



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**FRONTOTEMPORAL LOBAR DEJENERASYON  
SPEKTRUMUNDA *C9orf72* GENİ GGGGCC  
HEKSANÜKLEOTİD TEKRAR ARTIŞLARI İLE FENOTİPİK  
ÇEŞİTLİLİĞİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**EBRU ERZURUMLUOĞLU**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. SEVİLHAN ARTAN**

**2017**



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**FRONTOTEMPORAL LOBAR DEJENERASYON  
SPEKTRUMUNDA *C9orf72* GENİ GGGGCC  
HEKSANÜKLEOTİD TEKRAR ARTIŞLARI İLE FENOTİPİK  
ÇEŞİTLİLİĞİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**EBRU ERZURUMLUOĞLU**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. SEVİLHAN ARTAN**

**PROJE NO: 114S346 (TÜBİTAK 1001)**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Ebru ERZURUMLUOĞLU 'nun Doktora Tezi olarak hazırladığı "Frontotemporal Lobar Dejenerasyon Spektrumunda C9ORF72 Geni GGGGCC Heksanükleotid Tekrar Artışları ile Fenotipik Çeşitliliğin Karşılaştırılması" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih  
24/ 11/ 2017

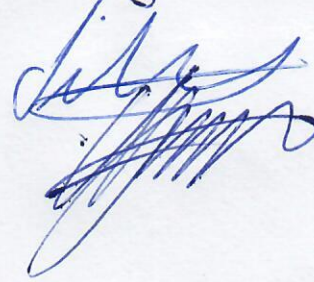
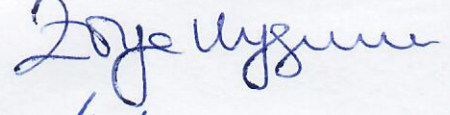
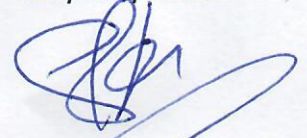
Üye: Prof. Dr. Sevilhan ARTAN

Üye: Prof. Dr. Serhat ÖZKAN

Üye: Prof. Dr. Zehra Oya UYGUNER

Üye: Doç. Dr. Sibel Aylın UĞUR İŞERİ

Üye: Yrd. Doç. Dr. Oğuz ÇİLİNGİR



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 27 / 11 / 2017 tarih ve 1149/5622 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ  
Enstitü Müdürü

## Özet

Frontotemporal lobar dejenerasyon (FTLD); klinik, patolojik ve genetik olarak heterojen progresif beyin hastalıkları grubunu tanımlamaktadır. Familial ALS (Amyotrofik lateral skleroz) ve FTD (Frontotemporal Demans)'nin major sebebi olarak *C9orf72* geninin kodlamayan bölgesindeki patojenik >30 heksanükleotid (GGGGCC) tekrar artışları tanımlanmıştır.

Çalışmamızda; FTLD spektrumunda *C9orf72* GGGGCC tekrar artışlarının Türk olgularda frekansının belirlenmesi ve bu tekrar artışlarının fenotip üzerindeki etkilerinin saptanması amaçlanmıştır. FTLD spektrumundan tanı almış ve *MAPT*, *PGRN*, *CHMP2B*, *VCP*, *TARDBP*, *FUS* genlerinde herhangi patojenik bir mutasyon saptanmamış 100 olgu ile nörolojik/psikiyatrik olarak patolojik bir bulgusu olmayan yaşla uyumlu 100 kontrol bireyinde bu heksanükleotid tekrar sayıları RP-PCR (repeat primed PCR) ve sizing-PCR yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Olgularımızın %67'si sporadik, %33'ü ailesel olarak sınıflanmış ve sporadik olguların hiçbirinde patojenik tekrar artışı saptanmamıştır. Ancak ailesel olgulardan bir olguda (1/33) patojenik aralıkta (>30) tekrar saptanmıştır. Olgu ve kontroller arasında tekrar sayıları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Olgularımızın %4'ünde orta derece (20-30) tekrar saptanmıştır. Psikotik belirtilere sahip hastalarda orta/patojenik tekrarların baskınlığı görülmüştür.

Çalışmamız Türkiye FTLD spektrumu için *C9orf72* GGGGCC tekrar artışlarının frekansının ve klinik üzerindeki etkisinin değerlendirilmesine yönelik bilgimiz dahilindeki ilk çalışmadır. Çalışmamız sonucunda patojenik tekrar artışlarının Türkiye FTLD olgularında çok yaygın görülmediği ancak orta derece tekrarların FTLD için artmış bir risk faktörü olabileceği ya da bir modifiye edici gen olarak görev yapabileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra psikotik semptomlarla bu orta/patojenik tekrar artışlarının korelasyonunun prognostik açıdan önemli olabileceği düşüncesindeyiz. FTLD tanılı bir olguda sizing-PCR yöntemiyle belirlemeyemediğimiz patojenik tekrar sayısı, RP-PCR yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Bu nedenle iki yöntemin birlikte kullanılması tekrar sayısının belirlenmesinde daha etkindir.

Sonuç olarak, Türk FTLD hastalarında *C9orf72* GGGGCC ekspansiyon frekansı için yeni veriler elde edilmiştir. Ancak, *C9orf72* ekspansiyon frekansının kesin olarak saptanması için verilerimiz Türk popülasyonundaki farklı etnik grup FTLD hastalarında daha ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Orta derece tekrar içeren bireylerde yapılacak metilasyon, ekspresyon ve postmortem çalışmalar *C9orf72* geninde bu tekrarların patojenik etkisi hakkında bilgi verici olacaktır. Bunun yanı sıra bu artışlar etrafındaki indellerin belirlenmesi ve ortak PCR yöntemlerinin kullanılması *C9orf72* popülasyon frekansının gerçek oranını belirlemede daha etkili olacaktır.

**Anahtar Kelimeler: Frontotemporal Lobar Dejenerasyonu, Frontotemporal Demans, C9orf72, RP-PCR, Sizing-PCR**

## Summary

Frontotemporal lobar degeneration (FTLD); describes a group of progressive brain disorders that are clinically, pathologically, and genetically heterogeneous. Pathogenic >30 repeats of a noncoding GGGGCC hexanucleotide repeats in the *C9orf72* gene have been defined as a major cause of both familial FTLD and amyotrophic lateral sclerosis (ALS).

In our study; it was aimed to determine the prevalence of *C9orf72* GGGGCC repeat expansion in the Turkish cases with FTLD spectrum and to determine the effects on the phenotype. The repeats in *C9orf72* gene were analysed by the repeat-primed PCR (RP-PCR) and sizing-PCR techniques in the FTLD-diagnosed cases who had no mutations for FTLD-related genes (*MAPT*, *PGRN*, *CHMP2B*, *VCP*, *TARDBP*, *FUS*) that had been previously analysed by the NGS technique. For control group same age and healthy individuals without pathologic neurological/psychiatric findings were analysed by the same techniques.

Of our cases, 67% were sporadic, 33% were classified as familial. No pathogenic expansion was detected in any of the sporadic cases. However, the pathogenic range expansion (>30) was found in one of the familial cases (1/33). The allele length difference between the cases and controls was statistically significant. An intermediate (20-30) repeat was detected in 4% of our cases. The dominance of intermediate/pathogenic repeats was seen in the cases with psychotic symptoms.

This study is the first examination of *C9orf72* GGGGCC repeat expansions in the Turkish cases with FTLD spectrum. As a result of our study, it is thought that *C9orf72* pathogenic repeat expansion is not common in Turkish FTLD cases, but intermediate repeat may be an increased risk factor for FTLD or may act as a modifying gene. In addition, we believe that the correlation of these intermediate/pathogenic repeats with psychotic symptoms may prognostically important. In one case with FTLD, pathogenic repeats were not identified by sizing-PCR whereas the pathogenic expansion was revealed by the RP-PCR. Therefore, the combination of the both methods is more effective in determining hexanucleotide expansions.

In conclusion, we presented novel data of the frequency of *C9orf72* GGGGCC expansions in Turkish FTLD patients. However, our study data should be supported by further studies in different ethnic groups for detection of *C9orf72* expansion frequency in FTLD patients. Methylation, expression, and postmortem studies should be conducted in cases who have intermediate repeat to gain insight into the possible pathogenic effect for *C9orf72* gene. Identification of the indels around GGGGCC repeats and revealing the repeat size by same techniques would be more effective in determining the true ratio of *C9orf72* population frequency.

**Key Words: Frontotemporal Lobar Degeneration, Frontotemporal Dementia, C9ORF72, RP-PCR, Sizing-PCR**

# İçindekiler

	Sayfa
Kabul ve Onay Sayfası	ii
Özet	iii
Summary	iv
İçindekiler	v
Tablo Dizini	viii
Şekil Dizini	ix
Simge ve Kısaltmalar Dizini	xi
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 Tanım ve Tarihçe	3
2.2 Epidemiyoloji	3
2.3 Klinik Özellikler ve Sınıflama	4
2.3.1 Davranış varyantı FTD (dvFTD)	4
2.3.2 Dil varyantları	5
2.3.2.1 Semantik varyant FTD (svFTD)	5
2.3.2.2 Primer progresif tutuk afazi (PPTA)	5
2.3.3 Örtüşme gösteren diğer sendromlar	6
2.4 Nöropatolojik Özellikler	6
2.4.1- FTLD-tau (Tau-pozitif FTD)	7
2.4.2- FTLD-TDP (TDP-43 pozitif FTD)	8
2.4.3- FTD-FUS	8
2.4.4- FTLD-UPS ve FTLD-ni	9
2.5 Genetik Özellikler	9
2.5.1 Mikrotübül ilişkili protein tau ( <i>MAPT</i> )	10
2.5.2 Progranulin ( <i>PGRN</i> )	11

	Sayfa
2.5.3 Nadir gözlenen genler	13
2.6. Chromosome 9 Open Reading Frame 72 ( <i>C9orf72</i> )	15
2.6.1 <i>C9orf72</i> geninin yapısı	15
2.6.2 <i>C9orf72</i> ekspansiyonunun patojenik mekanizması	16
2.6.2.1 <i>C9orf72</i> fonksiyon kaybı	17
2.6.2.2 <i>C9orf72</i> RNA toksisitesi	19
2.6.2.3 <i>C9orf72</i> dipeptid protein toksisitesi (RAN(repeat-associated non-ATG) translasyonu)	20
2.6.3 <i>C9orf72</i> GGGGCC ekspansiyonu ve FTLD	21
2.6.3.1 Normal ve hastalıkla ilişkili GGGGCC uzunluğu	21
2.6.3.2 Görülme sıklığı	22
2.6.3.3 <i>C9orf72</i> taşıyıcılarında klinik ve nöropatolojik özellikler	23
2.6.3.4 Modifiye edici faktörler	24
2.7 <i>C9orf72</i> GGGGCC Artışında Kullanılan Analiz Yöntemleri	25
2.7.1 <i>C9orf72</i> Size PCR	25
2.7.2 <i>C9orf72</i> Repeat Prime PCR	26
3 GEREÇ VE YÖNTEMLER	28
3.1 Araştırma Grubu	28
3.2 Gereçler	28
3.2.1 Kullanılan aletler	28
3.2.2 Kullanılan kimyasal maddeler	29
3.3 Yöntemler	29
3.3.1 Materyal alımı	29
3.3.2 Periferik kan örneklerinden DNA elde edilmesi	29
3.3.3 <i>C9orf72</i> geni GGGGCC tekrar sayılarının Size-PCR ve RP-PCR ile belirlenmesi	30

	Sayfa
3.3.3.1 Ürünlerin fragman analizi için cihaza yüklenmesi	32
3.3.3.2 Tekrar sayılarının analizi	32
3.3.4 İstatistiksel analiz	34
4 BULGULAR	35
4.1 Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri	35
4.2 Yöntem ve Değerlendirmeye İlişkin Bulgular	36
4.3 <i>C9orf72</i> GGGGCC Tekrar Sayısına Ait Bulgular	36
4.3.1 FTLD spektrumu ve kontrol olgularında <i>C9orf72</i> GGGGCC heksanükleotid tekrar dağılımları	37
4.3.2 FTLD spektrumu alt tiplerinde tekrar sayılarına ait bulgular	37
4.3.3 Psikotik semptomlar, aile öyküsü pozitifliği ve hastalık başlangıç yaşında tekrar sayıları dağılımı	38
4.3.4 Orta derece ve patojenik tekrar taşıyan olguların klinik bulguları	40
5 TARTIŞMA	43
5.1 FTLD Spektrumu ve Kontrol Olgularında <i>C9orf72</i> GGGGCC Heksanükleotid Tekrar Dağılımlarının Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması	44
5.2 FTLD Spektrumunda <i>C9orf72</i> Orta derece/Patojenik GGGGCC Heksanükleotid Tekrar Dağılımları ve Klinik Özelliklerinin Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması	50
6 SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR DİZİNİ	57
EKLER DİZİNİ	72
ÖZGEÇMİŞ	76



## Tablo Dizini

	Sayfa
Tablo 2.1. FTD' de genotip-fenotip korelasyonu	15
Tablo 3.1. Bir PCR reaksiyonu için gerekli ürünler ve miktarları	30
Tablo 3.2. Size-PCR ve RP -PCR için PCR şartları	31
Tablo 4.1. FTLD olgu grubuna ait özellikler	36
Tablo 4.2. FTLD olgu grubunda tekrar sayısı dağılımı	38
Tablo 4.3. FTLD olgu grubunda tekrar sayılarının psikotik semptom ve aile öyküsüne göre dağılımı	39
Tablo 4.4. Orta derece ve patojenik tekrar taşıyan olguların klinik bulguları	40
Tablo 5.1. <i>C9orf72</i> heksanükleotid ekspansiyonunun populasyonlar arası dağılımı	44

## Şekil Dizini

	Sayfa
Şekil 2.1. Frontotemporal demans sınıflandırması	4
Şekil 2.2. FTLD patolojik sınıflandırması	7
Şekil 2.3 FTLD ilişkili genlerin şematik gösterimi	10
Şekil 2.4. Nörodenerasyonda tau patogenezi	11
Şekil 2.5. <i>C9orf72</i> geninin yapısı	16
Şekil 2.6. <i>C9orf72</i> GGGGCC tekrarlarının patojenik mekanizmaları	17
Şekil 2.7. <i>C9orf72</i> GGGGCC tekrarlarının oluşturduğu G-quadrupleks ve R-loop yapıları	19
Şekil 2.8. <i>C9orf72</i> GGGGCC tekrar artışlarının hnRNP' lerle ilişkisi	20
Şekil 2.9. DPR' lerin etkilediği patojenik mekanizmalar	21
Şekil 2.10. <i>C9orf72</i> -Size PCR kiti çalışma prensibi ve PCR sonucu elde edilen ürünlerin kapiler elektroforezde görüntülenmesi	26
Şekil 2.11 Repeat-primed PCR için kullanılan primerlerin şematik gösterimi	27
Şekil 2.12. <i>C9orf72</i> -Repeat Primed PCR kiti çalışma prensibi ve PCR sonucu elde edilen ürünlerin kapiler elektroforezde görüntülenmesi	27
Şekil 3.1. Size PCR yorumu	33
Şekil 3.2. RP PCR yorumu	33
Şekil 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyete göre dağılımları	35
Şekil 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında tekrar sayıları dağılımı	37

## Şekil Dizini (devam ediyor)

	Sayfa
Şekil 4.3. FTLD olgu grubunda tekrar sayılarının hastalık başlangıç yaşına göre dağılımı	39
Şekil 4.4. Orta derece heterozigot (2-24) tekrar taşıyan olgu İ4'e ait size ve RP-PCR görüntüleri	41
Şekil 4.5. Patojenik (2->30) tekrar taşıyan olgu E1'e ait size ve RP-PCR görüntüleri	41
Şekil 4.6. Normal aralıkta heterozigot (2-7) tekrar taşıyan olguya ait size ve RP-PCR görüntüleri	42
Şekil 4.7. Normal aralıkta homozigot (4-4) tekrar taşıyan olguya ait size ve RP-PCR görüntüleri	42
Şekil 5.1. Viking göç yolları	47

## Simge ve Kısaltmalar Dizini

FTLD	Frontotemporal lobar dejenerasyon
FTD	Frontotemporal demans
dvFTD	Davranış varyantı FTD
svFTD	Semantik varyant FTD
PPTA	Primer progresif tutuk afazi
MNH	Motor nöron hastalığı
ALS	Amyotrofik lateral skleroz
<i>C9orf72</i>	Chromosome 9 open reading frame 72
<i>MAPT</i>	Microtubule-associated protein tau
<i>PGRN</i>	Progranulin
<i>TARDBP</i>	TAR DNA binding protein
<i>FUS</i>	Fused in sarcoma
RAN translasyonu	Repeat-associated non-ATG translasyonu
DPR	Dipeptid repeat proteinleri
hnRNP	Heterojen nükleer ribonükleoprotein
RBP	RNA bağlayıcı protein
RP-PCR	Repeat Primed Polymerase Chain Reaction

## 1- GİRİŞ VE AMAÇ

Frontotemporal lobar dejenerasyon (FTLD), etiyoloji ve nöropatoloji açısından heterojen olan ancak morfolojik olarak frontal ve/veya temporal korteksin atrofisi özelliğini paylaşan progresif beyin hastalıkları grubunu tanımlamaktadır. İlk olarak 1892'de Arnold Pick tarafından tanımlanmış olan frontotemporal demansın (FTD) klinik sendromları, progresif davranış veya dil bozuklukları ile karakterizedir (Ferrari, Thumma, & Momeni, 2013; Mann & Snowden, 2017). Frontotemporal demanslar 65 yaş altı gözlenen erken başlangıçlı demansların yaygın bir formudur ve tüm demansların yaklaşık %5-15'ini oluşturmaktadır (Neumann, Tolnay, & Mackenzie, 2009). Başlangıcı 45-65 yaşları arasında olup, ortalama yaşam süresi 6-9 yıldır ve cinsiyet dağılımı arasında bir fark gözlenmemektedir. Dejeneratif demansların %12.5-16.5'lik kısmını oluşturmaktadır (Onur & Yalınay, 2011).

FTD davranış değişiklikleri ve dil bozuklukları ile karakterize bir davranışsal ve iki dil bozukluğu ile ilişkili üç klinik sendromu kapsamaktadır. Bunlar; en sık gözlenen kişilik değişimleri ve davranışsal bozuklukların gözlendiği davranış varyantı (dvFTD), dil bozukluğu varyantları olan primer progresif tutuk afazi (PPTA) ve semantik varyant (svFTD) dir. FTD, parkinsonizm ya da motor nöron hastalığı ile ilişkili olabilir (FTD-MND). FTD olgularının yaklaşık % 10'u amyotrofik lateral skleroz (ALS) bulguları göstermektedir (Jiao vd., 2014). FTD' de atipik parkinson hareket bozuklukları olan kortikobazal dejenerasyon (KBD) ve ilerleyici supranükleer palsi (PSP) ile klinik ve nöropatolojik örtüşme vardır (Neumann vd., 2009). FTD terimi genellikle klinik sendromları, FTLD ise patolojik süreci tanımlamak için kullanılmaktadır (Onur & Yalınay, 2011).

Son dekad içerisinde hastalıkla ilişkili olabilecek genlerin belirlenmesini sağlayan genetik metodolojinin gelişmesi ve demanslara bu metodolojilerin uygulanması sayesinde, neden olan ve/veya hassasiyet oluşturan çok sayıda gen tanımlanmıştır. Özellikle FTD'nin altında yatan moleküler patolojilerin belirlenmesine yönelik gelişmeler dikkat çekmektedir. FTLD gibi genetik, klinik ve patolojik olarak oldukça heterojen olan hastalıklarda bu gibi spesifik belirteçlerin ortaya çıkarılması hem bu hastalıkların patogenezinin belirlenmesinde hem de olası tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde oldukça önemli bir adım olacaktır (Kim vd., 2014; Riedl, Mackenzie, Förstl, Kurz, & Diehl-Schmid, 2014).

