişim halinde olup, ribozom ve diğer endoplazmik retikulum (ER) proteinlerini, İNZ ise çoğu nükleer laminanın bileşenleri olan farklı integral membran proteinlerini içermektedir (52-55). Lamina, lamin denilen tip V ara filament proteinlerinden, lamine bağlı periferik ve integral membran proteinlerinden oluşan bir yapıdır (Şekil 1). Yakın zamanlara kadar, nükleer zarfın sadece nükleer içerikleri sitoplazmadan ayırmada pasif bir rol oynadığı düşünülüyordu. Ancak, NZ ve lamina proteinlerinde mutasyonlara neden olan çeşitli hastalıkların keşfi bu proteinlerin nükleer yapı ve fonksiyona katkıları hakkında çok sayıda bilgi ortaya çıkardı (49, 56-60). (Şekil 1).



Şekil 1: Hücre organelleri, nükleer zarf ve proteinleri.

2.1.4. İç Nükleer Zar Proteinler

İNZ ve DNZ biyokimyasal olarak birbirinden farklı protein bileşimlerine sahiptir. Proteomik çalışmalarda, İNZ'nin en az 50 integral membran proteini içerdiği gösterilmiştir (52). Bu proteinler ER veya DNZ üzerinde sentezlenir, İNZ'ye nükleer lamina proteinlerinin birbiriyle etkileşime geçmesi sonucu oluşan potansiyel aracılığı ile difüzyon yoluyla ulaşabilir (61, 62). İNZ'nin protein bileşimini belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır ve çoğu İNZ proteininin nükleer lamina ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Lamina ve LAP'ler arasındaki etkileşimler NZ bütünlüğünü korumak için önemlidir.

a) Lamin proteinleri:

Lamin proteinleri nükleer laminanın ana bileşenleridir. Bunlar, N uçlu bir "baş" kısmı, sargılı bir "çubuk" ve küresel bir "kuyruk" kısmı olan ara filament proteinleridir. Çubuk alanı lamin dimerizasyonunu kolaylaştırırken, başla kuyruk arasındaki etkileşim lamin polimerizasyonuna aracılık eder ve lamine daha fazla yüzey alanı kazandırır (63). Laminler esas olarak nükleer iç çevrede yerleşik olsalar da, nükleusun iç kısmında intranükleer odaklar olarak bulunan stabil kompleksler şeklinde (64) veya çekirdek boyunca dağınık bir şekilde yerleşmektedirler (65). Omurgalılarda laminler, biyokimyasal ve yapısal özelliklerdeki farklılıklara dayalı olarak A ve B tipi olmak üzere iki tipte sınıflandırılır (46, 49). A tipi laminler nötr izoelektrik noktalara sahiptir, mitoz sırasında tamamen çözünür ve dağılarak dokuya özgü bir şekilde eksprese edilir (49). Bu laminler muhtemelen B tipi laminlerden sonra, yeniden biçimlendirici nükleer lamina postmitozuna dahil edilir. A tipi laminler, *LMNA* geninin tarafından kodlanarak dört üyeyi "lamin A, Ap10, C ve C2'yi" içerir. B-tipi laminler asidiktir, mitoz sırasında membran bağlı kalır ve her yerde eksprese edilirler. B-tipi laminler; B1 ve B2, iki ayrı genin ürünüdür ve membran bağlanmasını kolaylaştıran C-terminalinde izoprenillenir (22, 49, 57). A tipi lamin protein bozukluğuna sebep olan mutasyonlar, kas, kemik, deri ve adipoz dokuları etkileyen hastalıklar ile ilişkili olup (66, 67), otozomal dominant ve resessif kalıtılan EDMD, kavşak tipi kas distrofisi tip -1B'ye (68), dilate kardiyomiyopatiye (69-71), Charcot-Marie-Tooth nöropatisine (44, 72), Dunnigan tipi ailesel parsiyel lipodistrofine (73, 74), mandibular akral displazi (75, 76) ve yaşlanma sendromlarına (Hutchinson-Gilford progeria (77, 78) ve atipik Werner sendromuna (79-81)] neden olmaktadır. Bu hastalıklar arkasındaki mekanizma tam anlaşılmassa da, lamine bağlı polipeptitlerin (LAP) fonksiyonlarının bozulması ana patogenezi oluşturduğu düşünülmektedir (60, 65, 66). LAP'lar tipik olarak İNZ proteinleridir ve lamin proteinleri ile birlikte kromatin organizasyonu, NPK'lerin şekillendirilmesi, nükleer konumlandırma, NZ yıkımı ve mitoz sırasında yeniden birleştirme, DNA replikasyonu, transkripsiyon düzenleme ve sinyal transdüksiyonunda nükleer lamina rollerine katkıda bulunurlar (49, 54, 82).

b) Lamine bağlı polipeptitler-LAP'lar:

Lamin B reseptörü (LBR): LBR, İNZ'nin tanımlanmış ilk integral membran proteindir (83-85). LBR, mitotik NZ yıkımı sırasında lamin B ile etkileşime girdiği ve lamin B'nin nükleer zara sıkı bağlanmasını sağladığı düşünülmektedir (85). Ek olarak,

LBR, DNA, histonlar, heterokromatin proteini 1 (HP1) nükleer A-kinaz bağlayıcı proteine homolog protein olan HA95 ile etkileşime girerek, postmitotik kromatin ve membrane veziküllerinin organizasyonunda rol oynar (60, 86). Bir sterol redüktaz olarak LBR'nin, oksisterol nükleer reseptörleri üzerindeki etkileriyle gen ekspresyonunu modüle edebileceği tahmin edilmektedir (60). LBR, iki hastalıkta fonksiyon kaybıyla sonuçlandığından, laminanın fonksiyonunda önemli bir bozukluğu yol açar: 1) Gelişimsel gecikme, epilepsi ve iskelet anomalileri ile karakterize otozomal dominant bir sendrom olan Pelger-Huet anomalisine (87) ve 2) ölümcül iskelet ve visseral anomaliler ile karakterize Greenberg'in iskelet displazisine (88) neden olur.

Lamin İlişkili Poliipeptid 1 (*Lamin associated polypeptid-LAP 1*): LAP1'in, izole edilmiş nükleer zarflara karşı monoklonal antikorlar kullanılarak tanımlanan üç izoformu tanımlanmıştır - LAP1A, 1B, 1C (89, 90). Bu proteinler nükleoplazmik bir N terminala sahip integral membran proteinleridir ve tercihen A tipi laminleri bağlar (57). LAP1, torsin ATP'ye bağlandığı zaman AAA + ATPase torsinA ile etkileşime girer ve torsini nükleusun içine alır (91). Torsin A'daki mutasyonlara bağlı gelişen etkileşim bozukluğu torsinin perinükleer birikiminin artmasına neden olan otozomal dominant geçişli primer distoni ile ilişkili bulunmuştur (92).

İğcik İlişkili Membran Protein 1 (*Spindle-Associated Membrane Protein 1-Samp 1*): İNZ protein olan Samp 1; interfaz sırasında nükleer zarfa yerleşike olurken, mitoz sırasında iğcik mekanizmasına yerleşik olur. İlginç bir şekilde; Sampl İNZ'de mevcut olmasına rağmen, bu proteinin yıkılması, sentrozomların nükleer zarftan ayrılmasıyla sonuçlandığından sentrozomun nükleus içinde yerleştirilmesinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Bu da, Sampl'in nükleer iç kısmı hücre iskeleti ile bağlayan bir ağı parçası olduğunu düşündürür (93).

Nükleer Zarf İntegral Membran Protein 1 (*Nuclear Envelope Integral Membrane Protein 1-Nemp1*): Bu protein, yapılan çalışmalarda Xenopusun anterior nöroektodermasının cDNA görüntülemesinde tanımlanmıştır (94). Nemp1, BAF-Barrier-to-Autointegration Factor adı verilen küçük bir kromatin bağlayıcı protein ile etkileşime girerek, göz ve sinir gelişimine katkıda bulunur, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin işlevini düzenler (94).

c) LAP2, Emerin, MAN1 domein (LEM-D) proteinleri:

Bu protein ailesi, İNZ proteinleri olup, LEM-D adı altında tanımlanmaktadır (95, 96). LEM-D, heliks halkası şeklinde BAF olarak adlandırılan kromatin bağlayıcı protein ve lamin ile etkileşime girer. BAF ile etkileşim sayesinde, LEM-D proteinleri kromatini nükleer çevreye bağlar (96-98).

LAP-2, LEM-D protein ailesinin ilk tanımlanan üyesi olup, altı farklı izoformu (α , β , γ , δ , ϵ ve ζ) bulunmaktadır (99). LAP2 α nükleoplazmiktir ve A tipi laminlerle etkileşime girer (100). LAP-2 β lamin B ile etkileşime girer (101). LEM-D'ye ek olarak, LAP-2 DNA'a bağlanması için ayrı bir alan içermektedir (97). Bu, LAP-2'nin histon deasetilazlarla etkileşime girmesi gerçeğiyle birlikte (102), LAP-2'nin kromatin organizasyonuna katkıda bulunduğunu göstermektedir. LAP-2 aynı zamanda, transkripsiyonel baskılayıcı germ-cell-less (GCL) reseptörü ile etkileşime girdiğinden, gen düzenlemesinde nükleer laminanın rolüne katkıda bulunur (103). LAP2 proteini, nükleer lamina fonksiyonlarına önemli katkıda bulunur, sentezinde veya fonksiyonundaki bozukluğa neden olan mutasyonlar ailesel dilate kardiyomiyopati ile ilişkili bulunmuştur (104).

Emerin, LEM-D ailesinin ikinci önemli İNZ yapıtaşı protein olup, *EMD* olarak da bilinen *STA* geni tarafından kodlanır (105) (28, 106). Emerin, 254 amino asit içeren ve serinden zengin proteindir. Lümen alanı ile birlikte N-terminal alanı nükleoplazma, C-terminal alanı ile transmembran proteinleri ile etkileşim kurabiliyor. Yeni sentezlenen emerin, posttranslasyonel ER içine yerleştirilir, daha sonra ER'in nükleer zarfın dış zarı aracılığıyla diffüz yolla nükleoplazmaya aktarılır. Emerin'in küçük boyutu membran bağlantılı NPK'den serbestçe geçmesine izin veriyor. Çekirdeğin içine geçen emerin lamin A/C proteini ile etkileşime geçer. Lamin A/C proteinleri bulunmayan hücrelerin, nükleer zarf ve ER boyunca artmış emerin hareketliliği gösterir ki, İNZ'nin uygun şekilde konumlandırılması için emerlerin laminlere bağlanması gereklidir (107). Emerin lamin A, MAN1 ve nesprinler dahil diğer lamina bileşenleriyle etkileşime girer (108-110). Emerin, GCL, BCL2 ile ilişkili factor (Btf) ve Lmo7 gibi transkripsiyon faktörleri (111), splice factor YT521-B (112) ve Wnt sinyal yolağının bir transdüktörü olan beta-catenin (113) ile etkileşime girerek gen düzenlemesinde önemli rol oynar, ayrıca aktin filamentlerinin uçlarını stabilize eder (114). Emerin; protein bozukluğuna neden olan mutasyonlar, X'e bağlı kalıtılan EDMD-1'e neden olmaktadır (115, 116). Mikroskopik incelemelerde

EDMD'de nükleer zarf herniyasyonu şeklinde anormal görünüm saptanıyor ki, bu da emerinin nükleer lamina bütünlüğüne katkıda bulunduğunu desteklemektedir (117). EDMD'nin ayrıca lamin A protein bozukluğu ile giden alt tipleri de bulunduktan sonra, emerinin de diğer nükleer lamina proteinlerinin nükleer fonksiyonu sürdürmede rol paylaştığını gösterdi.

MAN1 ve LEM2 benzer proteinlerdir. GCL ve Btf gibi transkripsiyon faktörleriyle etkileşimi sayesinde, MAN1 gen ekspresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (108, 109). MAN1 ayrıca, sinyal iletiminde rol oynadığı gösterilen ilk nükleer lamina proteinlerinden biridir (118). LEM2, A tipi laminelerle etkileşimi gösterir. LEM-D proteininin aşırı ekspresyonu, NZ bozukluğuna ve lamin A/C, emer ve BAF'yi kendi etrafına alan boru şeklindeki yapıların oluşumuna yol açar (95). Bu da, LEM2'nin lamin A/C komplekslerinin düzenlenmesine katkıda bulunduğunu gösterir. LEM-D proteinlerinin en iyi bilinen fonksiyonu DNA ve histon bağlayıcı protein olan BAF ile etkileşimde olmasıdır (119). BAF heliks şeklinde bir yapıya sahip olup, DNA'ya bağlanmaktadır. Bu protein, retroviral DNA'nın otobütünleşmesini engelleyen bir faktör olarak tanımlanmıştır (120). BAF; çift sarmallı DNA ve histonlarla etkileşime girebildiği için, BAF-LEMD etkileşimi kromatinle nükleer çevre arasında köprü oluşturur. BAF, mitozdan sonra DNA yoğunlaşmasını düzenleyerek (121). NZ ve kromatinin yeniden yapılanmasına yardım eder, LEM-D proteinlerinin işe alımıyla kromatinin nükleer zarla etkileşimine katkıda bulunur (122, 123). BAF'ın nükleer zarfın yapılandırmasındaki rolü, LEM-D proteinleri ile etkileşimine de katkıda bulunan fosforilasyonlarla düzenlenir (124). Böylece BAF, gen regülasyonunda rol oynar, histon H3 ve DNA ile etkileşime girerek heterokromatin oluşumuna katkıda bulunur (125), ayrıca transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerek transkripsiyonu doğrudan etkiler (126) ve dolayısıyla LEM-D proteinleri ve DNA arasında köprü sağlar (103, 127).

d) Nükleer Zarf Transmembran Proteinleri (Nuclear Envelope Transmembrane proteins-NET proteinleri):

NZ'nin bütün ayrılmaz zar proteinlerini tanımlamak için, Schirmer, fare karaciğer ekstraktından elde edilen zar proteinlerinin büyük ölçekli bir analizini gerçekleştirmiştir (52). Bu çalışmada, DNZ veya İNZ'nin bir parçası olan 80 integral membran proteini belirlidiler ve bu proteinleri NET proteinleri adlandırdılar. Bu 80 NET'ten 67'si daha önce

tanımlanmamış yeni proteinlerdi. Nükleer lamina bileşenlerinde oluşan patolojilerle ilişkili bir dizi hastalıklar iskelet kasını etkilediğinden, NET'lerin kas gelişiminde ve farklılaşmasında yer alıp almadıklarını araştırıldı (128). NET 9, 37 ve 39'un iskelet kası içinde nispeten yüksek oranda eksprese edildiğini ve kas farklılaşması sırasında ekspresyonda bir artış gösterdiğini buldular (128, 129). Bu NET'lerin her birinin hücresel işlevleri bilinmemektedir, ancak sinyal iletiminin düzenlenmesinde işlev göreceği tahmin edilmektedir.

Sad1-UNC homolog (SUN) domain proteinleri: Bu proteinler çoğunlukla perinükleer alandaki nükleer zarf spektrin tekrar proteinleri olan nesprinlerle (Nuclear Envelope Spectrin Repeat proteins-Nesprins) etkileşime girerler (61). Omurgalılarda, dört tür SUN domain protein-SUN1, SUN2, SUN3 ve Spag 4 tanımlanmıştır (130, 131). SUN1, NZ membran proteinlerinin iki ayrı proteomik analizinde bulunmuştur (52, 132). SUN 1 nesprin 1 ve 2 ile etkileşime girerek, nesprin 1'in NZ'de yerleşmesine yardımcı olan bir İNZ proteinidir (131). Aynı zamanda SUN1 lamin A ile de etkileşime girer ama bunun NZ stabilizasyonu için önem taşımadığı düşünülmektedir (130). Son dönemde yapılan çalışmalarda, farelerde SUN1'in mayoz sırasında kromozom dinamiğini düzenlediği ve SUN1 fonksiyonunun kaybının, piRNA ekspresyonunda bozukluğa neden olduğu ve böylece infertiliteye yol açtığı gösterilmiştir (133). SUN2'nin işlevleri hakkında pek bir şey bilinmemektedir, ancak bir İNZ proteini olması ve nesprinlerle etkileşime girebilmesi nedeniyle, çekirdek ve sitoskeleton arasındaki iletişime katkıda bulunduğu düşünülmektedir (134). Diğer SUN proteinlerinin işlevini iyi anlamak için halen geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

e) Nükleer zarf spektrin tekrarları proteinleri-Nesprinler:

Nükleer zarf spektrin tekrarları (ST) içeren proteinler, ST ailesinin en yeni üyeleridir. Bugüne kadar omurgalılarda, farklı hücresel fonksiyonlara sahip dört nesprin proteini tanımlanmıştır. Nesprin-1 ve nesprin-2, sırasıyla ~ 1000 ve ~ 800kDa moleküler ağırlıklarına sahip en büyük spektrin tekrar proteinleridir. Bir N-terminali ile alfa-aktin-tip aktin bağlanma alanı, spektrin tekrarları içeren uzun bir çubuk kısım, C-terminal tipi II TM ve Klarsicht/ANC-1/Syne Homology (KASH) alanı içeren 800k Da ağırlığında olan büyük NET proteinleridir (131, 135, 136). N-terminalinde, bu proteinler, aktin ile etkileşimi kolaylaştıran calponin benzeri alanlar (131, 137) ve mikrotübüller içerir (138).

SUN alan proteinleri ve nesprinler arasındaki etkileşim, nükleoplazma ve sitoplazma arasında yapısal bir bağlantı sağlayan kompleks oluşturur ve bu kompleks, nükleoskeleton ve sitoskeleton bağlayıcılar (Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton-LINC) adlandırılır (55, 58, 61, 131). LINC kompleksinin işlevini öğrenmek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. LINC kompleksi sentrozomda nükleusla bağlantı halinde (139, 140), nükleer konumlandırmada (138), çekirdeğin aktin hücre iskeletine (141) ve Golgi aparatına bağlanmasında (142, 143), sinyal iletim kompleksleri ile kromozom hareketinin sağlanmasında önemli rol oynar (61, 144, 145).

Memelilerde nesprinler, dört gen tarafından kodlanarak eksprese edilen çoklu nesprin izoformlarını içerir: Nesprin 1, 2, 3 (146-149). Nesprin 1 (Syne-1/Myne-1/Enaptin/CPG2) nükleoplazmaya ve DNZ'ye yerleşik bir protein olup F-aktinden zengin yapılarda bulunurken, nesprin-2 (Syne-2/NUANCE) yalnızca çekirdeğin nükleer zarında bulunuyor. Bazı nesprin-2 izoformları İNZ'ye yerleşik olup, lamine A ve emerine ile etkileşime giriyorlar (150, 151). Nesprin 1 ise lamin A proteini ile seçici olarak sinaptik çekirdeklerde etkileşime girer, bu da nesprin-1'in kas çekirdeğinin migrasyonuna katıldığını düşündürmektedir (152). Bununla birlikte, diğer nesprin proteinlerinin aksine, nesprin-2, ara filament (intermediate filament-IF) sitolinkeri olan plektin için bir N-terminal bağlanma bölgesi içerir (153). Bu etkileşimle nesprin-2 çekirdeği hücre dışı matriks ile birleştirir. Nükleer lamina proteinleri ve emerine protein eksikliğine neden olan mutasyonlar nesprinlerin lokalizasyonunu da etkileyerek, nesprin fonksiyonunun bozukluğu ile giden hastalıklarla aynı fenotipik özellikler gösterebileceği öne sürülmektedir (32, 110). Böylece, SUN domaini ve nesprin proteinleri normal nükleer lamina fonksiyonuna önemli katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Nesprinler, çekirdeğin iç ve dış nükleer membranına yerleşik olup, mitokondri ve Golgi cisimciği ile birlikte sarkomer boyunca plazma zarına kadar uzar ve bu hücre yapılarını aktin ile bağlantısını sağlayan ağ oluşturur. Laminlere ve emerine bağlanarak, nesprinler nükleoskeleton ve İNZ'i, DNZ ve sitoskeleton ile birleştirir. Bu etkileşimin bozulması EDMD fenotipli hastalığın oluşumundan sorumludur (149).

Nesprinler çekirdeğin ve hücre iskeletinin yapısal bütünlüğünün korunması ve nükleer zarf boyunca düzgün sinyal iletiminin sağlanması için kritik önem taşırlar (154). Nükleer konumlandırma, hücre bölünmesi ve hücre iskeletinin organizasyonu da dahil olmak üzere kromatin ve nükleoskeletonun hücre iskeletine bağlanmasındaki ana işlevinin

yanısıra nesprinlerin farklı rollerinin de olduğu düşünülmektedir (2). Nesprin ekspresyonunun analizi kas gelişimi sırasında birkaç izoformun olduğunu ortaya çıkardı. En kısa alfa izoformlarından ikisi, nesprin-1-alfa-2 ve nesprin-2-alfa-1, neredeyse sadece insanlarda kalp ve iskelet kasında bulunuyor. KLNes1g, bir KASH-LESS izoformlarının ise farelerde spesifik olarak serebellumda eksprese edildiği görülmüştür (154). *SYNE1* mutasyonları, EDMD benzeri kas distrofisi, miyojenik artrogripozis ve ilerleyici spinoserebellar ataksi (SCAR) dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açmaktadır (155).

2.1.5. NZ proteinlerinin Fonksiyonları:

a) Nükleer yapılandırma ve kromatin organizasyonu

Laminler ve etkileşime girdiği diğer proteinler nükleer yapıyı destekleyen bir çerçeve sağlar (156). Bunun önemi, laminlerde ve LAP'larda fonksiyon bozukluğuna neden olan mutasyonların nükleer zarfta kusurlarıyla ilişkili olması gerçeğiyle açıklanmaktadır. Emerin bulunmayan hücrelerin çekirdeği bozuk mekanik transdüksiyon sergiler (157). Laminler kromatin organizasyonunda rol oynar. Heterokromatin nükleer çevre ile etkileşimde olup, diğer lamina proteinlerinin bu yapıya katkısına destek sağlamaktadır. A ve B tipi laminler DNA dizilerine bağlanabilir ve matriks bağlanma bölgeleri (matrix attachment regions- MAR'ler) ile kromatin organizasyonuna katkıda bulunuyorlar (158). Tüm LEM-D proteinleri, kromatin bağlayıcı protein BAF ile etkileşime girer (96, 159). Kromatin organizasyonunda laminin önemi, *LMNA* genindeki mutasyonların neden olduğu Hutchinson-Gilford progeria sendromlu (HGPS) bireylerden elde edilen fibroblastlarda yapılan çalışmalarda heterokromatinin nükleer çevreden kaybolduğu gözlemiyle desteklenmektedir (160). LBR, mutasyonları ile ilişkili diğer bir hastalık Pelger-Huet anomalisi (PHA) olan hastalardan alınan beyaz kan hücre çekirdekleri incelenerek kromatinin dağıldığını, bunun da nükleer şekli etkilediği gösterilmiştir (161).

b) NZ'nin yapılandırılması

LAP-kromatin etkileşimleri, mitozdan sonra NZ'nin yeniden yapılandırılmasını kolaylaştırır. Çalışmalarda, NZ yapısında yer alan LAP'ların kromatine bağlanmasını kolaylaştırabilen bir alan bulunduğu gösterilmiştir. (162). Bununla birlikte, NZ yapılandırılmasının hala tam mekanizması bilinmemektedir. Farklı LAP'ların, belli

zamanlarda kromatinin belli bölümleriyle ilişkili kurduğu görülmüştür. LBR, anafazda kromozomlar üzerinde bulunan ilk proteinlerden biridir (163, 164). İNZ proteinlerinin NZ düzeneğindeki kromatin ile ilişkisinin önemi, in vivo ve in vitro çalışmalarda bu proteinlerin kaybının NZ'yi yapılandırılmasındaki bozuklukları gösteren verilerle desteklenir. NZ düzeneğindeki LBR'nin rolü, LBR eksikliğinin in vitro NZ yapılandırılmasını inhibe ettiği çalışmaları ile desteklenmiştir (164).

c) *Gen ekspresyonunun düzenlenmesi*

Nükleer lamina proteinleri, çeşitli transkripsiyon faktörleri ve sinyal transdüserleri ile etkileşim yoluyla, gen ekspresyonunu düzenlemesinde rol alırlar. Bu, transkripsiyon faktörlerini hedef genlerden uzaklaştırmak veya hedef transgenleri belirli transkripsiyon düzenleyicilerinden zengin olan çevreye yaklaştırmak suretiyle gerçekleştirilir. LEM-D protein ailesinin fonksiyonlarını ve önemini, çeşitli transkripsiyon aktivatörleri ve baskılayıcıları ile etkileşimleri göstermekle açığa çıkarıldı. LEM-D proteinleri BAF ile etkileşim yoluyla transkripsiyonel baskıya katılabilir, çünkü BAF transkripsiyon faktörü Crx (cone-rod homeobox) ile bağlanarak transkripsiyonu baskılıyor (126). LEM-D ailesinin üç kurucu üyesinin tamamı, transkripsiyonel baskılayıcı GCL (114, 132) ile etkileşim kurarken, emerin ve MAN1, Bcl2 ve Btf ile de etkileşimde bulunur (165). Bu da, LEM-D proteinlerinin, gen ekspresyonunun düzenlenmesine önemli katkıda bulunduğunu desteklemektedir. Emerin, ilginç bir şekilde aktin filamentlerine bağlanarak onları stabilize eder, böylece nükleer aktinin transkripsiyona katılmasını sağlayarak gen düzenlemesine katkıda bulunur (114).

d) *DNA replikasyonu*

Nükleer laminanın DNA replikasyonundaki rolü in vitro ve in vivo çalışmalarda, yapısal bozuk laminlerin DNA replikasyonun inhibe ettiği gösterilmiştir (166).

e) *Nükleer ve sentrozom konumlandırma*

Bir hücrenin içinde çekirdeğin konumu, LINC kompleks proteinleri (SUN alan proteinleri ve nesprinler), aktin ve mikrotübül ağı arasındaki etkileşimlerle düzenlenir (144). Çalışmalar, SUN domain ve nesprin proteinlerinin kaybının nükleer konumlandırma ve nükleer migrasyonu etkilediğini ve böylece koordinasyonsuz nükleer harekete neden

olduğunu göstermiştir (140). Sentrozom konumlandırma aynı zamanda nükleer lamin proteinine da bağlıdır çünkü bu proteinin kaybı sonucunda çekirdekten ayrılan sentrozomlar görülmektedir (139). *EMD*, *LMNA*, *SYNE1*, *SYNE2* ve *TMEM43* gen mutasyonların EDMD'ye nasıl neden olduğu hala anlaşılmış değildir. İki ana hipotez öne sürülmektedir: Birincisi, İNZ'nin ve nükleer laminanın bozulmasının nükleer kromatin ve gen ekspresyonunun dağılmasına neden olduğunu, ikincisi ise nükleer lamina zayıfladığında hücre çekirdeğinin mekanik strese karşı dayanıklılığının ve sinyal iletinin bozulduğunu öne sürmektedir. İkinci hipotez özellikle mekanik strese karşı hücre tamlığının ve sinyal iletinin çok büyük önem taşıdığı kalp ve kas dokularında olmasını esas getirmektedir. Tüm bu genlerdeki mutasyonların, nükleo-iskelet ve bununla ilgili yapılardaki bozukluklara yol açtığı için bu mutasyonların yukarıdaki patolojik anormalliklere neden olduğu bilinmektedir (167).

Gerçek mekanizma ne olursa olsun, benzer hastalıklara neden olan farklı NZ proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonların keşfi hastalıkların patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına yol açacaktır.

2.1.6. X'e Bağlı Kalıtılan EDMD: EDMD-1 ve EDMD-6

EMD ve *FHL1* gen mutasyonları X'e bağlı kalıtılan EDMD-1 (28) ve EDMD-6 (33) fenotipi ile sonuçlanır. EDMD-1'e neden olan *EMD* geni Xq28 kromozomunun uzun kolunda bulunan ve 6 ekzon içeren bir gendir, 254-amino asitten oluşan ve serinden zengin bir NZ proteini olan emerinin proteinini kodlar (116). *EMD* geninde şimdiye kadar 130'dan fazla mutasyon tanımlanmıştır ki, bu mutasyonların çoğu her aileye özgü yeni mutasyonlardır. Bu mutasyonları %49'u nokta mutasyonu, %33'ü küçük delesyonlar, %10'u ise insersiyon mutasyonlarıdır, yanlış anlamlı/missense mutasyonlar ise çok nadirdir (168). EDMD-1 fenotipinde, genin tamamen delesyonu, Xq28 bölgesindeki bir inversiyondan kaynaklanır ki, vakaların ¼'ü bu inversiyonu taşımasına rağmen delesyon ile sonuçlanmamaktadır (6). Western blot ve immünohistokimyasal yöntemler ile emerinin negatif boyanan tüm vakalarda, neredeyse tüm mutasyonlar null mutasyonlar olduğu bulunmuştur (stop kodonu, kırılma, çerçeve kayması veya çerçeve dışı delesyon/inversiyon). Az miktarda emerinin proteini (nadir görülen missense mutasyonu nedeniyle) üretilen nadir vakalarda daha hafif bir fenotip olduğu düşünülmektedir (15, 169, 170). *EMD* geninin en sık mutasyona maruz kalan *hotspot* ekzonu, 2. ekzondur (168). Tekrarlayan mutasyonlar ise en

çok *EMD* geninin 1. ve 2. ekzonlarında sırasıyla 1. veya 34. numaralı kodonlarda bulunur (6, 171).

X'e bağılı kalıtılan diğer EDMD alt tipi, *FHL1* gen mutasyonlarının neden olduğu hipertrofik kardiyomiyopati ile ilişkili bir EDMD-6 fenotipidir (33). Şimdiye kadar *FHL1*'in distal ekzonlarını etkileyen ve EDMD-6 fenotipine neden 17 farklı mutasyon (yanlış, anlamsız, splice site, ins-del) tanımlanmıştır (172). EDMD ve XDSPM'li hastalarda *FHL1* ekspresyonunun azalmasının nedeni halen bilinmemektedir, ancak EDMD'de *FHL1* mutasyonlarının çoğu çerçeve kayması mutasyonlarıdır ki, bunlar da erken stop kodonu oluşmasına ve kesik/truncated protein ekspresyonu ile sonuçlandığı öngörülmektedir (33). Erken stop kodonunun oluşması sağlam olmayan/unstable *FHL1* mRNA ekspresyonuna mı, yoksa kesik *FHL1* proteini ekspresyonuna neden olduğu halen anlaşılmış değildir (40).

FHL-1 bir NZ proteini değildir, iskelet ve kalp kaslarında bol miktarda, beyin, plasenta, akciğer, karaciğer, böbrek, testis, pankreas ve diğer dokular dahil olmak üzere düşük seviyede de olsa bulunan multifonksiyonel bir proteindir (173). İskelet kasında, *FHL1*'in, sarkomerin I-bandına ve M hattında yerleşik olduğu, kas büyümesinde ve farklılaşmasında sinyal yollarında, mekanik strese karşı rol oynadığı gösterilmiştir (174). Ayrıca kardiyak ileti modülasyonun sağlanmasında atriumda potasyum kanalı *KCNA5* ile etkileşimde rol oynar (175). *FHL1* gen mutasyonları, kasta *FHL1* protein agregatlarının oluşumuna ve toksik bir fonksiyon kazanmasına veya proteinin diğer partnerleri ile etkileşim kurmasını bozarak fonksiyon kaybına neden olabileceği düşünülmektedir. Her iki mekanizmada da agregatların ana rol oynadığı düşünülmektedir, çünkü düşük *FHL1* seviyeleri yukarıdaki sendromların bir kısmında belirtilmiştir (40, 176).

2.1.7. OD ve OR kalıtılan EDMD

XX. yüzyılın sonlarında, EDMD'nin *LMNA* genindeki mutasyonlardan da kaynaklanabileceği sonucuna varıldı ve *lamin A/C* genindeki mutasyonlardan kaynaklanan ve OD kalıtılan EDMD-2 fenotipi Bonne ve ark., tarafından tanımlandı (29, 177). Daha sonra, EDMD fenotipine sahip bir ailede OR kalıtılan *LMNA* mutasyonları da rapor edildi (30).

EDMD-2 ve EDMD-3'e neden olan *LMNA* geni 1q11-q23 kromozomunun uzun koluna yerleşik 12 ekzondan oluşan bir gendir (1, 29, 178). Bu gen alternatif RNA splicing sonucunda oluşan iki tür lamin prteini-laminA/C kodlar (1). EDMD'ye yol

açan *LMNA* mutasyonlarının %80'den fazlası, muhtemelen mutant proteinlerin üretimine yol açan heterozigot missense mutasyonlardır. Daha az oranda *LMNA* genindeki delesyon/duplikasyon/nonsense mutasyonlardan kaynaklanır ki, bu mutasyonlar da kodlanmış proteinde fonksiyon kaybına neden olur (1, 179). Kalan *LMNA* mutasyonları çerçeve kayması mutasyonlarıdır ki, muhtemelen kesik (*truncated*) proteinlerin üretilmesine neden oluyor, kırpılma mutasyonları ise çok nadirdir (1, 168, 170). EDMD-2 hastalarının büyük çoğunluğu, *LMNA* geninde '*de novo*' mutasyon olan sporadik vakalardır. EDMD-2'e neden olan *LMNA* gen mutasyonları, belirgin hotspot/sıcak nokta olmadan 1-11 ekzonları boyunca rastgele dağılım gösterir, ancak bazı tekrarlayan/*recurrent* mutasyonların, çoğunlukla 377. ve 453. kodonlarında olduğu bilinmektedir (1, 6). Mutasyonun lokalizasyonu ile klinik fenotip arasında bir ilişki bulunmamıştır. Tipik EDMD fenotipi ile birlikte ciddi kas zaafının çok erken yaşta (yaşamın 2.yılı) başladığı fenotipler de bildirilmiştir (6, 11).

Diğer NZ proteinleri olan nesprin-1'i kodlayan *SYNE1* ve nesprin-2'i kodlayan *SYNE2* genlerinin bulunması OD geçişli diğer EDMD-4 ve EDMD-5 fenotipleri ile ilişkili bulunmuştur (31, 32, 154). *SYNE1* geni 6q25.2 kromozomun, *SYNE2* geni ise 14q23.2 kromozomun uzun koluna yerleşik olup, sırasıyla 147 ve 115 ekzon içermektedirler. Bu genlerinin istisnai büyük boyutu tanısal amaçla kullanımda hala problem olarak kalmaktadır (32, 154). Şimdiye kadar *SYNE1* geninde heterozigot yanlış anlamlı mutasyon taşıyan EDMD fenotipli 3 farklı aileden hasta bildirilmiştir. *SYNE 1* genindeki homozigot mutasyonların SCAR ve atrogripozise, heterozigot yanlış anlamlı mutasyonların ise EDMD-4'e neden olduğu düşünülmektedir (154, 155). *SYNE2* geninde heterozigot yanlış anlamlı mutasyonu taşıyan sadece 2 EDMD-5 fenotipli hasta bilinmektedir (32).

3p25.1 kromozomun kısa kolunda bulunan 12 ekzon içeren *TMEM43* geni tarafından kodlanan bir başka NZ proteini olan LUMA proteinindeki bozuklukların OD geçişli EDMD-7 fenotipi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. *TMEM43* geni, iç nükleer zar üzerinde bulunan, emerlin ve SUN2 ile etkileşime giren LUMA olarak da adlandırılan transmembran 43 proteini kodlar (41). Şimdiye kadar literatürde Japonyadan bildiren 2 vakada (41, 180) bulunan mutasyon yanlış anlamlı mutasyonlardır ki, muhtemelen mutant LUMA protein sentezine neden olmaktadır (41, 168)

Bildirilen EDMD 3-7 vakalarının azlığı, bu fenotiplerin her birinin klinik tablosunu bir grup altında tanımlamaya izin vermemektedir. Bununla birlikte, genetik defekti bilinmeyen hala büyük oranda EDMD hastası bulunmaktadır.

2.2. KLİNİK ÖZELLİKLERİ

2.2.1. Nöromüsküler Bulgular

Kas zaafına bağlı gelişen kontraktürlerin görüldüğü çoğu nöromüsküler hastalıkların aksine, EDMD-1'deki kontraktürler kas zaaf oluşmadan önce gelişmekte olup, kontraktürün şiddeti hastalığın seyri boyunca zaafın derecesiyle orantısız kalır. Kontraktürler her zaman “en zayıf kas-eklem hareketi yönündedir” (8). Yani erken dönemde kol ve bacak kaslarında fleksör, servikal kaslarda ise ekstansör kontraktürleri gelişir. Aşıl tendon kontraktürü nedeniyle, parmak ucunda yürüme hastalığın göze çarpan ilk ve yaygın bulgusu olup, EDMD-1'e özgü semptomların başlangıcının bir habercisidir. Genelde çocuklar yürümeye başlar başlamaz fark edilir. Ayrıca, aşıl kontraktürü ayakların pes equinus pozisyonu almasına sebep olabilmektedir. Dirsek kontraktürleri genellikle dominant elde daha belirgin olup, aşıl tendonundan sonra ikinci en sık rastlanan bulgudur (1). Dirsek ekstansiyon kısıtlılığı genelde ilk on yıl ve daha sonra farkedilir, ancak bazı vakalarda hastalığın ilk belirtisi olduğu görülmüştür (181, 182). Genelde kollar dirsekten yarı fleksör pozisyonunda tutulur ve tam ekstansiyona getirilemez (*şekil 3*). Ergenlikte büyüme ile belirginleşen bu kontraktürler kliniğe hakim olma eğilimindedirler. Hastalar boynunu sternum üzerine fleksiyona getiremez ancak sıklıkla ekstansiyon hareketini yapabilirler; boyun kontraktürleri genelde 2. on yılda gelişir (183), (*şekil 3*). Hastalık ilerledikçe, spinal kaslarda ekstansiyon kontraktürü boyun ve omurganın hareketliliğinde kısıtlamaya ve gerginliğe sebep olup ‘gergin (rijid) omurga bulgusuna’ yol açarlar. Bazı ileri durumlarda, paraspinal kaslarda esnekliğin azalması hipoventilasyona ve restriktif tipte solunum yetmezliğine yol açtığı görülmektedir (1, 8) Skolyoz hastalığın ilerleyen seyrinde görülebilir (15). Ayrıca, hastalığın seyrinde diz, bilek ve parmaklarda da kontraktürler görülebilir (*şekil 13*).