FTLD olgularının yaklaşık % 40 kadarında ailede demans öyküsü veya ilgili durumlardan birinin (parkinsonizm ya da ALS) olması ailesel geçişi düşündürmektedir (Jiao vd., 2014; Pan & Chen, 2013). Ancak bu pedigrilerden sadece % 10-27'sinde otozomal dominant kalıtım paterni gözlenmektedir (Cohn-Hokke, Elting, Pijnenburg, & van Swieten, 2012; Sieben vd., 2012).

Famlyal ALS ve FTD'de en sık gözlenen patojenik mutasyon olarak kromozom 9'da lokalize *C9orf72* geninin kodlamayan bölgesindeki heksanükleotid (GGGGCC) tekrar artışları eş zamanlı olarak rapor edilmiştir (DeJesus-Hernandez vd., 2011; Renton vd., 2011). Bu gen ürünün görevi henüz tam olarak bilinmemekle birlikte neden olduğu patolojik durumun iki sebebi olduğu düşünölmektedir. Bunlardan biri azalmış mRNA transkriptleriyle birlikte parsiyel bir fonksiyon kaybı, bir diğeri ise uzun mRNA transkriplerinin oluşturduğu agreratlar ile birlikte kazandığı toksik fonksiyondur (DeJesus-Hernandez vd., 2011; Moens, Partridge, & Isaacs, 2017).

Yirmiden daha az tekrarların sağlıklı bireylerde gözlendiğini, 30 ve daha fazla tekrarın ise hastalığa neden olduğunu bildirilmiş ancak hastalığa neden olan minimum tekrar sayısı ile ilgili çalışmalar hala devam etmektedir (Renton vd., 2011). *C9orf72* ekspansiyonunun FTD vakalarında yaklaşık %3-12, ALS vakalarında ise %7-36 oranında görüldüğü bilinmekte ancak bu oran popülasyon çalışmaları arasında farklılık göstermektedir (Sharon vd., 2012; Snowden vd., 2012). Bu tekrar artışları sıklıkla famlyal olgularda gözlenmekle birlikte sporodik vakalarda da varlığı bildirilmiştir.

Avrupa ve İskandinav toplumlarında FTD grubu için oldukça yüksek oranda gözlenen bu mutasyonun, Asya popülasyonunda oldukça nadir görüldüğü rapor edilmiştir. Coğrafi koşulları düşünöldüğünde Asya ve Avrupa arasında köprü görevi gören Türkiye için çalışmamız FTLD spektrumunda bilgimiz dahilindeki ilk çalışmadır.

TUBİTAK 1001 114S346 nolu proje kapsamında olan bu çalışma projenin ikinci aşamasını oluşturmaktadır. FTLD spektrumundan (dvFTD, svFTD, PPTA, FTD-MNH, PSP, KBS) tanı almış ve *MAPT*, *PGRN*, *CHMP2B*, *VCP*, *TARDBP*, *FUS* genlerinin tüm ekzonları yeni nesil sekanslama yöntemi ile dizilenmiş ve bu genlerde mutasyon gözlenmeyen 100 hasta ve nörolojik/psikiyatrik olarak patolojik bir bulgusu olmayan yaşla uyumlu 100 kontrol bireyinde *C9orf72* GGGGCC heksanükleotid tekrar sayıları RP-PCR (repeat-primed PCR) ve sizing-PCR yöntemleri kullanılarak, Türkiye hasta ve kontrol grubundaki frekansının belirlenmesi ve bu artışların klinik üzerindeki etkisi saptanmaya çalışılmıştır.

## **2- GENEL BİLGİLER**

### **2.1- Tanım ve Tarihçe**

Frontotemporal lobar dejenerasyon (FTLD), klinik, patolojik ve genetik olarak heterojen olan ancak morfolojik olarak frontal ve/veya temporal korteksin atrofisi özelliğini paylaşan progresif beyin hastalıkları grubunu tanımlamaktadır (Mann & Snowden, 2017). Genellikle FTD (Frontotemporal Demans) terimi klinik sendromları, FTLD ise nöropatolojik sendromları tanımlamak için kullanılan terimlerdir.

Arnold Pick, 1900'lerin başında afazi, kişilik değişiklikleri ve fokal temporal lob beyin atrofisi olan hastaları tanımlayan ilk kişidir. 1911'de Alois Alzheimer, fokal korteks atrofisi olan hastaların histolojik örneklerinde argirofilik tau-pozitif nöronal inklüzyonları ("Pick cisimleri") ve şişmiş nöronları ("balon nöronları" veya "Pick hücreleri") keşfetmiştir (Snowden, Neary, & Mann, 2002).

Yirminci yüzyılın sonlarına kadar FTD için herhangi bir klinik tanı kriteri bulunmamakta ve bu olgular demans tanısı almaktaydı. Ancak 1994'de Lund ve Manchester Grupları, FTD için klinik ve patolojik kriterleri belirlemişlerdir (Englund vd., 1994). 1998 ve 2011 yıllarında ise bu kriterler revize edilmiştir (Neary vd., 1998; Rascovsky vd., 2011).

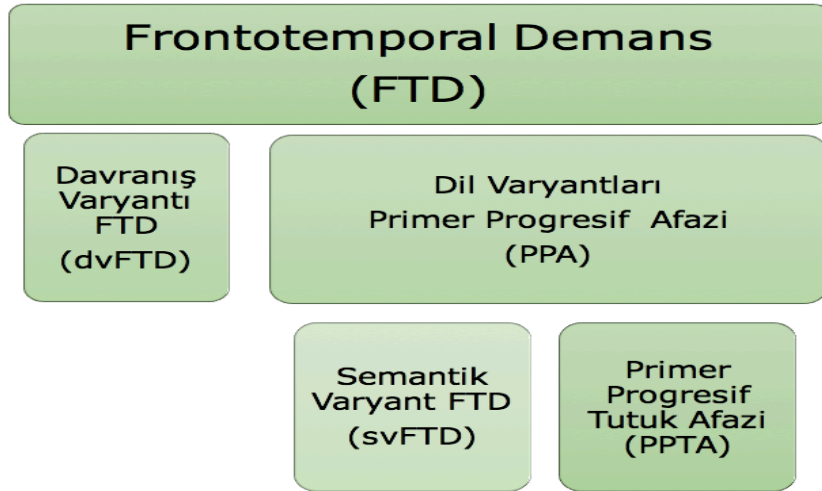
### **2.2- Epidemiyoloji**

FTD'nin epidemiyolojisiyle ilgili sınırlı çalışmalar olduğundan prevalansı kesin olarak bilinmemektedir. Ancak prevalansının 10-15/100.000 olduğu düşünülmektedir (Hutchings, Palermo, Piguet, & Kumfor, 2017). Frontotemporal demanslar, 65 yaş altı gözlenen erken başlangıçlı demansların yaygın bir formudur ve tüm demansların yaklaşık %5-15'ini oluşturmaktadır (Neumann vd., 2009; Suhonen vd., 2017). Epidemiyolojik çalışmalar FTD'nin, 65 yaş altı demanslarda Alzheimer hastalığından sonra en yaygın ikinci nedeni olduğunu göstermektedir (Pan & Chen, 2013). 65 yaş üstü demans olguları arasında ise FTD insidansının Alzheimer, Lewy cisimcikli demans ve vasküler demanstan sonra dördüncü sırada olduğu düşünülmektedir (Ratnavalli, Brayne, Dawson, & Hodges, 2002). FTD'nin başlangıcı 45-65 yaşları arasında olup, ortalama yaşam süresi 6-9 yıldır ve cinsiyetler arası dağılımda bir fark gözlenmemektedir (Onur & Yalınay, 2011).

## 2.3- Klinik Özellikler ve Sınıflama

Frontotemporal demans davranış değişiklikleri ve dil bozuklukları ile karakterize; bir tane davranışsal ve iki tane de dil bozukluğu ile ilişkili olan toplam üç klinik sendromu kapsamaktadır. Bunlar; en sık gözlenen kişilik değişimleri ve davranışsal bozuklukların gözleendiği davranış varyantı (dvFTD) ile dil bozukluğu varyantları olan primer progresif tutuk afazi (PPTA) ve semantik varyant (svFTD)' dir (Şekil 2.1). Erken semptomlar arasında bilişsel, davranışsal ve bazen motor anormallikler gözlenmektedir. FTD, parkinsonizm ya da motor nöron hastalığı ile de ilişkili olabilir (FTD-MNH). FTD olgularının yaklaşık % 10' u amyotrofik lateral skleroz (ALS) bulguları göstermektedir (Jiao vd., 2014; Mann & Snowden, 2017).

Son yıllarda, FTD'nin klinik ve moleküler patogenezinine ilişkin ilginin artmasına bağlı olarak etiyolojisi, genetiği, patolojisi ve klinik fenotipine ilişkin önemli verilere ulaşılmıştır. Bu gelişmeler beraberinde birçok yeni terminoloji ve FTD sınıflamasını gündeme getirmiştir.



Şekil 2.1. Frontotemporal demans sınıflandırması

### 2.3.1- Davranış varyantı FTD (dvFTD)

Tüm FTD vakalarının yaklaşık % 70'ini oluşturan, frontal ve anterior temporal lobların atrofisi ile ilişkili dvFTD, FTD'nin klinik sendromları arasında en yüksek yaygınlığa sahip olan alt grubudur (Pan & Chen, 2013). Temel davranış özellikleri; sosyal disinhibisyon, ilgisizlik, sempati ve empati kaybı ile ilerleyen duygusal küntleşme, tekrarlayan, obsesif ve stereotipik davranışlar olarak sıralanabilir. Bu temel özellikler klinik tanı ölçütlerinin temelini oluşturmaktadır. Hastalar bu davranışların şiddeti bakımından farklılık göstermektedirler (Rascovsky vd., 2011).



Davranış varyantı FTD'nin genel başlangıç yaşı <65 yaş olup, ortalama başlangıç yaşı ise 58'dir. Hastaların yaklaşık %30-50'sinin dvFTD tanısı almadan önce depresyon, şizofreni gibi psikiyatrik tanılar aldığı bilinmektedir. DvFTD olgularındaki davranış değişiklikleri, işlevsel beyin ağlarındaki farklı hassasiyetlere dayandırılmaktadır (Mann & Snowden, 2017). Apatinin belirgin olduğu hastalarda dorsolateral atrofi, disinhibisyon gözlenen bireylerde orbitofrontal, stereotipler ve beslenme değişiklikleri olan bireylerde sağ anterior temporal, anterior insular atrofi ve amigdalada atrofi gözlenmektedir. Disinhibisyon gözlenen bireylerde orbitofrontal, subgeniual singulat, medial prefrontal ve anterior temporal korteksin, bozulmuş duygusal tanımda ise sağ lateral inferior temporal ile orta temporal korteksin etkilendiği bildirilmiştir (Çıkrıkçılı & Çakır, 2016; Eslinger, Moore, Antani, Anderson, & Grossman, 2012).

### **2.3.2- Dil varyantları**

Dil varyantları için yeni kriterler; Gorno-Tempini ve ark. tarafından 2011 yılında yayınlanmıştır. Dilsel varyant FTD'de temel bozukluk dil işlevlerindedir. Afazi en belirgin bulgu olarak kendini göstermektedir. Dilsel varyant FTD, aynı zamanda primer progresif afazi (PPA) olarak da adlandırılmaktadır (Gorno-Tempini vd., 2011).

#### **2.3.2.1- Semantik varyant FTD (svFTD)**

Semantik demans (svFTD), kavramsal bilgi bozukluğudur. Sözcüklerin, yüzlerin, cisimlerin ve diğer duyu uyaranlarının anlamının engellenmesi ile karakterizedir. Beyin görüntüleme verileri, temporal lobların asimetric atrofisi olmasına rağmen, bilateral olduğunu göstermektedir. Ağırlıkla sol taraflı atrofi olan hastalarda kelimeleri anlamada özel güçlüklerle karşılaşılırken, sağ taraflı atrofi olan hastalar yüz tanımda güçlük çekmektedir. Ancak sonuç olarak her ikisinde de tüm duyu alanlarını etkileyen kavramsal anlayışın aşamalı olarak kaybedilmesi mevcuttur (Mann & Snowden, 2017). Sağ temporal atrofisinin belirgin olduğu olguların seksüel disfonksiyon, insomnia, kompulsif davranışlar, iştah değişiklikleri gibi dvFTD benzeri semptomlar gösterdiği bilinmektedir (Çıkrıkçılı & Çakır, 2016; Seelaar, Rohrer, Pijnenburg, Fox, & Van Swieten, 2011).

#### **2.3.2.2- Primer progresif tutuk afazi (PPTA)**

Sol hemisferin asimetric atrofisi ile ilişkili, belirgin bir dil bozukluğudur. Genellikle konuşmada zorlanma ve dilbilgisi kullanımının bozulması ile karakterizedir. Dil bozukluklarının kesin özellikleri, hastalar arasında aynı değildir. Örneğin bazı hastalarda konuşma apraksisi gözlenirken bazılarında gözlenmez. Belirgin dil fonksiyonu kaybı, kognitif ve davranışsal işlevlerin

korunması tipik özelliktir. FTD'nin klinik sendromları bazı olgularda izole halde bulunurken bazı vakalarda semptomlar örtüşebilir (Mann & Snowden, 2017).

### **2.3.3- Örtüşme gösteren diğer sendromlar**

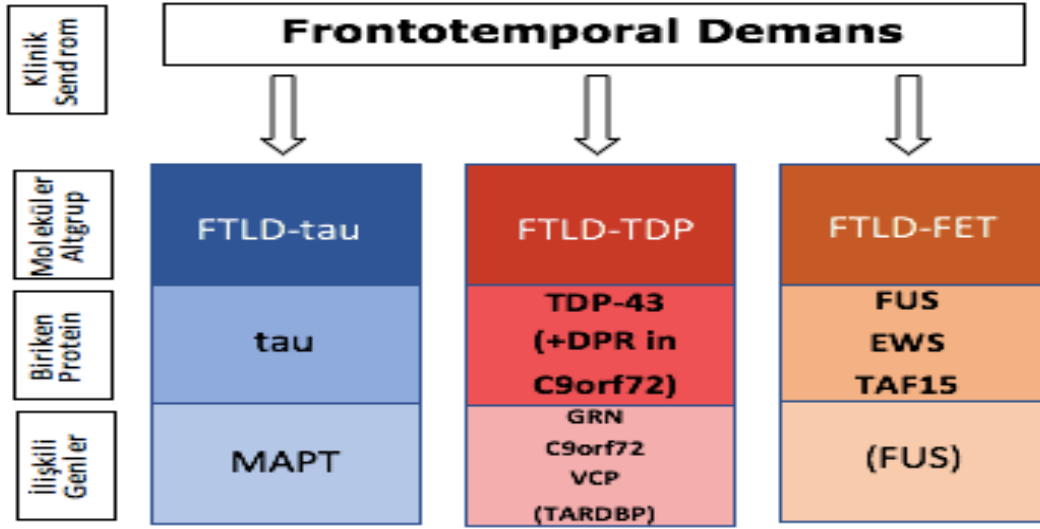
Frontotemporal lobar dejenerasyon (FTLD) morfolojik olarak frontal ve/veya temporal korteksin atrofisi özelliğini paylaşan progresif beyin hastalıkları olarak bilinmektedir. FTLD, atipik parkinson bozuklukları, KBD (kortikobazal dejenerasyon) ve PSP (progresif supranükleer palsi) ve motor nöron hastalığı ile önemli ölçüde klinik ve histopatolojik olarak örtüşmektedir.

Motor nöron hastalıkları (MNH), FTLD hastalarının % 40'ında (FTLD-MNH) tanımlanmıştır. Amyotrofik lateral sklerozun (ALS) davranış bozukluğu, bilişsel bozukluk veya demans ile ortak komorbiditesi bilinmektedir. FTLD, motor semptomların başlangıcından önce veya aynı anda ortaya çıkabilir (Pan & Chen, 2013). Frontotemporal demans varyantları arasında motor nöron hastalığı, dvFTD'ye sahip hastalarda daha sık ortaya çıkmakta, dil varyantlarında daha az sıklıkla gözlenmektedir (Bang, Spina, & Miller, 2015). Klinik olarak psikoz ve afazik semptomların FTD-MNH hastalarında daha yüksek oranda görüldüğü ve bu semptomların ön planda olduğu hastalarda MNH gelişimi oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Erken parkinsonizm, FTD'ye sahip hastaların %20'sinde bulunmakta ve çoğunlukla dvFTD'ye sahip hastalarda gözlenmektedir (Bang vd., 2015). Bu grubun içinde bulunan bozukluklar ilerleyici supranükleer palsi sendromları, kortikobazal sendrom, parkinsonizm ile ilerleyen FTD (FTDP)'dir (Pan & Chen, 2013). Parkinsonizmin eşlik ettiği FTD'ler genelde 17. kromozom ile ve sıklıkla da MAPT ve PGRN gen varyantları ile ilişkilidir.

## **2.4- Nöropatolojik Özellikler**

FTLD olgularındaki ortak özellik; frontal ve temporal serebral lobların nispeten seçici dejenerasyonu ve korteksin süperfisiyal tabakasında spongioz, gliosis ve nöron kaybıdır. Ancak kesin FTLD tanısı koymak, histopatolojik doğrulamayı yada bilinen bir patojenik mutasyon varlığını gerektirmektedir. Klinik, patolojik ve genetik açıdan heterojen olan FTLD'lerin günümüzde geçerli olan nöropatolojik klasifikasyonu, hücre içerisinde patolojik sellüler inklüzyonlar halinde biriken protein tipine dayanmaktadır ve hemen tüm FTD olguları üç geniş moleküler alt grup içerisinde toplanmaktadır: FTLD-Tau, FTLD-TDP43 ve FET protein akümüasyonu. Nöropatolojik sınıflandırma ve ilişkili genler Şekil 2.2'de gösterilmiştir (Hass & Neumann, 2016).



Şekil 2.2. FTLD patolojik sınıflandırması (Haass & Neumann, 2016)

#### 2.4.1- FTLD-tau (Tau-pozitif FTD)

1980'lerin sonlarında AH, progresif supranükleer palsi ve kortikobazal dejenerasyon gibi hastalıkların patolojik lezyonlarının ana bileşeni olarak tau proteini tanımlanmıştır (Öğüten, 2017).

*MAPT* geni ürünü olan Tau proteini, merkezi sinir sisteminde, özellikle nöron aksonları, astrositler ve oligodendrositlerde bulunmaktadır. İntrasellüler transportta çok önemli olan mikrotübüllerin birleşmesinden/ayrılmasından sorumludur. Uzun süredir tau proteininin 25'den fazla alanda translasyon sonrası bir fosforilasyon sürecine girdiği bilinmektedir. Özellikle hiperfosforile çözünmeyen tau'nun birikimi, çeşitli nörodejeneratif bozuklukların ortak bir özelliğidir ve toplu olarak taupati olarak adlandırılmaktadır (Rainero vd., 2017).

İlerleyen bölümlerde daha detaylı incelenecek olan *MAPT* geninin 2., 3. ve 10. ekzonlarının alternatif kırılma (splicing) süreçleri, Tau proteininin altı ana protein izoformunu oluşturmaktadır: üç amino asit tekrarını (3R) içeren üç izoform ve dört tekrarla (4R) oluşan üç izoform. Normal insan beyinde bu iki izoform sayısı birbirine benzerdir (Lashley, Rohrer, Mead, & Revesz, 2015). Tau protein izoformlarından 4R tau, tubuline 3R tau'dan daha kuvvetli bağlanmakta ve mikrotübülleri daha etkili şekilde toplamaktadır. Genellikle 4R tau daha çok nöronal ve glial patoloji ile ilişkili olup KBD ve PSP gelişiminde rol oynamaktadır. 3R tau varlığında ise nöronal inklüzyonların baskın olduğu gözlenmektedir (Öğüten, 2017).

FTLD-tau patolojisi gözlenen olguların %45 kadarında, tau pozitif nöronal intrasitoplazmik inklüzyonlar gözlenmektedir. Bu tau-pozitif vakaların yaklaşık yarısında, Pick cisimcikleri olarak da bilinen yuvarlak cisimleri ve glial tau inklüzyonları izlenebilir. Geriye kalan kısımda ise nöronal tau, nörofibriler yumak benzeri yapılar veya daha şekilsiz yumaklar şeklinde gözlenmektedir (Mann & Snowden, 2017).

#### **2.4.2- FTLD-TDP (TDP-43 pozitif FTD)**

FTLD-U'nun çoğunda ubiquitin-pozitif inklüzyonların ana bileşeni olan TDP-43 (TAR DNA-binding protein (TDP)-43) proteini 2006'da tanımlanmıştır. Bu bulgu, FTLD ve ALS'nin örtüşen moleküler patogenezinin yakından ilişkili olduğunu gösteren güçlü kanıtlar sağlamıştır. FTLD ve ALS'de biriken TDP-43 proteininin patolojik formları, hiperfosforile, übikütilenmiş ve C-terminal fragmentleri içermektedir. Sadece karboksil terminalini içeren, farklı uzunluklarda fragmentlere parçalanmış ve fosforile olan bu proteinin agregasyona çok yatkın olduğu bilinmekte, ALS ve FTLD-TDP olgularında, neokorteks de dahil, beyin çok geniş bölgeleri etkilenmektedir (Lahut, Özeş, Açar, & Başak, 2012; Mackenzie & Neumann, 2016; Riedl vd., 2014).

TDP-43 içeren patoloji nöronal sitoplazmik inklüzyonlarda (NCI), nöronal intranükleer inklüzyonlarda (NII), glial sitoplazmik inklüzyonlarda (GCI) ve distrofik nöritlerde bulunmaktadır. FTLD-TDP, *GRN*, *C9orf72* ve *VCP* genlerindeki mutasyonlarla ilişkilidir (Götzl, Lang, Haass, & Capell, 2016).

Klinik olarak tüm FTLD'lerin %50'sinden sorumludur. svFTD'nin büyük bir kısmında, dvFTD'nin ise %40-45'inde görülen nöropatolojik bir bulgudur (Öğüten, 2017).

#### **2.4.3- FTD-FUS**

Fus proteinleri, TDP-43 gibi, RNA transkripsiyonu, işleme ve taşınması, mikroRNA işleme ve DNA tamiri de dahil çeşitli DNA ve RNA metabolizma süreçlerinde yer alan, homolog DNA/RNA bağlayıcı proteinlerdir. Son çalışmalar, FTLD'de biriken Fus türlerinin, FTLD-FUS'un patogenezi ile ilişkili olabilen, anormal bir post-translasyonel modifikasyon geçirdiğine dair kanıtlar sağlamıştır. Arginin rezidüleriindeki hipometilasyonunun çözünmeyen inklüzyonları oluşturduğu düşünülmekte ancak Fus protein hipometilasyonunun altında yatan neden şu anda bilinmemektedir (Mackenzie & Neumann, 2016).

FUS inklüzyonları, TDP-43 veya tau negatif FTD vakalarının (FTLD-FUS) ~%5-10 kadarında tanımlanmıştır FUS patolojisi kortikal katmanlar,

hipokampus, subkortikal bölgeler, beyin sapı ve omurilikde gözlenmektedir. (Gözl vd., 2016)

#### **2.4.4- FTLD-UPS ve FTLD-ni**

FTLD-UPS, kromozom 3'e (FTD3) bağılı çok ender gözlenen FTLD alt grubudur. Ubikütin proteazom sistemi antikörleri (ubikütin, ubikütin-bağlayıcı proteinler, vb.) ile etiketlenmiş inklüzyonlara sahip FTLD vakalarında tanımlanmıştır. FTLD-ni ise FTLD-U'lardan daha da nadir olan, bugüne kadar herhangi bir inklüzyon cisimciğinin tespit edilmediği gruptur (Öğüten, 2017).

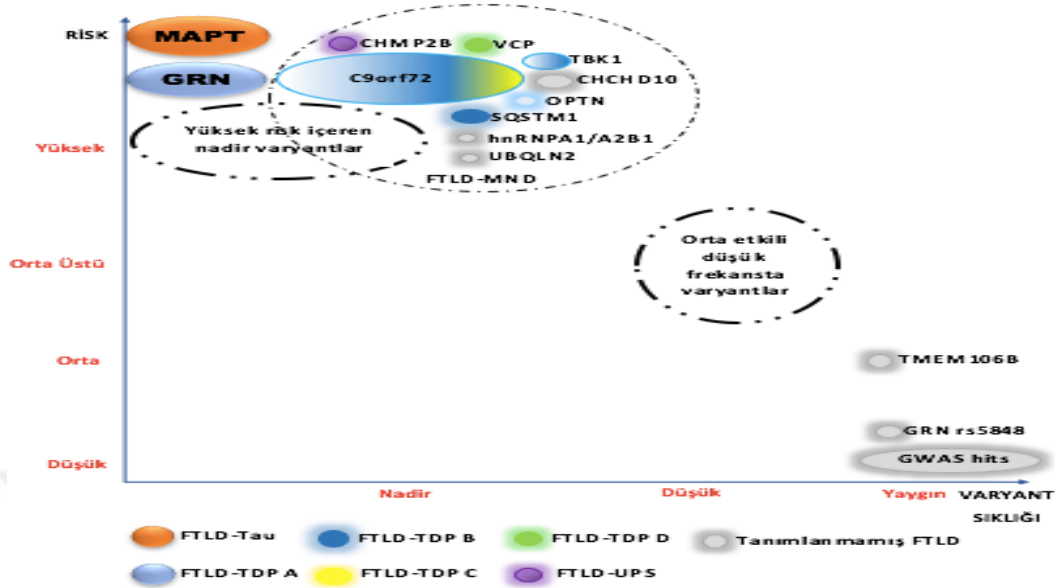
### **2.5- Genetik Özellikler**

Son dekad içerisinde gerçekleşen teknolojik gelişmeler, pek çok kompleks hastalıkta olduğu gibi FTD'de de moleküler patofizyolojinin anlaşılmasını, hastalığa neden olan ve/veya hassasiyet oluşturan çok sayıda genin tanımlanmasını sağlamıştır. Özellikle FTD'nin altında yatan moleküler patolojilerin belirlenmesine yönelik gelişmeler dikkat çekmektedir.

FTLD gibi genetik, klinik ve patolojik olarak heterojen olan hastalıklarda bu gibi spesifik belirteçlerin ortaya çıkarılması, hem bu hastalıkların patogenezinin belirlenmesinde hem de olası tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde oldukça önemli bir adım olacaktır (Kim vd., 2014; Riedl vd., 2014)

FTLD olgularının yaklaşık % 40 kadarında ailede demans öyküsü veya ilgili durumlardan birinin (parkinsonizm ya da ALS) olması, bu pedigrilerden sadece % 10-27'sinde otozomal dominant kalıtım paterni gözlenmesi FTLD'nin genetik komponentinin oldukça güçlü olduğunu düşündürmektedir (Cohn-Hokke vd., 2012; Jiao vd., 2014; Pan & Chen, 2013; Rainero vd., 2017; Sieben vd., 2012).

Bağlantı analizi, tüm ekzom dizileme ve genom asosiasyon çalışmaları (GWAS), FTLD riskine katkıda bulunan yaygın ve nadir görülen genetik varyasyonların saptanmasında etkili yaklaşımlar sağlamıştır. Aday genlerin belirlenmesine yönelik bu çalışmaların uygulanması ile bugüne kadar bir çok gen familyal/sporodik FTD ve FTD-ALS ile ilişkilendirilmiştir (Rainero vd., 2017). Şekil 2.3' de frontotemporal lobar dejenerasyonunda gözlenen genetik değişiklikler, sıklıkları ve ilgili nöropatoloji şematik olarak gösterilmiştir.

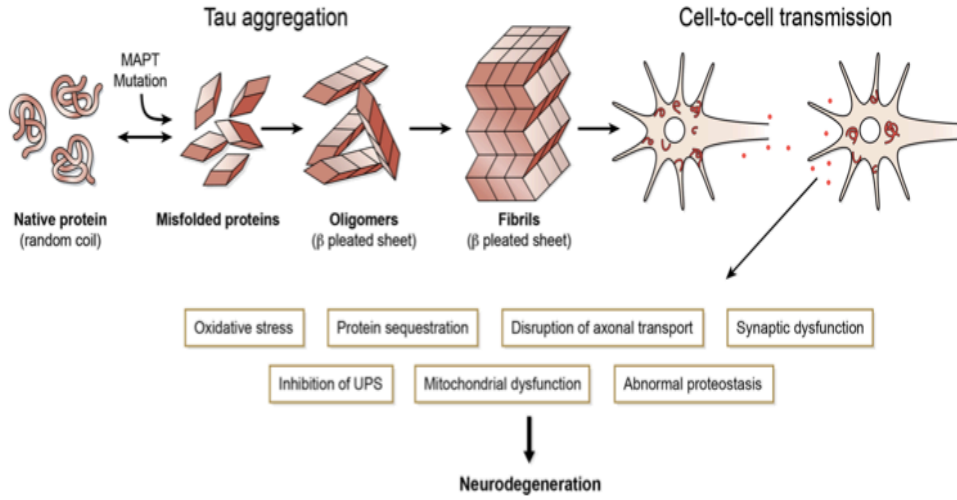


Şekil 2.3. FTLD ilişkili genlerin şematik gösterimi (Pottier, Ravenscroft, Sanchez-Contreras, & Rademakers, 2016)

### 2.5.1- Mikrotübül ilişkili protein tau (MAPT)

Ailesel FTD için ilk genetik kanıt; FTD-parkinsonizmde otozomal dominant formda kalıtılan kromozom 17q21.2 ile bir bağlantının gösterilmesi ile ortaya çıkmıştır (Lynch vd., 1994). Bu bölgedeki sorumlu gen sonraki yıllarda *MAPT* (microtubule-associated protein tau, OMIM: 157140) olarak tanımlanmıştır (Poorkaj vd., 1998).

*MAPT* mikrotübül stabilizasyonu ve düzenlenmesinden sorumlu olan tau proteinini kodlayan 16 ekzonlu bir gendir. Farklı mutasyonların patojenik mekanizması, mutasyonun türüne ve gen içerisindeki lokalizasyonuna bağlıdır. Normalde tubüline bağlanma yoluyla mikrotübül organizasyonuna etki eden tau proteinini kodlayan gendeki mutasyon, taunun serbest sitoplazmik birikimini tetiklemektedir. Bazı *MAPT* mutasyonları da taunun anormal fosforilasyonuna ve dolayısıyla da mikrotübül stabilizasyonunun bozulmasına, buna bağlı olarak aksonal iletim anomalisine önderlik etmektedir. Alternatif kırılmayı (splicing) etkileyen mutasyonlar ise beyindeki izoform oranını değiştirerek (3R/4R tau) patolojik etki göstermektedir (Brandt, Hundelt, & Shahani, 2005; Rainero vd., 2017). Mutasyona uğramış taunun kendi arasındaki afinite artışına bağlı olarak birikmesi sonucu filamentöz çözülmemen nörotoksik inklüzyonlar oluşturmaktadır (Şekil 2.4). Tüm bu patolojik süreçlere bağlı olarak nöron kaybı sonucu frontotemporal atrofi, gri ve akmeddede gliosis ve yüzeysel kortikal mikrovaküolizasyon gözlenmektedir.



Şekil 2.4. Nörodejenerasyonda tau patogenezi (Irwin vd., 2015)

Post mortem incelemelerde, *MAPT* mutasyon taşıyıcılarında tau-pozitif inklüzyonlar gözlenmiştir (Mackenzie & Neumann, 2016; R Rademakers, Cruts, & Van Broeckhoven, 2004).

Bugüne kadar, 134 farklı ailede 44 patojenik *MAPT* mutasyonu rapor edilmiştir (<http://www.molgen.vib-ua.be/FTDMutations>) (Cruts, Theuns, & Van Broeckhoven, 2012). Bu mutasyonlar popülasyonlar arası farklılık göstermekle birlikte FTLD olgularının yaklaşık %5-20'sinden sorumlu tutulmaktadır. *MAPT* mutasyonları çok erken yaşta başlayan (<50 yaş), yaygın olarak dvFTD klinik özellikleri gösteren olgularda saptanmıştır (Rainero vd., 2017; Rohrer vd., 2010). Nadir olarak PPTA ve dvFTD'de de *MAPT* mutasyonları tanımlanmıştır (Ferrari vd., 2013). *MAPT* mutasyonu olan olgularda klinik çeşitlilik dikkati çekmektedir. Hastalığa özgü semptomların başlaması, primer teşhis ve başlama yaşı aile bireyleri arasında bile büyük farklılıklar göstermektedir (Rohrer & Warren, 2011). Bunun yanı sıra nörogörüntüleme değerlendirilmelerinde, *MAPT* mutasyonları simetrik anteromedial temporal lob, orbitofrontal gri madde atrofisi ve forniks tutulumuyla ilişkili bulunmuştur (Rohrer vd., 2010).

### 2.5.2- Progranulin (*PGRN*)

Progranulin (*PGRN*; OMIM: 138945) kromozom 17q21.32'de lokalize ve 593 aa'lık granulin prekürsörü olan uzun bir protein kodlamaktadır. Merkezi sinir sistemi hücrelerinde ve mikroglialarda bulunmaktadır. Hücre döngüsü, hücre büyüme regülasyonu ve özellikle beyindeki inflamasyon süreçlerinde etkili olan *PGRN* genindeki mutasyonların ailesel FTLD olgularında % 5-20,

sporadik vakalarda ise %1-5 oranında saptandığı ve populasyonlar arası farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Ferrari vd., 2013). FTLD olgularında 2006' da ilk mutasyonun tanımlanmasından bu yana 231 ailede 69 farklı mutasyon tespit edilmiştir (<http://www.molgen.vib-ua.be/FTDMutations>) (Cruts vd., 2012).

Çerçeve kayması, kesim noktası ve anlamsız mutasyonlar da dahil olmak üzere bilinen patojenik *PGRN* mutasyonlarının büyük bölümünün "dur" kodonu oluşturduğu tahmin edilmektedir. Oluşan anormal aberan mRNA'nın degrade edilmesiyle beyin omurilik sıvısı, plazma ve serumdaki granulin seviyesinin azalmasına haplo yetersizlik neden olmaktadır (A. Benussi, Padovani, & Borroni, 2015; Eriksen & Mackenzie, 2008).

FTLD olgularındaki *PGRN* mutasyonları, nöropatolojik olarak tau negatif, ubikitin pozitif inklüzyonlara neden olmaktadır. Yanlış katlanmış ve hiperfosforile TAR-DNA binding proteini (TDP43), *PGRN* mutasyonları saptanan bireylerde gözlenen bu ubikitin pozitif inklüzyonların temel bileşeni olarak tanımlanmıştır. Bunun yanı sıra idiyopatik FTLD ve ALS olgularında da bu inklüzyon içeriği gözlenmektedir (Neumann vd., 2006; Rainero vd., 2017). *PGRN* mutasyonları 434'ü FTLD olgusu olmak üzere toplam 545 nörodejeneratif vakada değerlendirilmiş ve sıklığı yaklaşık % 6.9 olarak bildirilmiştir. Bu vakalardan %56,2' sinde ubikitin pozitif nöropatoloji izlenmiştir. *PGRN* mutasyonu gözlenen 31 olguda en yaygın fenotip 24 olguyla dvFTD iken üçer hasta PPTA ve AH (Alzheimer Hastalığı), bir olgu ise KBD olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada da *PGRN* mutasyonlarının büyük bir kısmının "dur" kodonu oluşturduğu gösterilmiştir (Yu vd., 2010).

Klinik açıdan değerlendirildiğinde *PGRN* mutasyonları sıklıkla dvFTD ile ilişkili olmakla birlikte PPTA, svFTD, AD, KBD ve MCI (hafif bilişsel bozukluk) gibi oldukça heterojen bir fenotip de sergilemektedir (Rosa Rademakers vd., 2007). Mutasyon taşıyıcılarında hastalık başlangıç yaşının ortalama 60 (35-83) olduğu bildirilmiştir (Ferrari vd., 2013). Klinik olarak psikiyatrik sendromlarla da çakışma gösterebilmektedir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar *PGRN* geninin erişkin beyinde iki şekilli cinsel davranış kurulmasında önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Rainero vd., 2011). Bunun yanı sıra yapılan bir çalışmada *PGRN* taşıyıcılarının %70'inde episodik bellek bozukluğu gözlenmiştir. Taşıyıcıların %25'inde *MAPT* mutasyonu taşıyan bireylerde gözlenmeyen halüsinasyonlar tanımlanmıştır (Le Ber vd., 2007).

Mutasyon penetransı çok yüksektir, taşıyıcıların % 90'ı 75 yaşına kadar semptom göstermekte ve ilişkili fenotipler hem farklı *PGRN* mutasyonları olan aileler arasında hem de tek bir ailenin üyeleri arasında kayda değer derecede değişkendir (Rainero vd., 2017). *PGRN* mutasyon taşıyıcıları nörogörüntüleme



bulgularında genellikle asimetric frontal, temporal ve paryetal atrofi sergilemektedir (Rohrer vd., 2010).

### **2.5.3- Nadir görülen genler**

Familyal FTLD olgularının yaklaşık %50' sinden *PGRN* ve *MAPT* genleri sorumlu tutulmuştur (Ferrari vd., 2013) (Tablo 2.1.). Bu genlerin yanı sıra *CHMP2B*, *VCP*, *TARDBP* ve *FUS* dahil olmak üzere diğer genlerdeki değişiklikler tüm FTD vakalarının % 1-5' inde gözlenmiştir.

Kromozom 3p11.2' de lokalize *CHMP2B* (charged multivesicular body protein 2B; OMIM: 609512) geni 213 aa' lik uzun bir protein kodlamaktadır. Bu protein ESCRT-III (endosomal sorting complex required for transport-III) kompleksinin bir alt ünitesidir. Bu kompleks bileşikteki hasar, endozomal taşınmanın bozulması, anormal hücrel sinyalizasyona ve bozulmuş otofajiye neden olmaktadır (Ferrari vd., 2013). İlk olarak 1995'de bağlantı analizleri ile tanımlanan bu mutasyona ilişkin dördü patojenik toplam 11 varyant tanımlanmıştır (<http://www.molgen.ua.ac.be/FTDMutations>). Nöropatolojik olarak ubikitin pozitif, TDP-43 negatif sitoplazmik inklüzyonlar ile karakterizedir (Rainero vd., 2017). Ekstrapiramidal ve piramidal bulgular ile ilişkili davranışsal, bilişsel bozukluklar *CHMP2B* mutasyonlarının temel klinik belirtileridir. Miyoklonus, hastalığın geç evresinde ortaya çıkmaktadır. Bunun yanı sıra iki olguda motor nöron hastalığı tanımlanmıştır (Gydesen vd., 2002; Parkinson vd., 2006). Toplam 198 Fransız FTLD olgusunda mutasyon sadece bir olguda tanımlanmıştır. Amerika ve İngiltere' de 141 FTLD olgusunda bu gen dizilenmiş ancak patojenik bir mutasyon saptanmamıştır (Cannon vd., 2006; Ghanim vd., 2010). Genel olarak FTLD vakalarında oldukça nadir gözlenmektedir.