Tüm EDMD formları klinik olarak genellikle benzerdir fakat aynı değildir (178). Semptomların şiddeti aynı ailede bile ciddi değişkenlik gösterebilir (178, 184). Mental gelişim her zaman normal seyrederek (8).

Kas zaafı ilk veya ikinci on yılda başlar. Kas zaafının dağılımı genellikle EDMD-1'de humero-peroneal, EDMD-2'de ise skapulo-humero-peronealdır. Üst ve alt ekstremitelerde atrofi tüm EDMD alt tiplerinde benzer paterndedir. Başlangıçta skapula ve peroneal kaslarda seçici zaaf, pelvik kuşak kaslarının etkilenmesine kadar ilerler. Üst ekstremitelerde distal kasları bazen zayıf olabilir (181) ve distal kontraktürler oluşabilir. Hafif yüz zaafı klinik seyrinde görülebilir. Derin tendon refleksleri azalmış veya kayıp bulunur, psödohipertrofi genellikle görülmez. Kas zaafı hafif ve yavaş ilerleyici olup, kas atrofisi en sık biceps brachi ve arka bacak kaslarında belirgin seyreder. Hastalar nadiren ambulasyonu kaybederler.

EDMD-2 ve EDMD-1'e, benzer, ancak aynı olmayan, nöromüsküler ve kalp tutulumuna sahiptirler (30, 178). Zaafın başlangıcı EDMD-2'de daha erken ve ağır olabilir, EDMD-1'de erken ortaya çıkan kontraktürlerden daha önce görülebilir. EDMD-1'de pek görülmeyen ambulasyon kaybı EDMD-2'de görülebilir (1, 178). EDMD-1'de eklem kontraktürleri genellikle ilk bulgudur, oysa EDMD-2'de eklem kontraktürleri kas güçsüzlüğünün başlamasından sonra da ortaya çıkabilir. Kas atrofisi genellikle yaşamın ilk üç yılında hafiftir ancak sonrasında hızlı bir şekilde ilerleyebilir. Ayrıca, EDMD-1 ile karşılaştırıldıkta EDMD-2'de biceps kas zaafı daha ağır ve progresif seyir göstermektedir (178) ve baldır kaslarında hipertrofi sık görülmektedir. Ambulasyon kaybı EDMD-1'de nadir görülse de, EDMD-2'de sık görülmektedir (1, 6, 9, 115, 178).

EDMD-2'de bazı vakalarda muhtemelen boyun servikal rijitliğinin anatomik yapıları etkilemesi sonucu olarak yutma problemleri görülebilir, ancak bu durumda *LMNA* gen mutasyonlarının neden olduğu otonom nöropati de göz ardı edilmemelidir. Solunum kas zaafı ve göğüs deformasyonu solunum yetmezliğine neden olabilir (1)

LMNA mutasyonları nadiren OR geçişli EDMD-3 fenotipine neden olur. Her iki allelde homozigot mutasyon taşıyan bir bireyin aile taramasında sağlıklı taşıyıcılarda heterozigot mutasyonlar saptanmış, tekerlekli sandalyeye bağımlı ciddi nöromüsküler bulgulara sahip etkilenmiş bireyde 40 yaşta olmasına rağmen kalp tutulumu bulgusuna rastlanmamıştır. Homozigot mutasyon taşıyan bu hastanın 14 aylıkken yürümeye başlarken zorlandığı, beş yaşında ciddi eklem kontraktürleri geliştiği ve ambulasyonu kaybettiği görülmüştür (30, 185).

Yeni tüm ekzom dizileme teknikleri kullanılarak yakın zamanda tanı alan OR-EDMD tanılı diğer ailede dört etkilenen kardeşte yaşamın ilk ve 3.dekadında kavşak tipte

kas zaafı geliştiği dikkati çekmiştir (185). Ek olarak, baba ve kız kardeş, kalp pili gerektiren ciddi ritim bozukluğunun neden olduğu senkop atakları saptanmıştır. Zaafın ciddiyeti etkilenen kardeşler arasında bile değişkendi, ancak hepsinde ilerleyici seyir göstermekteydi ve boyun, dirsek ve aşıl tendon kontraktürleri belirgindi. Homozigot *LMNA* mutasyonu tespit edildikten sonra tüm etkilenen bireylerde 4.dekatta subklinik kardiyak ritim bozuklukları bulunmuştur (185). OD-EDMD ile karşılaştırıldığında, fenotipik özellikleri çok benzer olsa da, ancak kardiyak tutulumun olmaması veya geç başlaması dikkat çekmektedir. Zamanla resesif ailelerin tanımlanması bu konuyu daha iyi ele almaya yardımcı olacaktır.

Literatürde *SYNE1* mutasyonu saptanan ilk EDMD-4 vakası, kardiyak anormalliklerin eşlik etmediği eklem kontraktürlerinin eşlik ettiği yavaş ilerleyen kas atrofisi ve zaafı fenotipindedir (32, 151). Zhang ve ark., tarif ettiği bu olgu, 11 yaşlarında başlayan ve 26 yaşında tekerlekli sandalyeye bağımlı hale gelen, yavaş ilerleyen bir kas zaafının görüldüğü erkek hastaydı. Nörolojik muayenesi eklem kontraktürü ile birlikte boyun ve omuz kuşağı kaslarında zaaf ve atrofi ile karakterize olan olgunun, kalp tutulumu saptanmamıştı. Aynı yazarlar, yukarıdaki hasta ile akrabalığı bulunmayan 47 yaşında serum CK seviyesi yüksek, üst ekstremitelerde zaafı bulunan ama eklem kontraktürü bulunmayan, kardiyak incelemesinde hafif diyastolik fonksiyon bozukluğu ile, sol ventrikülde hafif bazal ve septal hipertrofinin bulunduğu *SYNE1* mutasyonu taşıyan diğer olguyu bildirmiştir (32). Bir çalışmada *SYNE1* gen mutasyonu taşıyan 5 hastanın 4'ünde baş parmak deformasyonları görülmüştür. Özellikle SCAR'da radial deviasyon, EDMD'de adduktor deviasyon olduğu dikkati çekmiş ve bu bulgunun klinik ipucu olabileceği öne sürülmüştür (32, 154).

EDMD-5 fenotipi de ilk kez Zhang ve ark., tarafından bildirilmiştir. Aynı ailede etkilenmiş iki birey belirgin kontraktürlerin eşlik etmediği kas güçsüzlüğü, aritmi, kalp yetmezliği ve dilate kardiyomiyopati ile karakterize fenotip sergilemektedir (32).

X'e bağlı EDMD-6 *FHL-1* genindeki mutasyonlarla ilişkili bulunmuştur ve esasen eklem kontraktürlerinin ve rijit omuragin eşlik ettiği skapulo-humeral ve pelvik-peroneal bölgelerde kas zaafı ve atrofisi ile karakterizedir (1, 186). Ancak, birkaç hastada iskelet kası hipertrofisi de görülmüştür (187). İskelet kası tutulumu genellikle supraventriküler ve ventriküler aritmi, ileti kusurları ve laminopatilerde gözlenen dilate kardiyomiyopatinin aksine hipertrofik kardiyomiyopatiden önce bulgu verir. Ayrıca, disfonin eşlik ettiği vokal

kord paralizi, ptozis, yutma güçlüğü, kısa boy, yüz dismorfizmi, pulmoner valvüler darlık, ağır laringotrakeomalazi ve subglotik darlık, brakidaktıl, pektus deformiteleri ve genital anomalileri içeren ek fenotipik özellikler de görülebilir (186). Solunum yetmezliği de vaka düzeyinde bildirilmiştir. Kadın taşıyıcılar, izole ve/veya hafif kas tutulumunun eşlik ettiği kardiyak semptomlar sergileyebilir (186).

Son tanımlanmış olan *TMEM43* geni (EDMD-7), bugüne kadar sadece bir kaç vaka bildirilmiştir (41). Liang ve ark., 2011 yılında bildirdiği bu olguda kırk yaşında EDMD fenotipinde bir erkek hastaya 20'li yaşlarda yapılan kas biyopsisi lif çap farklılığı ve dağınık internal nükleuslar görülmüştür. Kas biyopsisinden birkaç yıl sonra hasta ölmüş ve ayrıntılı nörolojik muayenesi bilinmemektedir. Diğer olgu paraspinal, boyun, üst kol ve uyluk kaslarını içeren kas atrofisi bulunan 68 yaşında bir kadındı, 64 yaşında bradikardi ve atrialfibrilasyon nedeniyle kalp pili implantasyonu yapıldığı, yavaş ilerleyen proksimal kas güçsüzlüğü fark edilmişti. Kas patolojisi nekrotik ve rejeneratif süreci göstermekteydi (41). 2018 yılında son bildirilen *TMEM43* mutasyonu saptanan EDMD fenotipi eklem kontraktürü, pes equinus, aksiyel ve proksimal kaslarda baskın zaaf ve atrofi ile karakterizedir. Bilirilen fenotipler aynı mutasyonu taşıyan baba ile oğul arasında benzer olduğu dikkati çekmişti. Nörolojik muayene ve kas MR görüntülemesi kuadriseps kasının belirgin etkilendiği trunkal ve proksimal kas atrofisini gösteriyordu (180).

2.2.2. *Kardiyak Bulgular*

EDMD hastalarında kardiyak tutulum en önemli klinik semptomdur. Tüm EDMD alt tipleri benzer, ancak aynı olmayan, nöromusküler ve kalp tutulum bulgularına sahiptirler (1, 30, 178). EDMD'de normal miyokard dokusunun yerini yavaş yavaş adipoz ve fibroz doku alır ki, bu da genellikle atriumda başlar ve atrial aritmilere neden olur. Zamanla kalp pili implantasyonu gerektiren ileti bozukluklarına neden olabilecek atriyoventriküler düğümü etkilenir ve son dönemde ilerleyici dilate KMP ve sistolik fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanır (188, 189). EDMD-1'in EDMD-2'den ayırt edici temel fenotipik farkı, kardiyak tutulumun özelliği ile ilgilidir. EDMD-1'de en sık kardiyak tutulum ileti bozuklukları, özellikle atrialaritmi şeklinde ortaya çıksa da, EDMD-2'de en sık görülen kardiyak bulgu sol ventrikül dilatasyonu, kardiyak yetmezlik ve ventriküler taşiaritmilerdir (70, 189-191). Emerinopatilerinde, AV sistolik bozukluk ve çoğunlukla atrialkökenli olan aritmi, sol ventriküler sistolik disfonksiyonundan önce görülmektedir (189). EDMD-1'de

kardiyak semptomlar başlangıçta sinüs bradikardisi, supraventriküler ekstrasistolik atım, çeşitli derecelerde AV bloklar, paroksizmal atrial fibrilasyon veya ‘flutter’, taşikardi ile kendini belli etse de, klinik seyirde kademeli olarak kardiyomiyopati gelişimi görülmektedir (1, 189). Kardiyak semptomlar nonspesifik klinik belirtilerle-çarpıntı hissi, baş ağrısı, baş dönmesi, kabus, yorgunluk hissi ile yanısıra, tam AV bloğun bir sonucu olan ani ölümle de ortaya çıkabilir. Uzun vadede kardiyak ileti blokları nedeniyle bu hastalar arasında ani ölümler sık görülmektedir (1, 189) ve ani kardiyak ölüm hastalığının ilk belirtisi olabilir (6, 178, 189). Atrial paralizi nerdeyse EDMD’e özgü patognomik bir bulgudur (6, 192-197). Kardiyak bulgular genellikle yaşamın ikinci on yılı ve sonrasında ortaya çıksa da, EKG anormallikleri sıklıkla hastalığının klinik tablosu oluşmadan önce gelir (1, 195). Kardiyak ileti bloğu 10 yaşından daha erken bir zamanda ortaya çıkabilir ve şiddeti kas zaafı ve kontraktür dağılımı ile korelasyon göstermeyebilir (198). Kalp kasında, özellikle interkalar disklerde emerinin hücre elektrofizyolojisini ve hücreler arasında adezyona katkıda bulunduğundan, emerinin yetersizliğinde ciddi atrio-ventriküler ileti blokları görülmektedir (189, 199). İskelet kas tutulumu diğer kas distrofileri ile karşılaştırıldığında iyi huylu olsa da, kardiyak etkilenme kas tutulumu ile korelasyon göstermeyip, en hafif fenotipte bile ölümle sonuçlanan ileti blokları görülmektedir. Atrial ileti kusurları EDMD-1’de en sık görülen kardiyak bozukluk olsa da, literatürde EDMD-1 tanılı genç hastalarda ciddi ventriküler aritmi saptandığı bildirilmiştir (177, 200). Kardiyak tutulum EDMD-2’de daha agresif seyretmekte olup (70), ventriküler aritmi daha erken ortaya çıkar ve ve dilate kardiyomiyopatiye yol açar (201, 202). Ani ölüm, EDMD-2’de de olabilir. Nöromüsküler tutulumun ciddiyeti ile kardiyak anormallik derecesi arasında bir ilişki bulunmamıştır (191, 203). EDMD-2’de sol ventrikül dilatasyonu ve disfonksiyonu ile kendini gösteren ventriküler taşiaritmi ve dilate kardiyomiyopati riski EDMD-1’den daha yüksektir (201). Etkilenen bireyler serebral emboli ve ani ölüm riski altındadır. Jeneralize dilate kardiyomiyopati genellikle hastalığın sonraki aşamalarında ortaya çıkar (6, 189).

EDMD-2’de kardiyak tutulum EDMD-1’e göre daha şiddetlidir (190, 204). İzole kalp tutulumu EDMD-2’de daha sık bulunur.

EDMD-3 tanılı bir ailenin etkilenmiş bireyinde 40 yaşta olmasına rağmen kalp tutulumu saptanmamıştır. Homozigot *LMNA* mutasyonu tespit edilen diğer ailelerde ise tüm etkilenen bireylerde 4.dekatta subklinik kardiyak ritim bozuklukları bulunmuştur. Taşıyıcı

baba ve kız kardeşte, kalp pili gerektiren ciddi ritim bozukluğunun neden olduğu senkop atakları saptanmıştır (185).

EDMD-4 fenotipli, *SYNE1* geninde heterozigot taşıyan bireyde kalp tutulumu gözlenmemiştir. *SYNE2* geninde mutasyon taşıyan olgu aritmi, kalp yetmezliği ve dilate kardiyomiyopati ile karakterize EDMD-5 fenotipindeydi (32).

EDMD-7 fenotipli bir olguda kardiyak tutulum bilinmemektedir, diğer olguda 6.dekatta kalp pili gerektiren bradikardi ve atrial fibrilasyon saptanmıştır.

EDMD kardiyomiyopatisi tipik olarak dilate ve hipokinetiktir, sıklıkla AV ileti bozukluğu ile ilişkilidir. Bunun istisnası, en yaygın kalp fenotipinin, ileti kusurlarının ve aritmilerin eşlik ettiği, hipertrofik KMP'nin görüldüğü X'e bağlı kalıtılan *FHL1* mutasyonları ile ilişkili EDMD-6'dır (33, 40). Sistolik fonksiyon bozukluğu ve restriktif tipte hipertrofi, non dilate ventriküller, muhtemel QTc uzaması, adipoz ve fibroz doku replasmanı, belirgin sol ventrikül trabekülasyonları ile karakterize edilen varyantlar tanımlanmıştır (33).

2.2.3. *Laboratuvar İncelemeler*

a) *Serum Kreatin Kinaz (CK) düzeyi*

CK seviyesi normal, hafif veya orta derecede yüksek bulunabilir (1, 191). Normalin üst sınırının 10 katı kadar yüksek CK seviyesi bazen görülebilir (6, 191) ancak hiçbir zaman Duchenne veya Becker müsküler distrofinde görüldüğü kadar yükselmez. Birkaç aileden elde edilen veriler, CK'nin doğumda normal olduğunu, 1 yaşından sonra arttığını, çocuklukta ve ergenlikte zirve yaptığını, daha sonra normal değerlere doğru düştüğünü göstermektedir (6, 205). *LMNA* mutasyonlarında serum CK düzeyleri, özellikle hastalığın başlangıcında orta derecede artmaktadır (178).

CK, taşıyıcıların belirlenmesinde faydalı değildir. Mutlak taşıyıcılarda bile normal CK seviyesi muhtemeldir (1, 6) ancak sadece çok az oranda yüksek bulunabilir (206).

b) *Elektromiyografi (EMG) inceleme bulguları*

EMG incelemesi bulguları çoğunlukla miyojen tutulum ile uyumludur (1, 6), ancak bazı çalışmalarda hem miyojenik, hem de nörojenik özellikler sergileyen vakalara rastlanmıştır (207). Hopkins ve arkadaşları, kronik distrofilerde miyopatinin klasik bulgularının her zaman bulunmadığına dikkat çeken çalışmalarında, EDMD'deki kafa

karıştırıcı EMG bulgularının sürecin daha uzun süreli ve hafif olması ile ilişkili olduğuna bağlamışlar (207). Kantitatif bir EMG çalışmasında, bulguların miyopati ile uyumlu olduğuna, uzun süreli motor ünite potansiyellerinin kas lifleri arasındaki çap farkından kaynaklandığına ve motor ünitenin yavaş ilerleyen bir süreçte yeniden düzenlendiği sonucuna varmışlar (208). İmmünohistokimya yöntemi ve DNA testinin kullanıma dahil olması ile EMG tanısal bir tetkik olarak daha az önemli hale geldi. Neticede, EMG sürecin miyopatik olduğunu destekleyebilir, ancak EDMD için kesin tanı immünohistokimyasal veya genetik testler ile konulabilmektedir.

c) Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal inceleme özellikleri

Histopatolojik ve histokimyasal düzeyde, hem X-EDMD hem de OD-EDMD, biyopsi yapılan kasın tutulumuna bağlı değişik derecelerde benzer özellikler görülmektedir. Kuadriseps biyopsisinden değerlendirilen örneklerde, kas liflerinde çap farkı ve internal nükleus artışı gibi hafif miyopatik değişiklikler gösterebilir. Nekrotik ve rejenere lifler, artmış bağ dokusu nadir de olsa görülebilir (17, 209). EDMD-1 hastalarının biceps kas biyopsi değerlendirmesinde ciddi fibrozis bulguları görülmektedir (1, 6, 191). EDMD-1 tanılı 45 yaşında bir erkek hastanın otopsi çalışmasında makroskopik değerlendirmesinde, triseps, biceps brachii kasının derin dalı ve baldır kaslarının beyaz ve fibrotik olduğu görülmüştür (210). Mikroskopik olarak, gastrocnemius kasının neredeyse tamamen, biceps brachii kasının ise çoğunlukla fibroz, adipoz ve konnektif doku ile yer değiştirdiği gözlemlenmiştir. Kalp kası biyopsi incelemelerinde ise jeneralize veya fokal fibrozis bulguları görülmüştür (191, 207, 210). Elektron mikroskobu incelemeleri ise, hem OD-EDMD’de (209, 211, 212), hem de XR-EDMD’de (212) miyonükleusta yapısal anormalliklerin varlığını ortaya çıkardı. Ayrıca, EDMD-2’de kas hücrelerinde kromatin değişiklikleri ve kusurlu rejenerasyonun varlığını destekleyen bulgular görülmektedir (213). Genel olarak, kuadriseps biyopsisi, atrofik veya hipertrofik liflerle birlikte, lif çapları arasında (patolojik kasların ortak bir özelliği) farklılıklar göstermektedir. Etkilenmiş kasta rejenerasyon belirteci olduğu düşünülen internal çekirdeklerde artış görülebilir, ancak bunun önceki rejenerasyon döngülerini yansıtmayı yansıtmadığını göstermek için daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır (15, 171). Nekrotik lif, adipoz veya bağ dokusunda artış ve NADH-TR (NADH-tetrazolium redüktaz) boyamasında daha da belirginleşen hafif granüler görünümde olabilen küçük bazofilik lifler görülebilir. Bu lifler,

rejenerasyonu destekleyen neonatal miyozine ve desmine karşı oluşturulmuş antikolar ile pozitif boyama özellikleri gösterdiğinden, rejenere lifler olduğu düşünülmektedir (15).

Oksidatif enzim ve ATP'az ile liflerde iki tip boyama paterni görülmektedir, daha küçük olma eğiliminde olan tip 1 lifler görülse de, ancak konjenital miyopati formlarında görüldüğü derecede yaygın değildir. Ayrıca, tip 1 liflerin baskın olduğu ve kor gibi yapısal değişiklikler de görülebilir. Genellikle az miktarda neonatal miyozini eksprese eden lifler görüldüğünden, az da olsa devam eden rejenarasyon varlığını düşündürmektedir. Ancak, bunun nekroza takiben oluşan rejenerasyon sürecinin bir yansıması veya rejeneratif süreçte oluşan bir fonksiyon bozukluğundan kaynaklanan kas kaybını açıklayabilecek bir çeşit bozukluk olup olmadığı halen açıklığa kavuşmamıştır (15). Aslında, son çalışmalar lamin A/C ve emerinin iskelet kası uydu hücre farklılaşması için kritik olduğunu göstermektedir (214). Elektron mikroskopisi apoptozun, EDMD'de çoğu çekirdekte kromatin birikimine ve kromatinin nükleer membrana bağlanma eksikliğine katkıda bulunan bir faktör olabileceğini göstermektedir (209).

Bazen beklenmeyen patolojik bulgularla da karşılaşa biliyoruz. Örneğin bir çalışmada, *LMNA* mutasyonlu bir kaç çocuğun (<2 yaş) kas biyopsi örneklerinde inflamatuvar değişiklikler görülmüş (215). EDMD-1'li birkaç hastanın kas biyopsisinde *rimmed* vakuollara, elektron mikroskobunda ise inklüzyon cisimcikli miyoziti andıran tübülofilamenöz yapılara rastlanmıştır (216).

EDMD-1'de emerinin yokluğu kas, cilt, bukkal hücreler ve lenfositlerde immünohistokimyasal (İHC) boyama ile gösterilebilir (216). İHC çalışmalar, X-EDMD'li erkek hastalarda tüm çekirdeklerde emerinin yokluğunu açıkça göstermektedir. Kasın yanı sıra, ciltte, bukkal hücrelerde ve lenfositlerde bulunmadığı da gösterilebilir. XR-EDMD'nin taşıyıcılarında deri biyopsi örnekleri emerinin negatif çekirdeklerin oranını göstermek için kullanılabilir (15, 217, 218). İHC boyamada emerinin pozitif saptanan hastalarda şimdiye kadar *EMD* geninde mutasyon bulunamamıştır, bu nedenle emerinin İHC boyaması tanısal değere sahiptir. Emerinin boyaması kadın taşıyıcıların belirlenmesinde de yararlı olabilir (219), nadiren yanlış anlamlı/*missense* mutasyon taşıyan olgularda emerinin mozaik ekspresyonu görülebilir (217, 220). Emerinin İHC boyaması *LMNA* mutasyonlarında da normal görünür (15). Ancak, EDMD-2 tanısında immünohistokimyasal lamin boyamasının tanısal değeri yoktur. Hem X-EDMD'de hem de OD-EDMD'de, kas biyopsi örnekleri lamin immunhistokimyasal boyama özellikleri normal kontrollerden bir fark göstermez.

Bu da, tüm dominant kalıtılan hastalıklarda olduğu gibi, sadece bir alelin mutasyona uğradığı ve normal olan diğer alelin az da olsa normal bir lamin proteini ürettiği ve bu yüzden pozitif boyama özelliği gösterdiğini destekler. Ayrıca *LMNA* mutasyonlarının çoğu mutant lamin protein sentezine neden olduğundan ve İHC boyamada mutant proteinler de pozitif boyama özelliği gösterebileceğinden lamin İHC boyaması tanısal değer taşımamaktadır (15).

FHL1 proteini için İHC boyamada, EDMD-6 fenotipli hastaların kas biyopsilerinde FHL1 protein ekspresyonunda ciddi bir azalma görülmüştür ki, bu da genetik testlerden önce İHC boyamanın yararlı olabileceğini düşündürmektedir (33).

d) Uyluk ve ekstremitelerin radyolojik görüntüleme özellikleri

MR ve BT çalışmaları, EDMD'de özellikle posterior baldır kaslarının selektif tutulumunu göstermiştir. Bu kaslardan, gastrocnemius kasının medial başının EDMD-2'de daha ciddi bir şekilde etkilenirken, soleusun EDMD-1'de daha fazla etkilendiği dikkat çekmiştir (221). Uyluk seviyesinde EDMD-1 hastalarında vastus lateralis ve intermedius kaslarında hafif tutulum bulunurken, EDMD-2'de aynı kaslarda orta ve ağır düzeyde tutulum görülmektedir (221). EDMD'de rektus femoris'in korunmuş olması dikkat çekici özelliktir (222). Diğer önemli bir özellik ise, *LMNA* mutasyonlarından kaynaklanan farklı fenotipik özelliklere sahip hastalıklarda-LGMD-1B, izole dilate kardiyomiyopati (223) ve asemptomatik taşıyıcıların da posterior bacak kaslarının radyolojik incelemesinde benzer bulgulara rastlanmıştır (200, 223). Ekstremit MR'nın EDMD'yi rijit omurga ve kontraktür ile seyreden diğer hastalıklardan ayırmada yardımcı olduğu düşünülmektedir (224).

LMNA mutasyonlarında alt ekstremitelerin kas manyetik rezonans görüntülemesi (MRG), gluteus medius, intermedius, vastus lateralis ve medialis, kuadriceps, addüktör longus ve magnus, semimembranosus ve biceps femoralis kaslarının uzun başının tutulumunu göstermektedir. Özellikle, vastus lateraliste daha şiddetli ve seçici bir sinyal artışı sıklıkla gözlenir (221).

2.2.4. Genetik İnceleme Planı

EDMD-1 veya EDMD-2'nin sıklığına ilişkin iyi bir veri bulunmamakla birlikte, Avrupada yapılan 18 aile ve 39 sporadik vakayı kapsayan bir çalışmada, EDMD-2'e neden olan *LMNA* mutasyonunu daha sık bulunmuştur. Benzer şekilde bir Japon çalışmasında laminopatinin, emerinopatiden biraz daha yaygın olduğunu görülmüştür (195).

EDMD-1 X'e bağı kalıtılan en yaygın üçüncü kas distrofisidir (9). Mutasyonlar için taranacak genin seçimi, hastanın cinsiyetine ve soygeçmiş özelliklerine dayanarak yapılmalıdır. EDMD fenotipi ile uyumlu erkek bireylerde aile ağacı X'e bağı kalıtım gösteriyorsa ilk önce *EMD* genine bakılmalıdır, eğer mutasyon saptanmazsa *FHL1* geni taranmalıdır. Sporadik vakalarda, erkek hastalarda ilk önce *EMD* genine bakılmalıdır, negatif sonuçlanırsa *LMNA* geni taranmalıdır. Kadınlarda semptomatik X'e bağı kalıtım olasılığı yoktur, bu nedenle kadın bireyler doğrudan *LMNA* mutasyonları açısından taranmalıdır.

OD kalıtım gösteren etkilenmiş bireylerde ise ilk önce *LMNA* genine bakılmalıdır. *SYNE1*, *SYNE2* ve *TMEM43* gen mutasyonlarının da OD-EDMD fenotipine neden olduğu bilinmektedir, ancak bunların çok nadir olduğu unutulmamalıdır. OD-EDMD'nin nedensel mutasyonlarının neredeyse yarısı hala bilinmemektedir. İlk aşamada yapılan *LMNA* gen taraması negatif sonuçlanırsa, tüm ekzom dizileme analizi nedensel mutasyonun belirlenmesi için hem faydalı, hem de maliyet açısından daha uygun olabilir.

Genetik testlerin yapılamadığı merkezlerde, ilk aşamada kas biyopsisi yapılabilir, immünohistokimyasal yöntemle emerın boyaması uygulanmalı, negatif sonuçlanırsa X'e bağı resessif EDMD tanısı konulabilmektedir. Prenatal tanı gerekmediği sürece kadar DNA analizi yapmaya gerek kalmayabilir, immünohistokimyasal tanı ile hasta takip edilebilir. Bununla birlikte, genetik testlerin kas biyopsisinden daha az invaziv, muhtemelen daha ucuz ve çok daha güvenilir olduğu da belirtilmelidir. Buna rağmen, hastanın soygeçmiş ve aile ağacında özellik yoksa ve kas zaafının dağılımı EDMD fenotipi ile uyumlu değilse, genetik testten önce kas biyopsisi gerekebilir (1).

2.2.5. Kardiyak İnceleme Planı

EDMD-2'de kardiyak tutulum, EDMD1'e göre çok çeşitli olduğundan önceden tahmin edilmesi de daha zordur. Aritmi veya kalp yetmezliği gelişen ancak hafif fark edilmeyecek kas zaafı olan hastalarda kardiyolog bazen kalp ve kas semptomatolojisini birleştiren, onları nörolojik ve genetik konsültasyon için yönlendiren ilk doktordur. İleti defektleri ve supraventriküler aritmi, her iki EDMD formunda da yaygındır, ancak sol ventrikülün kontraktilesinde ve ejeksiyon fraksiyonunda azalma sıklıkla gelişmekte olan ve hızlı ilerleyen kardiyak yetmezliğinin bir nedeni olan ve bazen kalp nakli gerektirebilen dilate kardiyomiyopatinin (bazen restriktif) erken bulgusudur (6). Solunum yetmezliği

veya göğüs deformasyonu nedeniyle kalp nakli için uygun olmayan hastalarda, sağ ventrikül disfonksiyonundan ve atrioventriküler halkanın genişlemesinden kaynaklanan triküspit kapak yetersizliği de genel durum kötüleşmesine neden olabilmektedir (1). EDMD-2'li hastalar kardiyomiyopati gelişmesinden önce oluşabilen ve hayatı tehdit eden malign ventriküler aritmi riski altındadır (225). Büyük bir *LMNA* mutasyon taşıyıcıları kohortunda sürekli olmayan ventriküler taşikardi (NSVT) dahil, ventriküler aritmiler için bağımsız risk faktörleri arasında ilk muayenede sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF) <%45, erkek cinsiyet ve anlamsız mutasyonları (ins-del veya *splicing*/katlanma) bulunmuştur (226). EDMD1'in aksine EDMD-2'de, kalp pili ani kardiyak ölümü önlemek için yeterli değildir, bu nedenle kardiyak-konvertör defibrilatörün-ICD implantasyonu önerilmektedir. Kalp yetmezliği riskini belirlemek, tedaviyi izlemek ve prognozu öngörmek amacıyla belli serum biyobelirteçlerini kullanılması önerilmiştir. Ancak, seçilmiş natriüretik peptidlerin, kollajen düzenleyicilerin (matriks ve doku metalloproteinazları: MMP ve TIMP) ve hücre dışı matriks proteinlerinin (tenascin C, osteopontin) serumda analizi her iki EDMD tipinde flüktasyon gösterdiğini ortaya koydu, bunun da kardiyolaminopatilerde oluşan sol ventrikül disfonksiyonunun, kardiyak fibrozisin ve doku remodellemesinin diğer kökenli kardiyak patolojilerle benzerlik gösterdiğini aydınlatı (227). Ayrıca, kollajen düzenleyiciler sadece miyokard fibrozisi ile değil, aynı zamanda iskelet kaslarındaki inflamatuvar ve fibrotik değişikliklerden etkilenebileceğinden, EDMD'deki bu biyobelirteçlerin özgüllüğü düşük görünmektedir. EDMD tipine bakılmaksızın, hastalar genel popülasyona göre daha genç yaşta ortaya çıkma eğiliminde olan tromboembolik komplikasyon, özellikle serebral inme riski altındadır (195, 228). Bazı hastalarda serebral inme EDMD'nin ilk klinik bulgusudur (229). Geçmişte EDMD hastaları genellikle tam ileti bloğu veya malign aritmi nedeniyle kaybediliyordu. Ancak kalp elektroterapisinin tanıtılması, bu komplikasyonları bir dereceye kadar kontrol etmeyi sağladı ve kalp tutulumlu laminopatilerin tedavisine hayat kurtarıcı bir seçenek getirdi, ancak dekompanse kalp yetmezliği ve iskemik inme hala ölümcül komplikasyonlar olarak kalır. Emery-Dreifuss kas distrofisi olan iki hasta grubunu karşılaştırırken, laminopatinin klinik seyrinin kas veya kalp tutulumunun daha şiddetli ve daha az öngörülebilir olduğu açıkça görülmektedir. Sonuç olarak, toplam çalışmam ve özürlülük oranı EDMD-2 hastalarında EDMD-1'den daha sıktır, bu da EDMD-2'de klinik tablonun daha ağır olduğunu göstermektedir (230).

EKG, aritmi tespitinde en önemli testtir ve EDMD'de kardiyak tutulum erken yaşta olmadığından, periyodik olarak yapılmalıdır. EDMD'li tüm hastalarda EKG çekilmelidir. EKG'de en sık görülen erken değişiklikler düşük genlikli P dalgaları ve uzamış PR aralığıdır. Hastalığı ilerleyen seyrinde bradikardi, P dalgasının kaybı, düzensiz atrialritim, atrialfibrilasyon ve flutter, AV-ileti blokları ve ilerlemiş kardiyomiyopati bulguları görülebilir ve P dalgaları olmadan dakikada 40-50 atım ile birlikte görülen ekstra vuruların izlendiği klasik EKG paterni gelişir (189). Rutin EKG'de herhangi bir anormallik varsa, yıllık 24 saatlik ritim Holter ile izlenmesi zorunludur. Kardiyomiyopatinin boyutunu değerlendirmek için ekokardiyografi gerekmektedir (189, 231).

Kadın taşıyıcılar, kardiyak iletim kusurları nedeniyle önemli bir risk altındadır. Erken yaşta ani ölüm, inme ve kalp krizi literatürde bildirilmektedir (232). Kadın taşıyıcılara, özellikle yaşlandıkça düzenli kardiyak değerlendirmeler yapılmalıdır. EDMD'de ani ölüm ortaya çıkan ilk semptom olabileceğinden, akrabaların-X'e bağlı EDMD'li kadın taşıyıcılar dahil kalp taraması önerilmektedir (188). Emerinopatilerinde tarif edilen kardiyak fenotiplerden biri, sistemik embolizmin önlenmesini gerektiren bir durum olan atrialduraklamadır (*pause*). *LMNA* genindeki mutasyonların neden olduğu OD-EDMD'de ventriküler aritmi riski yüksektir (231).

FHL1 mutasyonları EDMD-1 ile benzer bir fenotipe neden olur. *FHL1* mutasyonları, X'e bağlı kalıtım paterni olan hastalarda, özellikle hipertrofik kardiyomiyopati mevcutsa göz önünde bulundurulmalıdır. *SYNE1*, *SYNE2* ve *TMEM43* mutasyonları çok nadirdir ve bu mutasyonlara sahip hastalarda fenotip-genotip ilişkileri kurmaya çalışmak şimdilik çok erkendir.

2.2.6. Tedavi Planı ve Prognoz

EDMD tanısı konulduktan sonra önerilen değerlendirmeler esas olarak ortopedik (skolyoz ve eklem kontraktürlerinin değerlendirilmesi), nörolojik (motor fonksiyon ve kas gücü değerlendirilmesi), solunum (spirometri, kan gazı, uyku çalışmaları) ve kardiyak (EKG, EKO, 24 saat Holter) testlerdir. Bu son iki değerlendirme özellikle önemlidir, çünkü solunum ve kardiyak komplikasyonlar subklinik ve yaşamı çok erken yaşlarda tehdit edici olabilir ve en az yılda bir kez yapılmalıdır. Risk altındaki akrabaların test edilmesi önemlidir, özellikle OD-EDMD fenotipinde, inkomplet penetrasyonun genç yaşta kalp hastalığına neden olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. *EMD* mutasyonu taşıyan kadın bireyler için kardiyak değerlendirme önerilmektedir (10).

Hastalığın yönetiminin en önemli basamağı, kalp iletimi kusurlarını vaktinde tespit edip, uygun girişimin-kalp pili veya tercihen kardiyο-konvertör defibrilatörün-ICD yerleştirilmesinin sağlanmasıdır. Bununla birlikte, yeterli kalp pili işlevine rağmen dilate kardiyomiyopati ve ventriküler aritminin ortaya çıkması kalp tutulumunun ciddiyetini vurgulamaktadır ve kalp transplantasyonu gerektirebilir.

Birincil endişe ani kalp ölümünü önlemektir. Bradikardi hastalarına kalp pili takılmalıdır. Avrupa Kardiyoloji Derneği, genel olarak 30 yaşından önce bradikardilerin veya iletim bozukluklarının ilk ortaya çıkmasında kalp pili takılmasını önermektedir (233). İntraatrialtrombüsü, serebral embolizasyon ve kardiyomiyopati, kalp pili ile tedavi edilen hastalarda bile görülebilir. İlerleyici tedavi edilemeyen kardiyomiyopatili hastalarda kalp nakli düşünülmelidir. Ventriküler aritmiler hastalıkta geç ortaya çıkabilir ve bu nedenle basit bir kalp pili yerine kardiyoverter defibrilatör-ICD tercih edilebilir (233). Subklinik aritmi saptanan vakalarda, kardiyak defibrilatörlerin zamanında uygulanması morbidite ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (234). Sol ventrikül fonksiyonlarında azalma veya atrialaritmilerde tromboembolik komplikasyonlar antitromboembolik ve antiaritmik ilaçlar kullanılarak önlenebilir (195).

Yaşamın ilk on yılında başlayan EDMD fenotiplerinde ilerleyen zamanlarda gece veya sürekli mekanik ventilasyon ihtiyacı gerekebilir (6). Solunum fonksiyonlarının izleminde, gece uykuda solunum fonksiyon değerlendirilmesi, sırtüstü pozisyonda vital kapasite değerinin %60'ının altında bulunursa, hasta noktürnal hipoventilasyon riski taşımaktadır. Diğer incelemeler kas hastalığının ciddiyetine ve ikincil komplikasyonlara bağlıdır.