Kromozom 9p13.3 de lokalize valosin-containing protein (*VCP*; OMIM:601023) geni 806 aa'lik uzun bir protein kodlamaktadır. Hücre döngüsü regülasyonu, postmitotik golgi düzenlenmeleri ve apoptoz gibi çeşitli hücrel süreçlerde rolü olduğu bilinmektedir. *VCP*, protein sentezi ve protein yıkımı arasındaki dengenin korunmasını düzenleyen süreçlerde de etkilidir. Bu gende tanımlanan mutasyonlar daha çok inklüzyon cisimcikli myopati, kemiğin Paget's hastalığı ve daha az sıklıkla FTD ile karakterizedir. Ailesel FTLD olgularının %1'inden daha az bir kısmında gözlenmektedir. Başlangıç yaş ortalaması 40 (40-60 yaş aralığında)'dır (Ferrari vd., 2013; Rainero vd., 2017). Bugüne kadar 48 farklı ailede 18 mutasyon tanımlanmıştır (<http://www.molgen.ua.ac.be/FTDMutations>). IBMPFD (Inclusion body myopathy with early-onset Paget disease and frontotemporal dementia) olgularının % 25-30 kadarında 50'li yaşlarda *VCP* mutasyonu nedeniyle FTD semptomlarının belirgin hale geldiği bildirilmiştir (Sieben vd., 2012).

*TARDBP* (TAR DNA binding protein; OMIM: 605078) geni kromozom 1p36.2'de lokalize, 6 ekzonlu bir gendir ve TDP43 (transactive response DNA binding protein 43 kDa) proteinini kodlamaktadır. İlk olarak, insan bağışıklık yetersizliği virüsü tip 1 TAR DNA'sına bağlanan bir transkripsiyonel repressör olarak tanımlanmıştır ve 43-kDa'luk TAR DNA-bağlama proteini kodlamaktadır. Bu protein RNA transkripsiyonu, RNA kırılma (splicing) ve miRNA biogenezi de dahil olmak üzere bir çok hücrel süreçte işlev gösteren, heterojen nükleer ribonükleoprotein kompleksinin (hnRNP) bir formu olan RNA bağlayıcı bir proteindir (Borroni vd., 2009). *TARDBP* mutasyonlarının, başlangıçta ailevi MNH/ALS olgularında saptanmış ve ailesel ALS vakalarının %5'inden, sporodik vakaların %1.5'inden sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Benajiba vd., 2009; Mackenzie, Rademakers, & Neumann, 2010). *TARDBP* mutasyonu taşıyan olgularda hastalık başlangıç yaşı genellikle 29 ile 77 yaş arasındadır. *TARDBP*'deki mutasyonlar, FTLD-TDP moleküler alt grubunun (TDP-43 protein deposiyonuyla ilişkili) çok nadir bir nedenidir (Mackenzie & Neumann, 2016). *TARDBP* p.A382T missense mutasyonu, 65 FTD hastasından 5'inde bildirilmiştir. Hastaların sinirli, saldırgan, sabit düşünceler ve düz etki sergilediği gözlenmiştir. İki olguda da semantik demansa benzer dil bozuklukları saptanmıştır (Floris vd., 2015). TDP-43'ün ALS'deki toksik rolü agregatlara hapsedilmiş TDP-43'ün, çekirdekteki fizyolojik görevinin bozulması sebebiyle işlev kaybından kaynaklanabileceği, bir başka varsayıma göre ise TDP-43 agregatlarının yeni bir toksik işlev kazanması olduğu bildirilmiştir (Çobanoğlu, İskender, & Başak, 2011). Bu gene ait mutasyonlar çoğunlukla ALS vakalarında tanımlansa da, hem ALS-FTD hem de FTLD spektrumunda tanımlanan mutasyonlar mevcuttur ve hastalık patogeneziyle ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Benajiba vd., 2009). Bu bulgulara ek olarak Borroni ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 252 İtalyan FTLD olgusunda dört bvFTD ve bir FTD/MNH özelliği gösteren toplam beş olguda *TARDBP* varyantları saptamışlardır. *TARDBP* mutasyonlarının hem sporodik hem de familial vakalarda görülebileceğini öne sürmüşlerdir (Borroni vd., 2010).

*FUS* (fused in sarcoma; OMIM: 137070) geni 16p11.2' de lokalize ve 15 ekzondan oluşmaktadır. Heterojen nükleer ribonükleoprotein (hnRNP) kompleksinin çok fonksiyonlu protein bileşenini kodlamaktadır. Bu protein, gen ekspresyon regülasyonu, mRNA/miRNA işlenmesi ve genomik bütünlüğün muhafaza edilmesinden sorumludur. Aynı zamanda dendritik bütünlüğün korunması ve nöronal plastisitede görevli olabileceği düşünülmektedir (Mackenzie vd., 2010). *TARDBP* mutasyonları gibi ALS/MNH olgularında tanımlanmış ve bu olguların yaklaşık %3'ünden sorumlu tutulmuştur. *FUS* mutasyonlarının sıklığının düşük olmasına rağmen FTLD spektrumunda da tanımlandığı çalışmalar bulunmaktadır (Huey vd., 2012; T Van Langenhove vd., 2010).

Tablo 2.1. FTD' de genotip-fenotip korelasyonu (Olszewska, Lonergan, Fallon, & Lynch, 2016)

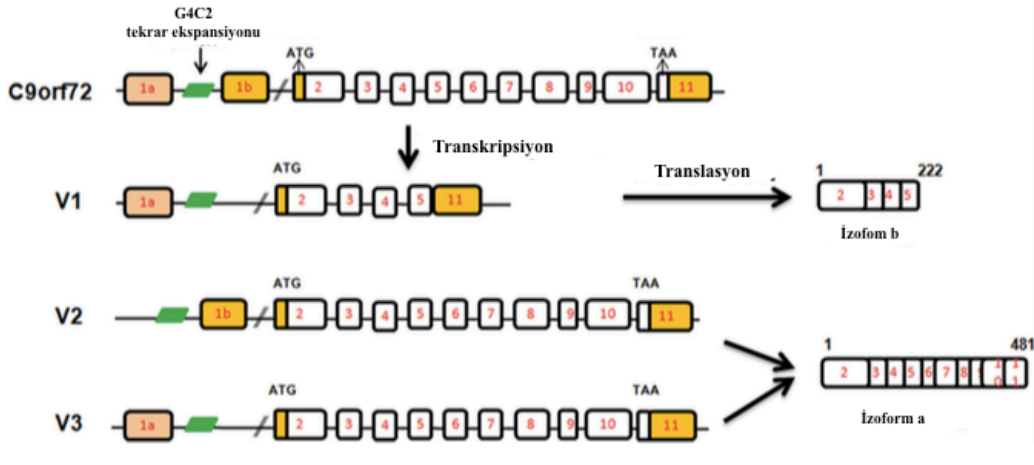
Gen	Prevelans	Başlangıç	Fenotip	MRG
<b>MAPT</b>	Ailesel %10-20 Sporadik %0-3	Ortalama 55 (45-65)	Baskın frontotemporal demans ± parkinsonizm	Simetrik Frontal ve temporal atrofi
<b>GRN</b>	Ailesel %5-20 Sporadik % 1-5	Ortalama 65 (25-89)	en yaygın davranışsal FTD, ilgisizlik, çekilme	Karakteristik parietal atrofi ile asimetrik frontal, temporal atrofi
<b>C9orf72</b>	%25	Ortalama 50 (27-83)	dvFTD ± ALS	Simetrik frontal atrofi

## 2.6- Chromosome 9 Open Reading Frame 72 (C9orf72)

2006 yılında, ALS/FTLD'li ailelerde kromozom 9p21.3-9p21.1 genetik bağlantısı gösterilmiştir (Ilse Gijssels, Cruys, & Van Broeckhoven, 2017) Familial ALS ve FTD' de en sık gözlenen patojenik mutasyon olarak kromozom 9 da lokalize C9orf72 geninin kodlamayan bölgesindeki heksanükleotid (GGGGCC) tekrar artışları eş zamanlı olarak rapor edilmiştir (DeJesus-Hernandez vd., 2011; Renton vd., 2011). O günden sonra yapılan çok sayıda araştırmada, C9orf72 tekrar artışlarının ailesel FTD'nin % 25'ini, ailesel ALS'nin % 37'sini ve hem FTD hem de ALS'li ailesel vakaların % 88'ini açıkladığı ortaya konmuştur. (Van Mossevelde, van der Zee, Cruys, & Van Broeckhoven, 2017)

### 2.6.1- C9orf72 geninin yapısı

C9orf72 geni (OMIM: 614260), 9. kromozomda lokalize, 12 ekzondan oluşan, iki protein izoformunu kodlayan ve üç transkript varyantına sahip oldukça korunmuş bir gendir (Wen, Westergard, Pasinelli, & Trotti, 2017). Şekil 2.5'de görüldüğü gibi varyant 1 transkripti, ekzon 1-5'ten oluşmakta ve 222 amino asitlik kısa bir protein izoformunu, varyant 2 ve 3 ise 481 amino asitlik uzun izoformunu kodlamaktadır (Ilse Gijssels vd., 2017; Moens vd., 2017). Her iki izoformun da biyolojik fonksiyonu hala bilinmemektedir. Tekrar artışları, farklı varyantların farklı bölgelerinde bulunmaktadır. İkinci varyant için genin promoter bölgesinde ekspansiyon bulunurken, varyant 1 ve 3 için ilk intronda ekspansiyon gözlenmektedir (Wen vd., 2017).



Şekil 2.5. *C9orf72* geninin yapısı (Kumar, Islam, Ahmad, & Hassan, 2016)

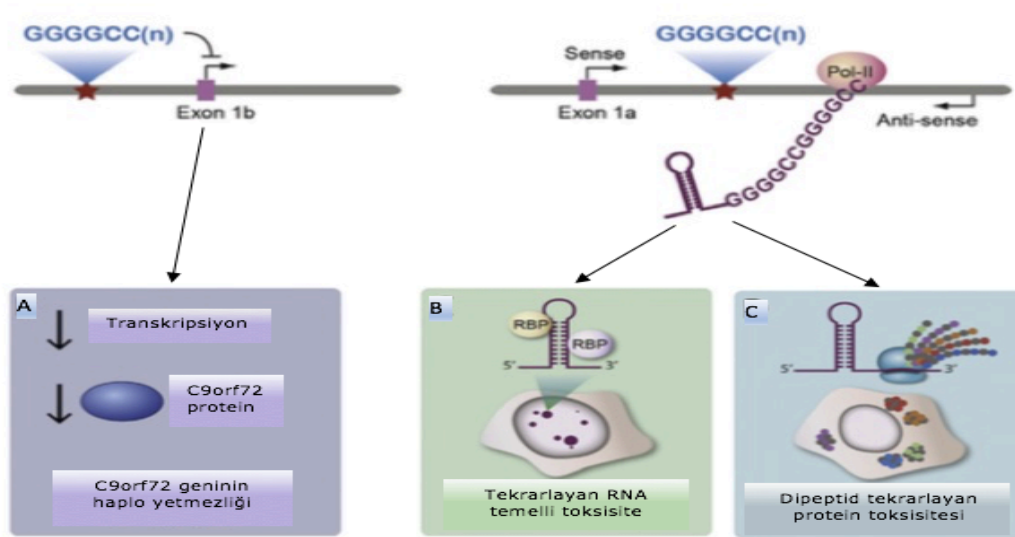
İlk yaklaşımlar *C9orf72*'nin herhangi bilinen bir protein ile yapısal homolojisinin bulunmadığı yönündedir. Bununla birlikte, son zamanlarda yapılan analizler, *C9orf72*'nin, bir GDP-GTP nükleotid değişim faktörü olarak işlev görebilecek DENN (differentially expressed in normal and neoplastic cells) domainini içerdiğini desteklemektedir (Haeusler, Donnelly, & Rothstein, 2016). Otofaji ve endozomal yolda fonksiyonu olabileceği ve endoplazmik retikulum stresinin düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir (Ilse Gijssels vd., 2017).

Transgenik fare ve zebra balığı deneyleri, *C9orf72*'nin nöronlarda, insan proteom haritası ise *C9orf72*'nin beyinde yüksek oranda eksprese edildiğini göstermiştir (Akimoto vd., 2014; Haeusler vd., 2016; Suzuki vd., 2013). Yapılan başka bir çalışma, *C9orf72*'nin kısa izoformunun nükleer membranda, uzun izoformunun ise ağırlıklı olarak sitoplazmada bulunduğunu ileri sürmektedir (Xiao vd., 2015).

### 2.6.2- *C9orf72* ekspansiyonunun patojenik mekanizması

Sporadik ve ailesel ALS/FTD'nin en büyük nedeni olarak *C9orf72* GGGGCC'nin tekrar artışlarının tanımlanmasından sonra, bu artışların nörodejenerasyona nasıl sebep olduğu ve ilgili mekanizmaların tanımlanmasına yönelik çalışmalar gündemdedir.

Şimdiye kadar bu tekrar artışlarının patojenik mekanizmasını bir fonksiyon kaybı ve iki farklı fonksiyon kazanımı ile açıklayan üç temel hipotez bulunmaktadır (Gitler & Tsuiji, 2016; Moens vd., 2017)(Şekil 2.6).



Şekil 2.6. *C9orf72* GGGGCC tekrarlarının patojenik mekanizmaları (Gitler & Tsuiji, 2016)

Bunlardan ilki tekrar sayısı artışına bağlı olarak, *C9orf72*'nin transkripsiyonunun azalması ve haplo yetmezliğe neden olmasıdır (Şekil 2.6.a). İkincisi tekrarları içeren sense ve antisense RNA transkriptlerinin akümüle olması ve RNA bağlama proteinlerini tutmasıdır (Şekil 2.6.b). Üçüncü mekanizma ise dipeptid proteinlerin yarattığı toksisitedir (Şekil 2.6.c).

### 2.6.2.1- *C9orf72* fonksiyon kaybı

*C9orf72*'nin ALS/FTD'deki işlev kaybı mekanizması, ilk olarak *C9orf72*'nin üç mRNA varyantının da hasta kan, korteks, serebellum, omurilik doku örneklerinde azalmış seviyeleri tespit edildiğinde anlaşılmıştır (DeJesus-Hernandez vd., 2011; Rohrer vd., 2015; Waite vd., 2014).

Epigenetik düzenleme ve transkripsiyonel instabilite de dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar *C9orf72*'nin transkripsiyonel susturulmasına yol açabilir. NRE (nükleotid repeat ekspansiyon)'nin varlığı, lokal epigenetik değişikliklerin artmasına neden olmaktadır (Haeusler vd., 2016; Sareen vd., 2013).

Ekspresyon seviyesinin azalmasına sebep olduğu düşünölen ilk yol hipermetilasyondur. DNA metilasyonu, nöroprotektif olabilmekte veya bir hastalık düzenleyicisi olarak işlev görebilmektedir. DNA hipermetilasyonu hastalığın ilerlemesine karşı etki gösterebilir. Hücrelerde demetilasyonun, dış stres etkilerine karşı artan savunmasızlığa neden olduğunu ve metilasyon yoluyla mutant *C9orf72* kopya sayısının düşürölmesinin doğuştan gelen bir koruyucu mekanizma olabileceğini düşöndüren kanıtlar mevcuttur (Liu vd., 2014; Rohrer vd., 2015).

Tekrar artışı saptanan olgularda epigenetik değişiklikler arasında, *C9orf72*'nin 5 'promoter bölgesindeki CpG adalarının DNA hipermetilasyonu, GGGGCC tekrar artışı olan bölgenin metilasyonu ve histon 3 (H3) ve histon 4 (H4)'ün trimetilasyonu bulunmaktadır. Tekrar sayısının artmış olduğu bölgenin upstreaminde bir CpG adasının hipermetilasyonu ile GGGGCC'yi bağlayan H3 ve H4 histonlarındaki lizin rezidülerinin trimetilasyonu transkripsiyonu baskılamaktadır. (Davidson vd., 2014; Liu vd., 2014; Xi vd., 2013). Bu metilasyon işaretleri, frontal korteks, omurilik ve serebellum da dahil olmak üzere merkezi sinir sisteminde ve kan örneklerinde gözlenmiştir (Belzil vd., 2013).

5 'CpG adalarının metilasyonu, yalnızca *C9orf72* varyant 2 ve 3 mRNA'sını değil, aynı zamanda bu hücrelerdeki RNA odakları ve RAN tarafından çevrilen dipeptit tekrarlarını azalttığını da göstermiştir. Bu bulgular, promoter genişlemesi olan varyanta karşı intronik GGGGCC genişlemeleri içeren düşük mRNA varyantları seviyelerinin aslında nöroprotektif olabileceğini düşündürmektedir (Liu vd., 2014). Yapılan bir çalışmada farklı transkript düzeyleri ile klinik özelliklerle karşılaştırıldığında, yüksek promoter ekspansiyonu içeren varyant düzeyi saptanan hastalarda daha uzun sağ kalım süresi gözlenmiştir (Van Blitterswijk vd., 2015).

*C9orf72* proteini, Rab GTPaz aktivitesini düzenleyen guanin nükleotid değişim faktörleri (GEF) olarak işlev gösteren DENN protein ailesi ile homoloji göstermektedir. GTPazlar, hücrelerdeki membran yolunun birden fazla aşamasını düzenleyen moleküler anahtarlar gibi hareket etmektedir. Bu nedenle *C9orf72* fonksiyon kaybının sellüler yolların bozulmasına yol açabileceği düşünülmektedir (Gitler & Tsuiji, 2016).

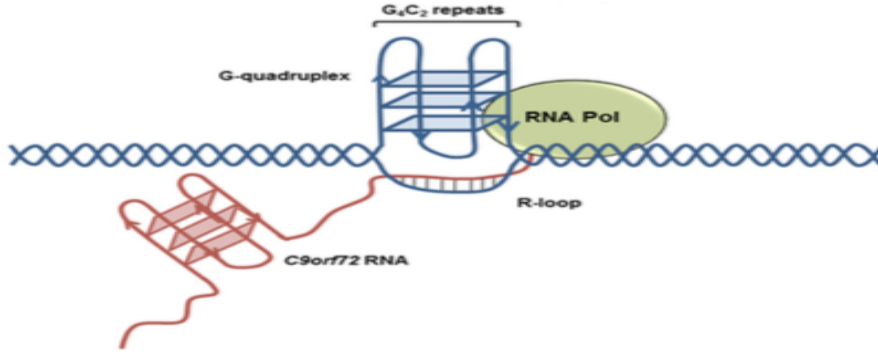
Bir derlemede *C9orf72* işlevindeki bir azalmanın, *C. elegans*'da nöronal ve davranışsal anormalliklerle sonuçlandığı, ancak farelerde *C9orf72* ortoloğunun özellikle nöronlar ve gliada genetik olarak nakavt edildiğinde, nörodejeneratif bir fenotip oluşturmada başarısız olduğu bildirilmiştir (T. W. Todd & Petrucelli, 2016). Bununla birlikte heterozigot kalıtılan bu mutasyonun homozigot olduğu durumlarda hastalık şiddetinde bir değişme olmadığı gözlenmiştir (Fratta vd., 2013). Buna ek olarak, şimdiye kadar insanlarda *C9orf72* fonksiyon kaybı mutasyonlarının nörodejeneratif durumlara neden olduğu bildirilmemiştir. Tüm bu sonuçlar birlikte ele alındığında, fonksiyon kaybı mekanizmasının hastalığın birincil nedeni olmasının mümkün olmadığını düşündürmektedir. Bununla birlikte, *C9orf72* ekspresyonunda uzun süreli bir azalmanın hastalığın patogenezi modüle edebileceği düşünülmektedir (T. W. Todd & Petrucelli, 2016).