EDMD için spesifik bir tedavi yoktur, ancak kas aktivitesini korumak, maksimum fonksiyonel beceri sağlamak ve yaşam süresini uzatmak için agresif destekleyici bakım gereklidir. Tedavide diğer önemli basamak düzenli fizyoterapi uygulanmasıdır. EDMD semptomları erken fark edildiğinde kontraktürleri minimuma indirmek için fizik tedavi uygulanmalıdır. Baston kullanarak ambulasyona yardım edilebilir ve semptomlar ilerlediğinde tekerlekli sandalye gerekebilir. Miyopati semptomları veya eklem kontraktürleri olan hastalarda düzenli fizik tedavi, gövde ve ekstremiteler ortezleri önemlidir.

Diğer bir önemli endişe, iskelet anormalliklerinin (kontraktürler ve skolyoz) önlenmesi ve düzeltilmesi ve ambulasyonun sürdürülmesidir. Aşıl tenotomi ayak bileği kontraktürlerini stabilize etmeye yardımcı olabilir. Boyun ve omurga kontraktürleri cerrahi

müdahaleden (vidalarla iç fiksasyon) fayda sağlayabilir, ancak yararı ambulasyon kaybı riskine karşı tartışmalıdır. Pasif germe, destekleme ve ortopedik prosedürlerin agresif kullanımı hastanın mümkün olduğunca uzun süre bağımsız kalmasını sağlar. Topuk ve dirsek kontraktürlerinin cerrahi olarak serbest bırakılması mobilitayı artırabilir, özellikle de topuk tendonun uzatılması ambulasyonun korunması açısından yararlı olup, işlemin uzun süreli prognozunun iyi olduğu gözlenmektedir. Ayrıca, kontraktür oluşan eklemler cerrahi müdahale ile rahatladıktan sonra, skolyozu yönetmek için de cerrahi yapılabilir. Eklem kontraktürlerini gevşetme amacıyla tatmin edici sonuca ulaşmak için bazen ameliyatın tekrarlanması gerekir. Aşıl eklem operasyonları daha başarılı olup, önerilmektedir. Dirsek kontraktürlerinin cerrahi olarak düzeltilmesi daha karmaşıktır ve etkileri genellikle geçicidir. Eklem kontraktürlerinin ilerlemesini ve spinal deformiteyi minimuma indirmek için ortopedik tedavi sıklıkla gereklidir. Ortezler, örneğin, skolyoz ve aşıl tendon gerginliğini azaltmak için gece kullanılabilir. Tenotomi eklem cerrahisini önleyebilir veya spinal büyüme tamamlanana kadar spinal füzyonu geciktirebilir (skolyoz). Ağır fenotip veya progresif seyir gösteren durumlarda (baston, yürüteçler, ortezler, tekerlekli sandalye) mekanik yardım için gerekebilir Cerrahi müdahaleler, rabdomiyoliz ve ciddi hiperkalemi riski taşımaktadır ve bu nedenle anestezi uzmanı tarafından kas gevşetici ve solunan anesteziklerin kullanımında doğru seçim gerekmektedir.

Nedensel genlerin küçük olması ve sadece kardiyak uygulanması gelecekte gen tedavisi konusunda umutvericidir.

Diğer kalıtsal miyopatilerde olduğu gibi, bir nörolog, pulmonolog, kardiyolog, ortopedi cerrahı, fizyoterapist ve danışmanları içeren bir ekip yaklaşımı mümkün olan en iyi tedaviyi sağlamaktadır.

Günümüzde, hiçbir etiyolojik tedavi mevcut değildir ve bu nedenle, tedavi temel olarak önleyici ve/veya semptomatiktir.

2.3. AYIRICI TANI

EDMD'i öncelikle ekstremiteler ve omurga kontraktürleri ile seyreden diğer nöromusküler hastalıklardan ayırmak gerekmektedir (62). Bunlar arasında konjenital müsküler distrofiler (KMD) özellikle kollagen VI ilişkili hastalıklar, konjenital miyopatileri (santral kor ve santronükleer konjenital miyopati gibi) ve rijit omurga sendromu müsküler distrofisi (ROS) nispeten sık görülmektedir (62). Ancak bu hastalıklar hiçbir kardiyak ileti kusuru sergilememesi ile EDMD'den farklanmaktadır. EDMD'nin diğer nöromusküler hastalıkların aksine olmazsa olmaz özelliği kardiyak ileti kusuru sergilemesidir ve ayırıcı tanıda kardiyak bulgular yol gösterici önemli özelliklerdir. Ama kardiyak bulgular genellikle 20'li ve 30'lu yaşlarda semptomatik hale geldiği için rijit omurga ve eklem kontraktörü bulunan bir çocukta EDMD'yi konjenital nöromusküler hastalıklardan ayırmak mümkün değildir. Böylece, erken çocukluk döneminde bu hastalıkların ayırıcı tanısında kas zaafının dağılımı ve şiddeti, EKG özellikleri, mental gelişim gibi diğer bulgular daha çok yol gösterici olabilmektedir.

KMD'in çeşitli formları vardır ki, bunlar yaşamın ilk yılında ciddi hipotoni ve buna bağlı kontraktür, çok yüksek CK düzeyi, distrofik kas biyopsi bulguları sergilerler. Santral sinir sistemi bulguları klinik tablonun bir parçası olup EDMD fenotipinden ayırıcıda yardımcı olabilir. KMD'lerin çoğu OR kalıtım gösteriyor, EDMD-3 dışında OR kalıtılan fenotip şimdiye kadar tanımlanmamıştır. Konjenital miyopatilerin ise kendine özgü kas biyopsi bulguları vardır ki, ayırıcı tanıda bu dikkate alınmalıdır.

Özellikle belirgin dirsek kontraktörü olan hastalar bazen COLVI ile ilişkili bozukluklardan- UKMD ve BM'den ayırt etmek zor olabilir.

2.3.1. Kollajen VI İlişkili Miyopatiler

Kollajen VI ile ilişkili miyopatiler kontraktürler seyreden kas, kemik ve cilt tutulumunun olduğu ilerleyici kas hastalıklarıdır. Fenotipik olarak 4 alt grubu bilinmektedir (235):

- Bethlem miyopatisi: OD kalıtım>OR
- Ullrich konjenital müsküler distrofisi: OR kalıtım >OD
- Col VI ilişkili OD geçişli limb girdle müsküler distrofisi (236, 237)
- OR geçişli miyosclerosis myopatisi (237, 238)

Kollajen VI (ColVI), iskelet kası ekstrasellüler matriksinde (ESM) bulunan ana proteinlerden biri olup, fasya, kıkırdak, bağ, tendon, kemik ve cildin ana bileşenidir (239). Vücutta en çok lifli bağ doku olan tendon ve ligamentlerde bulunur. Ayrıca; kornea, kıkırdak, kemik, damarlar, sindirim kanalı ve omurgalar arası disklerde yoğun olarak bulunmaktadır. Kollajen ailesi, lif oluşturunca kollajen, liflerarası bağ kurucu kollajen, ağ oluşturunca kollajen, zarlararası kollajen, bazal membran kollajeni ve bunun benzeri birçok eşsiz göreve sahiptir.

Genetik olarak farklı üç ColVI zinciri tanımlanmış ve sırasıyla insanlarda *COL6A1*, *COL6A2* ve *COL6A3* genleri tarafından kodlanan $\alpha 1$ (VI), $\alpha 2$ (VI) ve $\alpha 3$ (VI) zincirleri olarak adlandırılmıştır. Biyokimyasal çalışmalarda, ColVI $\alpha 1$ (VI), $\alpha 2$ (VI) ve $\alpha 3$ (VI) zincirleri sayesinde üç sarmallı/triple helix monomer şeklini alabiliyor ve bu şekilde dokularda foksasyon görebiliyor (240, 241).

Diğer kollajenlerin aksine, ColVI salgılanmadan önce kompleks ve bir kaç aşamalı hücre içi düzenleme işlemine maruz kalır. Üç sarmallı bir monomer oluşturmak için üç alfa zincirlerinin disulfid bağları ile hücre içinde birbiriyle birleşmesi gerekmektedir. ESM'e sentez olunduktan sonra bu alfa bağları uç kısımlarından birbirleriyle kovalent olmayan bağlarla bağlanarak karakteristik mikrofilamentleri oluşturunca (242, 243).

Kompleks yapısı göz önüne alındığında, ColVI ESM'nin farklı bileşenlerine bağlanarak hücre ile çevresindeki bağ dokusu arasında yapıtaş rolü oynar, böylece iskelet kası, tendon, kemik ve kıkırdağın üç boyutlu doku mimarisini düzenleyebilir. Bazal laminadaki kollajen IV ve perlekan'a bağlanarak, ColVI kas hücreleri ve ESM arasında bağlantı kurulmasını sağlar (244). Kollajen tip I (245), tip II (246) ve tip XIV (247, 248) dahil olmak üzere diğer kollajenlerle etkileşimler de bildirilmiştir. Bigilkan ve WARP gibi bazı ESM etkileşimli moleküllerin, hücre dışı alanda ColVI salgılanmasının ve düzenlenmesinin stabilize edilmesinde ve düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (249), ayrıca ColVI yokluğunun fibronektin birikimini etkilediği de bilinmektedir (250).

ColVI, kas ESM'nin ana bileşenlerinden biridir ve bu nedenle, kas lifi endomisyumun bazal membranının oluşturulmasında rol oynar (251). İnterstisyel fibroblastlar kollajen sentezinden sorumlu ana hücre tipidir, oysa ColVI salgılanmasını etkileyebilen faktörler içeren miyojenik hücreler kollajen VI sentez edemiyorlar (252, 253). ColVI'nın iskelet kasındaki önemli rolü, ColVI zincirlerini kodlayan genlerdeki mutasyonların, Bethlem miyopatisi (254), Ullrich konjenital kas distrofisi (255) ve

miyoskleroz miyopatisi (238) gibi çeşitli kalıtsal kas hastalıklarında nedensel bir rolü olduğu gerçeğiyle vurgulanmaktadır.

Ayrıca, yapılan çalışmalarda COLVI'nın kas homeostazında ve rejenerasyonda önemli bir rol oynadığını gösterilmiştir. Son çalışmalar ColVI ablasyonunun periferik sinir yapısını ve fonksiyonunu etkilediğini ortaya koymuştur (256). Bununla birlikte, ColVI'nin nöromusküler bileşkede potansiyel rolü ve eksikliğinin nöromusküler iletimi etkilediği de söylenmektedir (257).

a) Ullrich konjenital müsküler distrofisi

1930 yılında Ullrich tarafından skleroatonik konjenital musküler distrofi olarak tanımlanan fenotipik olarak hem eklem hiperekstabilitesi hem de kontraktür ile seyreden bir kas distrofisi olup (255, 258, 259), COL6 miyopatisinin en iyi bilinen fenotipidir. Hastalık:

- Konjenital kas güçsüzlüğü ve hipotoni
- Proksimal eklemlerde kontraktür, distal eklemlerde hiperlaksitesi,
- Skolyoz ve solunum yetmezliği ile karakterize edilen bir fenotiptir.

Etkilenmiş bazı çocuklar bağımsız olarak yürüyebilse de, hastalığın ilerlemesi sıklıkla daha sonra ambulasyon kaybına neden olur. Erken ve şiddetli solunum tutulumu yaşamın birinci veya ikinci on yılında ventilatör desteği gerektirebilir.

b) Bethlem miyopatisi

İlk olarak 1976 yılında Bethlem ve van Wijngaarden tarafından, üç Hollandalı ailede hafif proksimal zaaf ile belirgin uzun parmak fleksiyon kas kontraktürlerinin görüldüğü ve OD kalıtılan 28 etkilenmiş bireyde tanımlanmıştır(260).

- Genellikle ilk 2 yılda başlasa da her yaşta görülebilir
- Yavaş ilerleyen proksimal kas zaafı,
- Bilek, dirsek ve ayak bileği eklemlerinde, uzun parmak fleksör kaslarında yaygın kontraktürler
- Daha hafif bir fenotip olarak kabul edilen bir başka COL6 miyopatisidir (254).

Bazen BM doğumdan hemen sonra klinik bulgu verebilir, özellikle, ailede BM veya UKMD öyküsü bulunmayan durumlarda ayırt etmek zorolabilir, ancak zamanla ambulasyonun korunması ve kontraktür dağılımı BM tanısına götürecektir (235).

Hastalığın başlangıcı doğum öncesi (azalmış fetal hareketler), yenidoğan (hipotoni veya tortikolis), erken çocukluk dönemi (gecikmiş motor gelişim, kas zaafı ve kontraktürler) veya yetişkinlik (proksimal zaaf, aşıl tendonu veya uzun parmak kaslarında fleksör kontraktürleri) döneminde olabilir. Yavaş ilerleyici seyir göstermesi nedeniyle, 50 yaşın üzerindeki etkilenen bireylerin üçte ikisinden fazlasında ambulyasyon korunmaktadır. Solunum tutulumu nadirdir ve daha ileri dönemde ciddi kas zaafı ile ilişkili görünmektedir (235). Kardiyak tutulum genellikle görülmez (260).

BM ve UKMD fenotipli her iki grupta:

- Kognitif gelişim her zaman korunmuştur (235)
- Keratoz pilarise yatkınlık, folliküler hiperkeratozis, keloid veya "cigarette-paper" skarlaşması gibi anormal cilt bulguları görülebilir (261)
- CK normal veya ılımlı yüksek (max:5 kat) bulunabilir (235, 262).
- Elektromiyografi tipik olarak düşük amplitüdlü, kısa süreli motor ünite aksiyon potansiyeli ile karakterize miyopatik bir patern gösterir (260).

BM kas biyopsisinin histopatolojik özellikleri spesifik olmayan miyopatik özellikler, genellikle kas lif çapında değişikliklerle birlikte yağ dokusunda artış, ve ara sıra nekrotik veya distrofik lifler sergilemektedir (244). UKMD’de bunlara ek olarak tip 1 lif baskınlığı, endomisyal bağ dokusunda artış, nükleus sayısında artış ve fetal miyosin içeren liflerin varlığı gibi doku rejenerasyonunu destekler bulgular sergilemektedir (263).

Kas MRG bulguları, motor fonksiyon bozukluğunun ciddiyeti ile karakteristik bir paternle paralellik gösteren karakteristik kas tutulumu paterni sergilemektedir. BM’de vastus lateralis ve hamstring kaslarının periferik bölgesinin daha fazla, ancak merkezi bölgesinin göreceli olarak korunması dikkat çekmektedir ve patolojinin bu periferik baskınlığı ‘sandviç’ bulgusu, rektus femoris kasının merkezi kısmının daha belirgin tutulmasına bağlı gelişen görüntü ise central shadow sign/“merkezi gölge işareti” olarak tanımlanmıştır (264). UKMD’de kas MRG bulguları, uyluk kaslarının yaygın tutulumunu, sartorius, gracilis, adduktör longus ve rektus kaslarının göreceli korunmasından oluşan karakteristik bir patern gösterir (265)

Sırasıyla 21q22.353 ve 2q37,54 kromozomunun uzun koluna yerleşik *COL6A1-3* gen mutasyonları hem BM, hem de UKMD’de tanımlanmıştır. A1 ve a2 zincirleri, 21q22.358 kromozomunda bulunan 37 ekzon içeren *COL6A1* ve 30 ekzon içeren *COL6A2* genleri

tarafından kodlanır (266). A3 zincirinin geni olan *COL6A3*, 2q3759 kromozomunda bulunur ve 44 ekzon içerir (266, 267).

c) *COL6 ilişkili OD-LGMD*

İlk kez Scacheri [1] ve ark., tarafından üç ailenin etkilenmiş bireylerinde tarif edilmiştir. Hastalık başlangıcı infant döneminden yetişkin döneme kadar değişkenlik gösterebilir. Proksimal baskın kas zaafı en önemli fenotipik özelliğidir ki, buna diğer kollajen VI bozukluklarına kıyasla daha hafif kontraküreri eşlik eder veya hiç kontraktür görülmeyebilir. CK düzeyi normal veya ılımlı yükselmiş bulunabilir. Kas biyopsisi nekroz, lif çapında değişiklikler, internal nükleus artışı, adipoz ve bağ dokusunda artışı göstermektedir (236, 237).

d) *Miyoskleroz miyopatisi*

İlk kez Merlini ve ark., tarafından akrabalık evliğı bulunan bir ailenin etkilenmiş 2 bireyinde bildirilmiştir. Miyoskleroz miyopatisi 2 ile 4 yaş arasında başlangıç gösteren, yaygın eklem kontraktürleri, hem proksimal, hem distal kas zaafı, solunum kas tutulumlu ilerleyici seyreden daha az sıklıkta görülen kollajen 6 ilişkili OR kalıtılan hastalıktır. Genellikle CK düzeyi hafif yükselmiş seyreder, kas biyopsi bulguları endomizyal konnektif dokuda diffüz azalma, lif çapında değişiklikler, internal nükleus sayısında artış, bazal laminada azalmış kollajen 6 dağılımı, kapillarda ise yokluğu görülmektedir. Elektron mikroskopunda ise bazal membranda kalınlaşma ve duplikasyon ile birlikte perisit sayısında artış dikkati çekmektedir (238).

Tanı tipik klinik özelliklere dayanmaktadır. Normal veya ılımlı yükselmiş serum CK konsantrasyonu, uyluk MRG'da tutulum patern, kas, cilt biyopsisinde ve dermal fibroblast kültüründe kollajen VI immünhistokimyasal ve immünfloresans boyama özellikleri, kollajen VI peptid zincirlerini kodlayan *COL6A1*, *COL6A2* ve *COL6A3* genlere yönelik moleküler testler tanı için gerekli incelemelerdir.

2.3.2. *Rijit Omurga Sendromu Müsküler Distrofisi (ROSMD)*

En zor ayırıcı tanı moleküler biyoloji tekniklerinin tanısal amaçla kullanılmadığı zamanlarda ROSMD ile EDMD arasında yapılmaktaydı ki, tanısal moleküler testlerin kullanımı ile ROSMD tanısı ile takip edilen vakaların birçoğunun EDMD olduğu ortaya çıkmıştır. ROSMD ilk kez 1965 yılında Dubowitz ve ark., tarafından, spinal fleksiyon

kısıtlılığı, belirgin dirsek kotarktörü, pes equinus, ılımlı ve progresif olmayan kas zaafı, skolyoz ve miyopatik özellikte kas biyopsi bulguları ile karakterize etkilenmiş bir erkek hastada tarif edilmiştir (268). ROSMD OR kalıtılan:

- Genellikle ilk iki yılda başlayan aksiyel kas zaafı ve rijit omurga
- İlk on yılda erken ve ciddi skolyoz
- Erken dönemde solunum etkilenmesi ile karakterize hastalıktır.

Proksimal kas zaafı ve hipotoni görülebilir, ancak progresyon yavaş olduğundan bu hastalar erişkin döneme kadar ambulasyonu koruyabilir. Hastalık selenoprotein-1 (*SEPN-1*) genindeki homozigot mutasyonlarından kaynaklanmaktadır (269). *SEPN-1* endoplazmatik retikulum integral membranında yer alan bir glikoprotein proteini olan selenoproteini kodlar (270). Selenoprotein iskelet kasında, kas, akciğer ve plasentada yoğun bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyaframda yoğun bulunduğuna dair bilgileri ortaya çıkardı ki, bu da hastalığın erken döneminde ağır solunum tutulumunu açıklamaktadır (271). Kas biyopsisi nonspesifik miyopatik özellikler göstermektedir, CK düzeyi genellikle orta düzeyde yüksek (<10 kat) yüksek bulunur. ROSMD’de de kalp tutulumu görülebileceğinden EDMD ile çok sık karışabiliyor. Ancak ROSMD’de erken dönemde restriktif tipte akciğer tutulumu belirgin olduğundan buna bağlı ‘*cor pulmonale*’ görülmektedir ve bu da EDMD ayırıcı tanısını yapmakta yardımcı bir özelliktir. Ayrıca EDMD’de de rijit omurga bulgusu görülebilir ancak skolyoza genellikle hastalığın ileri döneminde rastlanmaktadır ki, ROSMD’de skolyoz tipik erken bir bulgudur (272).

3. HASTALAR VE YÖNTEM

3.1. HASTA GRUBU VE ÇALIŞMAYA ALINMA KRITERLERİ

Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Nöromusküler Hastalıklar Polikliniğinde 1989 ve 2018 tarihleri arasında kontraktürlü miyopati tanısı almış, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 31 farklı aileden 50 hastanın hastanın klinik ve laboratuvar bulguları değerlendirilmiştir. Klinik ve histopatolojik bulguları kontraktürlü miyopati ile uyumlu olan hastalar Nöromusküler Hastalıklar Polikliniğimiz arşivinden seçilmiştir. Kayıtlar retrospektif olarak değerlendirildikten sonra hastalar ve birinci derecedeki yakınları polikliniğimize davet edilmiş ve hastalar ve taşıyıcı birinci derece yakınları da çalışmaya dahil edilmiştir. Ayrıntılı nörolojik muayeneden sonra tüm hastaların fotoğraf kayıtları yapılmıştır. Vefat etmiş hastalara ait bilgiler, poliklinik dosyalarından ve hasta yakınlarından edinilmiştir.

Hastaların, aydınlatılmış onamları Helsinki Deklarasyonuna uygun bir şekilde alınmış ve çalışma İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulunca onaylanmıştır.

Hastaların rutin biyokimya, hemogram, serum kreatinin kinaz düzeyleri ve tiroid fonksiyonları değerlendirilmiştir.

Kas biyopsisi, her aileden en az bir bireye uygulanmıştır. Şok-dondurulmuş kas örneklerinden sekiz µm kalınlığında kesitler alınmış, bu kesitler, standart protokoller kullanılarak, hematoxilen-eozin (H&E), modifiye Gomori'nin trikrom (MGT), periyodik asit-Schiff (PAS), NADH dehidrogenaz-tetrazolyum redüktaz (NADH-TR), süksinik dehidrogenaz (SDH), sitokrom c oksidaz (COX) ve oil red O (ORO) ile boyanmıştır.

Kranyal manyetik rezonans görüntüleme (MRG), standard sagittal, axial spin-echo T1- ağırlıklı (TR/TE 500/15 -25) ve T2-ağırlıklı (TR/TE 3000/20 - 35/70 -100) 5mm kalınlığında kesitler alınarak ve değişik cihazlar kullanılarak yapılmıştır. Alt ekstremitte uyluk kasları ise 1.5 tesla Philipps Achieve 1 cihazı ile konvansiyonel T1 and T2 ağırlıklı kesitler alınarak görüntülenmiştir. Ekstremitte kaslarına ait bu görüntüler, yağlı

dejenerasyon miktarı göz önünde tutularak beş dereceli bir skala ile değerlendirilmiştir: normal“0”; T1’de artmış sinyal intensitesine dair izler, hafif “1”; T1’de orta derecede artmış sinyal intensitesi, “2” orta; T1’de belirgin artmış sinyal intensitesi, “3”, kas tamamen yağ ve bağ dokusu ile yer değiştirmiş, tam yağlı dejenerasyon, ciddi “4” olarak değerlendirilmiştir.

Genetik inceleme amacı ile kan örnekleri, hasta ve hasta yakınlarından yazılı onam sonrasında alınmış ve standart prosedürler izlenerek periferik venöz kandan genomik DNA ayrılmıştır.

3.1.1. Genetik İnceleme Planı (Tablo 2)

Aile ağaçları çizilerek hastalığın XR, OR ve ya OD geçiş şekline göre EDMD alt tipleri belirlendi. Akrabalık ilişkisi olmayan sekiz aileden 19 hasta X’e bağlı kalıtım paterni göstermekteydi. Sekiz indeks hastanın kas biyopsi örneğinde emerinin İHC reaksiyonu ile hasta kasın normal kontrol kası ile karşılaştırıldığında negatif (patolojik) boyanma özelliği gösterdiği görüldü ve bu hastalarda *EMD* genine bakılması planlandı. Diğer akrabalık ilişkisi bulunmayan dokuz aileden seçilen 10 hasta OD, kalan 14 aileden seçilen 21 hasta OR katılım paterni göstermekteydi ki, bu hastaların fenotipik özelliklerine ve kas biyopsi incelemelerine göre 21 indeks hastada *LMNA* ve 2 indeks hastada *COL6A1/A2/A3* gen incelemeleri planlandı. Bu aşamada 13 indeks hastaya kontraktürlü miyopati tanısı konuldu. Bunlardan sekizi EDMD-1, ikisi EDMD-2, biri EDMD-3, ikisi kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı aldı. Birinci aşama sonucunda akrabalık ilişkisi olmayan 13 aileden 25 hasta kontraktürlü miyopati tanısı almış oldu.

İkinci aşamada tek gen incelemesi ile tanısı kesinleşmeyen akraba olmayan 18 aileden olan 25 hasta içerisinde hafif kas zaafı ancak belirgin kontraktürleri olan tipik kontraktürlü fenotipi sergileyen 10 indeks hasta seçilerek çoklu gen panel incelemesi- *COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3*, *KLHL40*, *LAMA2*, *MYH7*, *RYR1*, *SEPN1*, *TMEM43* genleri için tüm kodlayan bölgelere yönelik yeni nesil dizi analizi panel çalışması yapıldı. Panel çalışması sonucunda 5 hastada *COL6* geninde mutasyon saptandı, diğer 5 hastada mutasyon saptanmadı. Tüm mutasyon saptanan hastalara segregasyon ile doğrulama testi yapıldı. Panel incelemesi sonucunda mutasyon saptanmayan beş indeks hasta ve tek gen incelemesi yapılan ancak mutasyon saptanmayan sekiz indeks hastada daha ileri

yöntemlerle (tüm ekzom ve genom dizilime yöntemi) hastalığa neden olabilecek genlerin taranması devam etmektedir

Tablo 2: Genetik inceleme şeması

	İndeks hasta sayısı	Bakılan gen	Genetik sonuç
Birinci aşama=tek gen incelemesi	8 indeks hasta→	<i>EMD</i> →	8 indeks hasta (%25) <i>EMD</i> pozitif
	21 indeks hasta→	<i>LMNA</i> →	3 indeks hasta (%9) <i>LMNA</i> pozitif
	2 indeks hasta→	<i>COL6A1/A2/A3</i> →	2 indeks hasta <i>COL6</i> pozitif
SONUÇ	13 aileden 25 hasta kesin kontraktürlü miyopati		
İkinci aşama=panel incelemesi	10 indeks hasta→	Panel→	5 indeks hasta <i>COL6</i> pozitif
SONUÇ	Toplam 7 farklı aileden 7 hasta kesin COL VI ilişkili kontraktürlü miyopati (%23)		
Genetik tanısı kesinleşen tüm hasta sayısı	18 indeks hasta (≈%60) kesin kontraktürlü miyopati		
Tanısı kesinleşemeyen hasta sayısı	13 indeks hasta→Tüm ekzom ve genom dizileme analizi		

Genetik Analiz Yöntemi

Tüm olgularda antekübital bölge alkollü pamukla temizlendikten sonra, EDTA'lı tüpe venöz kan örnekleri alınmıştır. Bu örneklerden spin kolon yöntemi ile DNA izole edilmiştir. DNA elde edilmiştir. Polymerase chain reaction (PCR) ile ilgili gen bölgeleri çoğaltılmış ve bu bölgelerde, araştırılması planlanan *EMD*, *LMNA*, *COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3*, *KLHL40*, *LAMA2*, *MYH7*, *RYR1*, *SEPN1* ve *TMEM43* genlerinin *Next generation sequencing (Miseq – illumina)* yöntemiyle tüm gen dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen veriler Ensembl veri tabanındaki normal dizi ile karşılaştırılmıştır. Polimorfizmler için kontrol grubu olarak dbSNP veritabanında sunulan 1000 genom projesi verileri ve İntergen Genetik Merkezi'nde ekzom dizileme analizlerinden elde edilen veriler kullanılmıştır.

DNA izolasyonu REALPURE SPIN KIT – REAL kiti (Durviz, S.L.U) ile yapılmıştır. Tam kandan DNA izolasyonu için geliştirilmiş bu kit için kullanılan prosedür aşağıdaki gibidir.

- 1) 1,5 ml'lik tüp içerisine 100 µl tam kan eklenir.
- 2) 37⁰C'de 30 dk. inkübe edilir.
- 3) 180 µl Tissue Lysis Buffer (REAL-E22) ve 20 µl proteinaz K (20 mg / ml) eklenir.
- 4) 55⁰C'de 30 dk. inkübe edilir.
- 5) 200 µl Lysis / Binding Buffer (REAL-REA01) eklenir.
- 6) 70⁰C'de 10 dk. inkübe edilir.
- 7) 300 µl saf izopropanol (MP Biomedicals - No.:19400690) eklenir.
- 8) Karşım toplama tüpü (REAL-R30) içerisine yerleştirilen kolon (REAL-RSC01) içerisine eklenir.
- 9) 8.000 rpm'de 60 sn. çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R).
- 10) Toplama tüpü atılır, kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilir.
- 11) 500 µl Disinhibition Buffer (REAL-REA03) eklenir.
- 12) 8.000 rpm'de 60 sn. çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atık kabına boşaltılır.
- 13) 500 µl Wash Buffer (REAL-REA04) eklenir.
- 14) 8.000 rpm'de 60 sn. çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atık kabına boşaltılır.
- 15) 13. ve 14. basamaklar tekrar edilir.
- 16) En yüksek hızda 90 sn. çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atılarak kolon 1,5 ml'lik steril tüpe yerleştirilir.
- 17) 70⁰C'ye ısıtılmış 10 µl Elution Buffer (REAL-REA05) kolona eklenir. 70⁰C'de 60 sn. inkübe edilir.
- 18) En yüksek hızda 90 sn. çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R).
- 19) 17. ve 18. basamaklar iki defa tekrar edilir.
- 20) Kolon atılır. 1,5 ml'lik tüpte izole edilen DNA vardır.

Primerlerin tasarımı

Primer tasarımı "PRIMER[®] – Primer Designer v.2.0 (Scientific&Educational Software)" yazılımı kullanılmıştır. Primerler Sentegen Biotech'de sentezletilmiştir. Bu çalışmada dizilenen genlerin kodlayan bölgeleri, ekzon-intron bağlantı bölgeleri dahil olacak şekilde dizi analizi planı ve primer tasarımı yapılmıştır.

Yeni Nesil Dizi Analizi

Yapılacak çalışmada çok sayıda genin dizi analizinin yapılacak olması nedeniyle çalışma maliyetini azaltmak üzere yeni nesil dizi analizi yönteminin kullanılması planlanmıştır. Bu çalışmada MiSeq (Illumina, San Diego, CA) sistemi kullanılmış ve hedefe yönelik dizileme (Targeted resequencing) yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem için önce tasarlanan primer ile dizilenecek bölgeler çoğaltılmış ve ardından da barkodlanarak dizilenmiştir.

Yeni Jenerasyon dizi analizi için kullanılan malzemeler

Nextera™ SamplePreparation Kit ve Flow Cell (Illumina) kullanılmıştır.

Kullanılan kartuşta her bir rezervuar için kullanılan malzemeler yanında rezervuar numarası ile birlikte verilmiştir. Bu listede firmaya özgün malzemeler, orjinal İngilizce adları ile verilmiş, diğer malzemeler Türkçe’de kullanılan hali ile sunulmuştur.

MiSeq İş Akışı

MiSeq iş akışı yazılımının tarif ettiği iş akışı, otomatize yığın (cluster) oluşturulması, dizileme, birincil analiz ve cihaz üzerinde ikincil analiz şeklindedir.

Yığınların oluşturulması (Cluster Generation)

Çalışma başladıktan sonra her bir DNA molekülü FlowCell’e bağlanır. Köprü şeklinde çoğalmalar başlar. Her bir molekülün çok sayıda kopyaları oluşur. Bunlara yığın (cluster) adı verilir. Bu işlem cihaz tarafından gerçekleştirilir.

Dizileme

Yığın oluşturulmasından sonra, bu yığınlar LED ve filtre kombinasyonları kullanılarak 4 ayrı floresan olarak işaretli nükleotid için kaydedilmektedir. Her bir renk ayrı ayrı okunarak araştırılan DNA bölgesinin nükleotid dizilimi ortaya çıkarılmaktadır. Buna dizileme ya da dizi analizi adı verilmektedir.

Analiz

Analiz tamamlandığında MiSeq Reporter analysis yazılımı otomatik olarak uygulamaya girmekte ve ikincil analizlere başlamaktadır. Bu sayede elde edilen diziler,

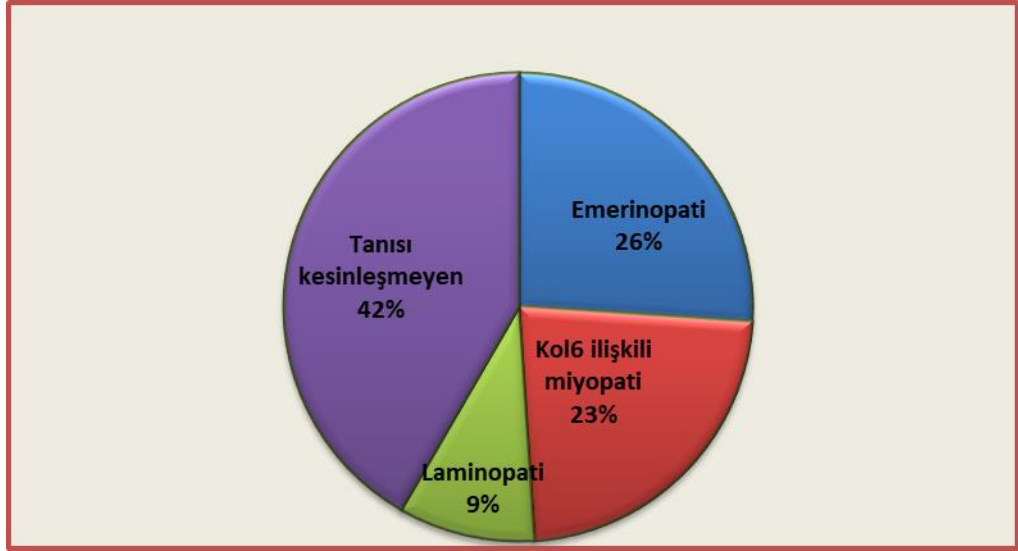
veri tabanlarına kayıtlı referans olarak kabul edilen diziler ile karşılaştırılmaktadır. Program referans diziden farklı olan noktaları işaretlemekte, bu dizi farklılıkları raporlandırma sırasında hastalık nedeni olan ve olmayan değişiklikler olarak Tıbbi Genetik Uzmanı değerlendirmesini takiben sınıflandırılmaktadır. Bu değişikliklerin mutasyon olup olmadığı yani hastalık nedeni olup olmadığının değerlendirilmesi aşağıdaki aşamalardan oluşan bir çalışma ile belirlenmektedir.

Hastalarda yapılan dizi analizi çalışmalarında tespit edilen değişiklikler önce Human Genome Mutation Database (HGMD), ClinVar, NCBI dbSNPdatabase, Pubmed, hastalığa özgün veri kaynakları (PAHdb World Wide Web site gibi) kullanılarak bilinen ve daha önce hastalıkla ilişkisi gösterilmiş bir mutasyon olup olmadığı araştırılmıştır. Bu kaynaklarda yer almayan değişikliklerde mutasyon ve polimorfizm ayırımı yapabilmek için SIFT, Polyphen2, MutationTaster, Spliceport, Human Splicing Finder gibi analiz sistemleri ile elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Değerlendirmelerde ACMG kriterleri göz önüne alınmıştır. Bu analizler neticesinde hastalığa neden olduğu düşünülen değişiklikler yeni ve tanımlanmamış mutasyon olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Kliniğimizde kontraktürlü miyopati tanısı ile takip edilmekte olan ve aralarında akrabalık bağı bulunmayan 31 aileden 50 hasta çalışmaya alındı. Hastaların, 31'i erkek (%62), 19'u kadındı (%38). Ortalama hastalık başlangıç yaşı $5,9 \pm 4,9$ (1 ile 16 yaş arası) yıl, son muayenede ortalama yaşı $30,0 \pm 12,1$ (10 ile 64 yaş arası) yıl, ortalama takip süreleri $24,1 \pm 13,9$ (3 ay ile 29 yıl arası) yıl idi.

Akrabalık ilişkisi bulunmayan sekiz aileden 19 hasta EDMD-1, iki aileden 2 hasta EDMD-2, bir aileden 2 hasta EDMD-3, yedi aileden 7 hasta kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı aldı. Çalışmamızın sonucunda otuz bir aileden 18 aileye (%60) genetik kesin kontraktürlü miyopati tanısı konuldu (şekil 2).



Şekil 2: Kontraktürlü miyopati ön tanısı ile çalışmaya alınan ve elde edilen sonuçların hastalar arasında dağılımı

4.1. EDMD-1: KLİNİK VE LABORATUAR BULGULAR

Örnek olgu 1, (Hasta 6-IV/4). Onaltı yaşında erkek

Hasta parmak ucunda yürüme şikayeti ile kliniğimize başvurdu. Hastanın 2-2,5 yaşında parmak ucunda yürüme ve sık düşmelerinin olduğu, 9-10 yaşında kollarını tam

açamadığı ve boynunu rahat hareket ettiremediği öğrenildi. Bir erkek kardeşinde ve üç dayısında da benzer yakınmalar mevcuttu. Hasta 16 yaşında iken yapılan nörolojik muayenede boyun fleksiyonu kas gücü 4/5, üst ekstremitelerde bilateral biceps ve triseps kasları kas gücü -4/5, diğerleri +4/5, alt ekstremitelerde kalça adduktorları ve tibialis anterior kası kas gücü -4/5 idi, gluteus maksimus dahil diğer kaslarda kas güçleri tamdı. Biceps, triseps gastroknemius kaslarında atrofi görüldü. ROB, skolyozu ve kanat skapulası vardı (şekil 3). Ayak bileği, dirsek, el bileği ve boyun kontraktürü saptanan hastanın kan CK düzeyi normalin üst sınırının 2.5 katı yüksekti, EMG incelemesi miyojen tutulum ile uyumlu bulundu. Uyluk MR incelemesi normaldi, krus düzeyinde ise soleus ve gastroknemius kası medial başında simetrik yağlı atrofi saptandı (şekil 11). Kas biyopsi incelemesinde distrofik bulgular saptandı, emerinin İHC reaksiyonu ile nükleuslarda negatif (patolojik) boyanma özelliği görüldü (şekil 7). Hastanın 24 saat ritim holter incelemesinde bradikardi (45-50/dk) saptandı. Moleküler incelemesinde *EMD* geninde hemizigot mutasyon (c.19.delC) saptandı ve hasta EDMD-1 tanısı aldı. Mutasyon daha önce tanımlanmamış, “*novel*” mutasyondur.