### 2.6.2.2- C9orf72 RNA toksisitesi

C9orf72 tekrar artışı mutasyonunun patolojik işaretlerinden biri, serebellum, motor korteks, omurilik ve hipokampusdaki RNA odakları varlığıdır. Diğer tekrar artışı hastalıklarında olduğu gibi C9orf72 heksanükleotid tekrar artışı da RNA'nın nükleusta toksik odaklar oluşturmaya neden olmaktadır (Selvaraj, Livesey, & Chandran, 2017).

Buradaki temel mekanizma; sense ve antisens transkriptlerdeki tekrar artışlarının pre-mRNA moleküllerinde saç tokası yapılarının oluşumunu teşvik etmesi ve RNA odakları olarak adlandırılan ayrı nükleer yapıların oluşumuyla sonuçlanan çeşitli RNA bağlayıcı proteinlerle etkileşime girmesidir (P. K. Todd & Paulson, 2010).

Şekil 2.7'de görüldüğü gibi sense transkriptinin yüksek guanin içeriğinden dolayı, GGGGCC tekrar artışı, oldukça kararlı G-quadrupleks ve R-loop yapılarını oluşturmaktadır (Barker, Niblock, Lee, Shaw, & Gallo, 2017).



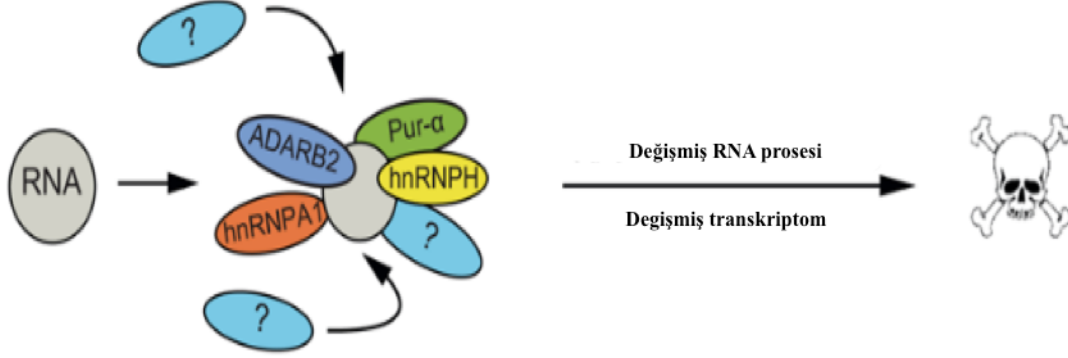
Şekil 2.7. C9orf72 GGGGCC tekrarlarının oluşturduğu G-quadrupleks ve R-loop yapıları (Barker vd., 2017)

G-quadruplex, hidrojen bağıyla stabilize edilmiş dört guanin rezidüsü tarafından oluşturulan düzlemsel yığılardan oluşmaktadır. R-loop ise transkripsiyon sırasında yeni oluşan RNA ve şablon DNA tarafından oluşturulmuş DNA-RNA melezleridir (Wen vd., 2017). Yapılan çalışmalarda artmış GGGGCC'nin, *in vitro* olarak G-quadruplex ve R-loop oluşturduğu ve bu yapıların da nükleolar proteinlerle anormal etkileşime geçtiğini göstermiştir. Sonuçta hem normal transkriptlerin kaybedilmesi hem de bozulmuş RNA polimeraz süreci nedeniyle olgunlaşmamış RNA'nın birikimi gerçekleşmektedir (Haeusler vd., 2016).

C9orf72 mutasyon taşıyıcılarında yapılan otopsilerden alınan beyin dokularında hnRNPA1, Pur-alpha, ADARB2 ve hnRNP H gibi heterojen nükleer ribonükleoprotein de dahil olmak üzere (Şekil 2.8) doğrudan RNA odaklarına direkt olarak bağlanan veya bu RNA odaklarına kolokelize olan çok sayıda RNA

bağlayıcı protein (RBP) keşfedilmiştir. Proteinlerin bu odaklarda tutulması, nükleer transport, pre-mRNA splising ve ribozomal RNA biyogenezi gibi normal fizyolojik işlevsellikleri bozmaktadır (Barker vd., 2017).

RBP tutulması ve daha sonra hedeflerinin misregülasyonunun nörodejenerasyona yol açabileceği düşünülmektedir (Selvaraj vd., 2017) .



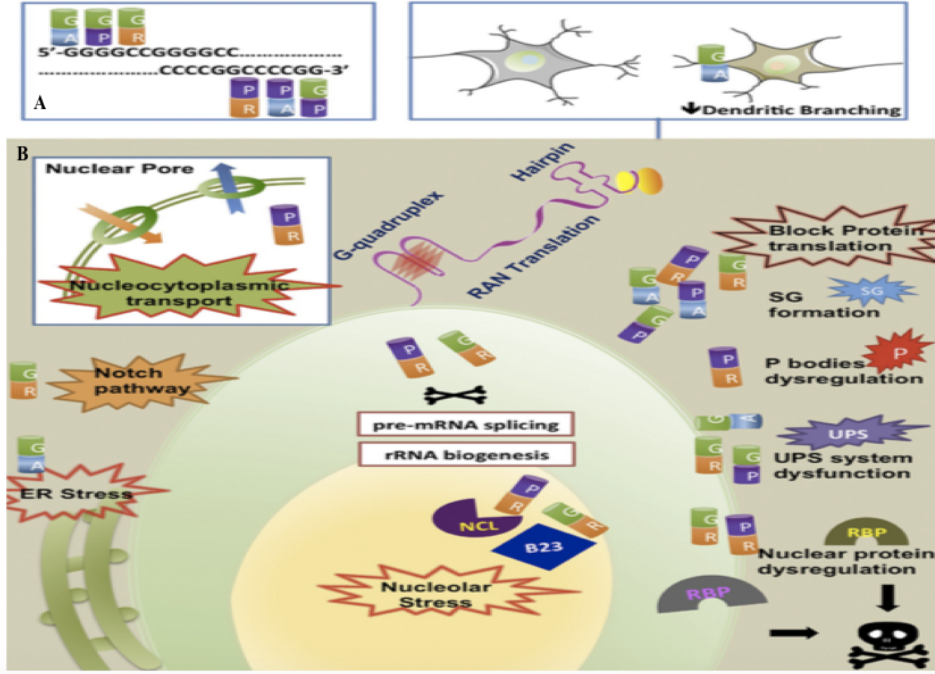
Şekil 2.8. C9orf72 GGGGCC tekrar artışlarının hnRNP' lerle ilişkisi (Selvaraj vd., 2017)

### 2.6.2.3- C9orf72 dipeptid protein toksisitesi (RAN(repeat-associated non-ATG) translasyonu)

Translasyon sürecinde AUG başlangıç kodonudur. Ancak çalışmalar CUG veya ACG'nin ökaryotik mRNA'larda alternatif başlatma kodonu olarak çalışabileceğini göstermektedir. Bu durumda AUG başlatma kodonuna ihtiyaç duymadan translasyon gerçekleşebilmekte ve bu fenomene tekrar ilişkili AUG olmayan başlatıcı translasyon (RAN translation- repeat-associated non-AUG initiated translation) adı verilmektedir (Barker vd., 2017). İlk olarak myotonik distrofi tip 1 ve spinocerebellar ataksi tip 8' de tanımlanmıştır (Zu vd., 2011).

RAN translasyonu birden çok çerçevede başlayabileceği için oluşan transkriptten çeşitli ürünler sentezleyebilir (Gendron & Petrucelli, 2017). C9orf72 RAN translasyonu, altı farklı sense ve antisense çerçevede meydana gelmekte (Şekil 2.9.A), bu da farklı DPR (dipeptid repeat) proteinleri oluşturmaktadır. Sense ipliğinden glisin-alanin (GA) ve glisin-arginin (GR) glisin-prolin (GP), antisense ipliğinden ise prolin-glisin (PG), prolin-arginin (PR) ve prolin-alanin (PA) oluşmaktadır (Zu vd., 2013). Birçok çalışmada bireysel DPR'lerin benzer lokalizasyon paterni gösterdiğini ancak farklı miktarlarda bulduklarını göstermiştir. En yüksekte düşüğe doğru miktarlar poli-GA, poli-GP, poli-GR ve poli-PA / poli-PR şeklinde sıralanabilir (Wen vd., 2017).





Şekil 2.9. DPR'lerin etkilediği patojenik mekanizmalar (Wen vd., 2017)

Mayalar, kültüre edilmiş nöron hücreleri ve *Drosophila*'da yapılan bir çok çalışmada iki arginine zengin DPR olan poli-GR ve PR'nin güçlü toksik olduğu gösterilmiştir. Diğer DPR'lerin ise toksik olmadığı yada hafif bir toksik etki gösterebileceği bildirilmektedir (Wen vd., 2017).

Poli-PR ve poli-GR, nükleusu geri dönüşümsüz olarak bağlar ve spesifik RNA'ların splicing modellerini değiştirebilir. Arjininden zengin DPR'lerin nörotoksik mekanizmaları hala tam olarak anlaşılmasa da nükleer/nükleolar proteinlerle etkileşime girdiğini ve nükleolar stresin indüklenmesi , rRNA sentezinin baskılanması, anormal stres granül oluşumu, kırılma (splicing) aberasyonları ve protein translasyonunun inhibisyonu dahil olmak üzere global translasyonel disregülasyona sebep olduğu düşünülmektedir. Bunların yanı sıra mitokondriyal disfonksiyon, nükleositoloplazmik taşınımın bozulmasıyla da ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Moens vd., 2017; Wen vd., 2017) (Şekil 2.9.B).

### 2.6.3- C9orf72 GGGGCC ekspansiyonu ve FTL D

#### 2.6.3.1- Normal ve hastalıkla ilişkili GGGGCC uzunluğu

Normal tekrar allelleri ile patojenik artmış tekrarlar arasındaki kesin çizgi şu ana kadar net olarak belirlenememiştir. Çoğu sağlıklı kontrol grubunda, 24 birime kadar normal tekrar uzunluğu tespit edilmiştir (Van Mossevelde vd.,

2017). Genel olarak sağlıklı bireylerde GGGGCC tekrarlarının dağılımı 2-23 arasında değişmekte, ancak ALS ve FTD hastalarında bu tekrarların 500-1600'e kadar ulaşabildiği düşünülmektedir (Jiao vd., 2014; Renton vd., 2011). Ancak normal tekrar uzunluğu değişkendir ve Avrupa nüfusunun % 90'ından fazlasında 2-10 GGGGCC tekrar birimi arasında bulunmaktadır (Renton vd., 2011).

Çoğu çalışmada, 30 birimlik eşik değer (cut off) kullanmasına rağmen, etkilenen bazı vakaların daha küçük tekrarlara sahip olduğu gözlenmiştir. ALS hastalarında 24 ve 28 birim arasında tekrar görülürken, FTD hastalarında ve etkilenen kardeşlerinde gözlenen 20 ile 22 gibi kısa tekrarların da hastalığa neden olabileceğine dair veriler bulunmaktadır (Gómez-Tortosa vd., 2013). Bir çalışmada, 24-30 arasında (orta derece tekrar) tekrar saptanan olgularda sporadik ALS gelişme riskinin arttığı bildirilmiştir (Chen vd., 2016). Parkinson ve esansiyel tremor (ET) hastalarında 20 ila 39 birim arasında orta tekrarlar bildirilmiştir (Van Mossevelde vd., 2017).

*C9orf72* tekrar artışının <35 yaşta nadiren penetrant, 58 yaşta %50 penetrant ve 80 yaşında genelde >% 95 penetrant olduğu düşünülmektedir (Couratier, Corcia, Lautrette, Nicol, & Marin, 2017). Benussi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *C9orf72* ekspansiyon taşıyıcılarının 80 yaşına kadar full penetrans gösterdiklerini ve pedigrî analizleri incelendiğinde hastalık başlangıç yaşının sonraki nesillerde daha erken olduğunu belirterek antisipasyona dikkat çekmişlerdir (L. Benussi vd., 2014).

### 2.6.3.2- Görülme sıklığı

*C9orf72* ekspansiyonu, ailevi FTD ve ALS-FTD vakaları ile ilişkili en sık görülen mutasyon olup ailesel ALS'nin yaklaşık % 40'ı, sporadik FTD vakalarının % 6'sı ve ailesel FTD'nin % 25'ini oluşturmaktadır (Couratier vd., 2017)

Avrupa popülasyonunda özellikle Fin ve İsveç gibi izole toplumlarda taşıyıcı oranı yüksektir ve en yüksek frekans Finlandiya (%29)' da saptanmıştır (Couratier vd., 2017; Van der Zee vd., 2013). Ancak Asya topluluklarında yapılan çalışmalarda mutasyonun çok nadir gözleendiği, etnik farklılıkların olabileceğini düşündürmektedir (Kim vd., 2014; Ogaki vd., 2013). Çin popülasyonunda yapılan 128 hastalık çalışmada ailesel FTD-ALS öyküsü olan iki asemptomatik kardeş ve bir sporadik FTD olgusunda ekspansiyon saptanmıştır (Jiao vd., 2014).

### 2.6.3.3- *C9orf72* taşıyıcılarında klinik ve nöropatolojik özellikler

Başlangıç yaşı ve hastalık süresi *C9orf72* taşıyıcılarında, hatta aile içerisinde bireyler arasında bile değişkenlik göstermektedir. İngiltere, Avrupa, Amerika ve Avustralya çapında FTLD spektrumunda yapılan çalışmalarda *C9orf72* ekspansiyonu gözlenen FTLD vakalarının sıklıkla dvFTD kliniği sergilediği saptanmış, bu olguların psikozla ilerledikleri ve yaygın olarak halüsinasyonlar/sanrılar gösterdikleri bildirilmiştir (Sharon vd., 2012). PPTA ikinci en yaygın FTD varyantı iken svFTD'de nadiren *C9orf72* ekspansiyonu tespit edilmiştir (Snowden vd., 2012).

Yapılan bir çalışmada *C9orf72* ekspansiyonu taşıyan 32 olgudan 12 (%38) tanesinde psikoz gözlenirken, normal tekrar sayısı saptanan olguların sadece %4'ünde psikotik bulgulara rastlanmıştır. Araştırmacılar, *C9orf72* ekspansiyon ve psikoz arasında güçlü bir ilişki olduğunu, *C9orf72* genindeki bu artışların yalnızca FTD-MND değil aynı zamanda geç başlangıçlı psikoz gelişmesinde de önemli bir role sahip olabileceğini öne sürmüşlerdir (Snowden vd., 2012). Psikozun *C9orf72* taşıyıcılarında oldukça yüksek oranda gözlendiği başka çalışmalarda da bildirilmiştir (Dobson-Stone vd., 2013). Bu nedenle, FTD-ALS bağlamında psikiyatrik semptomların varlığı C9ORF72 tekrar artışını düşündürmelidir. Klinik FTD ve ALS'den ziyade psikiyatrik tabloya daha çok benzemektedir.

*MAPT* ve *PGRN* mutasyonu taşıyan FTLD vakaları ve *C9orf72* ekspansiyonu taşıyan olgular karşılaştırıldığında klinik olarak çok büyük farklılıklar saptanmamıştır. Ancak *C9orf72* ekspansiyonu taşıyan olgularda yaygın olarak baskın bir frontal atrofi gözlenmektedir. *C9orf72* ekspansiyonu taşıyan bireylerde *PGRN* mutasyonu taşıyanlara kıyasla başlangıç yaşı daha erken ancak survi süreleri benzer olarak gözlenmiştir. Bunun yanı sıra *C9orf72* ekspansiyonu taşıyan bireylerde dvFTD yaygınken, *PGRN* mutasyonları daha çok PPTA'da gözlenmiştir (Tim Van Langenhove vd., 2013). Ekspansiyon taşıyan bireylerin manyetik rezonans görüntülemelerinde bilateral, simetrik frontal atrofi, orbitofrontal gri madde hacminde azalma, medial ve dorsolateral bölgelerin yanı sıra anterior temporal atrofi gözlenmiştir (Sharon vd., 2012).

*C9orf72* tekrar ekspansiyonundaki nöropatolojik çalışmalar TDP-43 patolojisi ile karakterizedir (Ilse Gijssels vd., 2017). Sitoplazmik TDP-43 pozitif inklüzyonlar genellikle *C9orf72* FTD/ALS hasta dokusunda DPR pozitif inklüzyonlara kıyasla ayrı bir oluşumdur. Özellikle ALS vakalarında motor nöronlarının kaybının DPR inklüzyonlarına nazaran TDP-43 patolojisiyle yakından ilişkili olduğunu gösterilmiştir (T. W. Todd & Petrucelli, 2016). RNA odaklarının ve DPR'lerin hücrede stres faktörleri olarak hareket edebileceği ve sonuçta TDP-43 patolojisi ve nörodejenerasyona neden olan bir dizi olayı tetiklediği öne sürülmüştür (Edbauer & Haass, 2016). DPR inklüzyon

oluşumunun hastalık seyrinde TDP-43 patolojisinden daha erken meydana geldiğini ve bazı çalışmalarda daha ağır DPR patolojisinin erken hastalık başlangıcıyla korele olduğu bildirilmiştir (Mackenzie vd., 2015).

#### 2.6.3.4- Modifiye edici faktörler

*C9orf72* tekrar artışı taşıyıcılarının klinik ve patolojik heterojenitesinin kaynağı büyük ölçüde bilinmemesine rağmen bu çeşitliliğin altında yatan mekanizmalardan biri olarak modifiye edici faktörler düşünülmektedir.

Bugüne kadar, en çok çalışılan genetik modifiye edici faktör GGGGCC tekrar artışının büyüklüğüdür. Heksanükleotid tekrar artışlarının beyin hücreleri arasında mozaizmi gösterilmiştir. Bu mozaiklik dokular arasında daha da belirgin hale gelmektedir. Birçok çalışma, farklı dokulardaki somatik mozaiklik nedeniyle 16 birimden gelen tekrarların istikrarsızlığını bildirmiştir ki bu da kan DNA'sındaki tekrar sayısı patojenitesinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Ilse Gijssels vd., 2017).

Tekrar sayısı ve sağkalım arasında gelişki datalar mevcuttur. Ancak Suh ve ark. periferik kan DNA'sını kullanarak, *C9orf72*-FTD'de ekspansiyon boyutu ile sağkalım arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (Suh vd., 2015).

Tekrar sayısının yanında fenotip modifiye edici faktör olarak *TMEM106B* geni tanımlanmıştır. Transmembrane protein 106B (*TMEM106B*; OMIM: 613413) 7p21.3 de lokalize 8 ekzonlu henüz görevi bilinmeyen bir gendir. *TMEM106B* ve FTLD arasındaki ilişki patolojik olarak FTLD-TDP olduğu kesinleşen 515 olguda yapılan GWAS çalışmasında kurulmuştur. Tanımlanan tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) özellikle rs1020004, rs6966915 ve rs1990622' nin beyindeki artmış *TMEM106B* ekspresyon seviyeleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. rs1990622 ve artmış *TMEM106B* mRNA seviyeleri arasındaki ilişki, özellikle *PGRN* mutasyon taşıyıcılarının post mortem beyin dokularında gösterilmiştir (Van Deerlin vd., 2010).

*TMEM106B* koruyucu minor alelinde (rs1990622 ve rs3173615) homozigot frekansı, *C9orf72* FTLD ve FTD-MNH taşıyıcılarında (%11.9) kontrollerden (%19.1) daha düşüktür ve bu durum muhtemelen daha büyük TDP-43 patolojisi ile sonuçlanmaktadır (Van Blitterswijk vd., 2014). *TMEM106B* koruyucu allellerinden bir ya da daha fazla kopyasını taşıyanların FTLD geliştirme riskinin %30-50 oranında daha düşük olduğu tanımlanmıştır (van der Zee vd., 2011).