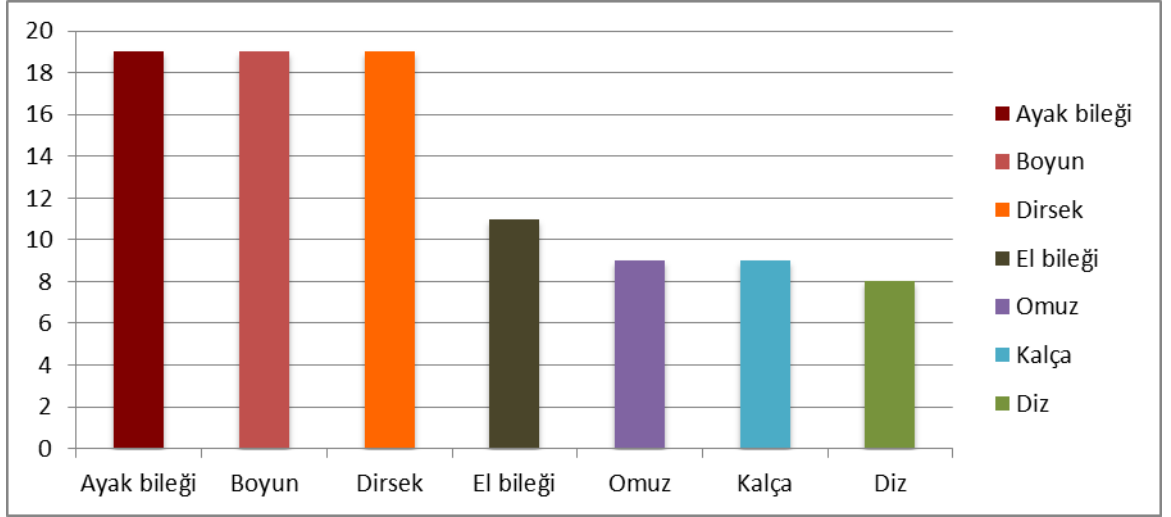


Şekil 3:Hasta 9-IV/4. 16 yaşında hasta, parmak ucunda yürüme ve kollarını dirsekten tam açamama şikayeti mevcuttu. Muayenede boyun fleksiyon kontraktürü (A), boyun ekstansiyonu tam (B), dirsek kontraktürü (C) diz ve ayak bileği kontraktürü (D), kanat skapula (E) ve diz altı arka grup kaslarda atrofi (F) saptandı.

4.1.1. Klinik Bulgular (Tablo 3)

On dokuz erkek hastada hastalığın başlangıç yaşı ortalama $4,4 \pm 2,4$ yıl (2 ile 10 yaş arasında), son muayenede ortalama yaşı $32,0 \pm 12,9$ (13 ve 59 yaş arasında), takip süreleri ortalama $18,9 \pm 10,1$ (3 ay ile 29 yıl arasında) yıl idi.

Hastalarımızın neredeyse hepsinde (18/19) görülen ilk belirti parmak ucunda yürüme ve sık düşme idi. Sadece bir hastada dirsek ekleminde hareket kısıtlılığı (hasta 10-V/1) ilk belirtiyi. Değerlendirilen on dokuz hastada ayak bileği dorsofleksiyon, boyun fleksiyon, dirsek ekstansiyon ve fleksiyon kontraktürü saptandı, bunların on birinde ılımlı derecede el bileği fleksiyon ve ekstansiyon, dokuzunda omuz hiperekstansiyon ve kalça fleksiyon, sekizinde diz ekstansiyon kontraktürü eşlik ediyordu (şekil 4).



Şekil 4: EDMD-1 hastalarında eklem kontraktür dağılımı

Kas zaafı dağılımı üst ekstremitelerde en baskın triseps ve biceps kaslarında, alt ekstremitelerde peroneal kaslardaydı (18/19). Bunu sıklıkla boyun fleksiyon, parmak ekstansiyon, periskapuler, iliopsoas ve kalça adduktor kaslarında zaaf izlemekteydi, gluteus maksimus kası ise hastalığın ileri evresine kadar korunmaktaydı. Bir hasta (hasta 10-V/1) 18 yaşında başvurduğunda kas zaafı olmaksızın eklem kontraktürü saptansa da, klinik takipte 21 yaşında humeroperoneal tipte kas zaafı ve atrofi eklenmişti. Kas zaafı ve kontraktür dışında en sık saptanan muayene bulguları biceps ve gastrocnemius kasının medial başı baskın humeroperoneal kaslarda atrofi (17/19), rijit omurga bulgusu (18/19), skolyoz (8/19), kanat skapula ve pes kavus (4/19), pes equinus (2/19) ve pektus karinatum

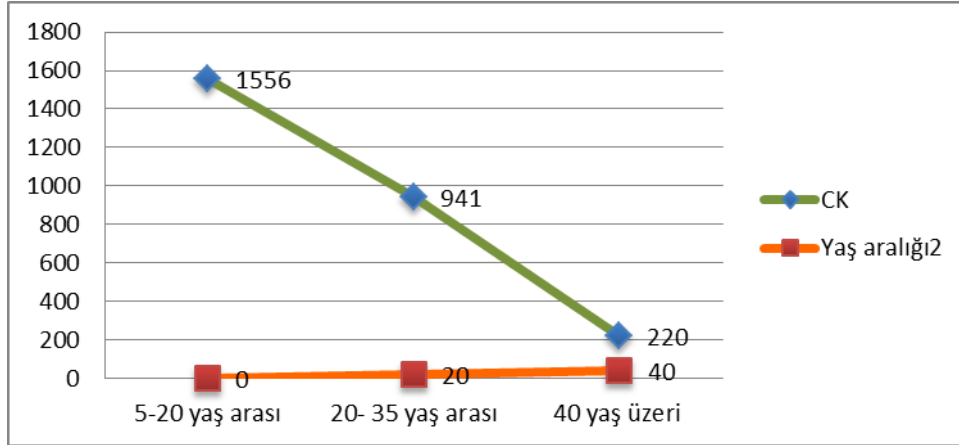
(3/19, hasta V/1, V/2 ve V/3) idi. Hastalarımızın hiç birinde gastroknemius hipertrofisi saptanmadı ve tüm hastalarda kontraktür kas zaafından önce gelişmişti.

Son muayenede on üç hasta desteksiz yürüyebiliyordu, üç hasta (13-VI/1, 2-II/1 ve 6-IV/1) 7, 24 ve 30 yaşında tekerlekli sandalye bağımlı hale gelmişti. Üç hasta ise hastalık başlangıcının yaklaşık 20. yılında (hasta 13-VI/1) ve 50.yılında (hasta 16-VIII/1 ve 17/VIII/2) vefat ettiler. Vefat eden hastalardan biri (hasta 13-VI/1) 7 yaşından tekerlekli sandalye bağımlı olan ağır fenotipte olan bir hastaydı, 24 yaşında ateşli hastalık sırasında kaybedilen hastaya kardiyak *pace maker* takılmamıştı. Diğer iki hasta (hasta 16-VIII/1 ve 17/VIII/2) destekle yürüyebiliyordu, 53 ve 55 yaşlarında *pace maker* takıldıktan yaklaşık 6 ay ve 2 yıl sonra iskemik inme nedeniyle kaybedildi.

Beş aileden 16 bireyde hastalık X'e bağlı kalıtım paterni sergilemekteydi, 3 aileden olan üç hasta sporadik vakalardı (şekil 6).

4.1.2. Laboratuvar Bulgular (Tablo 4).

CK düzeyi altı hastada (ortalama yaş $49,2 \pm 14,2$ yıl) normaldi ($N < 220$ U/l), sekiz hastada (ortalama yaş $23,3 \pm 6,5$ yıl) 1,5-4,5 kat (220 ile 941 U/l arasında), dört hastada (ortalama yaş $19,1 \pm 10,4$ yıl) yaklaşık 4-7 kat (maks 1556 U/l), sadece bir hastada (16 yaş) 20 kat yüksek (4906 U/l) bulundu (şekil 5).



Şekil 5: CK düzeyinin yaş aralığına göre dağılımı.

On dört hastanın EMG incelemesi yaygın miyojen tutulumla uyumluydu. On bir hastanın kas biyopsi incelemesi distrofi (5/19) ve kronik miyopati bulguları (6/19) sergilemekteydi. Tüm hastalarda kas biyopsi örneğinde emerinin İHC reaksiyonu ile nükleuslarda negatif (patolojik) boyanma özelliği görüldü (şekil 7).

Tablo 3: EDMD-1 (emerinopati) tanısı alan 19 erkek hastanın klinik özellikleri

Olgu No:	Yaş*	İlk şikayet	Kontraktür dağılımı**	Yaş***	Son nörolojik muayene ****	Yürüyüşü	Ek özellikler
1-I/1	4	Parmak ucunda yürüme	Aşıl>Dirsek >Diz=Boyun	36	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB
2-II/1	4	Parmak ucunda yürüme	Aşıl=Boyun>El bileği>Dirsek>Diz>Omuz	25	Üst proksimal>distal, alt distal>proksimal	24 yaşta ambulasyon kaybı	ROB, skolyoz, kanat skapula, pes cavus
3-III/1	7	Dirsek ve ayak bileğinde deformasyon	Aşıl=Boyun>Dirsek>El bileği ve parmaklar	30	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB, ince yapılı
4-III/2	7	Dirsek ve ayak bileğinde deformasyon	Aşıl>Boyun>Diz=Dirsek>Omuz	29	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB, ince yapılı
5-IV/3	8	Parmak ucunda yürüme	Aşıl>Boyun>Omuz, Dirsek, diğerleri tam	15	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB
6-IV/1	6	Parmak ucunda yürüme	Aşıl=Boyun>Dirsek>El bileği>Kalça	32	Üst proksimal>distal, alt distal>proksimal	30 yaşta ambuasyon kaybı	ROB, skolyoz, kanat skapula
7-IV/2	7	Parmak ucunda yürüme	Aşıl=Boyun>Dirsek>El bileği>Kalça	29	Üst proksimal>distal, alt distal>proksimal	Destekle	ROB, skolyoz, kanat skapula
8-IV/5	3	Parmak ucunda yürüme	Hafif sol>sağ dirsek	13	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	Skolyoz
9-IV/4	2	Sık düşme ve parmak ucunda yürüme	Aşıl>Boyun>El bileği> Diz=Dirsek	16	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB, skolyoz, kanat skapula
10-V/1	10	Kollarını tam açamama	Boyun=Dirsek>Aşıl, omuz, kalça ve dizde yok	23	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB, ince yapılı

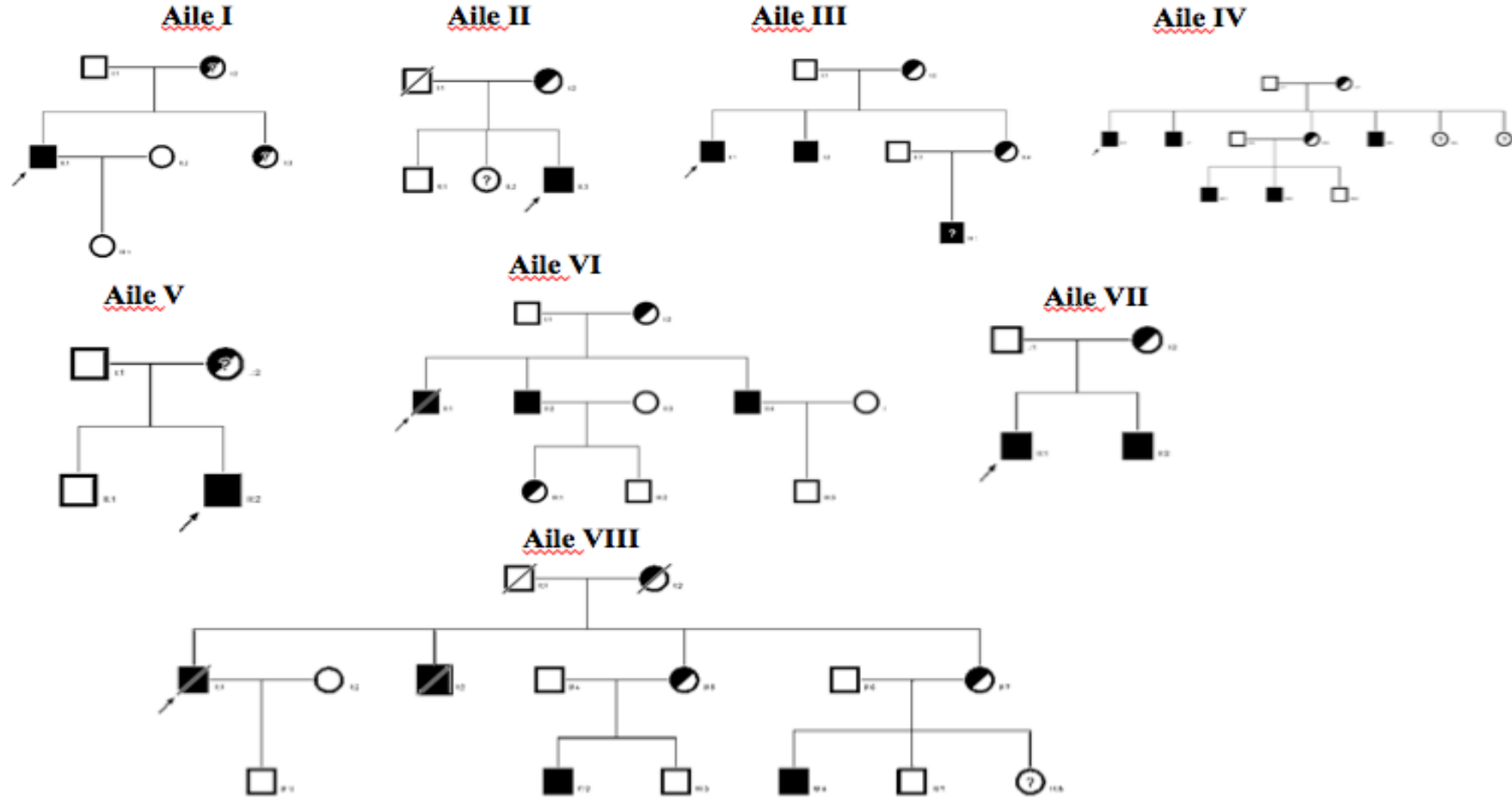
Olgu No:	Yaş *	İlk şikayet	Kontraktür dağılımı**	Yaş***	Son nörolojik muayene ****	Yürüyüşü	Ek özellikler
11-VI/3	4	Parmak ucunda yürüme	Aşıl>Boyun>Dirsek>Kalça=Omuz>El bileği	42	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB, pectus carinatum, kanat skapula, skolyoz
12-VI/2	3	Parmak ucunda yürüme	Aşıl>Boyun>Diz>Omuz=Kalça	37	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB pectus carinatum, kanat skapula, skolyoz
13-VI/1	2	Parmak ucunda yürüme	Aşıl=Boyun>Diz>Dirsek>Omuz=El bileği	23	Üst proksimal>distal, alt distal>proksimal	7 yaşta ambulasyon kaybı, 24 yaşta exitus	ROB, pectus carinatum, skolyoz, bifasyal zaaf, skuat pozu (<i>squatting position</i>)
14-VII/1	3	Parmak ucunda yürüme ve sık düşme	Aşıl=Boyun>Diz>Dirsek>Omuz=El bileği	27	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB
15-VII/2	4	Parmak ucunda yürüme ve sık düşme	Aşıl>Boyun>Dirsek>Omuz=Diz	23	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB
16-VIII/1	2	Kollarını açamama ve parmak ucunda yürüme	Dirsek>Aşıl>Boyun>Diz=El bileği	54	Üst proksimal>distal, alt distal>proksimal	Destekle, 60 yaşta exitus	ROB, skolyoz, pes equinus
17-VIII/2	2	Kollarını açamama ve parmak ucunda yürüme	Dirsek>Aşıl>Boyun>Diz=El bileği	55	Üst proksimal>distal, alt distal>proksimal	Destekle, 61 yaşta exitus	ROB, skolyoz, pes equinus
18-VIII/3	2	Parmak ucunda yürüme	Aşıl>Boyun>Dirsek>El bileği	54	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB
19-VIII/4	3	Parmak ucunda yürüme	Aşıl>Boyun>Dirsek>El bileği	44	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB

*Hastalık başlangıç yaşı, ** Kontraktürün ağırlık derecesine göre dağılımı, ***Son nörolojik muayenedeki yaş, **** Kas zaafi ve atrofi dağılımı, ROB=Rijid Omurga Bulgusu

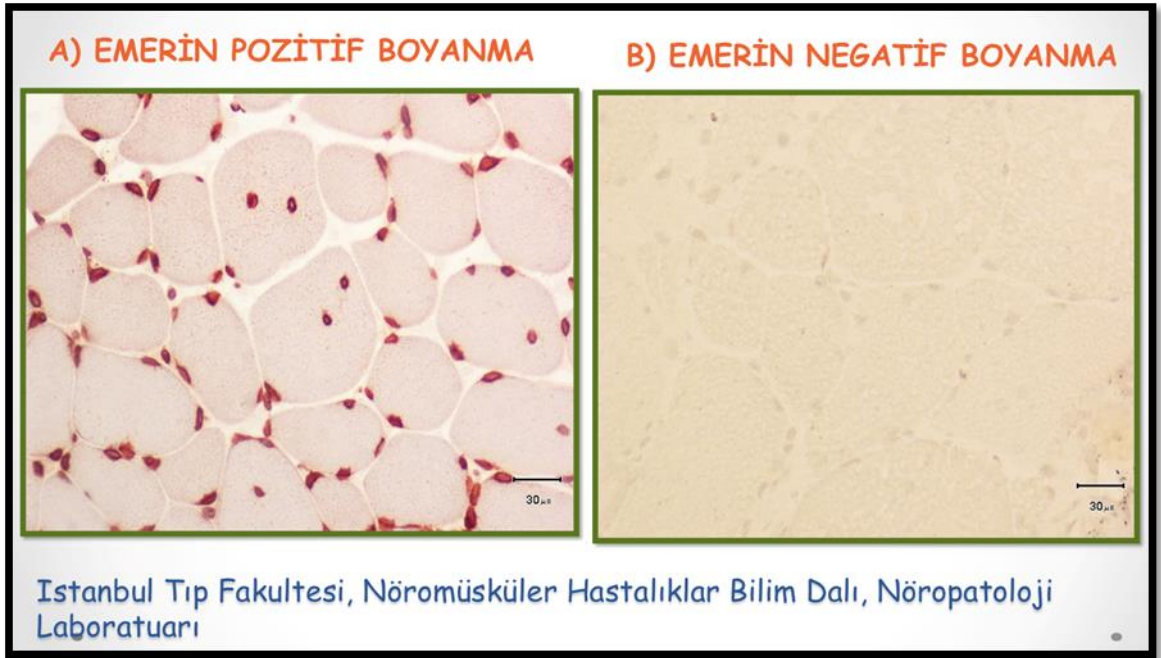
Tablo 4:EDMD-1 tanısı alan 19 erkek hastanın laboratuvar özellikleri

Olgu No:	CK*	EMG	Kas biyopsi	EMD gen analizi	EKG ve ritim holter	Pace-maker takılma yaşı
1-I/1	3,5	Miyojen	Miyopatik, emerin negatif	c.123C>G	4-5 saniye pauza ve tam AV blok	33
2-II/1	5	Miyojen	Distrofik, emerin negatif	c.416_417delTT **	Yapılamadı	
3-III/1	5,5	Miyojen	Distrofik, emerin negatif	c.248_252delTACTC**	5.4 sn pauza	24
4-III/2	6	-	Distrofik, emerin negatif		3,5-5 sn arası pauza	22
5-IV/3	3,5	Miyojen	Distrofik, emerin negatif	c.19.delC**	40-45/dk bradikardi	
6-IV/1	3,5	-	-		SVT atağı	
7-IV/2	2,5	-	-		SVT atağı	
8-IV/5	1,5	-	-		Normal	
9-IV/4	20	Miyojen	Distrofik, emerin negatif		40-45/dk bradikardi	
10-V/1	7	Miyojen	Miyopatik, emerin negatif	c.130C>G**	12 vuruluk SVT atağı, 40/dk bradikardi ve 10 saniyelik SV-RUN	
11-VI/3	4	Miyojen	-	Tüm gen delesyon	3 sn aşan pauza, atrial paralizi, tam AV blok	27
12-VI/2	1,5	Miyojen	-		Atrial paralizi, multifokal atrial aritmi ve atrial taşikardi	22
13-VI/1	Normal	Miyojen	Miyopatik, emerin negatif		Paroksizmal atrial fibrilasyon-24 yaş pnömoniken ani uykuda ölüm	
14-VII/1	1,5	Miyojen	Miyopatik, emerin negatif	Tüm gen delesyonu	1.5-3.1 sn süren pauza, taşikardi	20
15-VII/2	Normal	Miyojen			Multifokal atrial aritmi	
16-VIII/1	Normal	Miyojen	Miyopatik, emerin negatif	-	Atrial paralizi	48
17-VIII/2	Normal	Miyojen ve nörojen	Miyopatik, emerin negatif	-	Atrial paralizi	49
18-VIII/3	Normal	Miyojen	-	c.421.G->A	Atrial paralizi, idioventriküler ritim-30/dk	21
19-VIII/4	Normal	-	-	-	Atrial paralizi, 35-40/dk bradikardi	22

* Normal CK (<220 U/l) düzeyinin üzerindeki değer, ** Novel mutasyon, SVT=supraventriküler taşik, - yapılamadı



Şekil 6: Emerinopati tanısı alan hastaların aile ağacı

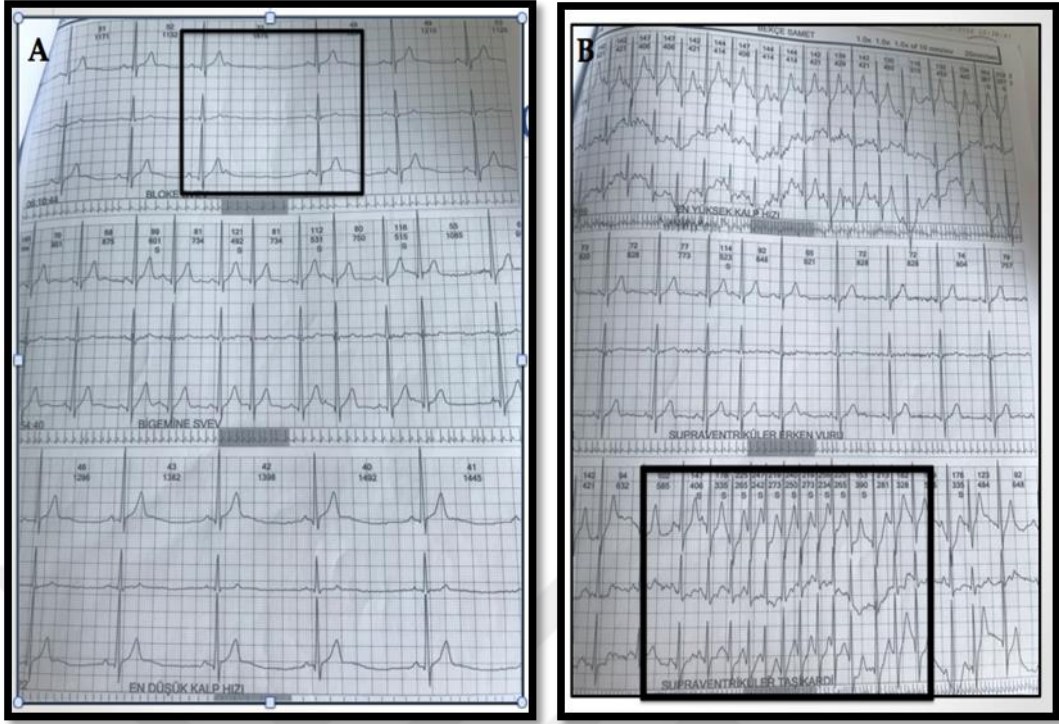


Şekil 7: Hasta no 10-V/1. On beş yaşında iken biceps kasından alınan biyopsi örneği. A) Normal kasta emerın İHC reaksiyonu ile nükleuslarda pozitif (normal) boyanma, B) EDMD-1 tanıılı hastanın kas örneğinde emerın İHC reaksiyonu ile nükleuslarda negatif (patolojik) boyanma

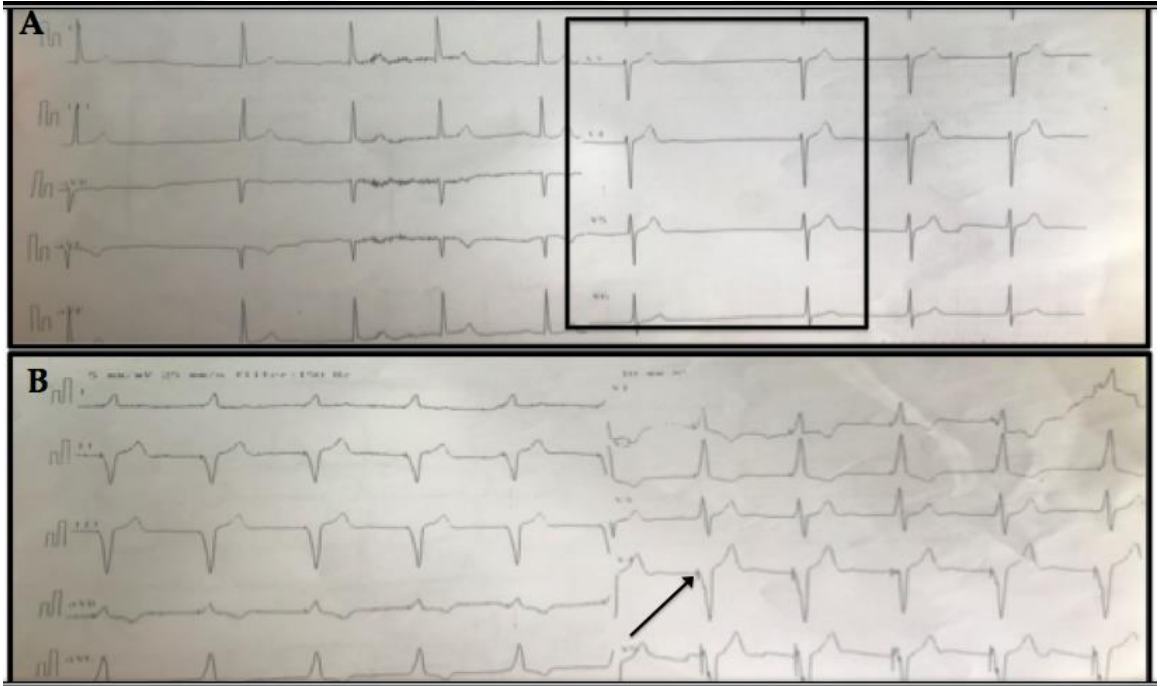
4.1.3. Kardiyak Bulgular

Dört hastada *pace maker* takılmadan önce çarpıntı şikayeti ve senkop atakları mevcuttu. İki kardeş hastanın (hasta 17-VIII/1 ve 18-VIII/2) geçirilmiş iskemik inme (31 ve 40 yaş) öyküsü vardı, 52 ve 53 yaşlarında göğüs ağrısı yakınması nedeniyle tetkik edilirken atrial *arrest* saptanarak kalıcı *pace maker* takılmıştı, diğer hastaların kardiyak şikayeti yoktu.

Klinik takipte toplam on hastaya (ortalama yaş $28,8 \pm 11,0$ yıl, 20-53 yaş arası) kalıcı *pace maker* takıldı, bunlardan iki kardeşten biri *pace maker* takıldıktan 6 ay, diğeri 2 yıl sonra iskemik inme nedeniyle vefat etti. Hastaların 24 saatlik ritim holter incelemesinde altı hastada *atrial paralizi/standstill*, dört hastada supraventriküler taşikardi (şekil 8) ve multifokal atrial aritmi, iki hastada paroksizmal atrial fibrilasyon atağı saptandı. Beş hastada 3 saniyeyi aşan (maksimun 5,4 saniye) ‘*pause*’ atağı ve eşlik eden tam AV blok (2/5) saptandı (şekil 9). Son muayenesinde 14 ve 17 yaşlarında olan iki hastanın EKG’de bradikardi (45-50/dk) gözlemlendi.



Şekil 8: Hasta 10-V/1. Ondokuz yaşında yapılan 24 saatlik ritim holter örneğinde atrioventriküler blok (A) ve supraventriküler taşikardi (B) atağı saptandı. Hasta amiodoron tedavisi altında izlenmektedir.



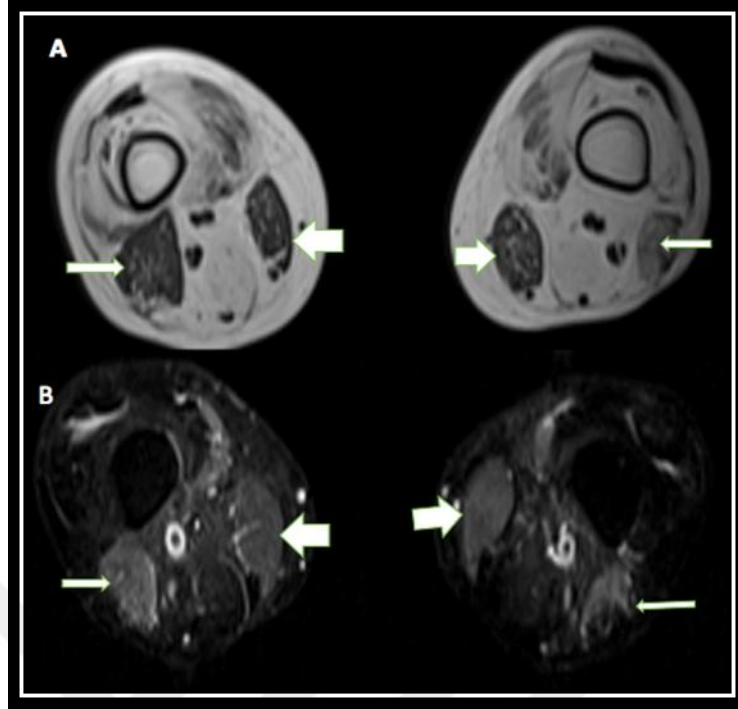
Şekil 9: Hasta 11-VI/3. Yirmiiki yaşında yapılan EKG incelemesinde tam AV blok saptanan hastaya 23 yaşında kalıcı pace maker takıldı. A) Kalıcı *pace maker* takılmadan önce, tam AV blok ve B) *Pace maker* ritmi

4.1.4. Ekstremité Kas MR Görüntüleme Bulguları

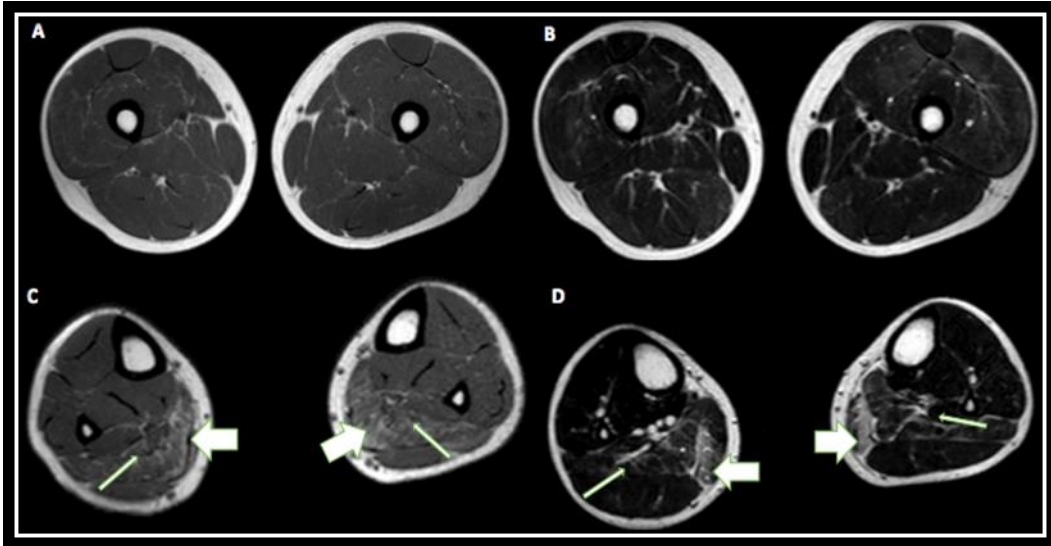
EDMD-1 tanısı alan en büyük ailenin etkilenmiş 5 üyesi dahil toplam 6 hastaya uyluk ve/veya krus MR incelemesi yapıldı (*tablo 5*). İki hastada uyluk düzeyinde biseps femoris kasının kısa başı ve sartorius kası dışında görüntüleme alanına giren tüm uyluk kaslarında yağlı atrofi (*şekil 10*), bir hastada asimetrik özellikte solda biraz daha belirgin semimembranoz ve adduktor kaslarda hafif atrofi görüldü. İki hastanın uyluk düzeyinde görüntüleme alanına giren kasları normaldi, bunlardan birinin krus düzeyinde soleus ve gastroknemius medial başında simetrik yağlı atrofi görüldü (*şekil 11*). Bir hastanın krus düzeyinde görüntüleme alanına giren kasların intensiteleri normaldi.

Tablo 5: EDMD-1 tanısı alan 7 hastanın uyluk ve krus kas MR görüntüleme bulguları

Olgu No:	Yaş	Uyluk	Krus
5-IV/3	15	Normal	Yapılamadı
6-IV/1	32	Biseps femoris kasının kısa başı ve sartorius kası dışında tüm kaslarda yağlı atrofi	Yapılamadı
7-IV/2	29	Biseps femoris kasının kısa başı ve sartorius kası dışında tüm kaslarda selim yağlı atrofi	Yapılamadı
8-IV/5	13	Yapılamadı	Normal
9-IV/4	16	Normal	Soleus ve gastroknemius kası medial başında simetrik yağlı atrofi
10-V/1	23	Sol daha belirgin olmakla asimetrik semimebranoz ve sol adduktor kaslarda hafif atrofi	Yapılamadı



Şekil 10: Hasta 6-IV/1. Otuz iki yaşında erkek hasta. Altı yaşında başlayan parmak ucunda yürüme ve sık düşme yakınmaları ile başvurdu. Son nörolojik muayenesinde üst ekstremitelerde proksimal, alt ekstremitelerde hem proksimal, hem distal zaafı vardı ve son 3 yıldır tekerlekli sandalyeye bağlıydı. Uyluk kas MRG inclemede A) T1 ve B) T2 ağırlıklı kesitlerde görüntüleme alanına giren biceps femoris kasının kısa başı (ince ok) ve sartorius (kalın ok) kasları dışında tüm kaslarda ileri düzeyde yağlı atrofi görüldü.



Şekil 11: Hasta 9-IV/4. 16 yaşında erkek hasta, parmak ucunda yürüme ve kollarını dirsekten tam açamama yakınmaları ile başvurdu. Üst ekstremitelerde hafif proksimal, alt ekstremitelerde diz altı kaslarda simetrik ılımlı zaaf vardı. Uyluk MRG görüntülemesi (A ve B) normaldi. Krus düzeyinde T1 (C) ve T2 (D) ağırlıklı kesitlerde görüntüleme alanına giren kaslardan gastrocnemiusun medial başı (kalın ok) ve soleus (ince ok) kaslarında yağlı atrofi bulguları mevcuttu.

4.1.5. Moleküler Bulgular

Aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan sekiz aileden 8 indeks hastaya hastalık katılım paternine (şekil 6) ve kas biyopsisinde emerinin İHC reaksiyonu ile negatif (patolojik) boyanma özelliğine göre *EDM/STA* genine bakıldı. Tüm indeks hastalarda *EMD* geninde patojenik mutasyon (c.123C>G; c.416_417delTT; c.248_252delTACTC; c.19delC; .130C>T, c.421G>A; tüm gen hemizigot delesyon) saptandı. Bunlardan dördü (c.19delC; 416_417delTT; c.248_252delTACTC; c.19delC) daha önce tanımlanmamış ‘*novel*’ mutasyondur (tablo 6). Bu mutasyonlardan üçü küçük delesyon, ikisi büyük delesyon (tüm gen delesyonu), biri yanlış anlamlı, biri anlamsız, biri ise ‘*splicing*’ mutasyon idi. Mutasyonların dördü ekzonda biri ise intronik bölgedeydi, ikisinde ise tüm gen delesyona uğramıştı.

Tablo 6: Sekiz indeks hastanın *EMD* geninde saptanan mutasyon tipleri ve özellikleri

Aile/ Hasta	Ekz/İntr	cDNA	Mutasyon	Protein	Kaynak
I/1	Ex.2	c.123C>G	Anlamsız mutasyon	P.Tyr41Ter→ Protein üretimi yok	Bione ve ark.1995 (273)
II/1	Ex.5	c.416_417delTT *	Delesyon	p.Leu140ValfsTer4→ Protein üretimi yok	Novel
III/1	Ex.3	c.248_252delTACTC*	Delesyon	p.Leu84ProfsTer7→ Protein üretimi yok	Novel
IV/3	Ex.1	c.19.delC*	Delesyon	Protein üretimi yok	Novel
V/1	Ex.2	c.130C>G*	Yanlış anlamlı mutasyon	p.Gln44Glu→ Hasarlı protein	Novel
VI/3	Tüm gen hemizigot delesyon		Delesyon	Protein üretimi yok	Small ve ark. 1997, (274)
VII/1	Tüm gen hemizigot delesyon		Delesyon	Protein üretimi yok	Small ve ark. 1997 (274)
VIII/1	Intr.2	c.421G->A	Splicing	Hasarlı protein	Deymeer ve ark. 1993, (181)

**novel* mutasyon, , Ex=ekzon, Intr=İntron

4.1.6. Kadın Taşıyıcıların Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Sekiz aileden 11 taşıyıcı kadın hastanın nörolojik muayenesi normaldi ve serum CK düzeyi normal sınırlar içerisindeydi. On bir taşıyıcı kadına 24 saatlik ritim holter ve TT EKO incelemesi yapıldı, üç indeks aileden mutlak taşıyıcı üç kadında ortalama 49,0±5,3 (44 ve 55 yaş arası) yaşta atrial fibrilasyon saptandı, bunlardan ikisinin geçirilmiş iskemik inme öyküsü vardı ve antikoagulan (varfarin) tedavisi altında

izlenmekteydi. Çalışmamız kapsamında kardiyak incelemeler sırasında atrial fibrilasyon tanısı alan diğer hastaya da antikoagulan tedavisi başlanarak kardiyoloji birimince takibe alındı. Otuz dokuz yaşında başka mutlak kadın taşıyıcının çarpıntı şikayeti mevcuttu, 24 saatlik ritim holter incelemesinde 40/dk bradikardi atakları izlendi ve kardiyoloji biriminden takibe alındı.