## **2.7- C9orf72 GGGGCC Artışında Kullanılan Analiz Yöntemleri**

Tarihsel olarak Southern blot, Frajil X sendromunda olduğu gibi geniş tekrar artışlarını tespit etmek ve boyutlandırmak için altın standart yöntem olarak kabul edilmiştir. C9orf72 genindeki GGGGCC tekrar ekspansiyonunun tam sayısının belirlenmesi, bu bölgenin % 100 GC içeriği, oldukça yüksek tekrarlarla gözlenen geniş boyu, dokular arasındaki somatik instabilite ve bu bölgeye komşu dizilerin tekrarlayan doğası nedeniyle sınırlı olmuştur (Ilse Gijssels vd., 2017).

Klasik PCR metodları tekrar sayısının tespitinde, özellikle yüksek tekrar içeren olgularda yetersiz kalmaktadır. Genellikle bu gibi olgularda kullanılan Southern blot testi ise somatik mozaikizme bağlı olarak smear şeklinde görüntüler verebilmektedir. Bu sorunun üstesinden gelmek ve tekrar sayısını net olarak belirlemek için optimize edilmiş Southern blot yöntemleri geliştirilmiştir (Buchman vd., 2013). Ancak hem araştırma hem de diagnostik olarak yüksek doğrulukta ve büyük miktarda giriş DNA'sı gerektirmeyen yüksek verimli, hızlı PCR tabanlı testlerin olması kolaylık sağlamaktadır. Günümüzde tekrar artışlarının tespiti için iki farklı PCR yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır.

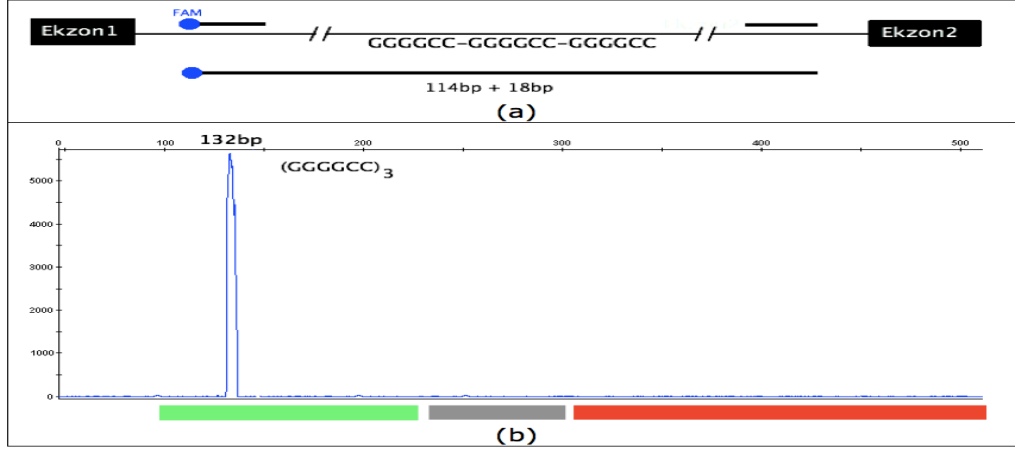
### **2.7.1- C9orf72 Size-PCR**

Genomda yüksek GC içeriği taşıyan sekansların PCR'ı oldukça zordur. Bu sekanslar amplifiye edilirken, amplifikasyonun ilk döngüleri sırasında, tek iplikli DNA'da ilmekler oluşmakta ve Taq polimeraz, bu saç tokası yapısını atlayarak bu diziden yoksun kısaltılmış PCR ürünlerinin amplifikasyonunu teşvik etmektedir. Dimetil sülfoksit (DMSO), gliserol, polietilen glikol, formamid, betain, 7-deaza-dGTP gibi organik moleküller kullanılması ile GC zengin DNA sekanslarının amplifikasyonunun iyileştirildiği gösterilmiştir (Musso, Bocciardi, Parodi, Ravazzolo, & Ceccherini, 2006).

Otomatik kapiller jel elektroforez, elektroforetik hareket kabiliyeti, faz ayırımı ve moleküler boyuttaki farklılıklara ya da bunların bir kaçına bağlı olarak elektrokinetik ayırım yapan bir tekniktir. Kapiller, elektrotları ve tamponu içeren iki cam hazne arasına yerleştirilmiş olup, kapillerler jel ile dolduktan sonra çok az miktardaki örnek, kapillerin bir ucuna elektrokinetik ve hidrodinamik teknikle yüklenmektedir. Ayırım, yüksek voltaj (5-30 kV, 1-150 uA) uygulayarak yaklaşık 200-500 V/cm doğru akım altında sağlanmaktadır.

Sizing PCR için primerler (GGGGCC) tekrar bölgesini içine alan 114bp uzunluğunda bir bölgeyi çoğaltmak üzere tasarlanmıştır. PCR sonucu elde edilen ürün boyu (GGGGCC) tekrar sayısı ile doğru orantılı olarak uzamaktadır. Eğer 3 (GGGGCC) tekrarı var ise  $114\text{bp} + 18\text{bp} = 132\text{bp}$  uzunluğunda PCR ürünü

elde edilmektedir. Primerlerden bir tanesi FAM boyası ile işaretli olduğundan PCR sonucu elde edilen ürünler kapiler elektroforezde yürütülerek görüntülenebilmektedir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. *C9orf72*-Size PCR kiti çalışma prensibi (a) ve PCR sonucu elde edilen ürünlerin kapiler elektroforezde görüntülenmesi (b).

Özellikle tekrar bölgelerini içeren GC yoğun bölgelerin amplifikasyonu zor olduğu için genellikle belli bir tekrar sayısından daha büyük alellerden PCR ürünü elde edilememektedir. Bu durum genişlemiş (patojenik) GGGGCC tekrarına sahip heterozigot bireylerde sadece normal allelden PCR ürünü elde edilmesine ve tek allel görülmesine neden olmaktadır. Bu durum patojenik allelin gözden kaçmasına ve yanlış genotiplemeye neden olabilir.

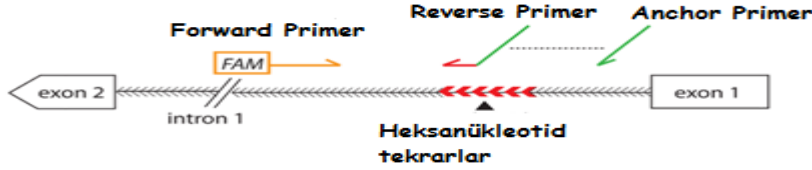
Bundan dolayı GGGGCC tekrar bölgesinin genotiplemesi için ikinci bir yöntem kullanılmakta ve tek allel gözlenen bireylerin ekspansiyon taşıyıp taşımadığı test edilmelidir.

### **2.7.2- *C9orf72* Repeat Primed PCR**

Warner ve ark. 1996'da üçlü nükleotit tekrar dizilerinin ekspansiyonlarını saptamada Southern blot'ın yerini alacak bir PCR metodu geliştirmişlerdir (Warner vd., 1996).

Bu yöntemde 3 primer kullanılmaktadır. Şekil 2.11'de görüldüğü gibi kullanılan primerlerden biri (reverse primer) GGGGCC tekrar dizisine özgü olup diğer primer (forward primer) tekrar etmeyen bölgeye bağlanmaktadır. Reverse primerin bir kısmı tüm GGGGCC tekrarlarına bağlanacak şekilde uç kısmı ise anchor diye adlandırılan ve genomda başka hiçbir diziyeye bağlanmayacak şekilde tasarlanmaktadır. Bu primer tamamen rastlantısal olarak tekrarların farklı yerlerine bağlanmaktadır (Eruslu & Başak). Şekil 2.12'de görüleceği üzere, 3 GGGGCC tekrarı var ise primer 3 defa bağlanarak

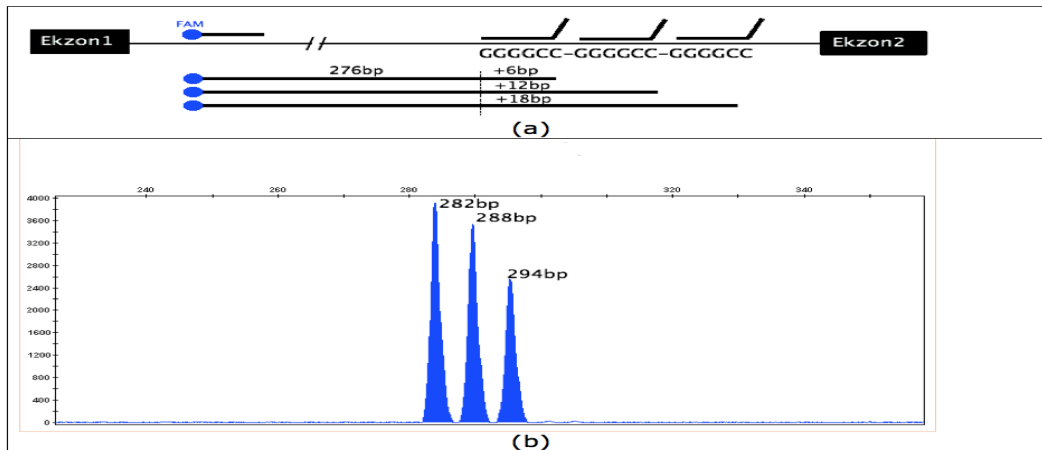
aralarında +6bp fark olan ürünler oluşturmaktadır. PCR sonucu elde edilen ürün boyu (GGGGCC) tekrar sayısı ile doğru orantılı olarak uzamaktadır. Eğer 3 (GGGGCC) tekrarı var ise 282bp, 288bp ve 294bp uzunluğunda 3 PCR ürünü elde edilmektedir. Primerlerden bir tanesi FAM boyası ile işaretli olduğundan PCR sonucu elde edilen ürünler kapiler elektroforezde yürütülerek görüntülenebilmektedir. 3 GGGGCC tekrarına sahip allelden 3 peak elde edilmektedir.



Şekil 2.11. Repeat-primed PCR için kullanılan primerlerin şematik gösterimi (Renton vd., 2011)

Bu yöntemde GGGGCC tekrar sayısı kadar farklı PCR ürünü elde edildiğinden, kapiller elektroforez sonucu elde edilen peakler sayılarak GGGGCC genotiplenmesi yapılmaktadır. Bu yöntem sayesinde size PCR ile çoğaltılamayan allellerden ürün elde edilmekte ve genişlemiş allelin varlığı saptanabilmektedir.

GC yoğun ve tekrar içeren bölgelerden PCR ürünü elde edilebilmesi için "C9orf72-sizePCR kiti" ve "C9orf72-RepeatPrimedPCR kiti" long-template PCR buffer ve enzimi ile 7-deaza-dGTP içeren dNTP miksini içermektedir.



Şekil 2.12. C9orf72-Repeat Primed PCR kiti çalışma prensibi (a) ve PCR sonucu elde edilen ürünlerin kapiler elektroforezde görüntülenmesi (b)

## 3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 3.1- Araştırma Grubu

Çalışmamızın güç analizleri ile hasta ve kontrol sayılarını belirlemek için Majounie ve arkadaşlarının verileri temel alınmıştır (Majounie vd., 2012). İki bağımsız oran arasında anlamlı fark bulabilmemiz için gerekli örnek sayısı güç analizi yöntemi ile hasta ve kontrol grubu için en az 89 kişi olarak hesaplanmıştır. Güç analizinde 1.Tip hata %5, 2.tip hata %20 ve dolayısıyla güç %80 olarak belirlenmiştir. Güç analizi PASS 2008 programında yapılmıştır.

TUBİTAK 1001 114S346 nolu proje kapsamında olan bu çalışma, projenin ikinci aşamasını oluşturmaktadır. FTLD spektrumundan (dvFTD, svFTD, PPTA, FTD-MNH, PSP, KBD) tanı almış ve *MAPT*, *PGRN*, *CHMP2B*, *VCP*, *TARDBP*, *FUS* genlerinin yeni nesil dizileme yöntemi ile tüm ekzonları ve ekzon-intron kavşaklarının dizilenmesi sonucu bu genlerde mutasyonun gözlenmediği 100 olgu çalışmamıza dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak nörolojik/psikiyatrik olarak patolojik bir bulgusu olmayan, yaşla uyumlu 100 kontrol bireyi kullanılmıştır.

Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Moleküler Genetik seksiyonunda gerçekleştirilmiştir. Olgu ve kontrol örneklerinde *C9orf72* genindeki GGGGCC tekrar sayılarını belirlemek amacıyla RP-PCR ve Size-PCR yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmamız için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Uygulamalar Etik Kurulu'ndan 20.03.2014 tarih ve 2014/12 sayılı onay alınmıştır.

### 3.2- Gereçler

#### 3.2.1- Kullanılan aletler

- ✓ Jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi (Gene Genius)
- ✓ Mikrosantrifüj (Sigma)
- ✓ Vorteks (Heidolph)
- ✓ Derin dondurucu (Arçelik)
- ✓ Buzdolabı (Arçelik)
- ✓ PCR aleti (thermal cycler) (PE GenAmp PCR System 9700)
- ✓ Spektrofotometre (NanoDrop ND-1000)
- ✓ Otomatik kapiller elektroforez cihazı (ABI 3130)
- ✓ Elektroforez için güç kaynağı (EKR)
- ✓ Elektroforez aleti (Consort E844)
- ✓ Pipet takımı (Eppendorf)
- ✓ Ependorf tüpü (1,5 ml'lik)
- ✓ PCR tüpleri (strip) (Perkin Elmer)



### **3.2.2- Kullanılan kimyasal maddeler**

- ✓ 10X buffer
- ✓ dNTP mix
- ✓ Primer mix
- ✓ DMSO
- ✓ DNA Polimeraz
- ✓ LIZ 500 Size Standard
- ✓ DNA Ekstraksiyon Kiti (Roche- Large Volum)

### **3.3- Yöntemler**

#### **3.3.1- Materyal alımı**

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniği (96 olgu) ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniğine (4 olgu) başvuran ve FTLD spektrumundan tanı alan (dv FTD, sv FTD, PPTA, FTD-MNH, PSP, KBS) toplam 100 hasta ile nörolojik/psikiyatrik olarak patolojik bir bulgusu olmayan, yaşla uyumlu 100 kontrol olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Bütün araştırma ve kontrol grubu bireyleri ile görüşülmüş, çalışmanın amaç ve aşamaları anlatılarak kabul edenlerden onam formu alınmıştır. Daha sonra, araştırma/kontrol grupları bireylerinde pedigrı değerlendirmesi yapılmıştır.

#### **3.3.2- Periferik kan örneklerinden DNA elde edilmesi**

- ✓ Hasta ve kontrollerden EDTA'lı tüpler içerisine periferik kan alınmıştır.
- ✓ DNA izolasyonunda Magna Pure Compact LC (Roche Applied) robotik sistem kullanılmıştır.
- ✓ Ekstraksiyon cihazında proteinaz K, yıkama solüsyonları ve DNA'yı tutmak için bulunan manyetik boncukların olduğu, ayrıca pipetaj için boş kuyucukların olduğu bir kartuş sistemi bulunmaktadır.
- ✓ Robotik sisteme kartuş ve pipet uçları yerleştirilip örnekler ve elüsyon tüpleri konulduktan sonra bütün DNA izolasyon basamakları otomatik olarak gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Toplam 400 µl kan örneğinden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş olup, periferik kan örneği sisteme yüklenmiş, kandan DNA izolasyon protokolü seçilerek totalde 100 µl (µl'sinde 100 ng) DNA elde edilmiştir.
- ✓ Örnekten, µl'sinde 100 ng DNA elde edebilmek için sisteme uygun olan Large Volume kullanılmıştır.
- ✓ İzole edilen DNA örnekleri -20°C'de saklanmıştır.

### 3.3.3- C9orf72 geni GGGGCC tekrar sayılarının size-PCR ve RP-PCR ile belirlenmesi

Çalışmamızda kullanılan kitler, Renton ve arkadaşlarının yönteminden modifiye edilerek tasarlanmıştır (Renton vd., 2011).

- ✓ Çalışma öncesi -20° C de saklanan DNA örnekleri oda ısısına getirilmişlerdir.
- ✓ DNA miktarı ve kalitesi, NanoDrop™ spektrofotometre ile ölçülmüştür. Fragman analizi için 50-200 ng/µl DNA gereklidir.
- ✓ DNA miktarı ve kalitesi uygun olan örneklerde Fragman analizi öncesi PCR miks hazırlanması ve PCR koşulları sırasıyla Tablo 3.1 ve 3.2 de verilmiştir.

Tablo 3.1. Bir PCR reaksiyonu için gerekli ürünler ve miktarları

Ürün Adı	Size-PCR için bir PCR reaksiyonu için gerekli miktar (µl)	RP-PCR için bir PCR reaksiyonu için gerekli miktar (µl)
<b>10X buffer</b> (Mg <sup>2+</sup> 20 mM)	2,5µl	2,5µl
<b>dNTP miksi</b> (10 mM)	0,5µl	0,5µl
<b>Primer miksi</b> (10 mM)	3µl	6µl
<b>DMSO</b>	2µl	2µl
<b>DNA polimeraz</b> (2u/µl)	0,1µl	0,3µl
<b>Örnek DNA'sı</b> (50-200 ng/µl)	3 µl	3 µl
<b>Distile su</b>	13,9 µl	10,7 µl
<b>TOPLAM</b>	25 µl	25 µl

Tablo 3.2. Size-PCR ve RP -PCR için PCR şartları

Sıcaklık (°C)	Süre (dakika/saniye)	Döngü Tekrarı
95°C	4 dk	1x
95°C	30 sn	2x
70°C	30 sn	
70 C	90 sn	
95°C	30 sn	3x
68°C	30 sn	
70°C	90 sn	
95°C	30 sn	4x
66°C	30 sn	
70°C	90 sn	
95°C	30 sn	5x
64°C	30 sn	
70°C	90 sn	
95°C	30 sn	6x
62°C	30 sn	
70°C	90 sn	
95°C	30 sn	7x
60°C	30 sn	
70°C	90 sn	
95°C	30 sn	8x
58°C	30 sn	
70°C	90 sn	

<b>95°C</b>	30 sn	5x
<b>56°C</b>	30 sn	
<b>70°C</b>	90 sn	
<b>70°C</b>	4 dk	1x
<b>4°C</b>	∞	

### 3.3.3.1- Ürünlerin fragman analizi için cihaza yüklenmesi

Toplamda 1 µl RP-PCR ürünü 5 µl formamid ile, 1 µl Size-PCR ürünü ise 10 µl formamid ile seyreltilmişlerdir. Seyreltilmiş ürünlerden 1 µl alınarak, 12.5 µl formamid ve 0.3 µl Genescan LİZ-500 miksi ile karıştırılmış ve ABI 3130 otomatik kapiller jel elektroforez cihazına yüklemek üzere plate'e dizilmiştir.

PCR ürünleri, ABI PRISM 3130xl Genetik Analiz Cihazı (Applied Biosystems) üzerinde POP-7 polimer (Applied Biosystems) ve 36 cm 16 kapiller array kullanılarak 23s enjeksiyon süresi ile kapiller elektroforez ile ayrılmıştır. PCR fragmanı boyutu, Genescan LİZ-500 ile GeneMapper yazılımında (Applied Biosystems) belirlenmiştir.