Laminopati: EDMD-2 ve EDMD-3

Akrabalık ilişkisi olmayan üç aileden 4 hastada (3 kadın, 1 erkek) *Lamin A/C* geninde mutasyon saptandı. Akraba olmayan iki aileden olan bireylerde (hasta 22-X/1 ve 23-XI/1) heterozigot mutasyon saptanarak EDMD-2, bir ailede ise homozigot mutasyon saptanarak etkilenmiş iki bireye (hasta 20-IX/1 ve 21-IX/2) EDMD-3 tanısı konuldu. EDMD-2 grubunda hastalığın başlangıç yaşı $4,5 \pm 3,5$ yıl (2 ve 7 yaş), EDMD-3 grubunda ise $12,5 \pm 10,6$ yıl (5 ve 20 yaş) idi. Laminopati tanısı alan hastaların son muayenede ortalama yaşı $38,0 \pm 16,1$ (25 ile 61 yaş arasında) yıl, ortalama takip süreleri $11,0 \pm 9,8$ (5 ay ile 14 yıl arasında) yıl idi (*tablo 10*). Laminopati grubumuzda EDMD-2 tanısı alan ailelerdeki hastalar sporadik vakalardı, EDMD-3 tanısı alan aile ise OR kalıtım sergilemekteydi (*Şekil 12*).

Tablo 7: Laminopati tanısı alan hastaların klinik özellikleri

Olgu No:	Yaş*	İlk şikayet	Kalitım	Kontraktür dağılımı**	Yaş***/cins	Son nörolojik muayene***	Yürüyüş	Ek özellikler
20-IX/1	20	Kolunu dirsekten açamama	tam OR	Dirsek>Omuz>Diz>Boyun, Diğer eklemler normal	61/E	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB, skolyoz, kanat skapula, VL ve VM atrofisi, GX hipertrofisi
21-IX/2	3	Parmak ucunda yürüme ve ayak bileğinde deformasyon	OR	Aşıl>>Diz>Dirsek=Kalça > Boyun>Omuz>el bileği ve parmaklar	38/K	Üst proksimal, alt distal>proksimal	32 yaşta ambualsyon kaybı	ROB, DKÇ, pes planus, abdominal ve solunum kas tutulumu
22-X/1	2	Çömelip kalkamama ve parmak ucunda yürüme	OD	Aşıl>Boyun=Omuz>Diresk>Diz=el bileği	29/K	Üst proksimal>distal,alt distal>proksimal	25 yaşta ambualsyon kaybı	ROB, kifo-skolyoz, abdominal ve solunum kas tutulumu,
23-XI/1	7	Parmak ucunda yürüme ve dirsekte bükülme	OD	Aşıl>Dirsek>Boyun>Diz =el bileği	25/K	Üst proksimal, alt distal	Bağımsız	ROB, ince yapılı

*Hastalık başlangıç yaşı, ** Kontraktür ağırlık derecesine göre dağılımı, ***Son nörolojik muayenedeki yaş, ****Kas zaafı ve atrofi dağılımı, E=erkek, K=kadın, ROB=rijid omurga bulgusu, DKÇ=Doğumsal kalça çıkığı, GX=gastroknemius, VL=vastus lateralis, VM=vastus medialis,

Tablo 8: Laminopati tanısı alan hastaların laboratuvar özellikleri

Olgu No:	CK*	EMG	Kas biyopsi	Lamin A/C gen analizi	Kardiyak testler	Solunum testi
20-IX/1	2	Miyojen	Yapılmadı	c.71C>G**, homozigot	Normal	Normal
21-IX/2	Normal	Miyojen	Kronik miyopati, lamin pozitif	c.71C>G, homozigot	Dilate KMP	Restriktif tipte solunum yetmezliği
22-X/1	6	Miyojen	Kronik miyopati, lamin pozitif	c.1357C>T**, heterozigot	Normal	Restriktif tipte solunum yetmezliği
23-XI/1	1,5	Miyojen	Kronik miyopati, lamin pozitif	c.127G>A, heterozigot	Normal	Normal

* Normal CK düzeyinin (N<220 U/l) üst katı, **novel mutasyon, KMP=kardiyomiyopati

4.2. EDMD-2. KLİNİK VE LABORATUAR BULGULAR

Örnek olgu 2. Hasta 22-X/1. Yirmidokuz yaşında kadın hasta.

İki yaşında yürümeye başlayan hastanın, kendini bildi bileli merdiven çıkma ve çömelip kalkma zorluğu varmış. Dört yaşında başlayan parmak ucunda yürüme ve sık düşme şikayetleri ile kliniğimize 6 yaşında başvurdu. Anne baba akrabalığı ve benzer aile öyküsü yoktu. Altı yaşında yapılan nörolojik muayenesinde boyun fleksiyon ve ekstansiyon kas gücü 4/5, üst ekstremitelerde bilateral deltoid, biceps ve triseps kasları kas gücü 4/5; alt ekstremitelerde iliopsoas, kuadriseps, hamstring ve gluteus maksimus, tibialis anterior kas gücü 4/5 idi; bunun dışında diğer kasların kas gücü tamdı. İki yanlı ayak bileği kontraktürü vardı, boyun dahil diğer eklem hareketleri tamdı. Parmak ucunda yürümesi giderek belirginleşen hastanın 8 yaşında aşıloplasti ameliyatı sonrası yürümesi belirgin düzelmiş. On bir yaşında tekrar ayak bileği kontraktürü belirginleşen hastanın boyun, dirsek ve dizde kontraktürleri ve skolyozu gelişmişti. On üç yaşında restriktif tipte solunum yetmezliği ve uyku apne sendromu saptandı. Beş yıldır non invaziv mekanik destek kullanıyordu. Rutin biyokimya ve hemogram incelemeleri normaldi, sadece serum CK düzeyi normalin üst sınırının 4,5 katı düzeyinde saptandı. EMG incelemesi yaygın miyojen tutulum ile uyumlu bulundu. On altı yaşında yapılan kas biyopsisinde kronik miyopati bulguları mevcuttu, lamin, emerlin ve kollajen 6 İHC reaksiyonu ile nükleusların pozitif (normal) boyanma özelliği sergilediği görüldü. Hastanın yıllık kardiyak incelemeleri normaldi. Yaklaşık 22 yaşında tekerlekli sandalye bağlanmıştı. Moleküler incelemesinde *Lamin A/C* geninde heterozigot mutasyon (c.1357C>T) saptandı ve hasta EDMD-2 tanısı aldı.

4.2.1. Klinik Bulgular (Tablo 7).

EDMD-2 tanısı alan hastanın birinde (hasta 23-XI/1) ilk klinik belirti 7 yaşta fark edilen parmak ucunda yürüme ve kolunu dirsekten açamama, diğerinde (hasta 22-X/1) ise yürümeğe başladıktan hemen sonra (1,5-2 yaş) fark edilen çömelip kalkamama, 4-5 yaşlarda parmak ucunda yürüme yakınması idi. Her iki hastanın da 7-8 yaşlarda ayak bileği kontraktürü nedeniyle aşıloplasti operasyonu öyküsü vardı. Hastaların muayenelerinde ayak bileği dorsofleksiyon, boyun fleksiyon, diz ve dirsek kontrakürü en belirgin muayene bulgusuydu. Kas zaafı dağılımı skapulo-humeral ve peroneal tipteydi, ancak her iki hastada gluteus maksimus, iliopsoas, kalça adduktor kasları da orta düzeyde etkilenmişti.

Hasta 22-X/1’de, belirgin kifoskolyoz ve rijit omurga bulgusu vardı, 22 yaşında restriktif tipte solunum tutulumu gelişti, 23 yaşında tekerlekli sandalye bağlandı. Diğer hasta ambulatuvarı, skolyoz, rijit omurga, solunum ve abdominal kas tutulumu yoktu.

4.2.2. Laboratuvar Bulgular (Tablo 8).

Hastalardan birinde 7 yaşında ve 22 yaşında bakılan CK düzeyi yaklaşık 4-6 kat (989 U/l ve 1337 U/l) yüksek bulundu. Diğer hastanın 22 yaşında bakılan CK düzeyi yaklaşık 1.5 kat (385 U/l) yüksekti. Her iki hastanın EMG incelemesi yaygın miyojen tutulumla uyumluydu. Kas biyopsi incelemesi her iki hastada da kronik miyopati bulguları sergilemekteydi, lamin ve emerinin İHC reaksiyonu ile nükleusların pozitif (normal) boyanma özelliği gösterdiği görüldü.

4.2.3. Kardiyak Bulgular

Her iki hastanın yıllık EKO ve 24 saatlik ritim holter incelemeleri normal sınırlardaydı.

4.2.4. Moleküler Bulgular (Tablo 9).

LMNA geninde bir hastada (hasta 22-X/1) heterozigot c.1357C>T, diğer hastada (23-XI/1) ise heterozigot c.127G>A mutasyonu saptandı. Mutasyonlar daha önce tanımlanmış yanlış anlamlı mutasyonlar olup, sırasıyla 7. ve 1.ekzonlarda yer almaktaydı.

Tablo 9: İki indeks hastanın *Lamin A/C* geninde saptanan mutasyon tipleri

Aile/ Hasta	Ekz	cDNA	Mutasyon	Protein düzeyinde bozukluk	Kaynak
X/1	Ekz.7	c.1357C>T	Yanlış anlamlı mutasyon	p.R453W→ hasarlı protein	<i>Dai ve ark. (275)</i>
IXI/1	Ekz.1	c.127G>A	Yanlış anlamlı mutasyon	p.Ala43Thr→ hasarlı protein üretimi	<i>Brown ve ark. 2001(276)</i>

Ekz=ekzon

4.3. EDMD-3 KLINİK VE LABORATUAR BULGULAR (TABLO 10).

4.3.1. Klinik Bulgular (Tablo 7)

EDMD-3 tanısı alan bir ailenin iki etkilenmiş bireyi (hasta 20-IX/1 ve 20-IX/2) fenotipik özelliklerine göre farklılık göstermekteydi. Son muayenesinde otuz sekiz yaşında olan hastanın ilk yakınması 5 yaşında başlayan parmak ucunda yürümeydi. Son muayenesinde 61 yaşında olan aynı ailenin etkilenmiş diğer bireyinin ilk şikayeti ise 20 yaşında farkettiği dirsek kontraktürü, 50 yaşta başlayan sık düşme yakınmasıydı. İki hastanın da ailesinde akraba evliliği vardı, ailede genç yaşta ani ölüm öyküsü bulunmaktaydı. İndeks hastada skapuloperoneal tipte atrofi ve ağır zaaf, diğer hastada skapulo-humero-peroneal kas atrofisi ve hafif zaafı ile birlikte pektoral, vastus lateralis ve medialis kaslarında belirgin atrofi ve gastroknemius kası hipertrofisi vardı (*şekil 14*). İndeks hastada ayak bileği, diz, dirsek, boyun ve el bileği kontraktürü, pes planus diğer hastada ılımlı dirsek, omuz, boyun ve diz kontraktürü ve kanat skapula vardı. Her iki hastada paraspinal kas tutulumu, skolyoz ve rijid omurga bulgusu vardı. İndeks hastada 32 yaşında restriktif tipte solunum yetmezliği bulguları saptandı, 37 yaşında iki kez gevşek bayılma yakınması üzerine yapılan TT EKO incelemesinde dilayet kardiyomiyopati bulguları saptandı. Dördüncü dekatta solunum ve kardiyak tutulum saptandı, ambulasyon kaybı gelişti, diğer hasta 7. dekadında olmasına rağmen solunum ve kardiyak testleri normaldi, yürüyüşü bağımsızdı. İndek hastanın molküler incelemesinde LMNA geninde homozigot mutasyon (c.71C>G) saptandı. Bu mutasyon daha önce literatürde bildirilmemiş ‘*novel*’ mutasyon idi.



Şekil 13: EDMD-3 tanısı alan ailenin etkilenmiş bireyi (hasta 21-IX/2), son muayenesinde 38 yaşında olan kadın hasta, A) Boyun fleksiyon kontraktürü, B) El parmaklarında hafif kontraktür, C) Diz eklem kontraktürü ve pes planusu vardı.



Şekil 14: EDMD-3 tanısı alan ailenin etkilenmiş diğer bireyi (hasta 20-IX/1), son muayenesinde A) Pektoral ve humeral kaslarda belirgin atrofi ile birlikte dirsek eklem kontraktürü B) Periskalpuler kaslarda atrofi ve kanat skapula, C) Vastus lateralis ve medialis kaslarında atrofi mevcuttu.

4.3.2. Laboratuvar Bulgular (Tablo 8).

Hastaların birinde (21-IX/2) CK düzey normal, diğerinde (20-IX/1) iki kat yüksekti, EMG incelemeleri yaygın miyojen tutulum ile uyumluydu. İndeks hastanın kas biyopsi incelemesinde tip 1 liflerin azlığı ve küçüklüğü dikkat çekmekteydi, kronik miyopati bulguları sergilemekteydi, lamin ve emerinin İHC reaksiyonu ile nükleuslar normal boyanma özelliği sergilemekteydi. Diğer hastaya kas biyopsisi yapılmadı.

4.3.3. Kardiyak Bulgular

İndeks hastada 30 yaşında 2.derece (Mobitz tip-1) AV blok ve supraventriküler taşikardi atağı, 37 yaşında dilate kardiyomiyopati bulguları gelişti, diltizem ve ramipril tedavisi altında kardiyoloji birimince takip edilmektedir. Diğer hastanın kardiyak incelemesi normaldi.

4.3.4. Moleküler Bulgular

İndeks hastada (hasta 21-IX/2) *Lamin A/C* geninde homozigot yanlış anlamlı mutasyon (c.71C>G) saptandı ve etkilenmiş bireyler EDMD-3 tanısı aldı. Hasarlı protein üretimine neden olan bu mutasyon 1.ekzonda yer almaktaydı ve daha önce tanımlanmamış “*novel*” mutasyondur.

Tablo 10: Emerinopati ve laminopati tanısı alan hastaların fenotipik özellikleri

	Emerinopati ve laminopati: n=23	Emerinopati: n=19	Laminopati: n=4
Yaş*(yıl±SD)	5,5±2,4	4,4±2,5	8,5±7,9
Başlangıç bulgu: Kontraktür****	23 (%100)	19 (%100)	4 (%100)
Yaş (yıl±SD)**	33,0±13,3	32,0±12,9	38,0±16,1
Takip süresi (yıl±SD)	24,1± 13,9	18,9±10,1	11,0±9.8
Nörolojik muayene:			
Kontraktür	23 (%100)	19 (%100)	4 (%100)
Kas zaafı	22 (%95)	18 (%95)	4 (%100)
ROB	21 (%91)	17 (%89)	4 (%100)
Skolyoz	12 (%52)	10 (%58)	2 (%50)
Kanat skapula	7 (%30)	6 (%35)	1 (%25)
Pektus karinatum	4 (%17)	3 (%15)	
Pes kavus/planus/ equinus	4 (%16)	3 (%30)	1 (%25)
Kardiyak yakınma*****	7 (%30)	6 (%31)	1 (%25)
Kardiyak tutulum	18 (%78)	17 (%89)	1 (%25)
PM takılan hasta sayısı	10 (%43)	10 (%52)	
Yaş (yıl±SD)***		28,8±11,0	

*İlk şikayetin başladığı yaş, ** Nörolojik muayene sırasındaki yaş, ***Pace maker takılma yaşı,
 ****Aşıl ve dirsek eklemlerinde kontraktürü, *****Senkop ve iskemik inme, PM=Pace maker, ROB=rijid
 omurga bulgusu, SD=standart deviasyon

4.4. KOLLAJEN 6 İLİŞKİLİ MIYOPATİLER: KLİNİK VE LABORATUAR ÖZELLİKLERİ (TABLO 13).

Örnek olgu 4 (Hasta 29-XVII/1) Ondört yaşında erkek hasta,

Hastanın yeni doğan döneminde emme güclüğü ve gevşek bebek olduğu öğrenildi. Hastanın tüm motor gelişim basamakları geriymiş, hiçbir zaman yürüyememiş, 3-4 yaşında oturabilmiş. Oturmaya başladıktan sonra kollarını omuzdan ve dirsekten, yatarken de kalça ve dizden tam açamadığı farkedilmiş ve hasta 6 yaşında bu şikayetler ile kliniğimize başvurdu. Anne babası 1.derece akrabaydı, ailede benzer öykü yoktu. Nörolojik muayenede boyun zaafı, proksimal baskın ağır kas zaafı vardı. Boyun fleksiyon, omuz dirsek, kalça ve diz kontraktürleri, distal eklemlerde ise hiperlaksite mevcuttu, ağır kifoskolyozu vardı (şekil 15). Doğumdan 14 yaşına kadar farklı zamanlarda bakılan CK düzeyleri hep normaldi. EMG incelemesi yaygın miyojen tutulumla uyumluydu, kas biyopsisi distrofik özellik sergilemekteydi, kollajen 6 İHC reaksiyonu ile zayıf pozitif (patolojik) boyanma özelliği sergilemekteydi. Hastada, on iki yaşında restriktif tipte solunum yetmezliği saptandı ve non invazif mekanik destek kullanmaya başladı. Yıllık kardiyak incelemeleri normaldi. Tekerlekli sandalyeye bağımlıydı. Moleküler incelemesinde COL6A3 geninde homozigot mutasyonu (c.6063+5G>A) saptandı ve UKMD tanısı aldı. Mutasyon daha önce tanımlanmamış ‘novel’ mutasyondur.



Şekil 15: Hasta 29-XVII/1. Son muayenesinde ondört yaşında olan ve UKMD tanısı alan erkek hasta, A) Kifoskolyoz, B) Boyun kontraktürü ve laterokollis, C) Distal eklem hiperlaksitesi, D) Proksimal eklemlerde kontraktür, E) Ayak bileği ve parmak hiperlaksitesi mevcuttu.

4.4.1. Klinik Bulgular (Tablo 11).

Çalışmamızda COL 6 gen mutasyonu saptadığımız 7 indeks hasta Ullrich KMD (1/7), Bethlem miyopatisi (5/7) ve COL6 ilişkili OD-LGMD (1/7) fenotipindeydi. Hastalardan dördü sporadik vakalardı, üçü OR kalıtım paterni sergilemekteydi (şekil 17)

Bir hasta Ullrich KMD tanısı aldı. *Örnek olgu 4 (Hasta 29-XVII/1)*

Bethlem miyopatisi fenotipinde olan 5 hastada hastalığın başlangıç yaşı $5,4 \pm 4,2$ (3 ile 13 yaş arası) yılı, son muayenede ortalama yaşları $25,0 \pm 8,9$ (17 ile 38 yaş arasında) yıl, ortalama takip süreleri $11,5 \pm 6,9$ (16 ay ile 14 yıl arası) yılı. Tüm hastalarda ilk bulgu sık düşme, merdiven çıkamama ve koşamama yakınması idi. Bir hastada (hasta 29-XVII/1) 4 aylıkken DKÇ saptanarak ortopedik tedavi uygulanmıştı. Tüm hastaların motor gelişim basamakları normaldi. Dört hastada ilk kontraktür ortalama $8,3 \pm 3,7$ (4 ile 11 yaş arası) yaşta farkedilen dirsek eklem kontraktürüydü, bir hastada ise kontraktür gelişmemişti. Kontraktür dağılımı hem proksimal, hem distal eklemlerdeydi, en belirgin dirsek, diz, el bileği ve parmak eklemleri etkilenmişti. Tüm hastalarda kas zaafı dağılımı üst ekstremitelerde deltoid, biceps, triseps, alt ekstremitelerde gluteus maksimus, iliopsoas, kalça addukterleriydi.

Rijid omurga bulgusu (3/5), skolyoz (2/5), gastroknemius hipertrofisi (2/5) ve keloid skar (1/5), gluteus maksimus atrofisi (1/5) diğer muayene bulgularıydı (şekil 13). Dört hasta desteksiz, bir hasta destekle yürüyordu.



Şekil 16: Bethlem fenotipinde olan iki hasta (Hasta 24-XII/1 (A-B) ve 25-XIII/1 (C)): A) Keloid skar ve skolyoz, B) El bileği ve parmak kontraktürleri olan 38 yaşında kadın hasta, C) Eklem hareketleri tam olan 17 yaşında kadın hasta

COL6 ilişkili OD-LGMD fenotipinde olan hasta 40 yaşında erkek hastaydı, ilk şikayeti 17 yaşında farkettiği merdiven çıkamama ve yaşlıları gibi koşamama yakınmasıydı. Eklem hareket kısıtlılığı şikayeti yoktu. Ailede akrabalık ve benzer öykü yoktu. Muayende üst ve alt ekstremitte kuşak kaslarında hafif zaafı vardı. Omuz, diz ve ayak bileğinde minimal kontraktür saptandı. Skolyoz ve rijid omurga bulgusu yoktu. Solunum ve kardiyak tutulumu yoktu, ambulatuvarı.

4.4.2. Laboratuvar Bulgular (Tablo 12).

İki hastanın CK düzeyi normaldi, diğer 5 hastaninki 1,5-2 kat (390-555 U/l arasında) yüksekti. Tüm hastaların EMG incelemesi yaygın miyojen tutulumla uyumluydu, kas biyopsisi kronik miyopati (4/7) ve distrofi (3/7) bulguları sergilemekteydi. Sadece Ullrich KMD fenotipinde olan hastanın kas örneği kollajen 6 İHC reaksiyonu ile hasta kasın normal kontrol kası ile karşılaştırıldığında soluk (patolojik) boyanma özelliği gösterdi. Tüm hastaların yıllık 24 saatlik ritim holter ve TT EKO incelemeleri normaldi.

Tablo 11: COL VI ilişkili miyopati tanısı alan 7 hastanın klinik özellikleri

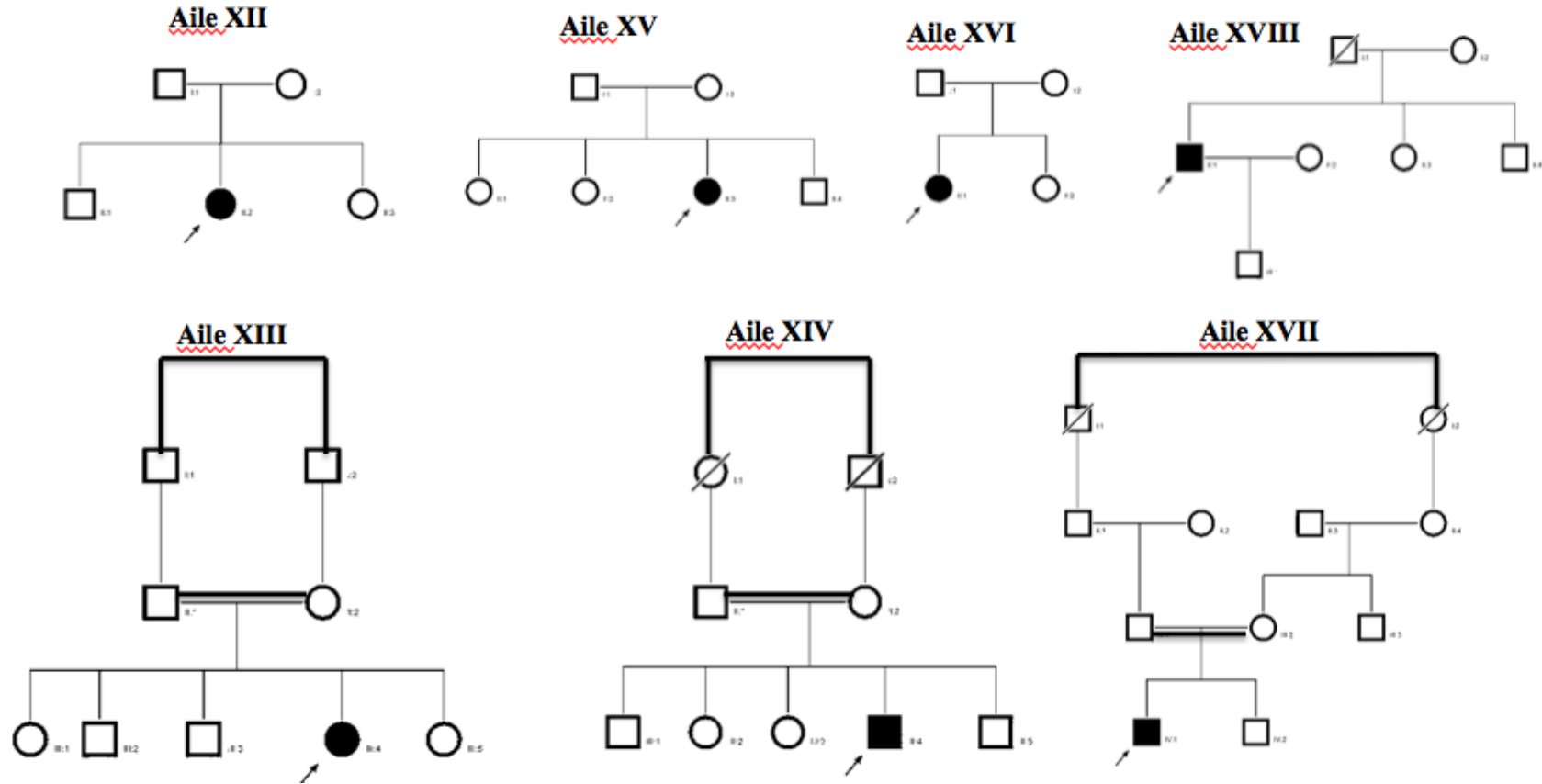
Olgu No:	Yaş*	Başlangıç yaşı ve ilk şikayet	Kalıtım ve fenotip	Kontraktür dağılımı**	Yaş*** ve cins	Son nörolojik muayene****	Yürüyüş	Ek özellikler
24-XII	4	Yürüme, koşma ve merdiven çıkma güçlüğü	OD/BM	Yaygın, proksimal=distal	38/K	Proksimal>Distal	Destekle	ROB, skolyoz, GM, QF atrofisi, keloid skar
25-XIII	3	Koşamama ve merdiven çıkamama	OR/BM	Kontraktür yok	17/K	Proksimal>Distal	Bağımsız	Gastroknemius hipertrofisi
26-XIV	13	Eken yorulma ve koşamama	OR/BM	Dirsek>El bileği>Boyun. Alt ekstremitede kontraktür yok	27/E	Proksimal>Distal	Bağımsız	ROB, gastroknemius hipertrofisi
27-XV	4	Sık düşme ve merdiven çıkamama	OD/BM	Hafif dirsek ve el bileği, diğer eklemler tam	25/K	Proksimal>Distal	Bağımsız	Gastroknemius hipertrofisi
28-XVI	3	Sk düşme, koşamama, dirsekten kolunu açamama	OD/BM	Dirsek, el bileği ve el parmaklarda hafif, alt ekstremit eklemleri tam	19/K	Proksimal>Distal	Bağımsız	ROB
29-XVII	4	Gevşek bebek, emme güçlüğü, 4 yaşta diz ve dirsek kontraktürü	OR/UKMD	Proksimal ağır distal hiperlaksite	14/E	Proksimal=Distal	Tekerlekli sandalyeye bağımlı	ROB, kifoskolyoz, solunum tutulumu
30-XVII I	17	koşma ve merdiven çıkma güçlüğü, erken yorulma	OD/COL6-LGMD	Hafif omuz, diz ve ayak bileği, diğerleri tam	40/E	Proksimal	Bağımsız	Pes cavus

*Hastalık başlangıç yaşı, **Kontraktür ağırlık derecesine göre dağılımı, *** Son nörolojik muayenedeki yaşı, **** Kas zafı ve atrofi dağılımı, E=erkek, K=kadın, BM=Bethlem miyopatisi, UKMD=Ullrich konjenital müsküler distrofisi, ROB=rijid omurga bulgusu, GM=gluteus maximus, QF=kuadriseptis femoris kası

Tablo 12: Kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı alan 7 hastanın laboratuvar özellikleri

Olgu No:	CK*	EMG	Kas biyopsi	COL6A1/A2/A3 gen incelemesi	Kardiyak testler	Solunum testi
24-XII	Normal	Miyojen	Distrofi bulguları, kol 6 İHC pozitif	c.877G>A	Normal	Normal
25-XIII	2,5	Miyojen	Distrofi ile uyumlu, kol 6 pozitif	c.8377_8379del GTC**	Normal	Normal
26-XIV	2,5	Miyojen	Kronik miyopati, kol 6 pozitif	c.8377_8379del GTC**	Normal	Normal
27-XV	2,5	Miyojen	Kronik miyopati, kol 6 pozitif	c.901-1G>C	Normal	Normal
28-XVI	1,5	Miyojen	Kronik miyopati, kol 6 pozitif	c.838G>T**	Normal	Normal
29-XVII	Normal	Miyojen	Distrofi ile uyumlu, kol 6 soluk	c.6063+5G>A**	Normal	Restriktif tipte solunum yetmezliği
30-XVIII	1,5	Miyojen	Kronik miyopati, kol 6 pozitif	c.428+1G>T	Normal	Normal

* Normal CK düzeyinin (<220 U/l) üst katı, ** novel mutasyon, Kol 6=kollajen 6



Şekil 17: Kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı alan 7 hastanın aile ağacı

Tablo 13: Kollajen ilişkili miyopati tanısı alan hastaların fenotipik özellikleri

Yaş(yıl±SD)* Yaş(yıl±SD)**	Col6 ilişkili miyopati tanısı alanlar <i>n</i> =7		
	4,0±2,1		
	25,2±10,5		
	UKMD <i>n</i> =1	BM <i>n</i> =5	Col6/OD- LGMD <i>n</i> =1
Yaş(yıl±SD)*	4	5,4±4,2	18
Yaş (yıl±SD)**	Gevşek bebek	24,6±8,9	40
Yaş (yıl±SD)***	4	8,3±3,7	35
Nörolojik muayene:			
Kontraktür	1	4	1
Kas zaafı	1	5	1
ROB	1	3	
Skolyoz/kifoskolyoz		1	
Pes kavus			1
GX hipertrofisi		2	
Hiperlaksite	1		
Cilt bulgusu/keloid skar		1	
Solunum tutulumu	1		

*Hastalık başlangıç yaşı, ** Son nörolojik muayenedeki yaşı, ***Kontraktür gelişme yaşı, UKMD=Ullrich Konjenital müsküler distrofisi, BM=Bethlem miyopatisi, Col6/OD-LGMD= kollajen 6 ilişkili OD kalıtılan Limb-Girdle Müsküler distrofi/Kavşak tipi müsküler distrofi benzeri fenotip, SD=standart deviasyon

4.4.3. Ektremite Uyluk MR Görüntüleme Bulguları (Tablo 14)

Bethlem miyopatisi fenotipinde olan üç hastaya uyluk ve/veya krus MR yapıldı. Bir hastada rektus intermedius ve vastus lateralis belirgin, rektus femorisin de etkilendiği tüm kaslarda yağlı atrofi görüldü, çekim alanın giren krus proksimal kasları normal bulundu. Bir hastada biceps femoris kısa başı, sartorius ve gracilis kasları hafif korunmuş, diğer tüm uyluk kaslarında yağlı atrofi (şekil 18), bir hastada vastus lateralisin santral bölgesinin kısmen korunarak periferik bölgesinin daha fazla etkilendiği kollajen 6 ilişkili miyopatilere özgü ‘sandviç’ bulgusu saptandı (şekil 19).

Tablo 14: COL VI ilişkili miyopati tanısı alan 3 hastanın uyluk ve krus kas MRG görüntüleme bulguları

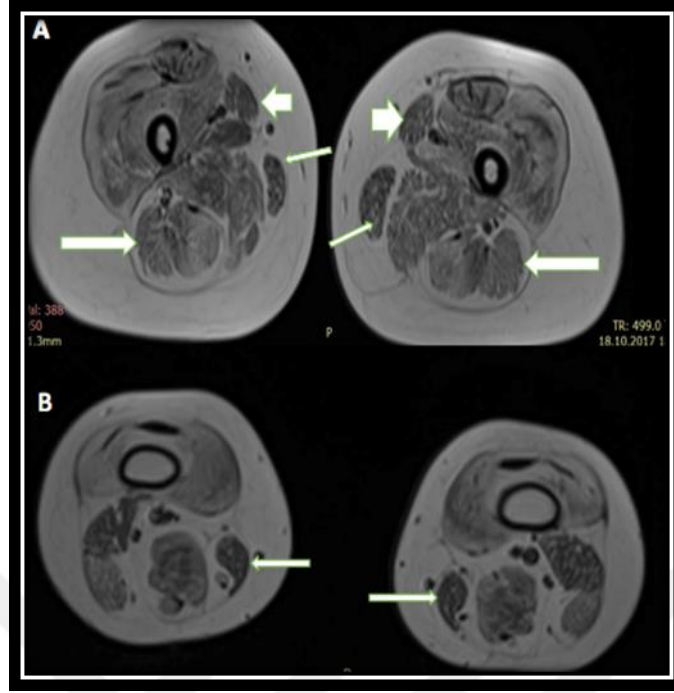
Olgu No:	Yaş	Fenotip	Uyluk	Krus
25-XIII/1	17	BM	Rektus intermedius ve vastus lateralis belirgin, rektus femorisin de etkilendiği tüm kaslarda yağlı atrofi	Çekim alanına giren krus proksimal kasları normal
26-XIV/1	27	BM	‘Sandviç’ bulgusu ve tüm uyluk kaslarında yağlı atrofi	Yapılamadı
28-XVI/1	19	BM	Biceps femoris kısa başı, sartorius ve gracilis kasları hafif korunmuş, diğer tüm uyluk kaslarında yağlı atrofi	Yapılamadı

4.4.4. Moleküler Bulgular (Tablo15)

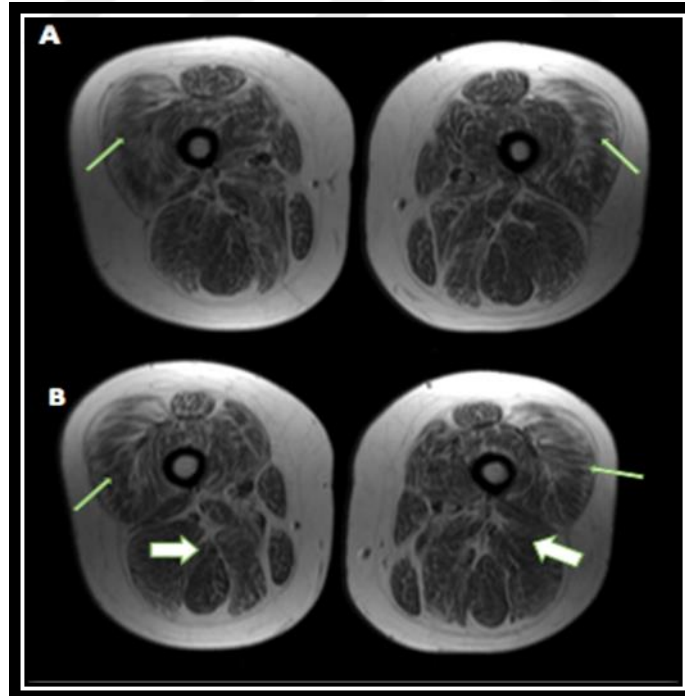
UKMD fenotipinde olan hastada COL6A3 geninde homozigot mutasyonu (c.6063+5G>A) saptandı. BM fenotipinde olan 5 hastanın birinde COL6A1 geninde heterozigot (c.877G>A), ikisinde COL6A2 geninde heterozigot (c.838G>T; c.901-1G>C), ikisinde COL6A3 geninde homozigot (c.8377_8379delGTC) mutasyon saptandı.

COL6/OD-LGMD fenotipinde olan hastada COL6A1 geninde heterozigot mutasyon (c.428+1G>T) saptandı.

Mutasyonlardan dördü (c.6063+5G>A; c.838G>T; c.8377_8379delGTC; c.877G>A) daha önce tanımlanmamış ‘novel’ mutasyonlardı.



Şekil 18: Hasta 28-XVI/1. Son muayenesinde 19 yaşında olan kadın hasta, uyluk kas MRG incelemesinde T1 ağırlıklı kesitlerde görüntüleme alınan giren kaslardan biceps femoris kısa başı (kalın ve uzun ok), sartorius (ince ve uzun ok) ve gracilis (kısa kalın ok) kasları hafif korunmuş, diğer tüm uyluk kaslarında yağlı atrofi mevcuttu.



Şekil 19: Hasta 29-XVI/1. Son muayenesinde 27 yaşında olan erkek hasta, uyluk kas MRG incelemesinde T1 ağırlıklı kesitlerde görüntüleme alanına giren kaslardan vastus lateralis kasının santral kısmının kısmen korunduğu ve periferik kısmının belirgin etkilendiği ‘sandviç’ bulgusu (ince ok), diğer kaslarda yaygın atrofi (kalın ok).