### 3.3.3.2- Tekrar sayılarının analizi

- Size PCR ile Tekrar Sayısı Belirlenmesi = (fragman uzunluğu-114)/6

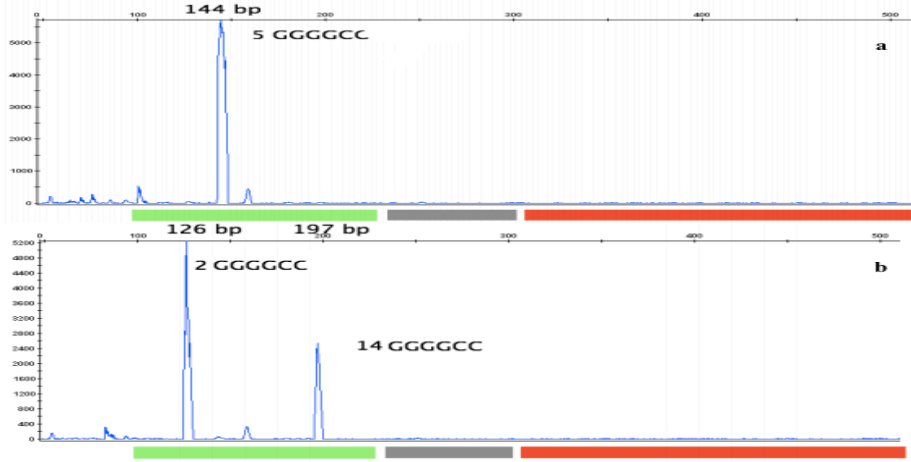
C9orf72 geni GGGGCC heksanükleotid tekrar sayısı değerlendirmesinde;  $\geq 30$  tekrar sayısı patojenik,  $\leq 20$  tekrar sayısı ise normal olarak sınıflandırılmıştır. Tekrar sayısının 20-30 arasında saptanması, orta derece olarak yorumlanmıştır. Size PCR genotiplemesinde tekrar hata aralığı, <50 tekrar için  $\pm 1$  tekrar civarındadır.

Çalışmamızda gerçekleştirilen size-PCR sonuçlarının yorumlanması aşağıda detaylı olarak açıklanmıştır.

Durum 1- Şekil 3.1 a'da görüldüğü gibi tek PCR ürünü elde edildiği zaman iki olasılık düşünülmüştür. Bunlardan ilki; her iki allel normal ve aynı tekrara sahip olduğu için (homozigot) tek pik elde edilmiş olmasıdır. İkincisi ise bir allel normal, diğer allel genişlemiş olduğu için bu allelin PCR tarafından çoğaltılamamış olması durumudur ki bu nedenle homozigot olan olguların

muhakkak RP-PCR sonuçları ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

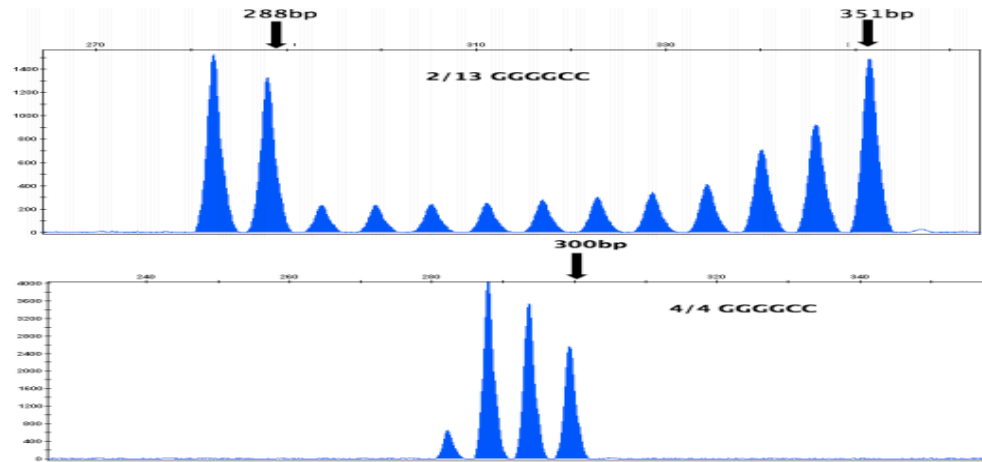
Durum 2- Şekil 3.1 b'de görüldüğü gibi iki ayrı PCR ürünü eldesi durumunda sonuç heterozigot olarak yorumlanmış ve yukarıda verilen formülizasyona göre tekrar sayıları belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Size PCR Yorumu

- RP-PCR ile Tekrar Sayısı Belirlenmesi = (fragman uzunluğu-276)/6

Tekrar sayısı hem yukarıda verilen formül kullanılarak hem de her bir pik tek bir tekrarı ifade ettiği için (Şekil 3.2) pikler sayılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. RP PCR Yorumu

### **3.3.4- İstatistiksel analiz**

Verilerin analizi IBM SPSS 21 paket programı ile yapılmıştır. Nicel değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma yada median (Q1-Q3) olarak, nitel değişkenler ise frekans ve yüzde olarak gösterilmiştir.

Normal dağılım gösteren iki bağımsız grup karşılaştırılması t-testi, dağılmayanlar için ise Mann Whitney testi kullanılmıştır. Nitel değişkenler arasında arasındaki ilişki Ki-kare analizi, nicel değişkenler arasındaki ilişki ise regresyon analizi ile incelenmiştir.  $p < 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.



## 4- BULGULAR

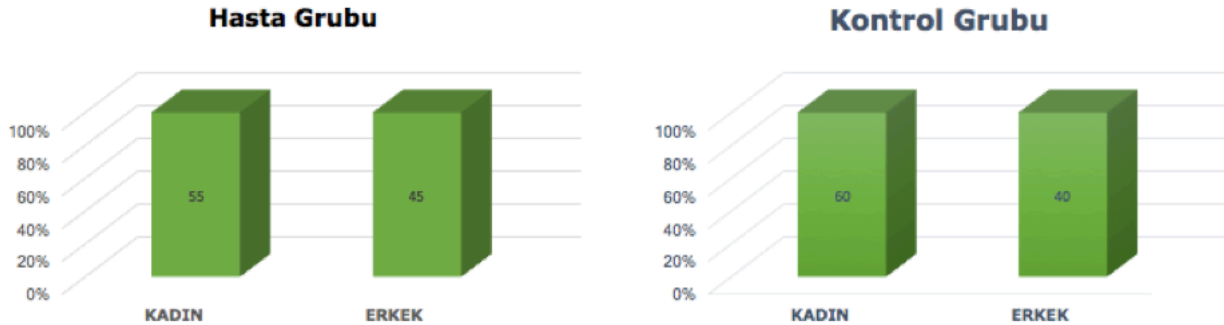
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniği (96 olgu) ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniğine (4 olgu) başvuran ve FTLD spektrumundan (dvFTD, svFTD, PPTA, FTD-MNH, PSP, KBD) tanı almış, *MAPT*, *PGRN*, *CHMP2B*, *VCP*, *TARDBP*, *FUS* genlerinde herhangi patojenik bir mutasyon saptanmamış 100 olguda ve nörolojik/psikiyatrik olarak patolojik bir bulgusu olmayan yaşla uyumlu 100 kontrol bireyinde *C9orf72* GGGGCC heksanükleotid tekrar sayıları RP-PCR (repeat primed PCR) ve size-PCR yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Tekrar sayıları olguların klinik bulgularıyla birlikte değerlendirilmiştir. Tekrar artışlarının Türkiye FTLD spektrumunda görülme oranları belirlenmiş ve fenotip üzerindeki etkileri saptanmaya çalışılmıştır.

### 4.1- Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri

Çalışmamıza dahil eden 100 olgunun 55'i kadın, 45'i erkektir (Şekil 4.1). Olguların şimdiki yaş ortalaması  $60,64 \pm 9,6$ , hastalık başlangıç yaş ortalaması ise  $55,73 \pm 9,7$ 'dir.

Kontrol grubunu oluşturan 60 kadın, ve 40 erkeğin (Şekil 4.1) yaş ortalaması  $58,30 \pm 9,1$  olarak saptanmıştır.



Şekil 4.1.Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyete göre dağılımları

FTLD tanısı ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalına yönlendirilen olguların anamnezleri alınmış, pedigrileri çizilmiş ve aile öyküleri değerlendirilmiştir. Olgulardan 71'i dvFTD, 6'sı svFTD, 10'u PPTA, 6'sı FTD-MNH, 4'ü KBD, 2'si PSP ve 1 olgu FTD-parkinson olarak sınıflandırılmıştır. Hasta grubunun %33'ünde ailede demans öyküsü bulunmaktadır. Psikotik semptomlar olguların %17'sinde gözlenmiştir. Olgu grubuna ait özellikler Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. FTLD olgu grubuna ait özellikler

<b>Alt tip</b>	<b>Dağılım</b> (n=olgu sayısı)	<b>Aile öyküsü +</b> (n=olgu sayısı)	<b>Psikotik semptom+</b> (n=olgu sayısı)
dvFTD	71	23	15
svFTD	6	1	-
PPTA	10	4	-
FTD-MNH	6	3	2
KBD	4	1	-
PSP	2	-	-
FTD-Park	1	1	-
Toplam	100	33	17

#### 4.2- Yöntem ve Değerlendirmeye İlişkin Bulgular

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniği (96 olgu) ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniğine (4 olgu) başvuran ve FTLD spektrumundan tanı almış toplam 100 olguda ve nörolojik/psikiyatrik olarak patolojik bir bulgusu olmayan yaşla uyumlu 100 kontrol bireyinden EDTA'lı tüplerde alınan kanlar izole edilerek iki farklı PCR yöntemi ile çalışılmıştır.

*C9orf72* GGGGCC heksanükleotid tekrar sayılarını belirlemede RP-PCR (repeat primed PCR) ve sizing-PCR arasında  $\pm 1$  tekrar sayısı fark saptanmıştır. Homozigot olguların birinde size-PCR' da belirlenemeyen patojenik tekrar artışı RP-PCR ile belirlenebilmiştir. Çalışmaya dahil olan tüm örneklerden sonuç alınmış olup çalışmamızın başarı oranı %100 olarak saptanmıştır.

#### 4.3- *C9orf72* GGGGCC Tekrar Sayısına Ait Bulgular

*C9orf72* GGGGCC heksanükleotid tekrar sayılarını değerlendirmede üç grup kullanılmıştır.

2-19 tekrar sayısı; normal

20-29 tekrar sayısı; orta derece tekrar

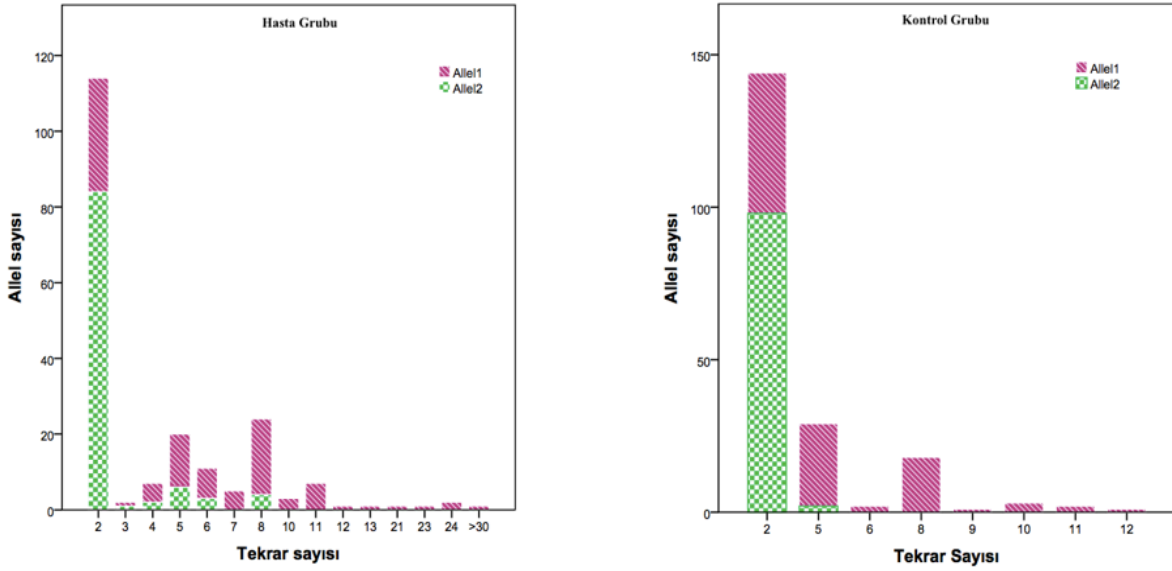
>30 tekrar sayısı; patojenik olarak sınıflandırılmıştır.



#### 4.3.1- FTLD spektrumu ve kontrol olgularında C9orf72 GGGGCC heksanükleotid tekrar dağılımları

Çalışmamızda, olgularımızın %4'ünde orta derece tekrar, %1'inde patojenik tekrar, %75'inde ise normal aralıkta tekrar saptanmıştır. Kontrol olgularının tümünde normal aralıkta tekrar sayısı gözlenmiştir.

Hasta grubunda minimum 2, maksimum >30 tekrar saptanırken, kontrol grubunda minimum 2 maksimum 12 tekrar gözlenmiştir. Olgu ve kontrol grubunun her ikisinde de en yaygın tekrar sayısı sırasıyla 2, 8, ve 5 tekrardır. Hasta ve kontrollerde saptanan tekrar sayıları dağılımı şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında tekrar sayıları dağılımı

Hasta ve kontrol grubu arasında tekrar sayılarının dağılımında Mann-Whitney U testi ile yapılan analizde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0,005$ ).

#### 4.3.2- FTLD spektrumu alt tiplerinde tekrar sayılarına ait bulgular

Davranış varyantı FTD tanısı alan toplam 71 olgunun 68 tanesinde normal aralıkta tekrar sayısı, 2'sinde orta derece tekrar, bir olguda ise patojenik tekrar saptanmıştır. Bir FTD-MNH ve bir FTD-parkinson alt tipinde orta derece tekrar saptanmıştır. Tablo 4.2'de FTD olgularında tekrar sayısı dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 4.2. FTLD olgu grubunda tekrar sayısı dağılımı

	Normal		Orta Derece Tekrar		Patojenik	
	n	%	n	%	n	%
<b>dvFTD</b>	68	95,8	2	2,8	1	1,4
<b>svFTD</b>	6	100	-	-	-	-
<b>PPTA</b>	10	100	-	-	-	-
<b>FTD-MNH</b>	5	83,3	1	16,7	-	-
<b>KBD</b>	4	100	-	-	-	-
<b>PSP</b>	2	100	-	-	-	-
<b>FTD-Park</b>	-	-	1	100	-	-

FTLD alt tipleri ile tekrar sayısı arasındaki ilişki Ki-kare testi ile değerlendirilmiş ve anlamsız bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

#### **4.3.3- Psikotik semptomlar, aile öyküsü pozitifliği ve hastalık başlangıç yaşında tekrar sayıları dağılımı**

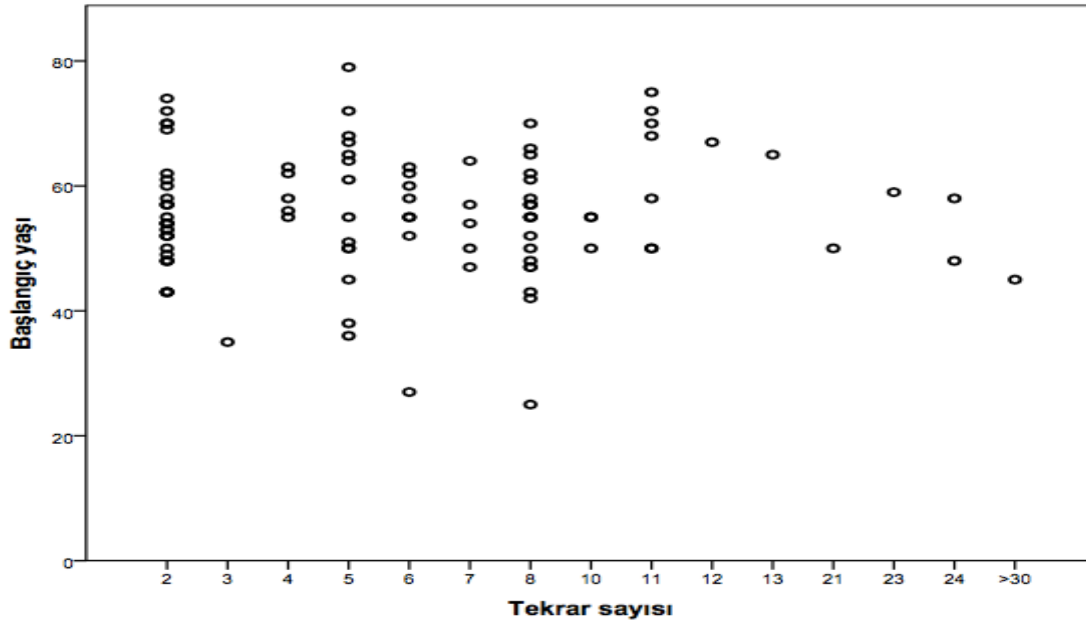
Psikotik semptomların gözleendiği 17 olgudan 13'ünde normal aralıkta tekrar sayısı saptanırken üçünde orta derece tekrar, bir olguda ise patojenik tekrar saptanmıştır. Tablo 4.3'de görüldüğü üzere orta derece ve patojenik tekrar gözlenen olguların tümünde aile öyküsü pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.3. FTLD olgu grubunda tekrar sayılarının psikotik semptom ve aile öyküsüne göre dağılımı

	Psikotik semptom -		Psikotik semptom +		Aile Öyküsü -		Aile Öyküsü +	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Normal</b>	82	86,3	13	13,7	67	70,5	28	29,4
<b>Orta Derece Tekrar</b>	1	25,0	3	75,0	-	-	4	100,0
<b>Patojenik</b>	-	-	1	100,0	-	-	1	100,0

Orta ve patojenik tekrar sayısının psikotik semptomlara etkisini saptamak amacıyla yapılan Ki-kare analizinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0.05$ ).

Olgularımızda gözlenen tekrar sayısı miktarlarının, başlangıç yaşı ile arasında istatistiksel olarak bir anlam saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). Şekil 4.3'de tekrar sayılarının hastalık başlangıç yaşına göre dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 4.3. FTLD olgu grubunda tekrar sayılarının hastalık başlangıç yaşına göre dağılımı

#### 4.3.4- Orta derece ve patojenik tekrar taşıyan olguların klinik bulguları

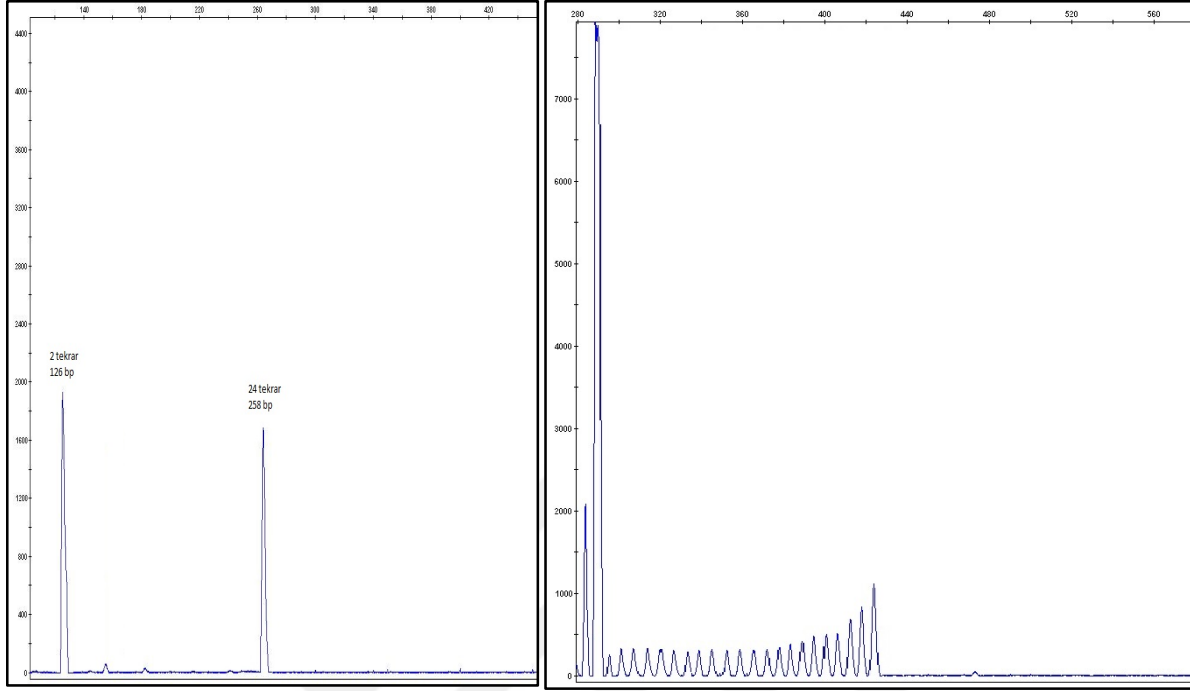
Olgularımızdan dördünde 20-30 arası GGGGCC heksanükleotid tekrarı saptanırken, bir olgumuzda patojenik (>30) tekrar sayısı saptanmıştır. Tablo 4.4'de bu olgulara ait klinik özellikler ve tekrar sayıları gösterilmiştir.