Tablo 15: Yedi indeks hastanın COL6 genlerinde saptanan mutasyon tipleri ve özellikleri

Aile/ hasta	Kalıtım /Fenoti p	Ekz/ int	Gen	cDNA	Mutasyon	Protein	Kaynak
XVII/ 1	OR/ UKMD	İnt.11	COL6A3	c.6063+5G>A *	<i>Splicing</i>	Hasarlı protein	Novel
XIV/1	OR/BM	Ex.38	COL6A3	c.8377_8379d elGTC*	<i>İnframe</i> delesyonu	p.val2793del →Protein üretilmemem esi	Novel
XIII/1	OR/BM	Ex.38	COL6A3	c.8377_8379d elGTC*	<i>İnframe</i> delesyonu	p.val2793del →Protein üretilmemem esi	Novel
XV/1	OD/BM	İnt.3	COL6A2	c.901-1G>C*	<i>Splicing</i>	p.Gly301Cys →hasarlı protein	Novel
XVI/1	OD/BM	Ex.6	COL6A2	c.838G>T*	Yanlış anlamli	p.Gly280Cys →hasarlı protein	Nallamilli ve ark. 2018 (277)
XVIII/ 1	COL6/ OD- LGMD	İnt.3	COL6A1	c.428+1G>T	<i>Splicing</i>	p.Tyr122_Gly 143del→hasa rılı protein	Vanegas ve ar. 2002(278)
XII/1	OD/BM	Ex.10	COL6A1	c.877G>A	Yanlış anlamli	p.Gly293Arg →hasarlı protein	Butterfiel d ve ark. 2002 (279)

*Novel mutasyon, Ex=ekzon, İnt=intron, OR=Otozomal Resesif, OD=Otozomal Dominant, UKMD=Ullrich Konjenital Musküler Distrofisi, BM=Bethlem miyopatisi, COL6/OD-LGMD=Kollajen 6 ilişkili Limb Girdle Musküler Distrofisi

4.5. GENETİK TANISI KESİNLEŞEMEYEN HASTA GRUBU

Çalışmamıza alınan aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 31 aileden olan 31 indeks hastaya uygulanan tek gen ve çoklu gen panel incelemesi ile 13 ailede hastalığa neden olan patojenik gen bulunamadı ve daha ileri yöntemlerle (tüm ekzom ve genom dizileme) altta yatan genlerin taranması devam etmektedir. İleri yöntemlerle genetik incelemesi devam eden on üç indeks hastadan sekizi OR, ikisi OD kalıtım paterni sergilemektedir, diğer üç aileden olan indeks hastalar sporadik vakalardı. On üç indeks hastadan sekizi erkek, beşi kadındı, ortalama yaşları 22,9±11,6 (10 ile 36 yaş arasında) yılı. Ortalama hastalık başlangıç yaşı 6,4±2,8 (1 ile 16 yaş arasında) yıl, takip süreleri

ise ortalama $15,6 \pm 4,9$ (13 ay ile 19 yıl arası) yıldı. OR kalıtım gösteren hastalardan ikisinin gevşek bebek ve motor gelişim geriliği öyküsü vardı, jeneralize kas zaafına eşlik eden, hem proksimal hem distal eklem kontraktürü, kifoskolyozu ve solunum kas tutulumu mevcuttu, tekerlekli sandalye bağlıydı. Kalan OR kalıtım gösteren 6 hastanın başlangıç şikayeti yürüme ve koşma güçlüğü (4/6), parmak ucunda yürüme ve sık düşme (2/6) yakınmasıydı, altı hastada da kontraktür kas zaafından önce gelişmişti. Hastalardan ikisi tekerlekli sandalye bağlıydı.

OD kalıtım paterni sergileyen iki indeks hasta ve üç sporadik hastanın ilk şikayeti parmak ucunda yürüme (3/5) ve kolunu dirsekten açamamayı (2/5). OD kalıtım gösteren iki hastada üst ve alt ekstremitelerde proksimal baskın kas zaafı ve yaygın kontraktür vardı, kardiyak ve solunum kas tutulumu yoktu, hastaların ikisi de 27 ve 31 yaşından tekerlekli sandalye bağlıydı. Diğer üç hastada üst ekstremitelerde proksimal, alt ekstremitelerde hem proksimal, hem distal kas zaafı, ayak bileğ ve dirsek baskın yaygın kontraktür vardı, kardiyak ve solunum kas tutulumu yoktu, desteksiz yürüyebiliyorlardı, kontraktür kas zaafından önce gelişmişti.

ROB bulgusu (11/13), skolyoz (7/13), kanat skapula (4/13), pes kavus (2/13), gastroknemius hipertrofisi (2/13) ise diğer fenotipik özelliklerdi.

Tüm hastaların CK düzeyi normal ile 6 kat yüksek değer arasında değişmekteydi. Kas biyopsi incelemesi 3 hastada distrofik özellikte, 9 hastada kronik miyopati bulguları sergilemekteydi, bir hastaya kas biyopsisi yapılmamıştı. Kas biyopsisi yapılan tüm hastaların örnekleri emerlin, lamin ve kollajen 6 İHC reaksiyonu ile pozitif (normal) boyanma özellikleri sergilemekteydi.

Tanısı kesinleşemeyen hasta grubu ile genetik tanı alan hastaları karşılaştırdıkta, fenotipik olarak tanı alamayan grupta kas zaafının ve kontraktürün daha yaygın ve ağır olduğunu söyleyebiliriz. Laboratuvar bulguları karşılaştırdıkta her iki grupta da CK değerleri normal ve 5-6 kat yüksek değer arasında seyretmekte olup, kas biyopsi inceleme bulguları her iki grupta da distrofik ve miyopatik özellikler sergilemektedir. Ayrıca ağır kontraktür ve kas zaafı olan iki hastanın konjenital müsküler distrofi fenotipine daha yakın olduğunu düşünmekteyiz.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışmamızda, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı'nda takipli olan ve EDMD tanısı alan 23 hastanın, kollajen VI ilişkili miyopati tanısı alan 7 hastanın klinik ve genetik özellikleri ayrıntıları ile ortaya konmuştur ve bu konuda bilgimiz dahilinde ülkemizde yapılmış en ayrıntılı çalışmadır.

Çalışmamıza alınan aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 31 aileden on sekizi (%58) genetik incelemeler sonucunda kontraktürlü miyopati tanısı aldı. Akriba olmayan sekiz aileden 19 hasta EDMD-1 (%25), iki aileden 2 hasta EDMD-2 (%6), bir aileden 2 hasta EDMD-3 (%6), yedi aileden 7 hasta kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı (%22) aldı. Literatürde tüm kontraktürlü miyopatileri kapsayan, geniş çalışmalar bulunmasa da, Gueneau ve arkadaşlarının, 2009 yılında EDMD fenotipli hastaları kapsayan çok merkezli çalışmasında 588 indeks hastanın 156'sında (%26,5) *LMNA*, 50'sinde (%8,5) *EMD* geninde mutasyon saptamıştır (33). Literatürde bulunan diğer çalışmalarda da, *EMD* ve *LMNA* genindeki mutasyonlar kontraktürlü miyopati fenotipinde olan hastaların genellikle %40-50'sinde nedensel genler olarak saptanmıştır, hastaların yaklaşık yarısında ise diğer kontraktürlü miyopati genleri ve henüz *bilinmeyen* genler olduğu düşünülmektedir (1, 6, 20). Çalışmamızda da benzer şekilde, hastaların yarısından fazlası hastalıktan sorumlu gen bulundu, kalan hastalarda daha ileri genetik yöntemler ile (tüm ekzom ve tüm genom dizileme) incelemeler devam etmekte olup, çalışmamızın yeni genlerin bulunmasının önünü açtığı düşünülmektedir.

Kohortumuzda, EDMD-1 tanısı alan hastaların yakınmaları genellikle ilk dekatta başlamıştı ve daha önce yayınlanan seriler ile uyumluydu (1, 6, 9, 115, 178). Daha önce bildirilen olgu ve olgu serilerinde EDMD hastalarının başlangıç yaşının 2 ile 30 yaş arasında değiştiği bildirilmiştir. (1, 6, 9, 23, 115, 195, 200, 206, 207, 210, 280-283). Bu olgular ile kıyaslandığında bizim hasta grubumuzda genel olarak başlangıç yaşının daha erken olduğu dikkati çekti. Popülasyonumuza özgü genetik ve epigenetik faktörlerin bu erken başlangıç yaşına neden olduğu düşünülebilir. Ayrıca, hastalarımızın büyük çoğunluğunun, önceki kuşaklarda çok sayıda etkilenmiş bireyi olan ailelerden geliyor

olmasının hastalık bulgularına aile bireylerinin daha hassas olmasına ve hastalığın bulgularını daha erken fark etmelerine neden olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Daha önce yayınlanan çalışmalara benzer şekilde, EDMD-1 tanısı alan hasta grubumuzda hastalığın en sık başlangıç bulgusu aşıl kontraktürüne bağlı parmak ucunda yürüme yedi (1, 6, 9, 115, 178), sadece bir hastada dirsek kontraktürüydü. Literatürde de dirsek eklem kontraktürü genelde ilk on yıl ve sonrasında geliştiği bilinmektedir, ancak bazı vakalarda hastalığın ilk belirtisi olduğu görülmüştür (181, 182).

Bu gruptaki hastalarımızın neredeyse hepsinde kas zaafı kontraktür gelişiminden sonra klinik tabloya eklenmişti. Sadece ağır seyreden bir hastamızda hastalığın başlangıcından itibaren ağır zaaf ve yaygın kontraktürler dikkati çekti. Çalışmamızda, hastalar uzun yıllardan beri takip edildiği için, zaafın ilerleyişini yakın olarak takip etme şansı doğmuştur. Literatürde bildirilenlerle benzer şekilde, bizim hastalarımızda da en sık görülen kas zaafı dağılımı skapulohumeroperonealdi (1, 6, 8, 9, 284). Skapulohumeroperoneal kas tutulumu eklemlerde ve aksiyal kaslarda kontraktür ile birlikte EDMD alt tipleri ve bazı kas hastalıklarının da belirgin fenotipik özellikleridir, özellikle ROSMD (270, 272, 285) ve kollajen 6 ilişkili miyopatilerde (259, 286) benzer kas dağılımı görülebilmektedir. Kas ve kontraktür dağılımındaki benzerlik nedeniyle EDMD-1 bu hastalıklarla karışabilir, ancak EDMD-1’de sıklıkla kas zaafının daha hafif olması, gastroknemius kas hipertrofinin genellikle olamaması, gluteus maksimus kasının hastalığın ileri evresine kadar kısmen korunmuş olması ayırıcı tanıda yardımcı olabilecek fenotipik özelliklerdir. Görece daha sık görülen Becker müsküler distrofi ve kavşak tipi kas distrofilerinde ise gluteus maksimus kası en erken tutulan kaslardan birdi (287). EDMD, nadiren de olsa kavşak tipi kas distrofisi (LGMD) gibi başlayabilir (275, 284). Gluteus maksimus kasının görece korunmuş olması, EDMD ayırıcı tanısında ipucu olarak kullanılabilir.

Hastalarımızda kontraktürün yanı sıra özellikle ROB ve skolyoz sıklıkla gözlenmekteydi. Literatüre benzer şekilde, hastalarımızda ROB ilk iki dekatta gelişirken, skolyozun daha ileri yaşlarda geliştiği dikkat çekti. (15, 288). Eşlik eden diğer iskelet anomalileri ise kanat skapula, pektus karinatum, pes equinus ve pes kavus idi. Pektus karinatum, gen delesyonu mutasyonu taşıyan ailenin etkilenmiş 3 bireyinin üçünde de görülmesi dikkati çekti. Bu ailenin etkilenen bireylerinden sadece birinde

(hasta 13-VI/1) ileri düzeyde diz ve kalça kontraktürü olmasına bağlı dik vücut postürü alamama ve çömelme pozisyonu '*skuat postürü*' gelişmişti ve bu alışılmadık özellik daha önce literatürde ilk kez bu hastada tanımlanmıştı (181) .

Hastalarımızda aile içi fenotipik değişkenlik dikkat çekiciydi. Tüm gen delesyonu taşıyan ailede bireylerden birinde (hasta 13-VI/1) 2 yaşından itibaren ağır kontraktürler ve erken çocuklukta yürümenin kaybı ve '*skuat pozisyonu*' gözlenirken, aynı aileden etkilenmiş diğer iki birey (hasta 14-VI/2 ve hasta 15-VI/3) 37 ve 42 yaşlarında olmalarına rağmen hala yürüyebiliyorlardı. Aile içi fenotipik değişkenlik daha önce yapılan çalışmamalarda da vurgulanmıştır (200, 284, 289). Bu ailelerde yapılacak ileri genetik incelemeler olası düzenleyici (*modifier*) genlerin varlığını ortaya koyabilir ve yeni tedavi olasılıklarının önünü açabilir.

EDMD-1 grubunda hastalarımızın yaklaşık %90'da takiplerinde kardiyak tutulum saptandı. Çarpıntı ve bayılma şikayeti, senkop ve iskemik inme öyküsü hastaların yaklaşık %30'da bulunmaktaydı ki, bu hastalara klinik EDMD tanısı konulmadan önce kardiyak tutulumu nedeniyle kalıcı *pace maker* takılmıştı. Yirmi yaşın altında olan 3 hastada EKG'de bradikardi saptandı, literatürde de EDMD'nin kalp tutulumuna bağlı en sık görülen yakınmanın senkop, kalp tutulumunun ilk EKG bulgusunun ise bradikardi olduğu bilinmektedir (1, 6, 233, 282). En sık görülen ve nerdeyse EDMD'e patognomik olan (6, 192-197) atrial *paralizi/standstill* bizim hastalarımızın da %30'da saptandı. Diğer kardiyak bulgular, bradikardi, *pause*, supraventriküler taşikardi, tam AV blok ve paroksizmal atrial fibrilasyondur. Literatürde de EDMD-1'in kardiyak tutulumunun en sık atrial kökenli olduğu bilinmektedir (70, 189-191), çok nadiren ventriküler taşikardi görülmüştür (177, 200). On hastaya ortalama 3. dekatta kalıcı *pace maker* takıldı, literatürde de en sık kardiyak tutulumun ve girişimin 3. ve 4.dekatta yapıldığı bilinmektedir (188, 282). İki hasta *pace maker* takıldıktan 6 ay ve 2 yıl sonra, 54 ve 58 yaşlarında iskemik inme nedeniyle vefat ettiler. Kardiyomiyopati ve/veya kapak kusuru literatürde %40-50 oranında görülse de (284), EDMD-1 grubumuzda 16-35 yaş arasında olan dokuz hastaya yapılan TT EKO incelemesinde kapak kusuruna ve kardiyomiyopati bulgusuna rastlamadık. Bir hastada kas zaafı gelişmeden önce, 19 yaşında yapılan 24 saatlik ritim holter incelemesinde supraventriküler taşikardi atağı izlendi, bu da literatürde daha önce bildirilen vakalar gibi (290), emerinopati hastalarında kardiyak semptomların nöromusküler bulgulardan bağımsız değişkenlik

gösterdiğini desteklemektedir (284). EDMD hastalarında her zaman birincil endişe ani kardiyak ölümdür, ileti bloğu ve buna bağlı gelişen kardiyak yetmezlik ve iskemik infarktüs EDMD’de en sık morbitide ve mortalite nedenidir.

EDMD-1 tanısı alan hastaların yaklaşık %30’da CK değeri normal, %60’ında 1,5-7 kat yüksek bulundu, sadece bir hastada 20 kat yüksek saptandı. Literatürde de EDMD’de CK düzeyinin genellikle normal veya en fazla on kat yüksekliği bildirilmektedir (1, 191), nadiren on kattan daha fazla yüksek CK değerlerine rastlansa da (6, 191) ancak hiçbir zaman Duchenne veya Becker müsküler distrofisinde görüldüğü kadar yükselmediği bilinmektedir.

EDMD-1 grubundaki on bir hastamıza kas biyopsisi yapıldı. Hastalarımızın yaklaşık yarısında distrofi ile uyumlu bulgular gözlenirken, kalan yarısı kronik miyopati ile uyumluydu. Şimdiye kadar emerinin İHC reaksiyonu ile nükleer pozitif boyanma saptanan hastalarda *EMD* geninde mutasyon bulunamamıştır, ancak *missense* mutasyonu taşıyanlarda az da olsa emerinin sentezlenebileceği için zayıf bir boyanma görülebilir (6, 9, 291). Bizim çalışmamız kapsamında genetik incelemeler sonucunda *EMD* geninde patojenik mutasyon saptanan tüm hastalarımızın kas biyopsisinde emerinin İHC reaksiyonu ile nükleer boyanmanın negatif (patolojik) olması emerinin İHC’nin tanısal değerini vurgulamaktadır.

Miyopatilerde, uyluk kas MRG incelemelerinde saptanan selektif kas tutulum paternleri ayırcı tanıda giderek daha fazla kullanılmaktadır (200, 221, 265). EDMD bu konuda çok fazla çalışma bulunmadığından, bu hasta grubunda da selektif tutulum paternlerinin daha iyi ayrıntılandırılması önemlidir, ancak EDMD-1 hasta grubumuzda hastaların yaklaşık %60’da kardiyak *pace maker* bulunduğu için hastalarımızın büyük kısmına kas MRG görüntülemesi yapılamadı. Uyluk ve/veya krus kas MRG görüntülemesi yapılabilen altı hastanın beşinde öncelikli olarak biceps femorisin kısa başı, sartoriusun ve gluteus maksimusun selektif olarak görece korunduğu, diğer hemen bütün uyluk kaslarının çeşitli düzeylerde etkilendiği gözlemlendi. Alt ekstremitelerde ise çoğu distrofiye benzer olarak soleus ve gastrokinemusun medyal başının ağırlıklı olarak tutulduğu görüldü. (221, 222). Hastalığın yaklaşık 10. yılında MRG görüntülemesini yaptığımız, kas zaafının çok belirgin olmadığı bir hastamızda öncelikli olarak semimebranoz kası ve uyluk adduktör kaslarının erken dönemde etkilendiğini gözlemledik. Literatürde de uyluk düzeyinde biceps femoris kasının kısa başı, sartorius

ve rektus femoris kasının korunduğu, gluteus medius, intermedius ve kalça adduktor kaslarının erken ve daha fazla etkilendiği, gluteus maksimusun ileri evreye kadar kısmen korunduğu, krus düzeyinde ise soleus ve gastroknemius kasının daha fazla etkilendiği bilinmektedir (221, 222). Bir diğer X'e bağlı geçişli hastalık olan ve özellikle kontraktürlerin geri planda olduğu hastalarda ayırıcı tanı da yer alabilecek, görece sık görülen Becker müsküler distrofi de ise uyluk MRG incelemesinde ağırlıklı tutulan kaslar gluteus maksimus ve medius, adduktor magnus, biceps femoris kasının uzun başı, semimembranoz, vastus lateralis ve medialis kasları olup (292), MRG'de saptadığımız bu bulgular ile benzer kalıtım paterni sergileyen bu iki hastalık arasında ayırıcı tanıda kullanılmaktadır.

Kohortumuzda genetik incelemeler sonucunda sekiz indeks hastanın yedisinde farklı olmak üzere *EMD* geninde patojenik mutasyon saptandı (tablo 6). Bunlardan dördü (Q44X [c.130C>G], c.416_417delTT; c.19delC; c.248_252delTACTC) 'novel' mutasyondur, üçü (Y41X [c.123C>G]; c.421G->A; tüm gen delesyonu) daha önce tanımlanmıştı. Bu mutasyonlardan c.421G->A mutasyonu daha önce ilk kez bizim hastada saptanarak yayınlanan bir intronik *splice site* mutasyonuydu (181, 293). Literatürde en sık nokta mutasyonlarına (%49), daha az oranda ise küçük delesyona (%33) ve insersiyona (%10) rastlanmaktadır. Yanlış anlamlı mutasyonlarına büyük gen delesyonuna ise nadiren rastlanmaktadır (1, 168). Literatürden farklı olarak bizim EDMD-1 hastalarımızda en sık görülen mutasyonlar küçük ve büyük delesyonlar idi (%60), kalan mutasyonlar ise yanlış anlamlı, anlamsız ve "*splicing*" mutasyonları idi.

Çalışmamıza alınan EDMD1 hastalarının sayısının azlığı ve aynı mutasyonun aynı aile içinde farklı tablolara neden olabilmesi; ne yazık ki net bir genotip fenotip ilişkisi kurulmasına izin vermemiştir, ancak yine de bazı ipuçları elde edildi. Anlamsız mutasyon ve küçük delesyonları taşıyan hastalarımızda klasik EDMD fenotipi gözlemlendi. Yanlış anlamlı mutasyon saptanan bir hastamızın (hasta 10-V/1) fenotipinin diğer hastalarımıza göre yakınmalarının daha geç başladığı ve klinik seyrinin daha iyi olduğu dikkati çekti. Bunun nedenin, yanlış anlamlı mutasyonlu hastalarda bozuk da olsa emerlin proteinin sentezlenip daha hafif bir fenotipe neden olduğu düşünülebilir. Yine aynı hastanın muayenesinde belirgin asimetri dikkati çekmişti. Literatürde yanlış anlamlı mutasyonlar çok nadir görülse de, geç başlangıçlı daha hafif fenotip oluşturdukları söylenmektedir. (10, 169). İki ailemizde ise geniş *EMD* tüm gen

delesyonu saptandı. Bu ailelerde klinik fenotipte ciddi değişkenlik dikkati çekiyordu. Bu hastalardan biri hasta grubumuzdaki en ağır seyreden hastalardandı. Bu da geniş delesyon alanın başka genleri de etkileme ihtimalini akla getirmektedir. *EMD* geninde tüm geni kapsayan büyük delesyonlar daha önce de nadiren bildirilmiştir, ilk kez bildiren Small ve arkadaşlarına göre (274)*EMD* geni büyük delesyonlarında bu genin proksimalinde yerleşen *FLN1* geni (filamin geni) de delesyona /inversiyona/ duplikasyona uğrayarak farklı fenotiplere neden olabilir. Bu nedenle *EMD* geninde tüm geni kapsayan büyük delesyon saptanan durumlarda mutlaka *FLN1* gen analizi yapılması gerektiği önerilmektedir. Bizim iki hastamızda *FLN1* gen incelemesi devam etmektedir.

Çalışmamızda hasta bireyler ile birlikte kadın taşıyıcılara da ayrıntılı bir biçimde incelendi ve değerlendirilen tüm kadın hastaların nörolojik muayeneleri normaldi. Literatürde de bulunan çalışmalarda kadın taşıyıcılarda sıklıkla nöromüsküler bulgular saptanmadığı bildirilse de, nadiren de olsa manifest hale gelip, kas zaafı ve kontraktür sergileyebilmektedirler (294, 295) Sekiz farklı aileden, CK değerleri normal olan 11 kadın taşıyıcının üçünde ciddi kardiyak tutulum saptandı. İki kadın taşıyıcıda aritmiye bağlı iskemik inme öyküsü vardı, çalışmamız kapsamında bir kadın taşıyıcıda da atrial fibrilasyon saptanarak varfarin tedavisi başlandı. Literatürde de, taşıyıcılarda kardiyak tutulum riskinin yüksek olduğu bilinmektedir ve iskemik inme, ani ölüm bildirilmiştir (232), bu nedenle taşıyıcılara mutlak kardiyak muayene yapılması önerilmektedir (232). Kadın taşıyıcıların taranması ve zamanında kardiyak tedavi başlanması çalışmamızın güçlü taraflarından biri olup, mortalite önlenmesinde çok önemli basamağı oluşturmaktadır.

Kohortumuzda 3 aileden 4 hasta laminopati tanısı aldı, bunlardan aile EDMD-2 (OD), bir aile ise EDMD-3 (OR) fenotipindeydi. Literatürde ise EDMD fenotipindeki hastaları kapsayan çalışmalarda *LMNA* gen heterozigot mutasyonlarının *EMD* mutasyonlarından daha sık görüldüğü (1, 6, 9, 20, 228, 284), homozigot mutasyonlarının ise çok nadir görüldüğü bilinmektedir (168, 185). Bizim kohortumuzda *LMNA* heterozigot mutasyonlarının daha az oranda görülmesi toplumumuzda akraba evliliklerinin yaygın olması ve bu nedenle OR kalıtım gösteren başka genlerin hastalığa neden olduğunu düşündürmektedir. EDMD-2 (OD-laminopati) ve EDMD-3 (OR-laminopati) hasta grubumuzda az sayıda hasta olsa da, OR kalıtılan ailemizde geç

başlangıç yaşı ve daha hafif fenotip dikkat çekti. Literatürde de EDMD-3 fenotipinin EDMD-2'ye göre daha geç başlangıç gösterdiği bilinmektedir (1, 6, 9, 20, 185, 296). Novel mutasyon saptanan ve EDMD-3 tanısı alan ailenin etkilenmiş iki bireyi hastalık başlangıç yaşına ve klinik seyirde sergiledikleri bulgulara göre ciddi farklılıklar göstermekteydi. Hastalardan biri erken çocukluk çağında klasik EDMD bulguları ile başvurmuştu, bir diğer hastada ise hastalık bulguları 3. dekatta hafif dirsek kontraktürü ile başlamıştı, zaaf geri plandaydı ve son muayenede 61 yaşında olan hastada hala kardiyak tutulum yoktu. Literatürde de, *LMNA* mutasyonlarının aynı ailede farklı fenotiplere, hatta farklı lamin A/C ilişkili hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (179, 297). Laminopati hastalarımızın hepsinde kas biyopsi özellikleri kronik miyopati bulguları sergilemekteydi, emerinin ve lamin İHC reaksiyonu ile nükleer pozitif (normal) boyanma göstermekteydi. Bunun nedeni, laminopatilerde mutant protein sentezi olması ve bu proteinlerin de İHC reaksiyonu ile pozitif (normal) boyanma bulguları sergilemesidir (20, 297). Bu nedenle kas biyopsisi emeropatilerde olduğu gibi tanı koydurucu değildir ve bu da genetik incelemelerin önemini artırır.

Moleküler incelemede *Lamin A/C* geninde akraba olmayan iki hastada (hasta 22-X/1 ve 23-XI/1) heterozigot yanlış anlamlı, bir hastada ise homozigot yanlış anlamlı 'novel' mutasyon saptandı. Literatürde de, *EMD* gen mutasyonlarından farklı olarak *Lamin A/C* gen mutasyonlarının %80'den fazlasının yanlış anlamlı mutasyonlardan, kalan az kısmının ise anlamsız, çerçeve dışı (*out of frame*) ve kırılma/*splice site* mutasyonlarından oluştuğu bilinmektedir (6, 168). Literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda saptanan mutasyonların üçü de yanlış anlamlı mutasyondur. İki heterozigot mutasyon (c.1357C>T; c.127G>A) daha önce literatürde tipik EDMD-2 fenotipine neden olduğu bildirilmiştir (275, 276, 298). EDMD-2 fenotipine neden olan c.1357C>T mutasyonunun literatürde bulunan çalışmalarda da en sık saptanan mutasyon olduğu bilinmektedir (275). Bizim çalışmamızda da *LMNA* geninde bulunan heterozigot iki mutasyondan birinin c.1357C>T mutasyonun olması bu mutasyonun yaygın olduğunu desteklemektedir. Diğer c.127G>A heterozigot mutasyonu ise görece daha az sıklıkta rastlanan bir mutasyondur (276). Her iki heterozigot mutasyon lamin A/C proteininde yapısal değişikliklere neden olarak özellikle 'rod domain' kısmını etkileyerek işlevsel olarak hasarlı protein sentezine neden olmaktadır (276). Çalışmamızda EDMD-3 fenotipine neden olan *LMNA* geni c.71C>G homozigot mutasyonu daha önce literatürde tanımlanmamış 'novel' mutasyondur. 'Human Genome

Mutation Database' (HGMD), 'ClinVar', 'NCBI dbSNPdatabase' gibi kaynaklarda bu mutasyonun hasarlı protein sentezine neden olduğu düşünülmektedir (299-301).

EDMD2 (OD laminopati), hastalarımızın sayısı çok olmasa da, emerinopati ile ayırıcı tanıda yardımcı olabilecek bazı fenotipik özellikler dikkati çekti. Bu hasta grubumuzda, başlangıç yaşı emerinopati hastalarımıza göre ise daha erkendi. Ancak klinik olarak fenotipin oldukça benzediği gözlemlendi. Laminopati grubunda da üç hastada ilk şikayet parmak ucunda yürümeydi, bir hastada ise dirsek kontraktüroydu, bu da emerinopati grubumuzla benzerlik göstermekteydi ve literatürle uyumluydu (1, 6, 9, 20, 21, 178, 228, 302). Nörolojik muayenede kontraktür dağılımı her iki grupta da en belirgin aşıl, dirsek, boyun kaslarında, kas zaafı dağılımı üst ekstremitelerde proksimal, alt ekstremitelerde distal kaslardaydı. Her iki grupta ROB ve kanat skapula benzer fenotipik özelliklerdi. Her iki grup arasında olan bu benzerliklere rağmen, laminopati hastalarımızın fenotipi genel olarak daha ağırdı, daha fazla sayıda hastamız tekerlekli sandalyeye bağlanmıştı. Kas zaafının daha ağır olmasına rağmen, laminopati hastalarında aynı yaşlardaki emerinopati hastalarına kıyasla kardiyak ileti kusurlarının geri planda olduğu dikkati çekti. Bir diğer önemli fark ise EDMD-1 hastalarında gözlemlenmediğimiz erken dönemde solunum tutulumuydu. Daha önce yapılan çalışmalarda da bu farklar dikkati çekmiştir (1, 6, 9, 20, 185, 228, 288, 296, 303).

EDMD ile ayırıcı tanıya giren ve sık karışan hastalıklardan biri de kollajen 6 ilişkili miyopatilerdir. Kollajen 6 ilişkili miyopatilerin en iyi bilinen fenotipleri, UKMD, BM ve Col6 ilişkili OD-LGMD fenotipleridir. Kohortumuzda akrabalık ilişkisi olmayan 7 indeks hastada COLVI genlerinde mutasyon saptandı. Bu grupta hastalığın ortalama başlangıç yaşı 3 ile 18 yaş arası arasında değişmekteydi. Literatürde kollajen 6 ilişkili miyopatilerde hastalığın başlangıç yaşı fetal dönemden (fetal hareketlerde yavaşlama) başlayarak 3.dekada kadar değişkenlik gösterse de (235, 260), hastalık bulgularının hafif olduğu durumlarda hastalık başlangıç yaşı belirlenemeye de bilmektedir (304, 305). Kohortumuzda mutasyon saptanan hastalardan biri UKMD, biri Col6 ilişkili OD-LGMD, kalan beşi ise BM fenotipindeydi. Literatürde de aynı şekilde, kollajen 6 ilişkili miyopatilerin büyük çoğunluğunu Bethlem miyopatisi ve Ullrich KMD kapsamaktadır (306, 307), daha az oranda COLVI/OD-LGMD (236, 237) ve miyosklerozis miyopatisidir (238).

BM ve Col6/OD-LGMD fenotipinde olan altı hastanın ilk yakınması yürüme ve koşma güçlüğü, sık düşmeydi. Literatürde bulunan bir çok vaka ve çalışmalarda da (237, 286, 308, 309), S.Cruz ve ark., (310) ve Y.Fan ve arkadaşlarının (311) yaptıkları BM hastalarını ayrıntılı inceleyen geniş kapsamlı çalışmalarında da BM fenotipinde olan hastaların başlangıç şikayetinin genellikle sık düşme, koşma ve yürüme güçlüğü olduğu görülmüştür. Kohortumuzda da, literatür ile benzer şekilde hastaların nörolojik muayenelerinde kavşak tipte proksimal baskın kas zaafı vardı, beş hastada distal eklemlerde baskın yaygın kontraktür vardı, bir hastada kontraktür gelişmemişti. Literatürde de BM en belirgin muayene bulgusu kavşak tipte kas zaafına eşlik eden el bileği ve parmaklarda baskın diz, dirsek ayak bileği kontraktürleridir (260, 304, 307, 310, 311). BM fenotipindeki bir hastamızda ROB, skolyoz, keloid skar, gluteus maksimus atrofisi dikkat çekiciydi. Literatürde EDMD'e göre, skolyoz BM'de görece az sıklıkta görülmekle birlikte, ROB daha nadir görülmektedir ve tanıda EDMD ile karışmasına neden olan bulgulardandır (286, 310).

Col6/OD-LGMD olan hastanın şikayeti 17 yaşında yürüme ve koşma güçlüğü şeklinde başlamıştı. Nörolojik muayenesinde hafif kavşak tipte kas zaafına eşlik eden minimal omuz, ayak bileği kontraktürü ve pes kavusu vardı. Literatür ile benzer şekilde proksimal kas zaafı ile birlikte hafif kontraktür bizim hastamızın da fenotipik özelliği idi. Kas hastalıklarında pes kavus literatürde daha çok konjenital miyopatilerin ve EDMD'nin fenotipik özelliklerinden biri gibi gösterilse de (312), literatürde kollajen 6 ilişkili miyopatilerde bu bulguya rastlamadık.

Literatür ile benzer şekilde altı hastanın kardiyak ve solunum testleri normaldi. Literatürde solunum kas tutulumu daha çok UKMD'nin özelliklerinden olsa da, BM'de nadir hallerde ileri yaşlarda klinik tabloya eklendiği bilinmektedir (235, 260, 304, 306, 309).

Literatür ile uyumlu olarak bizim kohortumuzda da hastaların CK düzeyi normal ile hafif yüksek değer arasındaydı (286, 309, 310).

Kas biyopsi bulguları bizim hastalarda da literatür ile uyumlu olarak distrofik ve kronik miyopatik bulgular sergilemekteydi. Literatürden farklı olarak kollajen 6 ilişkili miyopati grubumuzda neredeyse tüm hastaların kas biyopsi örneğinde kollajen 6 İHC reaksiyonu ile pozitif (normal) boyanma görüldü, sadece UKMD fenotipindeki bir hastada soluk boyanma saptandı. Literatürdeki bulunan diğer kohort çalışmalarında da,

genetik kesin kollajen 6 ilişkili miyopati tanısı alan hastaların, kollajen İHC reaksiyonu ile pozitif saptanan vakalar az da olsa bulunmaktadır (286). Ancak kas ve cilt biyopsi kollajen 6 İHC reaksiyonu ile negatif boyanma özellikleri gösteren çalışmalar daha fazla bulunmaktadır (237, 309) Bizim çalışmamızda, hastaların çoğunun kas biyopsi örneğinin kollajen 6 İHC reaksiyonu ile pozitif boyanma özellikleri sergilemesinin, laboratuvarımızda kullanılan rekombinant boyama materyalinde kollajenin her üç alfa zincirine karşı antikor barındırması ve yalancı pozitif sonuç vermesi ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

BM fenotipinde olan üç hastaya uyluk kas MR görüntülemesi yapıldı. Son muayenesinde on yedi yaşında olan ve kontraktürü halen gelişmeyen bir hastada rektus intermedius ve vastus lateralis belirgin, rektus femorisin de etkilendiği tüm kaslarda yağlı atrofi, bir hastada biceps femoris kısa başı, sartorius ve gracilis kasları hafif korunmuş, diğer tüm uyluk kaslarında yağlı atrofi, bir hastada tüm uyluk kaslarında dağınık yağlı atrofi görüldü. Literatürde, kollajen 6 ilişkili miyopatilerin uyluk MR görüntülemesinin tipik bulguları uyluk düzeyinde gracilis ve sartorius kaslarının kısmen korunarak gluteus maksimus kası baskın arka grup kaslarda yaygın yağlı atrofi, rektus femoris kasının merkezi kısmının daha fazla etkilenecek '*central shadow*' bulgusu, vastus lateralis kasının ise merkezi kısmının korunarak periferik kısmının belirgin atrofiye uğramasından doğan '*sandviç*' bulgusu gibi özelliklerdir (310, 311). Bizim çalışmamızda bir hastada '*sandviç*' bulgusu görüldü (şekil 19.).

UKMD fenotipinde olan hasta doğduktan sonra gevşek bebek tanısı ile incelenmişti, klinik seyirde kontraktürleri gelişen hasta hiç bir zaman yürüyememişti. Kas zaafı dağılımı aynı grupta olan diğer kollajen 6 ilişkili miyopatilere göre daha ağır düzeydeydi ve kontraktür dağılımı UKMD'e özgün bir şekilde proksimal eklemlerde baskın olup, distal eklemlerde hiperlaksite olması en önemli fenotipik özellikleriydi. Ayrıca kifoskolyoz ve tortikollisi, ikinci dekatta solunum yetmezliğinin gelişmesi doğru tanıya götürecek diğer önemli klinik ipuçlarıydı. Literatürde de UKMD klinik bulguların BM'e göre çok erken, sıklıkla fetal veya bebeklik döneminde başladığı genellikle daha ağır seyrettiği ve 2.dekatta solunum tutulumu geliştiği, kardiyak tutulumun olmadığı bilinmektedir. Distal hiperlaksite ile birlikte çoklu eklem kontraktürleri, kifoskolyoz ve tortikolis hastalığın tipik fenotipik özellikleridir ki (309, 313), bizim hastamızda da bu bulguların saptanması ön planda UKMD

düşündürmekteydi. Ayrıca, tanıya yardımcı olabilecek bulgulardan biri de kas biyopsi incelemesinde kollajen 6 İHC incelemesidir ki, bizim hastamızda da kollajen 6 İHC reaksiyonu ile hasta kası soluk (patolojik) boyanma özelliği sergilemişti, bu da moleküler incelemelerden önce doğru klinik tanı konulmasında önemli basamağı oluşturmaktadır. Literatürde de kollajen 6 ilişkili hastalıklarda kas, özellikle cilt biyopsi örneğinde İHC incelenmesinin önemi vurgulanmaktadır (260, 306, 307).

Moleküler incelemede, *Col6A3* geninde iki novel (*splicing* ve *inframe* delesyon), *Col6A1* ve *Col6A2* genlerinin her birinde bir novel (yanlış anlamlı) novel mutasyon saptanarak literatüre katkıda bulunulmuştur. Literatürdeki geniş kapsamlı çalışmalarda da en sık mutasyona uğrayan genin *COL6A1* geni dikkat çekmektedir, en sık *splicing* mutasyonlar görülmektedir (309, 313), ikinci sıklıkta yanlış anlamlı mutasyonlar yer almaktadır ve daha hafif fenotipe neden olduğu düşünülmektedir (168, 307, 310) Çalışmamızda, literatürden farklı olarak en sık mutasyona uğrayan gen *COL6A3* geniydi (üç hasta), diğer kollajen 6 genleri arasında mutasyon eşit dağılmıştı, iki hastada mutasyon 3.introndaydı, diğer mutasyonlar farklı ekzon ve intronlardaydı. Literatür ile benzer şekilde, kohortumuzda da üç hastada *splicing* mutasyon, iki hastada yanlış anlamlı, bir hastada *inframe* delesyon saptandı.

Genetik ve fenotipik korelasyon yapıldığında çerçeve içi delesyon saptanan iki hastada birinde kontraktür gelişmemişti, diğerinde çok hafif kontraktür vardı, iki hastada da ılımlı kavşak tipte kas zaafı dikkat çekiciydi, iki hasta da OR kalıtım sergilemekteydi. Diğer BM ve COL6/OD-LGMD fenotipinde olan hastalardan üçü ambulatuvarı, yanlış anlamlı mutasyon saptanan ve OD kalıtım sergileyen BM fenotipindeki hasta tekerlekli sandalye bağlıydı. UKMD fenotipindeki hastada homozigot *splicing novel* mutasyon saptandı, literatürde de UKMD daha çok OR kalıtım gösterdiği bilinmektedir (313).

Çalışmamızda kontraktürlü miyopatilerin büyük kısmını EDMD kapsadığını saptasak da, kollajen 6 ilişkili miyopatilerin de yaygın olduğunu görmüş olduk. Fenotipik özellikleri bir birine benzese de, bazı klinik ipuçları ayırıcı tanıya yardımcı olabilmektedir. Özellikle kas zaafı ve kontraktür dağılımı, skolyoz, ROB, kanat skapula pes kavus/planus/equinus gibi fenotipik özellikleri hastalık ayırıcı tanısının yapılmasında önemlidir. ROB ve skolyoz kohortumuzda dikkat çeken önemli ve ayırt ettirici muayene bulgularıydı. Literatürde de EDMD hastalarında bu bulguların sık

görülen fizik muayene bulgusu olmakla (15, 288), diğer kontraktürlü miyopati olan ROSMD ile karışmasına neden olan bir özelliktir. Her iki hastalıkta da skolyoz ve ROB erken bulgu olup, kas zaafı gelişmeden önce görülebilir ancak EDMD-1’de hastalık seyrinin yavaş ilerlemesi, solunumun ve ambulasyonun genellikle korunması, kardiyak etkilenmenin olması ROSMD’den ayırt ettirici fenotipik özelliğidir (272). EDMD-1’de genellikle skolyozun hastalığın ilerleyen seyrinde kontraktür geliştikten sonra görüldüğü bilinse de, ilk dekatta rastlanabilir. Kanat skapula görülen hastalarda kontraktür, erken skolyoz, ROB, kas zaafı dağılımı ve yüz kaslarının korunmuş olması kanat skapulanın görüldüğü diğer müsküler distrofilerden ayırt ettirecek fenotipik bulgularıydı. Ayrıca literatürde tüm EDMD tiplerinde kanat skapulaya rastlansa da(178), FHL-1 mutasyonun neden olduğu EDMD-6 fenotipinde daha sık görüldüğü düşünülmektedir (33).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

❖ Tüm kontraktürlü miyopatiler benzer olsa da, kendine özgün bulgulara sahiptirler.

- EDMD alt tipleri sıklıkla ilk 10 yılda ayak bileğinde kontraktür-parmak ucunda yürüme gibi tipik şikayetle, kollajen 6 ilişkili miyopatiler ise sıklıkla alt ekstremitte proksimal kas zaafı-yürüme, çömelip kalkma güçlüğü ve sık düşme şikâyetleri ile başlar.
- Gevşek bebek, emme ve yutma güçlüğü, fetal hareketlerde azalma, doğumsal kalça çıkığı kollajen 6 ilişkili miyopatilerde hastalığın ilk bulgularındandır.
- EDMD’de ayak bileği, dirsek, boyun erken etkilenen ve en belirgin kontraktür gelişen eklemlerdir, kollajen ilişkili miyopatilerde ise dirsek, el bileği ve parmak kontraktürleri daha belirgindir.
- İlk etkilenen kaslar EDMD’de biceps, triseps ve dizaltı arka grup kaslardır, kollajen 6 ilişkili miyopatilerde ise kavşak kaslarıdır.
- EDMD’de kas zaafının dağılımı humero/skapulohumero-peroneal tiptedir, ilerleyen aşamalarda kalça arka grup ve adduktor kaslar da etkilenmektedir, diğer müsküler distrofilerden farklı olarak gluteus maksimus en son etkilenen kastır.
- Kollajen ilişkili miyopatilerde ise kavşak tipte zaaf ve distal eklem kontraktürleri kliniğe hakim bulgulardır.
- Emerinopatilerde gastroknemius kas atrofisi, laminopatiler ve kollajen 6 ilişkili miyopatilerde gastroknemius hipertrofisi sık görülmektedir.
- Rijid omurga bulgusu EDMD’i kollajen 6 ilişkili ve diğer kontraktürlü miyopatilerden ayırt ettiren çok önemli fenotipik özelliktir.
- EDMD’de skolyoz sıklıkla 2. ve 3.dekatta kontraktürlerden sonra gelişmektedir, EDMD hastalarının yarısından fazlasında saptanabilmektedir.
- Laminopatiler, emerinopatilerle kıyaslandığında fenotipik olarak daha heterojendirler, aynı ailede farklı fenotipler ile karşılaşılabılırız.

- Diğer müsküler distrofilerle benzer Şekilde skapula alata EDMD hastalarının 1/3’de görülmektedir, kollajen 6 ilişkili miyopatilerde sık rastlanmaz.
- Pektus karinatum, pes kavus/planus; hem EDMD, hem kollajen 6 ilişkili miyopatilerde seyrek de olsa görülmektedir.
- Keloid skar, kollajen 6 ilişkili miyopatilerde çok önemli fizik muayene bulgusudur.
- Kardiyak tutulum özellikle atrialkkenli aritmiler emerinoopatilerin, ventriküler kökenli aritmiler ve dilate kardiyomiyopati ise laminopatilerin tipik özelliği olup en sık mortalite ve morbidite nedenidir. Kollajen 6 ilişkili miyopatilerde kardiyak tutulumu rastlanmaz.
- Solunum tutulumu laminopatilerde ve UKMD’de görülse de, diğer kollajen 6 ilişkili miyopatilerde ve emerinoopatilerde daha nadir görülmektedir.
- CK düzeyi hem emerinoopatilerde, hem laminopatilerde, hem de kollajen 6 ilişkili miyopatilerde normal ile en fazla 10 kat yüksek değer arasında seyretmektedir, hiÇbir zaman Becker ve Duschenne müsküler distrofisi kadar yüksek değerlere ulaŐmaz.
- Uyluk ve krus MR incelemesi kas tutulumu dağılımına göre EDMD, kollajen 6 ilişkili ve diğer kontraktürlü miyopatiler açısından tipik bulgular sergilemektedir, genetik inceleme planlanması açısından iyi bir ipucu sağlamaktadır.
- Kas biyopsisi İHC boyaması emerinoopatilerde tanısai değere sahiptir, lamin ve kollajen 6 miyopatilerde yanlış pozitif boyama sık görülmektedir
- Genetik inceleme emerinoopatiler dışında diğer tüm kontraktürlü miyopatilerde kesin tanı için gereklidir.
- Emerinoopatilerde kadın taşıyıcılarda CK düzeyi normal görülse de kardiyak tutulum açısından risk taŐımaktadırlar, bu nedenle aile taraması mutlaktır.
- Literatür ile benzer Şekilde hastaların yarısında bilinen genlerde mutasyon bulunsa da, yarısında altta yatan bilinmeyen nedensel genler bulunmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Madej-Pilarczyk A. Clinical aspects of Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nucleus*. 2018;9(1):268-74.
2. Emery AE. Emery-Dreifuss muscular dystrophy and other related disorders. *Br Med Bull*. 1989;45(3):772-87.
3. Emery AE. Emery-Dreifuss syndrome. *J Med Genet*. 1989;26(10):637-41.
4. Dreifuss FE, Hogan GR. Survival in x-chromosomal muscular dystrophy. *Neurology*. 1961;11:734-7.
5. Emery AE, Dreifuss FE. Unusual type of benign x-linked muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1966;29(4):338-42.
6. Bonne G, Quijano-Roy S. Emery-Dreifuss muscular dystrophy, laminopathies, and other nuclear envelopathies. *Handb Clin Neurol*. 2013;113:1367-76.
7. McKusick VA. X-linked muscular dystrophy, benign form with contractures. *Birth Defects Orig Artic Ser*. 1971;7(2):113-5.
8. Hacer Durmus PS-O, and Feza Deymeer. Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy: Nuclear Envelopathies. Darras BT, editor. *Neuromuscular Disorders of Infancy, Childhood, and Adolescence A Clinician's Approach*: Copyright r 2015 Elsevier Inc.; 2015. 667-78 p.
9. Puckelwartz M, McNally EM. Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Handb Clin Neurol*. 2011;101:155-66.
10. Bonne G, Yaou RB, Beroud C, Boriani G, Brown S, de Visser M, et al. 108th ENMC International Workshop, 3rd Workshop of the MYO-CLUSTER project: EUROMEN, 7th International Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy (EDMD) Workshop, 13-15 September 2002, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord*. 2003;13(6):508-15.
11. Bonne G, Capeau J, De Visser M, Duboc D, Merlini L, Morris GE, et al. 82nd ENMC international workshop, 5th international Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EDMD) workshop, 1st Workshop of the MYO-CLUSTER project EUROMEN (European muscle envelope nucleopathies), 15-16 September 2000, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord*. 2002;12(2):187-94.
12. Wehnert M, Muntoni F. 60th ENMC International Workshop: non X-linked Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy 5-7 June 1998, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord*. 1999;9(2):115-21.
13. Norwood FL, Harling C, Chinnery PF, Eagle M, Bushby K, Straub V. Prevalence of genetic muscle disease in Northern England: in-depth analysis of a muscle clinic population. *Brain*. 2009;132(Pt 11):3175-86.

14. Wicklund MP. The muscular dystrophies. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2013;19(6 Muscle Disease):1535-70.
15. Brown SC, Piercy RJ, Muntoni F, Sewry CA. Investigating the pathology of Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Biochem Soc Trans*. 2008;36(Pt 6):1335-8.
16. Collins MA, Mandigo TR, Camuglia JM, Vazquez GA, Anderson AJ, Hudson CH, et al. Emery-Dreifuss muscular dystrophy-linked genes and centronuclear myopathy-linked genes regulate myonuclear movement by distinct mechanisms. *Mol Biol Cell*. 2017;28(17):2303-17.
17. Le Thanh P, Meinke P, Korfali N, Srsen V, Robson MI, Wehnert M, et al. Immunohistochemistry on a panel of Emery-Dreifuss muscular dystrophy samples reveals nuclear envelope proteins as inconsistent markers for pathology. *Neuromuscul Disord*. 2017;27(4):338-51.
18. Samson C, Herrada I, Celli F, Theillet FX, Zinn-Justin S. 1H, 13C and 15N backbone resonance assignment of the intrinsically disordered region of the nuclear envelope protein emerin. *Biomol NMR Assign*. 2016;10(1):179-82.
19. Bengtsson L, Wilson KL. Multiple and surprising new functions for emerin, a nuclear membrane protein. *Curr Opin Cell Biol*. 2004;16(1):73-9.
20. Madej-Pilarczyk A, Kochanski A. Emery-Dreifuss muscular dystrophy: the most recognizable laminopathy. *Folia Neuropathol*. 2016;54(1):1-8.
21. Worman HJ, Ostlund C, Wang Y. Diseases of the nuclear envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(2):a000760.
22. Dauer WT, Worman HJ. New messages in the nuclear envelope. *Cell Cycle*. 2010;9(4):645-6.
23. Holaska JM. Emerin and the nuclear lamina in muscle and cardiac disease. *Circ Res*. 2008;103(1):16-23.
24. Worman HJ, Foisner R. The nuclear envelope from basic biology to therapy. *Biochem Soc Trans*. 2010;38(Pt 1):253-6.
25. Muchir A, Worman HJ. Signaling defects and the nuclear envelope in progeria. *Dev Cell*. 2010;19(3):355-6.
26. Wang Y, Ostlund C, Worman HJ. Blocking protein farnesylation improves nuclear shape abnormalities in keratinocytes of mice expressing the prelamin A variant in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nucleus*. 2010;1(5):432-9.
27. Folker ES, Ostlund C, Luxton GW, Worman HJ, Gundersen GG. Lamin A variants that cause striated muscle disease are defective in anchoring transmembrane actin-associated nuclear lines for nuclear movement. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(1):131-6.
28. Bione S, Maestrini E, Rivella S, Mancini M, Regis S, Romeo G, et al. Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet*. 1994;8(4):323-7.

29. Bonne G, Di Barletta MR, Varnous S, Becane HM, Hammouda EH, Merlini L, et al. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet.* 1999;21(3):285-8.
30. Raffaele Di Barletta M, Ricci E, Galluzzi G, Tonali P, Mora M, Morandi L, et al. Different mutations in the LMNA gene cause autosomal dominant and autosomal recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am J Hum Genet.* 2000;66(4):1407-12.
31. Puckelwartz MJ, Kessler EJ, Kim G, Dewitt MM, Zhang Y, Earley JU, et al. Nesprin-1 mutations in human and murine cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;48(4):600-8.
32. Zhang Q, Bethmann C, Worth NF, Davies JD, Wasner C, Feuer A, et al. Nesprin-1 and -2 are involved in the pathogenesis of Emery Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity. *Hum Mol Genet.* 2007;16(23):2816-33.
33. Gueneau L, Bertrand AT, Jais JP, Salih MA, Stojkovic T, Wehnert M, et al. Mutations of the FHL1 gene cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *American journal of human genetics.* 2009;85(3):338-53.
34. Friedrich FW, Wilding BR, Reischmann S, Crocini C, Lang P, Charron P, et al. Evidence for FHL1 as a novel disease gene for isolated hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet.* 2012;21(14):3237-54.
35. Quinzii CM, Vu TH, Min KC, Tanji K, Barral S, Grewal RP, et al. X-linked dominant scapuloperoneal myopathy is due to a mutation in the gene encoding four-and-a-half-LIM protein 1. *Am J Hum Genet.* 2008;82(1):208-13.
36. Windpassinger C, Schoser B, Straub V, Hochmeister S, Noor A, Lohberger B, et al. An X-linked myopathy with postural muscle atrophy and generalized hypertrophy, termed XMPMA, is caused by mutations in FHL1. *Am J Hum Genet.* 2008;82(1):88-99.
37. Schessl J, Columbus A, Hu Y, Zou Y, Voit T, Goebel HH, et al. Familial reducing body myopathy with cytoplasmic bodies and rigid spine revisited: identification of a second LIM domain mutation in FHL1. *Neuropediatrics.* 2010;41(1):43-6.
38. Shalaby S, Hayashi YK, Goto K, Ogawa M, Nonaka I, Noguchi S, et al. Rigid spine syndrome caused by a novel mutation in four-and-a-half LIM domain 1 gene (FHL1). *Neuromuscul Disord.* 2008;18(12):959-61.
39. Sarkozy A, Windpassinger C, Hudson J, Dougan CF, Lecky B, Hilton-Jones D, et al. Phenotypic heterogeneity in British patients with a founder mutation in the FHL1 gene. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(10):1038-44.
40. Cowling BS, Cottle DL, Wilding BR, D'Arcy CE, Mitchell CA, McGrath MJ. Four and a half LIM protein 1 gene mutations cause four distinct human myopathies: a comprehensive review of the clinical, histological and pathological features. *Neuromuscul Disord.* 2011;21(4):237-51.
41. Liang WC, Mitsuhashi H, Keduka E, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I, et al. TMEM43 mutations in Emery-Dreifuss muscular dystrophy-related myopathy. *Annals of neurology.* 2011;69(6):1005-13.

42. Merner ND, Hodgkinson KA, Haywood AF, Connors S, French VM, Drenckhahn JD, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 5 is a fully penetrant, lethal arrhythmic disorder caused by a missense mutation in the TMEM43 gene. *Am J Hum Genet.* 2008;82(4):809-21.
43. Fatkin D, MacRae C, Sasaki T, Wolff MR, Porcu M, Frenneaux M, et al. Missense mutations in the rod domain of the lamin A/C gene as causes of dilated cardiomyopathy and conduction-system disease. *N Engl J Med.* 1999;341(23):1715-2.
44. De Sandre-Giovannoli A, Chaouch M, Kozlov S, Vallat JM, Tazir M, Kassouri N, et al. Homozygous defects in LMNA, encoding lamin A/C nuclear-envelope proteins, cause autosomal recessive axonal neuropathy in human (Charcot-Marie-Tooth disorder type 2) and mouse. *Am J Hum Genet.* 2002;70(3):726-36.
45. Worman HJ, Bonne G. "Laminopathies": a wide spectrum of human diseases. *Exp Cell Res.* 2007;313(10):2121-33.
46. Bickmore WA, Sutherland HG. Addressing protein localization within the nucleus. *EMBO J.* 2002;21(6):1248-54.
47. Marshall WF, Dernburg AF, Harmon B, Agard DA, Sedat JW. Specific interactions of chromatin with the nuclear envelope: positional determination within the nucleus in *Drosophila melanogaster*. *Mol Biol Cell.* 1996;7(5):825-42.
48. Spector DL, Gasser SM. A molecular dissection of nuclear function. Conference on the dynamic nucleus: questions and implications. *EMBO Rep.* 2003;4(1):18-23.
49. Gruenbaum Y, Margalit A, Goldman RD, Shumaker DK, Wilson KL. The nuclear lamina comes of age. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005;6(1):21-31.
50. Margalit A, Vlcek S, Gruenbaum Y, Foisner R. Breaking and making of the nuclear envelope. *J Cell Biochem.* 2005;95(3):454-65.
51. Margalit A, Segura-Totten M, Gruenbaum Y, Wilson KL. Barrier-to-autointegration factor is required to segregate and enclose chromosomes within the nuclear envelope and assemble the nuclear lamina. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(9):3290-5.
52. Schirmer EC, Florens L, Guan T, Yates JR, 3rd, Gerace L. Nuclear membrane proteins with potential disease links found by subtractive proteomics. *Science.* 2003;301(5638):1380-2.
53. Kavanagh DM, Powell WE, Malik P, Lazou V, Schirmer EC. Organelle proteome variation among different cell types: lessons from nuclear membrane proteins. *Subcell Biochem.* 2007;43:51-76.
54. Foisner R, Aebi U, Bonne G, Gruenbaum Y, Novelli G. 141st ENMC International Workshop inaugural meeting of the EURO-Laminopathies project "Nuclear Envelope-linked Rare Human Diseases: From Molecular Pathophysiology towards Clinical Applications", 10-12 March 2006, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord.* 2007;17(8):655-60.
55. Stewart M. Molecular mechanism of the nuclear protein import cycle. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(3):195-208.

56. Broers JL, Ramaekers FC, Bonne G, Yaou RB, Hutchison CJ. Nuclear lamins: laminopathies and their role in premature ageing. *Physiol Rev.* 2006;86(3):967-1008.
57. Foisner R. Inner nuclear membrane proteins and the nuclear lamina. *J Cell Sci.* 2001;114(Pt 21):3791-2.
58. Stewart CL, Roux KJ, Burke B. Blurring the boundary: the nuclear envelope extends its reach. *Science.* 2007;318(5855):1408-12.
59. Heessen S, Fornerod M. The inner nuclear envelope as a transcription factor resting place. *EMBO Rep.* 2007;8(10):914-9.
60. Holmer L, Worman HJ. Inner nuclear membrane proteins: functions and targeting. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58(12-13):1741-7.
61. Crisp M, Liu Q, Roux K, Rattner JB, Shanahan C, Burke B, et al. Coupling of the nucleus and cytoplasm: role of the LINC complex. *J Cell Biol.* 2006;172(1):41-53.
62. Ohba T, Schirmer EC, Nishimoto T, Gerace L. Energy- and temperature-dependent transport of integral proteins to the inner nuclear membrane via the nuclear pore. *J Cell Biol.* 2004;167(6):1051-62.
63. Stuurman N, Heins S, Aebi U. Nuclear lamins: their structure, assembly, and interactions. *J Struct Biol.* 1998;122(1-2):42-66.
64. Bridger JM, Kill IR, O'Farrell M, Hutchison CJ. Internal lamin structures within G1 nuclei of human dermal fibroblasts. *J Cell Sci.* 1993;104 (Pt 2):297-306.
65. Hozak P, Sasseville AM, Raymond Y, Cook PR. Lamin proteins form an internal nucleoskeleton as well as a peripheral lamina in human cells. *J Cell Sci.* 1995;108 (Pt 2):635-44.
66. Capell BC, Collins FS. Human laminopathies: nuclei gone genetically awry. *Nat Rev Genet.* 2006;7(12):940-52.
67. Hegele RA. The envelope, please: nuclear lamins and disease. *Nat Med.* 2000;6(2):136-7.
68. Nigro V, Savarese M. Genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies: the 2014 update. *Acta Myol.* 2014;33(1):1-12.
69. Brodsky GL, Muntoni F, Miocic S, Sinagra G, Sewry C, Mestroni L. Lamin A/C gene mutation associated with dilated cardiomyopathy with variable skeletal muscle involvement. *Circulation.* 2000;101(5):473-6.
70. Taylor MR, Fain PR, Sinagra G, Robinson ML, Robertson AD, Carniel E, et al. Natural history of dilated cardiomyopathy due to lamin A/C gene mutations. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(5):771-80.
71. Ku L, Feiger J, Taylor M, Mestroni L, Familial Cardiomyopathy R. Cardiology patient page. Familial dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 2003;108(17):e118-21.

72. Chaouch M, Allal Y, De Sandre-Giovannoli A, Vallat JM, Amer-el-Khedoud A, Kassouri N, et al. The phenotypic manifestations of autosomal recessive axonal Charcot-Marie-Tooth due to a mutation in Lamin A/C gene. *Neuromuscul Disord.* 2003;13(1):60-7.
73. Vigouroux C, Magre J, Vantyghem MC, Bourut C, Lascols O, Shackleton S, et al. Lamin A/C gene: sex-determined expression of mutations in Dunnigan-type familial partial lipodystrophy and absence of coding mutations in congenital and acquired generalized lipodystrophy. *Diabetes.* 2000;49(11):1958-62.
74. Shackleton S, Lloyd DJ, Jackson SN, Evans R, Niermeijer MF, Singh BM, et al. LMNA, encoding lamin A/C, is mutated in partial lipodystrophy. *Nat Genet.* 2000;24(2):153-6.
75. Garavelli L, D'Apice MR, Rivieri F, Bertoli M, Wischmeijer A, Gelmini C, et al. Mandibuloacral dysplasia type A in childhood. *Am J Med Genet A.* 2009;149A(10):2258-64.
76. Luo DQ, Wang XZ, Meng Y, He DY, Chen YM, Ke ZY, et al. Mandibuloacral dysplasia type A-associated progeria caused by homozygous LMNA mutation in a family from Southern China. *BMC Pediatr.* 2014;14:256.
77. Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, Glynn MW, Singer J, Scott L, et al. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature.* 2003;423(6937):293-8.
78. Cao H, Hegele RA. LMNA is mutated in Hutchinson-Gilford progeria (MIM 176670) but not in Wiedemann-Rautenstrauch progeroid syndrome (MIM 264090). *J Hum Genet.* 2003;48(5):271-4.
79. Huang S, Kennedy BK, Oshima J. LMNA mutations in progeroid syndromes. *Novartis Found Symp.* 2005;264:197-202; discussion -7, 27-30.
80. Chen L, Lee L, Kudlow BA, Dos Santos HG, Sletvold O, Shafeghati Y, et al. LMNA mutations in atypical Werner's syndrome. *Lancet.* 2003;362(9382):440-5.
81. Bonne G, Levy N. LMNA mutations in atypical Werner's syndrome. *Lancet.* 2003;362(9395):1585-6; author reply 6.
82. Spann TP, Goldman AE, Wang C, Huang S, Goldman RD. Alteration of nuclear lamin organization inhibits RNA polymerase II-dependent transcription. *J Cell Biol.* 2002;156(4):603-8.
83. Worman HJ, Evans CD, Blobel G. The lamin B receptor of the nuclear envelope inner membrane: a polytopic protein with eight potential transmembrane domains. *J Cell Biol.* 1990;111(4):1535-42.
84. Courvalin JC, Lassoued K, Worman HJ, Blobel G. Identification and characterization of autoantibodies against the nuclear envelope lamin B receptor from patients with primary biliary cirrhosis. *J Exp Med.* 1990;172(3):961-7.
85. Worman HJ, Yuan J, Blobel G, Georgatos SD. A lamin B receptor in the nuclear envelope. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85(22):8531-4.

86. Courvalin JC, Segil N, Blobel G, Worman HJ. The lamin B receptor of the inner nuclear membrane undergoes mitosis-specific phosphorylation and is a substrate for p34cdc2-type protein kinase. *J Biol Chem.* 1992;267(27):19035-8.
87. Oosterwijk JC, Mansour S, van Noort G, Waterham HR, Hall CM, Hennekam RC. Congenital abnormalities reported in Pelger-Huet homozygosity as compared to Greenberg/HEM dysplasia: highly variable expression of allelic phenotypes. *J Med Genet.* 2003;40(12):937-41.
88. Waterham HR, Koster J, Mooyer P, Noort Gv G, Kelley RI, Wilcox WR, et al. Autosomal recessive HEM/Greenberg skeletal dysplasia is caused by 3 beta-hydroxysterol delta 14-reductase deficiency due to mutations in the lamin B receptor gene. *Am J Hum Genet.* 2003;72(4):1013-7.
89. Foisner R. Cell cycle dynamics of the nuclear envelope. *ScientificWorldJournal.* 2003;3:1-20.
90. Senior A, Gerace L. Integral membrane proteins specific to the inner nuclear membrane and associated with the nuclear lamina. *J Cell Biol.* 1988;107(6 Pt 1):2029-36.
91. Goodchild RE, Kim CE, Dauer WT. Loss of the dystonia-associated protein torsinA selectively disrupts the neuronal nuclear envelope. *Neuron.* 2005;48(6):923-32.
92. Naismith TV, Heuser JE, Breakefield XO, Hanson PI. TorsinA in the nuclear envelope. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(20):7612-7.
93. Buch C, Lindberg R, Figueroa R, Gudise S, Onischenko E, Hallberg E. An integral protein of the inner nuclear membrane localizes to the mitotic spindle in mammalian cells. *J Cell Sci.* 2009;122(Pt 12):2100-7.
94. Mamada H, Takahashi N, Taira M. Involvement of an inner nuclear membrane protein, Nemp1, in *Xenopus* neural development through an interaction with the chromatin protein BAF. *Dev Biol.* 2009;327(2):497-507.
95. Lin F, Blake DL, Callebaut I, Skerjanc IS, Holmer L, McBurney MW, et al. MAN1, an inner nuclear membrane protein that shares the LEM domain with lamina-associated polypeptide 2 and emerin. *J Biol Chem.* 2000;275(7):4840-7.
96. Wagner N, Krohne G. LEM-Domain proteins: new insights into lamin-interacting proteins. *Int Rev Cytol.* 2007;261:1-46.
97. Cai M, Huang Y, Ghirlando R, Wilson KL, Craigie R, Clore GM. Solution structure of the constant region of nuclear envelope protein LAP2 reveals two LEM-domain structures: one binds BAF and the other binds DNA. *EMBO J.* 2001;20(16):4399-407.
98. Furukawa K, Sugiyama S, Osouda S, Goto H, Inagaki M, Horigome T, et al. Barrier-to-autointegration factor plays crucial roles in cell cycle progression and nuclear organization in *Drosophila*. *J Cell Sci.* 2003;116(Pt 18):3811-23.
99. Dechat T, Korbei B, Vaughan OA, Vlcek S, Hutchison CJ, Foisner R. Lamina-associated polypeptide 2alpha binds intranuclear A-type lamins. *J Cell Sci.* 2000;113 Pt 19:3473-84.

100. Dechat T, Vlcek S, Foisner R. Review: lamina-associated polypeptide 2 isoforms and related proteins in cell cycle-dependent nuclear structure dynamics. *J Struct Biol.* 2000;129(2-3):335-45.
101. Furukawa K, Kondo T. Identification of the lamina-associated-polypeptide-2-binding domain of B-type lamin. *Eur J Biochem.* 1998;251(3):729-33.
102. Somech R, Shaklai S, Geller O, Amariglio N, Simon AJ, Rechavi G, et al. The nuclear-envelope protein and transcriptional repressor LAP2beta interacts with HDAC3 at the nuclear periphery, and induces histone H4 deacetylation. *J Cell Sci.* 2005;118(Pt 17):4017-25.
103. Nili E, Cojocaru GS, Kalma Y, Ginsberg D, Copeland NG, Gilbert DJ, et al. Nuclear membrane protein LAP2beta mediates transcriptional repression alone and together with its binding partner GCL (germ-cell-less). *J Cell Sci.* 2001;114(Pt 18):3297-307.
104. Taylor MR, Slavov D, Gajewski A, Vlcek S, Ku L, Fain PR, et al. Thymopoietin (lamina-associated polypeptide 2) gene mutation associated with dilated cardiomyopathy. *Hum Mutat.* 2005;26(6):566-74.
105. Berk JM, Simon DN, Jenkins-Houk CR, Westerbeck JW, Gronning-Wang LM, Carlson CR, et al. The molecular basis of emerin-emerin and emerin-BAF interactions. *J Cell Sci.* 2014;127(Pt 18):3956-69.
106. Tribioli C, Mancini M, Plassart E, Bione S, Rivella S, Sala C, et al. Isolation of new genes in distal Xq28: transcriptional map and identification of a human homologue of the ARD1 N-acetyl transferase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Hum Mol Genet.* 1994;3(7):1061-7.
107. Koch AJ, Holaska JM. Emerin in health and disease. *Semin Cell Dev Biol.* 2014;29:95-106.
108. Wilson KL, Holaska JM, Montes de Oca R, Tifft K, Zastrow M, Segura-Totten M, et al. Nuclear membrane protein emerin: roles in gene regulation, actin dynamics and human disease. *Novartis Found Symp.* 2005;264:51-8; discussion 8-62, 227-30.
109. Mansharamani M, Wilson KL. Direct binding of nuclear membrane protein MAN1 to emerin in vitro and two modes of binding to barrier-to-autointegration factor. *J Biol Chem.* 2005;280(14):13863-70.
110. Wheeler MA, Davies JD, Zhang Q, Emerson LJ, Hunt J, Shanahan CM, et al. Distinct functional domains in nesprin-1alpha and nesprin-2beta bind directly to emerin and both interactions are disrupted in X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Exp Cell Res.* 2007;313(13):2845-57.
111. Holaska JM, Rais-Bahrami S, Wilson KL. Lmo7 is an emerin-binding protein that regulates the transcription of emerin and many other muscle-relevant genes. *Hum Mol Genet.* 2006;15(23):3459-72.
112. Wilkinson FL, Holaska JM, Zhang Z, Sharma A, Manilal S, Holt I, et al. Emerin interacts in vitro with the splicing-associated factor, YT521-B. *Eur J Biochem.* 2003;270(11):2459-66.

113. Markiewicz E, Tilgner K, Barker N, van de Wetering M, Clevers H, Dorobek M, et al. The inner nuclear membrane protein emerin regulates beta-catenin activity by restricting its accumulation in the nucleus. *EMBO J.* 2006;25(14):3275-85.
114. Holaska JM, Kowalski AK, Wilson KL. Emerin caps the pointed end of actin filaments: evidence for an actin cortical network at the nuclear inner membrane. *PLoS Biol.* 2004;2(9):E231.
115. Emery AE. Emery-Dreifuss muscular dystrophy - a 40 year retrospective. *Neuromuscul Disord.* 2000;10(4-5):228-32.
116. Manilal S, Nguyen TM, Sewry CA, Morris GE. The Emery-Dreifuss muscular dystrophy protein, emerin, is a nuclear membrane protein. *Hum Mol Genet.* 1996;5(6):801-8.
117. Holaska JM, Wilson KL. Multiple roles for emerin: implications for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2006;288(7):676-80.
118. Hellemans J, Preobrazhenska O, Willaert A, Debeer P, Verdonk PC, Costa T, et al. Loss-of-function mutations in LEMD3 result in osteopoikilosis, Buschke-Ollendorff syndrome and melorheostosis. *Nat Genet.* 2004;36(11):1213-8.
119. Cai GQ, Fei J, Xu YP, Huang F, Ma SK, Guo LH. Nuclear proteins from liver and kidney bind a 37 bp sequence in the 5' upstream region of the mGAT1 gene. *Neuroreport.* 1998;9(18):4059-62.
120. Cai M, Huang Y, Zheng R, Wei SQ, Ghirlando R, Lee MS, et al. Solution structure of the cellular factor BAF responsible for protecting retroviral DNA from autointegration. *Nat Struct Biol.* 1998;5(10):903-9.
121. Segura-Totten M, Kowalski AK, Craigie R, Wilson KL. Barrier-to-autointegration factor: major roles in chromatin decondensation and nuclear assembly. *J Cell Biol.* 2002;158(3):475-85.
122. Dechat T, Gajewski A, Korbei B, Gerlich D, Daigle N, Haraguchi T, et al. LAP2alpha and BAF transiently localize to telomeres and specific regions on chromatin during nuclear assembly. *J Cell Sci.* 2004;117(Pt 25):6117-28.
123. Shimi T, Koujin T, Segura-Totten M, Wilson KL, Haraguchi T, Hiraoka Y. Dynamic interaction between BAF and emerin revealed by FRAP, FLIP, and FRET analyses in living HeLa cells. *J Struct Biol.* 2004;147(1):31-41.
124. Gorjanacz M, Klerkx EP, Galy V, Santarella R, Lopez-Iglesias C, Askjaer P, et al. *Caenorhabditis elegans* BAF-1 and its kinase VRK-1 participate directly in post-mitotic nuclear envelope assembly. *EMBO J.* 2007;26(1):132-43.
125. Montes de Oca R, Lee KK, Wilson KL. Binding of barrier to autointegration factor (BAF) to histone H3 and selected linker histones including H1.1. *J Biol Chem.* 2005;280(51):42252-62.
126. Wang X, Xu S, Rivolta C, Li LY, Peng GH, Swain PK, et al. Barrier to autointegration factor interacts with the cone-rod homeobox and represses its transactivation function. *J Biol Chem.* 2002;277(45):43288-300.

127. Lin F, Morrison JM, Wu W, Worman HJ. MAN1, an integral protein of the inner nuclear membrane, binds Smad2 and Smad3 and antagonizes transforming growth factor-beta signaling. *Hum Mol Genet.* 2005;14(3):437-45.
128. Chen IH, Huber M, Guan T, Bubeck A, Gerace L. Nuclear envelope transmembrane proteins (NETs) that are up-regulated during myogenesis. *BMC Cell Biol.* 2006;7:38.
129. Wilkie GS, Korfali N, Swanson SK, Malik P, Srsen V, Batrakou DG, et al. Several novel nuclear envelope transmembrane proteins identified in skeletal muscle have cytoskeletal associations. *Mol Cell Proteomics.* 2011;10(1):M110 003129.
130. Haque T, Johannessen I, Dombagoda D, Sengupta C, Burns DM, Bird P, et al. A mouse monoclonal antibody against Epstein-Barr virus envelope glycoprotein 350 prevents infection both in vitro and in vivo. *J Infect Dis.* 2006;194(5):584-7.
131. Padmakumar VC, Libotte T, Lu W, Zaim H, Abraham S, Noegel AA, et al. The inner nuclear membrane protein Sun1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope. *J Cell Sci.* 2005;118(Pt 15):3419-30.
132. Otto H, Dreger M, Bengtsson L, Hucho F. Identification of tyrosine-phosphorylated proteins associated with the nuclear envelope. *Eur J Biochem.* 2001;268(2):420-8.
133. Chi YH, Chen ZJ, Jeang KT. The nuclear envelopathies and human diseases. *J Biomed Sci.* 2009;16:96.
134. Hodzic DM, Yeater DB, Bengtsson L, Otto H, Stahl PD. Sun2 is a novel mammalian inner nuclear membrane protein. *J Biol Chem.* 2004;279(24):25805-12.
135. Lee KK, Starr D, Cohen M, Liu J, Han M, Wilson KL, et al. Lamin-dependent localization of UNC-84, a protein required for nuclear migration in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell.* 2002;13(3):892-901.
136. Yu J, Starr DA, Wu X, Parkhurst SM, Zhuang Y, Xu T, et al. The KASH domain protein MSP-300 plays an essential role in nuclear anchoring during *Drosophila* oogenesis. *Dev Biol.* 2006;289(2):336-45.
137. Starr DA, Han M. A genetic approach to study the role of nuclear envelope components in nuclear positioning. *Novartis Found Symp.* 2005;264:208-19; discussion 19-30.
138. Starr DA, Hermann GJ, Malone CJ, Fixsen W, Priess JR, Horvitz HR, et al. unc-83 encodes a novel component of the nuclear envelope and is essential for proper nuclear migration. *Development.* 2001;128(24):5039-50.
139. Malone CJ, Misner L, Le Bot N, Tsai MC, Campbell JM, Ahringer J, et al. The *C. elegans* hook protein, ZYG-12, mediates the essential attachment between the centrosome and nucleus. *Cell.* 2003;115(7):825-36.
140. Malone CJ, Fixsen WD, Horvitz HR, Han M. UNC-84 localizes to the nuclear envelope and is required for nuclear migration and anchoring during *C. elegans* development. *Development.* 1999;126(14):3171-81.
141. Starr DA, Han M. Role of ANC-1 in tethering nuclei to the actin cytoskeleton. *Science.* 2002;298(5592):406-9.

142. Gough LL, Beck KA. The spectrin family member Syne-1 functions in retrograde transport from Golgi to ER. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1693(1):29-36.
143. Gough LL, Fan J, Chu S, Winnick S, Beck KA. Golgi localization of Syne-1. *Mol Biol Cell*. 2003;14(6):2410-24.
144. Starr DA. A nuclear-envelope bridge positions nuclei and moves chromosomes. *J Cell Sci*. 2009;122(Pt 5):577-86.
145. Penkner AM, Fridkin A, Gloggnitzer J, Baudrimont A, Machacek T, Woglar A, et al. Meiotic chromosome homology search involves modifications of the nuclear envelope protein Matefin/SUN-1. *Cell*. 2009;139(5):920-33.
146. Padmakumar VC, Abraham S, Braune S, Noegel AA, Tunggal B, Karakesisoglou I, et al. Enaptin, a giant actin-binding protein, is an element of the nuclear membrane and the actin cytoskeleton. *Exp Cell Res*. 2004;295(2):330-9.
147. Zhang Q, Ragnauth C, Greener MJ, Shanahan CM, Roberts RG. The nesprins are giant actin-binding proteins, orthologous to *Drosophila melanogaster* muscle protein MSP-300. *Genomics*. 2002;80(5):473-81.
148. Zhang Q, Skepper JN, Yang F, Davies JD, Hegyi L, Roberts RG, et al. Nesprins: a novel family of spectrin-repeat-containing proteins that localize to the nuclear membrane in multiple tissues. *J Cell Sci*. 2001;114(Pt 24):4485-98.
149. Rajgor D, Shanahan CM. Nesprins: from the nuclear envelope and beyond. *Expert Rev Mol Med*. 2013;15:e5.
150. Libotte T, Zaim H, Abraham S, Padmakumar VC, Schneider M, Lu W, et al. Lamin A/C-dependent localization of Nesprin-2, a giant scaffold at the nuclear envelope. *Mol Biol Cell*. 2005;16(7):3411-24.
151. Zhang Q, Ragnauth CD, Skepper JN, Worth NF, Warren DT, Roberts RG, et al. Nesprin-2 is a multi-isomeric protein that binds lamin and emerin at the nuclear envelope and forms a subcellular network in skeletal muscle. *J Cell Sci*. 2005;118(Pt 4):673-87.
152. Apel ED, Lewis RM, Grady RM, Sanes JR. Syne-1, a dystrophin- and Klarsicht-related protein associated with synaptic nuclei at the neuromuscular junction. *J Biol Chem*. 2000;275(41):31986-95.
153. Wilhelmsen K, Litjens SH, Kuikman I, Tshimbalanga N, Janssen H, van den Bout I, et al. Nesprin-3, a novel outer nuclear membrane protein, associates with the cytoskeletal linker protein plectin. *J Cell Biol*. 2005;171(5):799-810.
154. Kolbel H, Abicht A, Schwartz O, Katona I, Paulus W, Neuen-Jacob E, et al. Characteristic clinical and ultrastructural findings in nesprinopathies. *Eur J Paediatr Neurol*. 2019;23(2):254-61.
155. Synofzik M, Smets K, Mallaret M, Di Bella D, Gallenmuller C, Baets J, et al. SYNE1 ataxia is a common recessive ataxia with major non-cerebellar features: a large multi-centre study. *Brain*. 2016;139(Pt 5):1378-93.

156. Schirmer EC, Guan T, Gerace L. Involvement of the lamin rod domain in heterotypic lamin interactions important for nuclear organization. *J Cell Biol.* 2001;153(3):479-89.
157. Lammerding J, Hsiao J, Schulze PC, Kozlov S, Stewart CL, Lee RT. Abnormal nuclear shape and impaired mechanotransduction in emerin-deficient cells. *J Cell Biol.* 2005;170(5):781-91.
158. Luderus ME, de Graaf A, Mattia E, den Blaauwen JL, Grande MA, de Jong L, et al. Binding of matrix attachment regions to lamin B1. *Cell.* 1992;70(6):949-59.
159. Laguri C, Gilquin B, Wolff N, Romi-Lebrun R, Courchay K, Callebaut I, et al. Structural characterization of the LEM motif common to three human inner nuclear membrane proteins. *Structure.* 2001;9(6):503-11.
160. Goldman RD, Shumaker DK, Erdos MR, Eriksson M, Goldman AE, Gordon LB, et al. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(24):8963-8.
161. Hoffmann K, Dreger CK, Olins AL, Olins DE, Shultz LD, Lucke B, et al. Mutations in the gene encoding the lamin B receptor produce an altered nuclear morphology in granulocytes (Pelger-Huet anomaly). *Nat Genet.* 2002;31(4):410-4.
162. Ulbert S, Platani M, Boue S, Mattaj IW. Direct membrane protein-DNA interactions required early in nuclear envelope assembly. *J Cell Biol.* 2006;173(4):469-76.
163. Ellenberg J, Siggia ED, Moreira JE, Smith CL, Presley JF, Worman HJ, et al. Nuclear membrane dynamics and reassembly in living cells: targeting of an inner nuclear membrane protein in interphase and mitosis. *J Cell Biol.* 1997;138(6):1193-206.
164. Haraguchi T, Koujin T, Hayakawa T, Kaneda T, Tsutsumi C, Imamoto N, et al. Live fluorescence imaging reveals early recruitment of emerin, LBR, RanBP2, and Nup153 to reforming functional nuclear envelopes. *J Cell Sci.* 2000;113 (Pt 5):779-94.
165. Haraguchi T, Holaska JM, Yamane M, Koujin T, Hashiguchi N, Mori C, et al. Emerin binding to Btf, a death-promoting transcriptional repressor, is disrupted by a missense mutation that causes Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Eur J Biochem.* 2004;271(5):1035-45.
166. Moir RD, Spann TP, Herrmann H, Goldman RD. Disruption of nuclear lamin organization blocks the elongation phase of DNA replication. *J Cell Biol.* 2000;149(6):1179-92.
167. Neiman ES. Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy. Medscape 2019.
168. CENTER ND, Washington University SL, MO USA www.neuromuscular.wustl.edu
169. Manilal S, Recan D, Sewry CA, Hoeltzenbein M, Llense S, Leturcq F, et al. Mutations in Emery-Dreifuss muscular dystrophy and their effects on emerin protein expression. *Hum Mol Genet.* 1998;7(5):855-64.
170. database TU-Em, Home. <http://www.umd.be/EMD/>.

171. Brown CA, Scharner J, Felice K, Meriggioli MN, Tarnopolsky M, Bower M, et al. Novel and recurrent EMD mutations in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy, identify exon 2 as a mutation hot spot. *J Hum Genet.* 2011;56(8):589-94.
172. Ziat E, Mamchaoui K, Beuvin M, Nelson I, Azibani F, Spuler S, et al. FHL1B Interacts with Lamin A/C and Emerin at the Nuclear Lamina and is Misregulated in Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy. *J Neuromuscul Dis.* 2016;3(4):497-510.
173. Emmanuele V, Kubota A, Garcia-Diaz B, Garone C, Akman HO, Sanchez-Gutierrez D, et al. Fhl1 W122S causes loss of protein function and late-onset mild myopathy. *Hum Mol Genet.* 2015;24(3):714-26.
174. Cowling BS, McGrath MJ, Nguyen MA, Cottle DL, Kee AJ, Brown S, et al. Identification of FHL1 as a regulator of skeletal muscle mass: implications for human myopathy. *J Cell Biol.* 2008;183(6):1033-48.
175. Yang Z, Browning CF, Hallaq H, Yermalitskaya L, Esker J, Hall MR, et al. Four and a half LIM protein 1: a partner for KCNA5 in human atrium. *Cardiovasc Res.* 2008;78(3):449-57.
176. Schoser B, Goebel HH, Janisch I, Quasthoff S, Rother J, Bergmann M, et al. Consequences of mutations within the C terminus of the FHL1 gene. *Neurology.* 2009;73(7):543-51.
177. Nigro G, Russo V, Ventriglia VM, Della Cioppa N, Palladino A, Nigro V, et al. Early onset of cardiomyopathy and primary prevention of sudden death in X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 2010;20(3):174-7.
178. Bonne G, Mercuri E, Muchir A, Urtizberea A, Becane HM, Recan D, et al. Clinical and molecular genetic spectrum of autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy due to mutations of the lamin A/C gene. *Ann Neurol.* 2000;48(2):170-80.
179. Benedetti S, Menditto I, Degano M, Rodolico C, Merlini L, D'Amico A, et al. Phenotypic clustering of lamin A/C mutations in neuromuscular patients. *Neurology.* 2007;69(12):1285-92.
180. Mukai T, Mori-Yoshimura M, Nishikawa A, Hokkoku K, Sonoo M, Nishino I, et al. Emery-Dreifuss muscular dystrophy-related myopathy with TMEM43 mutations. *Muscle Nerve.* 2019;59(2):E5-E7.
181. Deymeer F, Oge AE, Bayindir C, Kaymaz C, Nisanci Y, Adalet K, et al. Emery-Dreifuss muscular dystrophy with unusual features. *Muscle Nerve.* 1993;16(12):1359-65.
182. Johnston AW, McKay E. X linked muscular dystrophy with contractures. *J Med Genet.* 1986;23(6):591-5.
183. Mawatari S, Katayama K. Scapuloperoneal muscular atrophy with cardiopathy. An X-linked recessive trait. *Arch Neurol.* 1973;28(1):55-9.
184. Goldblatt J, Schram LJ, Wallis G, Oswald A, Beighton P. Emery-Dreifuss syndrome and X-linked muscular dystrophy with contractures: evidence for homogeneity. *Clin Genet.* 1989;35(1):1-4.

185. Jimenez-Escrig A, Gobernado I, Garcia-Villanueva M, Sanchez-Herranz A. Autosomal recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy caused by a novel mutation (R225Q) in the lamin A/C gene identified by exome sequencing. *Muscle Nerve*. 2012;45(4):605-10.
186. Tiffin HR, Jenkins ZA, Gray MJ, Cameron-Christie SR, Eaton J, Aftimos S, et al. Dysregulation of FHL1 spliceforms due to an indel mutation produces an Emery-Dreifuss muscular dystrophy plus phenotype. *Neurogenetics*. 2013;14(2):113-21.
187. Willis TA, Wood CL, Hudson J, Polvikoski T, Barresi R, Lochmuller H, et al. Muscle hypertrophy as the presenting sign in a patient with a complete FHL1 deletion. *Clin Genet*. 2016;90(2):166-70.
188. Verhaert D, Richards K, Rafael-Fortney JA, Raman SV. Cardiac involvement in patients with muscular dystrophies: magnetic resonance imaging phenotype and genotypic considerations. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2011;4(1):67-76.
189. Wang S, Peng D. Cardiac Involvement in Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy and Related Management Strategies. *Int Heart J*. 2019;60(1):12-8.
190. Vytopil M, Benedetti S, Ricci E, Galluzzi G, Dello Russo A, Merlini L, et al. Mutation analysis of the lamin A/C gene (LMNA) among patients with different cardiomyopathy phenotypes. *J Med Genet*. 2003;40(12):e132.
191. Voit T, Krogmann O, Lenard HG, Neuen-Jacob E, Wechsler W, Goebel HH, et al. Emery-Dreifuss muscular dystrophy: disease spectrum and differential diagnosis. *Neuropediatrics*. 1988;19(2):62-71.
192. Achmad C, Zada A, Affani M, Iqbal M, Martanto E, Purnomowati A, et al. A novel de novo mutation in Lamin A/C gene in Emery Dreifuss Muscular Dystrophy patient with atrial paralysis. *J Atr Fibrillation*. 2017;9(6):1511.
193. Hong JS, Ki CS, Kim JW, Suh YL, Kim JS, Baek KK, et al. Cardiac dysrhythmias, cardiomyopathy and muscular dystrophy in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy and limb-girdle muscular dystrophy type 1B. *J Korean Med Sci*. 2005;20(2):283-90.
194. Sanna T, Dello Russo A, Toniolo D, Vytopil M, Pelargonio G, De Martino G, et al. Cardiac features of Emery-Dreifuss muscular dystrophy caused by lamin A/C gene mutations. *Eur Heart J*. 2003;24(24):2227-36.
195. Boriani G, Gallina M, Merlini L, Bonne G, Toniolo D, Amati S, et al. Clinical relevance of atrial fibrillation/flutter, stroke, pacemaker implant, and heart failure in Emery-Dreifuss muscular dystrophy: a long-term longitudinal study. *Stroke*. 2003;34(4):901-8.
196. Wozakowska-Kaplon B, Bakowski D. Atrial paralysis due to progression of cardiac disease in a patient with Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Cardiol J*. 2011;18(2):189-93.
197. Marshall TM, Huckell VF. Atrial paralysis in a patient with Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1992;15(2):135-40.

198. Sumitani S, Ishikawa Y, Ishikawa Y, Minami R. [A boy with Emery-Dreifuss muscular dystrophy]. *No To Hattatsu*. 1995;27(1):34-40.
199. Fujiita T, Shimizu M, Kaku B, Kanaya H, Horita Y, Uno Y, et al. Abnormal sympathetic innervation of the heart in a patient with Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Ann Nucl Med*. 2005;19(5):411-4.
200. Carboni N, Mura M, Mercuri E, Marrosu G, Manzi RC, Cocco E, et al. Cardiac and muscle imaging findings in a family with X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. 2012;22(2):152-8.
201. Becane HM, Bonne G, Varnous S, Muchir A, Ortega V, Hammouda EH, et al. High incidence of sudden death with conduction system and myocardial disease due to lamins A and C gene mutation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2000;23(11 Pt 1):1661-6.
202. Cattin ME, Muchir A, Bonne G. 'State-of-the-heart' of cardiac laminopathies. *Curr Opin Cardiol*. 2013;28(3):297-304.
203. Bialer MG, McDaniel NL, Kelly TE. Progression of cardiac disease in Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Clin Cardiol*. 1991;14(5):411-6.
204. Higuchi Y, Hongou M, Ozawa K, Kokawa H, Masaki M. A family of Emery-Dreifuss muscular dystrophy with extreme difference in severity. *Pediatr Neurol*. 2005;32(5):358-60.
205. Bialer MG, Bruns DE, Kelly TE. Muscle enzymes and isoenzymes in Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Clin Chem*. 1990;36(3):427-30.
206. Hodgson S, Boswinkel E, Cole C, Walker A, Dubowitz V, Granata C, et al. A linkage study of Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Hum Genet*. 1986;74(4):409-16.
207. Hopkins LC, Jackson JA, Elsas LJ. Emery-dreifuss humeroperoneal muscular dystrophy: an x-linked myopathy with unusual contractures and bradycardia. *Ann Neurol*. 1981;10(3):230-7.
208. Rowinska-Marcinska K, Szmidt-Salkowska E, Fidzianska A, Zalewska E, Dorobek M, Karwanska A, et al. Atypical motor unit potentials in Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EDMD). *Clin Neurophysiol*. 2005;116(11):2520-7.
209. Sewry CA, Brown SC, Mercuri E, Bonne G, Feng L, Camici G, et al. Skeletal muscle pathology in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy with lamin A/C mutations. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2001;27(4):281-90.
210. Thomas PK, Calne DB, Elliott CF. X-linked scapuloperoneal syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1972;35(2):208-15.
211. Park YE, Hayashi YK, Goto K, Komaki H, Hayashi Y, Inuzuka T, et al. Nuclear changes in skeletal muscle extend to satellite cells in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy/limb-girdle muscular dystrophy 1B. *Neuromuscular disorders : NMD*. 2009;19(1):29-36.
212. Fidzianska A, Hausmanowa-Petrusewicz I. Architectural abnormalities in muscle nuclei. Ultrastructural differences between X-linked and autosomal dominant forms of EDMD. *J Neurol Sci*. 2003;210(1-2):47-51.

213. Gnocchi VF, Ellis JA, Zammit PS. Does satellite cell dysfunction contribute to disease progression in Emery-Dreifuss muscular dystrophy? *Biochem Soc Trans.* 2008;36(Pt 6):1344-9.
214. Frock RL, Kudlow BA, Evans AM, Jameson SA, Hauschka SD, Kennedy BK. Lamin A/C and emerin are critical for skeletal muscle satellite cell differentiation. *Genes Dev.* 2006;20(4):486-500.
215. Komaki H, Hayashi YK, Tsuburaya R, Sugie K, Kato M, Nagai T, et al. Inflammatory changes in infantile-onset LMNA-associated myopathy. *Neuromuscul Disord.* 2011;21(8):563-8.
216. Fidzianska A, Rowinska-Marcinska K, Hausmanowa-Petrusewicz I. Coexistence of X-linked recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy with inclusion body myositis-like morphology. *Acta Neuropathol.* 2004;107(3):197-203.
217. Manilal S, Sewry CA, Man N, Muntoni F, Morris GE. Diagnosis of X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy by protein analysis of leucocytes and skin with monoclonal antibodies. *Neuromuscul Disord.* 1997;7(1):63-6.
218. Di Blasi C, Morandi L, Raffaele di Barletta M, Bione S, Bernasconi P, Cerletti M, et al. Unusual expression of emerin in a patient with X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 2000;10(8):567-71.
219. Sabatelli P, Squarzone S, Petrini S, Capanni C, Ognibene A, Cartegni L, et al. Oral exfoliative cytology for the non-invasive diagnosis in X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy patients and carriers. *Neuromuscul Disord.* 1998;8(2):67-71.
220. Mora M, Cartegni L, Di Blasi C, Barresi R, Bione S, Raffaele di Barletta M, et al. X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy can be diagnosed from skin biopsy or blood sample. *Ann Neurol.* 1997;42(2):249-53.
221. Mercuri E, Counsell S, Allsop J, Jungbluth H, Kinali M, Bonne G, et al. Selective muscle involvement on magnetic resonance imaging in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuropediatrics.* 2002;33(1):10-4.
222. Merlini L. Selectivity of muscle sparing in Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders : NMD.* 2009;19(7):500-1.
223. Carboni N, Mura M, Marrosu G, Cocco E, Marini S, Solla E, et al. Muscle imaging analogies in a cohort of patients with different clinical phenotypes caused by LMNA gene mutations. *Muscle Nerve.* 2010;41(4):458-63.
224. Mercuri E, Clements E, Offiah A, Pichiecchio A, Vasco G, Bianco F, et al. Muscle magnetic resonance imaging involvement in muscular dystrophies with rigidity of the spine. *Ann Neurol.* 2010;67(2):201-8.
225. van Berlo JH, de Voogt WG, van der Kooi AJ, van Tintelen JP, Bonne G, Yaou RB, et al. Meta-analysis of clinical characteristics of 299 carriers of LMNA gene mutations: do lamin A/C mutations portend a high risk of sudden death? *J Mol Med (Berl).* 2005;83(1):79-83.

226. van Rijsingen IA, Nannenberg EA, Arbustini E, Elliott PM, Mogensen J, Hermans-van Ast JF, et al. Gender-specific differences in major cardiac events and mortality in lamin A/C mutation carriers. *Eur J Heart Fail*. 2013;15(4):376-84.
227. van Tintelen JP, Tio RA, Kerstjens-Frederikse WS, van Berlo JH, Boven LG, Suurmeijer AJ, et al. Severe myocardial fibrosis caused by a deletion of the 5' end of the lamin A/C gene. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(25):2430-9.
228. Hausmanowa-Petrusewicz I, Madej-Pilarczyk A, Marchel M, Opolski G. Emery-Dreifuss dystrophy: a 4-year follow-up on a laminopathy of special interest. *Neurol Neurochir Pol*. 2009;43(5):415-20.
229. Redondo-Verge L, Yaou RB, Fernandez-Recio M, Dinca L, Richard P, Bonne G. Cardioembolic stroke prompting diagnosis of LMNA-associated Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Muscle & nerve*. 2011;44(4):587-9.
230. Madej-Pilarczyk A. Professional activity of Emery-Dreifuss muscular dystrophy patients in Poland. *Int J Occup Med Environ Health*. 2014;27(2):270-7.
231. Hermans MC, Pinto YM, Merkies IS, de Die-Smulders CE, Crijns HJ, Faber CG. Hereditary muscular dystrophies and the heart. *Neuromuscul Disord*. 2010;20(8):479-92.
232. Fishbein MC, Siegel RJ, Thompson CE, Hopkins LC. Sudden death of a carrier of X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Ann Intern Med*. 1993;119(9):900-5.
233. TheTask Force on cardiac p, resynchronization therapy of the European Society of Cardiology . Developed in collaboration with the European Heart Rhythm A, Brignole M, Auricchio A, Baron-Esquivias G, Bordachar P, et al. 2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2014;67(1):58.
234. Meune C, Van Berlo JH, Anselme F, Bonne G, Pinto YM, Duboc D. Primary prevention of sudden death in patients with lamin A/C gene mutations. *N Engl J Med*. 2006;354(2):209-10.
235. Lampe AK, Flanigan KM, Bushby KM, Hicks D. Collagen Type VI-Related Disorders. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.
236. Scacheri PC, Gillanders EM, Subramony SH, Vedanarayanan V, Crowe CA, Thakore N, et al. Novel mutations in collagen VI genes: expansion of the Bethlem myopathy phenotype. *Neurology*. 2002;58(4):593-602.
237. Bushby KM, Collins J, Hicks D. Collagen type VI myopathies. *Adv Exp Med Biol*. 2014;802:185-99.
238. Merlini L, Martoni E, Grumati P, Sabatelli P, Squarzoni S, Urciuolo A, et al. Autosomal recessive myosclerosis myopathy is a collagen VI disorder. *Neurology*. 2008;71(16):1245-53.
239. Rautavuoma K, Takaluoma K, Sormunen R, Myllyharju J, Kivirikko KI, Soininen R. Premature aggregation of type IV collagen and early lethality in lysyl hydroxylase 3 null mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(39):14120-5.

240. Engel J, Furthmayr H, Odermatt E, von der Mark H, Aumailley M, Fleischmajer R, et al. Structure and macromolecular organization of type VI collagen. *Ann N Y Acad Sci.* 1985;460:25-37.
241. Colombatti A, Mucignat MT, Bonaldo P. Secretion and matrix assembly of recombinant type VI collagen. *J Biol Chem.* 1995;270(22):13105-11.
242. Furthmayr H, Wiedemann H, Timpl R, Odermatt E, Engel J. Electron-microscopical approach to a structural model of intima collagen. *Biochem J.* 1983;211(2):303-11.
243. Bernardi P, Bonaldo P. Dysfunction of mitochondria and sarcoplasmic reticulum in the pathogenesis of collagen VI muscular dystrophies. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1147:303-11.
244. Kuo HJ, Maslen CL, Keene DR, Glanville RW. Type VI collagen anchors endothelial basement membranes by interacting with type IV collagen. *J Biol Chem.* 1997;272(42):26522-9.
245. Bonaldo P, Russo V, Bucciotti F, Doliana R, Colombatti A. Structural and functional features of the alpha 3 chain indicate a bridging role for chicken collagen VI in connective tissues. *Biochemistry.* 1990;29(5):1245-54.
246. Bidanset DJ, Guidry C, Rosenberg LC, Choi HU, Timpl R, Hook M. Binding of the proteoglycan decorin to collagen type VI. *J Biol Chem.* 1992;267(8):5250-6.
247. Brown JC, Golbik R, Mann K, Timpl R. Structure and stability of the triple-helical domains of human collagen XIV. *Matrix Biol.* 1994;14(4):287-95.
248. Brown RE, Butler JP, Rogers RA, Leith DE. Mechanical connections between elastin and collagen. *Connect Tissue Res.* 1994;30(4):295-308.
249. Hansen U, Allen JM, White R, Moscibrocki C, Bruckner P, Bateman JF, et al. WARP interacts with collagen VI-containing microfibrils in the pericellular matrix of human chondrocytes. *PLoS One.* 2012;7(12):e52793.
250. Sabatelli P, Bonaldo P, Lattanzi G, Braghetta P, Bergamin N, Capanni C, et al. Collagen VI deficiency affects the organization of fibronectin in the extracellular matrix of cultured fibroblasts. *Matrix Biol.* 2001;20(7):475-86.
251. Bonnemann CG. The collagen VI-related myopathies Ullrich congenital muscular dystrophy and Bethlem myopathy. *Handb Clin Neurol.* 2011;101:81-96.
252. Braghetta P, Ferrari A, Fabbro C, Bizzotto D, Volpin D, Bonaldo P, et al. An enhancer required for transcription of the Col6a1 gene in muscle connective tissue is induced by signals released from muscle cells. *Exp Cell Res.* 2008;314(19):3508-18.
253. Zou Y, Zhang RZ, Sabatelli P, Chu ML, Bonnemann CG. Muscle interstitial fibroblasts are the main source of collagen VI synthesis in skeletal muscle: implications for congenital muscular dystrophy types Ullrich and Bethlem. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2008;67(2):144-54.
254. Jobsis GJ, Keizers H, Vreijling JP, de Visser M, Speer MC, Wolterman RA, et al. Type VI collagen mutations in Bethlem myopathy, an autosomal dominant myopathy with contractures. *Nat Genet.* 1996;14(1):113-5.

255. Camacho Vanegas O, Bertini E, Zhang RZ, Petrini S, Minosse C, Sabatelli P, et al. Ullrich scleroatonic muscular dystrophy is caused by recessive mutations in collagen type VI. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(13):7516-21.
256. Gregorio I, Braghetta P, Bonaldo P, Cescon M. Collagen VI in healthy and diseased nervous system. *Dis Model Mech*. 2018;11(6).
257. Cescon M, Gregorio I, Eiber N, Borgia D, Fusto A, Sabatelli P, et al. Collagen VI is required for the structural and functional integrity of the neuromuscular junction. *Acta Neuropathol*. 2018;136(3):483-99.
258. Voit T. Congenital muscular dystrophies: 1997 update. *Brain Dev*. 1998;20(2):65-74.
259. Pepe G, Bertini E, Bonaldo P, Bushby K, Giusti B, de Visser M, et al. Bethlem myopathy (BETHLEM) and Ullrich scleroatonic muscular dystrophy: 100th ENMC international workshop, 23-24 November 2001, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord*. 2002;12(10):984-93.
260. Lampe AK, Bushby KM. Collagen VI related muscle disorders. *J Med Genet*. 2005;42(9):673-85.
261. Bertini E, Pepe G. Collagen type VI and related disorders: Bethlem myopathy and Ullrich scleroatonic muscular dystrophy. *Eur J Paediatr Neurol*. 2002;6(4):193-8.
262. Mohire MD, Tandan R, Fries TJ, Little BW, Pendlebury WW, Bradley WG. Early-onset benign autosomal dominant limb-girdle myopathy with contractures (Bethlem myopathy). *Neurology*. 1988;38(4):573-80.
263. Mercuri E, Yuva Y, Brown SC, Brockington M, Kinali M, Jungbluth H, et al. Collagen VI involvement in Ullrich syndrome: a clinical, genetic, and immunohistochemical study. *Neurology*. 2002;58(9):1354-9.
264. Mercuri E, Cini C, Counsell S, Allsop J, Zolkipli Z, Jungbluth H, et al. Muscle MRI findings in a three-generation family affected by Bethlem myopathy. *Eur J Paediatr Neurol*. 2002;6(6):309-14.
265. Mercuri E, Cini C, Pichiecchio A, Allsop J, Counsell S, Zolkipli Z, et al. Muscle magnetic resonance imaging in patients with congenital muscular dystrophy and Ullrich phenotype. *Neuromuscul Disord*. 2003;13(7-8):554-8.
266. Saitta B, Chu ML. Characterization of the human alpha 1(VI) collagen promoter and its comparison with human alpha 2(VI) promoters. *Eur J Biochem*. 1995;234(2):542-9.
267. Dziadek M, Kazenwadel JS, Hendrey JA, Pan TC, Zhang RZ, Chu ML. Alternative splicing of transcripts for the alpha 3 chain of mouse collagen VI: identification of an abundant isoform lacking domains N7-N10 in mouse and human. *Matrix Biol*. 2002;21(3):227-41.
268. Dubowitz V. Rigid spine syndrome: a muscle syndrome in search of a name. *Proc R Soc Med*. 1973;66(3):219-20.
269. Moghadaszadeh B, Petit N, Jaillard C, Brockington M, Quijano Roy S, Merlini L, et al. Mutations in SEPNI cause congenital muscular dystrophy with spinal rigidity and restrictive respiratory syndrome. *Nat Genet*. 2001;29(1):17-8.

270. Ferreiro A, Quijano-Roy S, Pichereau C, Moghadaszadeh B, Goemans N, Bonnemann C, et al. Mutations of the selenoprotein N gene, which is implicated in rigid spine muscular dystrophy, cause the classical phenotype of multiminicore disease: reassessing the nosology of early-onset myopathies. *Am J Hum Genet.* 2002;71(4):739-49.
271. Dai Y, Liang S, Huang Y, Chen L, Banerjee S. Targeted next generation sequencing identifies two novel mutations in SEPNI in rigid spine muscular dystrophy 1. *Oncotarget.* 2016;7(51):83843-9.
272. Merlini L, Granata C, Ballestrazzi A, Marini ML. Rigid spine syndrome and rigid spine sign in myopathies. *J Child Neurol.* 1989;4(4):274-82.
273. Bione S, Small K, Aksmanovic VM, D'Urso M, Ciccodicola A, Merlini L, et al. Identification of new mutations in the Emery-Dreifuss muscular dystrophy gene and evidence for genetic heterogeneity of the disease. *Hum Mol Genet.* 1995;4(10):1859-63.
274. Small K, Iber J, Warren ST. Emerin deletion reveals a common X-chromosome inversion mediated by inverted repeats. *Nat Genet.* 1997;16(1):96-9.
275. Dai Y, Wei X, Zhao Y, Ren H, Lan Z, Yang Y, et al. A comprehensive genetic diagnosis of Chinese muscular dystrophy and congenital myopathy patients by targeted next-generation sequencing. *Neuromuscul Disord.* 2015;25(8):617-24.
276. Brown CA, Lanning RW, McKinney KQ, Salvino AR, Cherniske E, Crowe CA, et al. Novel and recurrent mutations in lamin A/C in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am J Med Genet.* 2001;102(4):359-67.
277. Nallamilli BRR, Chakravorty S, Kesari A, Tanner A, Ankala A, Schneider T, et al. Genetic landscape and novel disease mechanisms from a large LGMD cohort of 4656 patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2018;5(12):1574-87.
278. Vanegas OC, Zhang RZ, Sabatelli P, Lattanzi G, Bencivenga P, Giusti B, et al. Novel COL6A1 splicing mutation in a family affected by mild Bethlem myopathy. *Muscle Nerve.* 2002;25(4):513-9.
279. Butterfield RJ, Foley AR, Dastgir J, Asman S, Dunn DM, Zou Y, et al. Position of glycine substitutions in the triple helix of COL6A1, COL6A2, and COL6A3 is correlated with severity and mode of inheritance in collagen VI myopathies. *Hum Mutat.* 2013;34(11):1558-67.
280. Carvalho AA, Levy JA, Gutierrez PS, Marie SK, Sosa EA, Scanavaca M. Emery-Dreifuss muscular dystrophy: anatomical-clinical correlation (case report). *Arq Neuropsiquiatr.* 2000;58(4):1123-7.
281. Muntoni F, Bonne G, Goldfarb LG, Mercuri E, Piercy RJ, Burke M, et al. Disease severity in dominant Emery Dreifuss is increased by mutations in both emerin and desmin proteins. *Brain.* 2006;129(Pt 5):1260-8.
282. Steckiewicz R, Stolarz P, Swieton E, Madej-Pilarczyk A, Grabowski M, Marchel M, et al. Cardiac pacing in 21 patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy: a single-centre study with a 39-year follow-up. *Kardiol Pol.* 2016;74(6):576-83.

283. Darras BT. Emery-Dreifuss muscular dystrophy. www.uptodate.com. 2018.
284. Astejada MN, Goto K, Nagano A, Ura S, Noguchi S, Nonaka I, et al. Emerinopathy and laminopathy clinical, pathological and molecular features of muscular dystrophy with nuclear envelopathy in Japan. *Acta Myol*. 2007;26(3):159-64.
285. Poewe W, Willeit H, Sluga E, Mayr U. The rigid spine syndrome--a myopathy of uncertain nosological position. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1985;48(9):887-93.
286. Esteban LsPs-dOCRG-LpDCMMadMMTAFn-MJs. Bethlem myopathy: a series of 16 patients and description of seven new associated mutations. *Journal of Neurology* <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09217-z>. 2019.
287. Deymeer F, Serdaroglu P, Poda M, Gulsen-Parman Y, Ozcelik T, Ozdemir C. Segmental distribution of muscle weakness in SMA III: implications for deterioration in muscle strength with time. *Neuromuscul Disord*. 1997;7(8):521-8.
288. Helbling-Leclerc A, Bonne G, Schwartz K. Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Eur J Hum Genet*. 2002;10(3):157-61.
289. Hausmanowa-Petrusewicz I, Borkowska J. Intrafamilial variability of X-linked progressive muscular dystrophy. Mild and acute form of X-linked muscular dystrophy in the same family. *J Neurol*. 1978;218(1):43-50.
290. Vohanka S, Vytopil M, Bednarik J, Lukas Z, Kadanka Z, Schildberger J, et al. A mutation in the X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy gene in a patient affected with conduction cardiomyopathy. *Neuromuscul Disord*. 2001;11(4):411-3.
291. Yates JR, Wehnert M. The Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy Mutation Database. *Neuromuscul Disord*. 1999;9(3):199.
292. Tasca G, Iannaccone E, Monforte M, Masciullo M, Bianco F, Laschena F, et al. Muscle MRI in Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. 2012;22 Suppl 2:S100-6.
293. Yates JR, Affara NA, Jamieson DM, Ferguson-Smith MA, Hausmanowa-Petrusewicz I, Zaremba J, et al. Emery-Dreifuss muscular dystrophy: localisation to Xq27.3----qter confirmed by linkage to the factor VIII gene. *J Med Genet*. 1986;23(6):587-90.
294. Carboni N, Mura M, Politano L, Cocco E, Marrosu G, Marrosu MG. Muscle MRI in female carriers of emerinopathy. *Eur J Neurol*. 2013;20(11):e127.
295. Meinke P, Schneiderat P, Srsen V, Korfali N, Le Thanh P, Cowan GJ, et al. Abnormal proliferation and spontaneous differentiation of myoblasts from a symptomatic female carrier of X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. 2015;25(2):127-36.
296. Mercuri E, Manzur AY, Jungbluth H, Bonne G, Muchir A, Sewry C, et al. Early and severe presentation of autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EMD2). *Neurology*. 2000;54(8):1704-5.
297. Worman HJ. Nuclear lamins and laminopathies. *J Pathol*. 2012;226(2):316-25.
298. Punetha J, Kesari A, Uapinyoying P, Giri M, Clarke NF, Waddell LB, et al. Targeted Re-Sequencing Emulsion PCR Panel for Myopathies: Results in 94 Cases. *J Neuromuscul Dis*. 2016;3(2):209-25.

299. Cardiff THGMDatIoMGi. <http://www.hgmd.cf.ac.uk>.
300. Information NCfB. www.ncbi.nlm.nih.gov.
301. Leiden Muscular Dystrophy pages © CfHaCG, Leiden University Medical Center. www.databases.lovd.nl. 2019.
302. Scharner J, Brown CA, Bower M, Iannaccone ST, Khatri IA, Escolar D, et al. Novel LMNA mutations in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy and functional characterization of four LMNA mutations. *Hum Mutat*. 2011;32(2):152-67.
303. Colomer J, Iturriaga C, Bonne G, Schwartz K, Manilal S, Morris GE, et al. Autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy: a new family with late diagnosis. *Neuromuscul Disord*. 2002;12(1):19-25.
304. Jobsis GJ, Boers JM, Barth PG, de Visser M. Bethlem myopathy: a slowly progressive congenital muscular dystrophy with contractures. *Brain*. 1999;122 (Pt 4):649-55.
305. Merlini L, Morandi L, Granata C, Ballestrazzi A. Bethlem myopathy: early-onset benign autosomal dominant myopathy with contractures. Description of two new families. *Neuromuscul Disord*. 1994;4(5-6):503-11.
306. Cescon M, Gattazzo F, Chen P, Bonaldo P. Collagen VI at a glance. *J Cell Sci*. 2015;128(19):3525-31.
307. Bönnemann CG. The collagen VI-related myopathies: muscle meets its matrix. *Nat Rev Neurol* Author manuscript; available in PMC 2017 January 04. 2017;Nat Rev Neurol. ; 7(7): 379–390. doi:10.1038/nrneurol.2011.81.
308. Paulo Victor Sgobbi de Souza TB, Jhonatan Rafael Siqueira Pinheiro FGMN, Wladimir Bocca Vieira de Rezende Pinto, Acary Souza Bulle Oliveira. Collagen type VI-related myopathy. *Pract Neurol* 2017;0:1 doi:10.1136/practneurol-2017-001661. 2017.
309. Kim SY, Kim WJ, Kim H, Choi SA, Lee JS, Cho A, et al. Collagen VI-related myopathy: Expanding the clinical and genetic spectrum. *Muscle Nerve*. 2018;58(3):381-8.
310. Cruz S, Figueroa-Bonaparte S, Gallardo E, de Becdelievre A, Gartioux C, Allamand V, et al. Bethlem Myopathy Phenotypes and Follow Up: Description of 8 Patients at the Mildest End of the Spectrum. *J Neuromuscul Dis*. 2016;3(2):267-74.
311. Fan Y, Liu A, Wei C, Yang H, Chang X, Wang S, et al. Genetic and clinical findings in a Chinese cohort of patients with collagen VI-related myopathies. *Clin Genet*. 2018;93(6):1159-71.
312. James J. Dowling KNN, Hans H. Goebel and Alan H. Beggs. Congenital and other Structural Myopathies Basil T. Darras HRJ, Jr., Monique editor. *Neuromuscular Disorders of Infancy, Childhood, and Adolescence: A Clinician's approach* 2015.
313. Yonekawa T, Nishino I. Ullrich congenital muscular dystrophy: clinicopathological features, natural history and pathomechanism(s). *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(3):280-7.

8. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı soyadı: Gulshan Yunisova

Yabancı dil bilgisi: Azerice, Türkçe, İngilizce, Rusça

Görev yeri: İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim dalı

E-posta adresi: gulshanyunisova@gmail.com

Telefon: +90 553 115 97 37

EĞİTİM BİLGİLERİ

Mezun olduğu üniversite/fakülteyi lütfen belirtiniz: Azerbeycan Tıp Fakültesi, Bakü, Azerbeycan, 2012

İŞ TECRÜBESİNE AİT BİLGİLER

Bugüne kadar çalıştığı kurum/kuruluşları lütfen belirtiniz: İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilimdalı (2014-halen)

Oslo Üniversitesi, 2012-2013