Sekil 4.4'de olgu İ4'e ait, şekil 4.5'de ise olgu E1'e ait size ve RP-PCR görüntüleri verilmiştir.

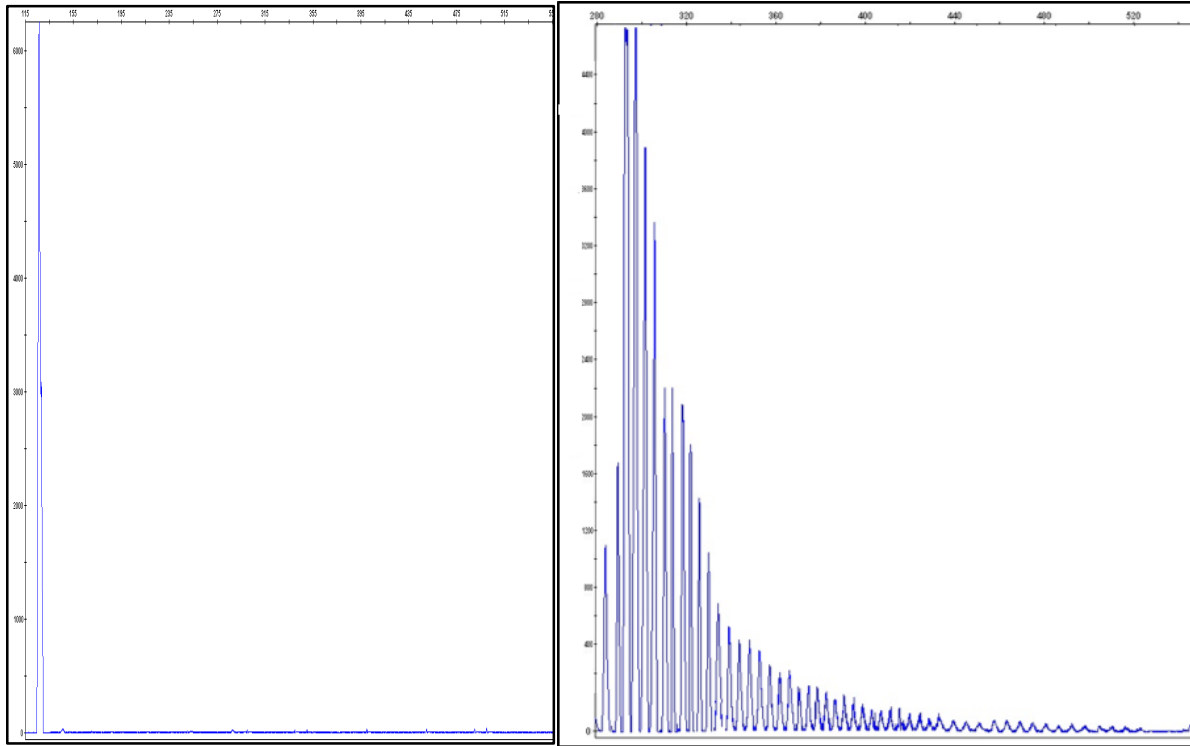
Tablo 4.4. Orta derece ve patojenik tekrar taşıyan olguların klinik bulguları

Olgu No	Başlangıç yaşı	Alt tip	Klinik bulgular	MR bulguları	Tekrar sayısı
İ1	53	dvFTD	Visuospatial değerlendirme kaybı, içgörü yokluğu, soyut düşünmede bozukluk, apati, apraksi, görsel halüsinasyonlar	Bilateral frontotemporal atrofi	6-21
İ2	58	FTD-MND	Bellek bozukluğu, depresyon, apati, motor güç kaybı, halüsinasyonlar	Frontotemporal loblarda belirgin atrofi, supratentorial seviyede atrofi	4-24
İ3	59	dvFTD	Apati, içgörü kaybı, soyut düşünmede bozukluk, görsel halüsinasyonlar	Frontal lob atrofisi	2-23
İ4	48	FTD-Parkinson	Yürütücü işlevler ve dikkat bozukluğu, rijidite, bradikinezi	Frontotemporal ve paryetal atrofi	2-24
E1	45	dvFTD	Stereotipik hareketler, anksiyete, apati, takıntı, episodik bellek bozukluğu, görsel ve işitsel halüsinasyon	Supratentorial seviyede frontotemporal loblarda belirgin atrofi	2->30

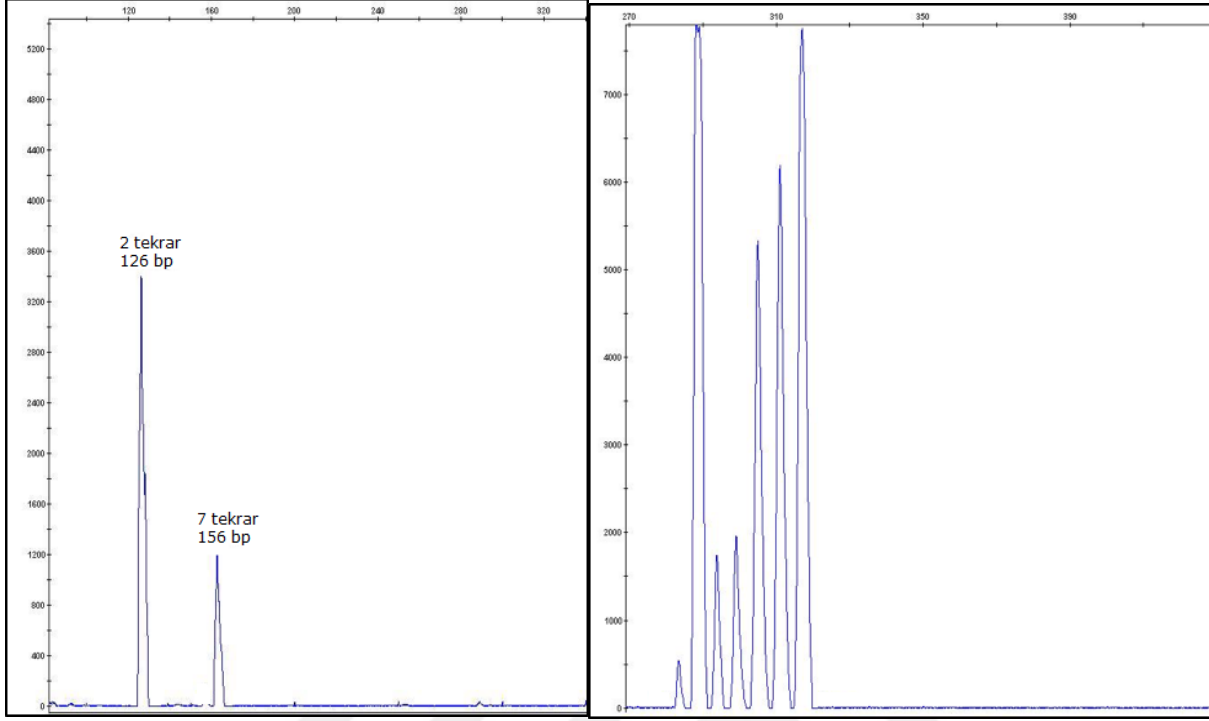
Şekil 4.6 ve 4.7'de normal aralıkta heterozigot (2-7) ve homozigot (4-4) tekrar taşıyan farklı olgulara ait size ve RP-PCR görüntüleri verilmiştir.



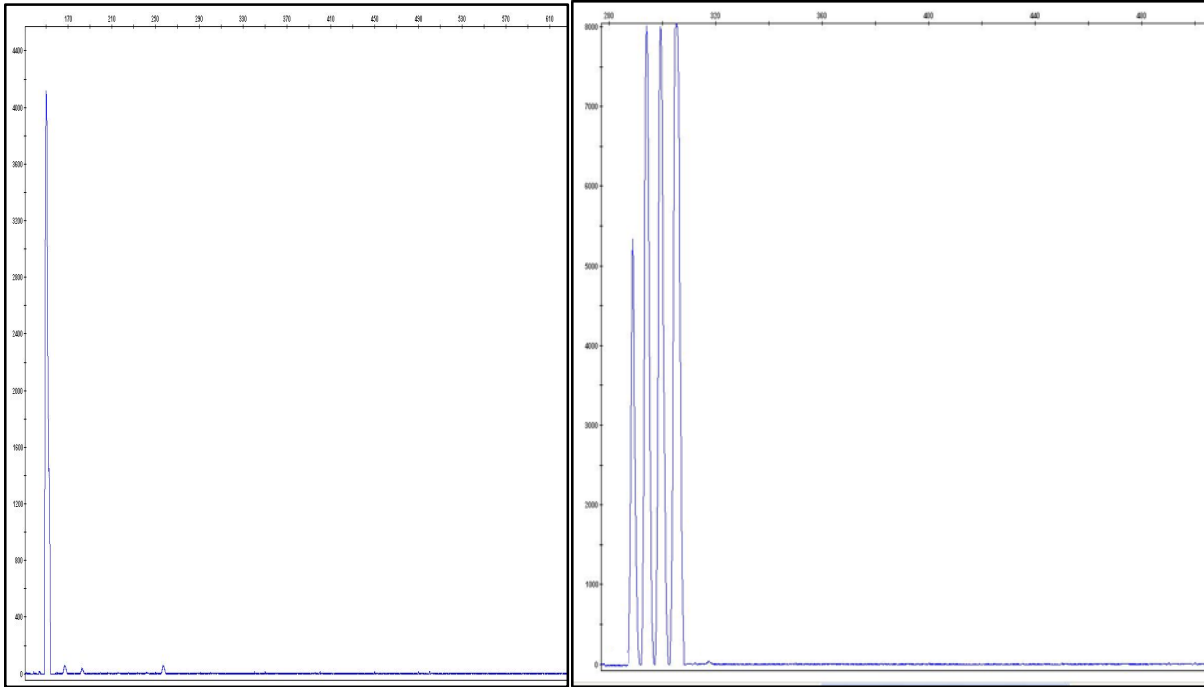
Şekil 4.4. Orta derece heterozigot (2-24) tekrar taşıyan olgu İ4'e ait size ve RP-PCR görüntüleri



Şekil 4.5. Patojenik (2->30) tekrar taşıyan olgu E1'e ait size ve RP-PCR görüntüleri



Şekil 4.6. Normal aralıkta heterozigot (2-7) tekrar taşıyan olguya ait size ve RP-PCR görüntüleri



Şekil 4.7. Normal aralıkta homozigot (4-4) tekrar taşıyan olguya ait size ve RP-PCR görüntüleri

## 5- TARTIŞMA

Frontotemporal lobar dejenerasyon (FTLD), etiyoloji ve nöropatoloji açısından heterojen olan, ancak morfolojik olarak frontal ve/veya temporal korteksin atrofisi özelliğini paylaşan progresif beyin hastalıkları grubunu tanımlamaktadır. 65 yaş altı gözlenen erken başlangıçlı demansların yaygın bir formudur. Tüm demansların yaklaşık %5-15'ini, dejeneratif demansların ise %12.5-16.5'lik kısmını oluşturmakta ancak epidemiyolojisiyle ilgili çalışmalar henüz çok sınırlıdır (Ferrari vd., 2013; Onur & Yalınay, 2011).

FTLD; genetik, klinik ve patolojik olarak oldukça heterojen bir gruptur. Son yıllarda FTLD'nin moleküler patolojisine ilişkin çalışmaların artmasıyla birlikte bu hastalık grubunun altında yatan patolojik mekanizmalar gün ışığına çıkmaktadır.

FTLD'nin kesin tanısı otopsi sonucu konulabilmekte, bu nedenle çoğu hastanın tanısı ancak öldükten sonra kesinleşmektedir. Bu nedenle, klinik tanı almış olgulardaki moleküler belirteçlerin saptanması, bu hastaların tanısı ve prognozu hakkında bilgi vermesi açısından büyük fayda sağlayacaktır. FTLD patolojisinin oldukça değişken olması ve altta yatan moleküler mekanizmaların gün ışığına çıkmasıyla birlikte genetik çalışmalar gün geçtikçe önem kazanmaktadır.

Familiyal ALS ve FTD'de en sık gözlenen patojenik mutasyon olarak kromozom 9'da lokalize *C9orf72* geninin kodlamayan bölgesindeki heksanükleotid (GGGGCC) tekrar artışları eş zamanlı olarak rapor edilmiştir (DeJesus-Hernandez vd., 2011; Renton vd., 2011). Son yıllarda yapılan çalışmalarda; *C9orf72* geni GGGGCC heksanükleotid tekrarlarının FTD/ALS için major genetik faktörlerden biri olduğu, toplumlar arası sıklığının ise oldukça değişken olduğu bildirilmiştir (Kumar vd., 2016).

*C9orf72* genindeki heksanükleotid tekrar artışı gibi varolan moleküler patolojilerin aydınlatılması, oluşum mekanizmalarının belirlenmesi, patofizyolojik süreçleri hedef alan tedavi stratejilerinin geliştirilmesine öncülük etmesi ve aile içindeki presemptomatik bireylerin risk değerlendirmeleri açısından oldukça önemlidir.

Bu bağlamda çalışmamızda; FTLD spektrumundan tanı almış, yeni nesil dizileme teknolojisi ile *MAPT*, *PGRN*, *CHMP2B*, *VCP*, *FUS*, *TARDBP* genlerinde patojenik bir mutasyonun saptanmadığı 100 olgu ve nörolojik/psikiyatrik olarak patolojik bir bulgusu olmayan yaşla uyumlu 100 kontrol bireyinde *C9orf72* geni GGGGCC heksanükleotid tekrar sayıları RP-PCR (repeat primed PCR) ve sizing-PCR yöntemleri ile analiz edilmiş, hem normal tekrar sayısı aralığından sapma gösteren olguların klinik özellikleri literatür eşliğinde

tartışılmış, hem de bölgemizdeki hasta ve kontrol gruplarındaki tekrar artışı sıklığı diğer populasyonlarla karşılaştırılmıştır.

### 5.1- FTLD Spektrumu ve Kontrol Olgularında *C9orf72* GGGGCC Heksanükleotid Tekrar Dağılımlarının Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması

Kromozom 9'da lokalize *C9orf72* geninin kodlamayan bölgesindeki heksanükleotid (GGGGCC) tekrar artışları ilk olarak 2011'de tanımlanmıştır. O dönemden günümüze kadar yapılan bir çok çalışmada bu tekrar artışlarının sporadik FTD vakalarının %6'sını, familial FTD/FTD-ALS vakalarının da %25 kadarını oluşturduğu tespit edilmiştir. Familial ALS vakalarında bu oran % 40'a kadar çıkmaktadır (Couratier vd., 2017).

Yapılan çalışmalarda patojenik tekrar artışı frekansının populasyonlar arasında anlamlı oranda farklılık gösterdiği, özellikle batı toplumlarında bu ekspansiyon sıklığının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Tablo 5.1'de çalışmalardan toplanan veriler özetlenmiştir. Tabloda da görüldüğü üzere gerek sporadik gerekse familial FTLD olgularında saptanan *C9orf72* heksanükleotid ekspansiyonu sıklığı, özellikle Avrupa ve İskandinav populasyonlarında yüksek oranlarda gözlenmiştir. Çalışmamızda, sporadik FTLD olgularında patojenik ekspansiyon taşıyan olguya rastlanmazken, sadece bir familial olguda patolojik *C9orf72* ekspansiyonu (>30 tekrar) gözlenmiştir (1/33) (%3.03). Saptadığımız oranın literatürde belirtilen familial olgulardaki sıklığına göre anlamlı düzeyde düşük olmasının nedenleri arasında populasyonlar arasındaki değişkenliğin, metodolojik farklılıkların ve patolojik olarak değerlendirilen tekrar artışı eşik değerine (cut-off) ilişkin çeşitliliğin rol oynadığı düşüncesindeyiz.

Tablo 5.1. *C9orf72* heksanükleotid ekspansiyonunun populasyonlar arası dağılımı

	sFTLD	fFTLD	
<b>Finlandiya</b>	6/203 (%3)	20/171 (%11,6)	(DeJesus-Hernandez vd., 2011)
	9/48 (%18.75)	13/27 (%48)	(Kaivorinne vd., 2013)
<b>İsveç</b>	0/6	1/1 (%100)	(Majounie vd., 2012)
	9/74 (%12)	8/14 (%57)	(Van der Zee vd., 2013)
<b>İngiltere</b>	31/543 (%5.7)	28/170 (%16.4)	(Majounie vd., 2012)



	28/375 (%7.46)	-	(Beck vd., 2013)  (Familyal ya da sporadik bilgisine ulaşamadığı için bütün olgular sporadik kısımda verilmiştir)
<b>Portekiz</b>	6/59 (%10)	4/92 (%4.3)	(Van der Zee vd., 2013)
<b>İspanya</b>	7/31 (%22.5)	6/20 (%30)	(Van der Zee vd., 2013)
<b>Fransa</b>	14/150 (%9.3)	22/50 (%16)	(Majounie vd., 2012)
<b>Belçika</b>	9/230 (%4)	12/75 (%16)	(Ilse Gijssels vd., 2012)
	10/254 (%3.9)	19/115 (%16.5)	(Van der Zee vd., 2013)
<b>Hollanda</b>	5/224 (%2.2)	30/116 (%25.8)	(Majounie vd., 2012)
<b>Almanya</b>	5/66 (%7.5)	6/162 (%3.7)	(Van der Zee vd., 2013)
	-	4/29 (%13.7)	(Majounie vd., 2012)
<b>İtalya</b>	16/259 (%6.1)	5/86 (%5.8)	(Van der Zee vd., 2013)
	0/10	1/7 (%14.2)	(Majounie vd., 2012)
<b>Güney İtalya</b>	0/43	0/22	(Capozzo vd., 2017)
	5/212 (%2.3)	21/176 (%11.9)	(L. Benussi vd., 2014)
<b>İran</b>	0/3	-	(Alavi vd., 2014)
<b>Hindistan</b>	0/31	-	(Majounie vd., 2012)
<b>Çin</b>	1/13 (%7.6)	0/5	(Jiao vd., 2014)
<b>Kore</b>	0/70	0/5	(Kim vd., 2014)
<b>Avustralya</b>	3/84 (%3.5)	6/21 (%28.5)	(Dobson-Stone vd., 2013)
<b>Çalışmamız</b>	0/67	1/33 (%3.03)	2017

Avrupa, Kuzey Amerika, İsrail ve Avustralya'da familyal FTLD olguları arasındaki prevalansı %4-57 arasında bildirilirken, bu sıklık Hindistan ve Doğu Asya'da %0-3 dolaylarındadır. Özellikle Avrupa'daki coğrafi dağılımına bakıldığında; GGGGCC ekspansiyonunun ortaya çıkışında tek olay teorisinin rol oynadığı düşünülmektedir.

Kromozom 9p21 lokusunda tek bir haplotipin, ALS, FTD ve kombine ALS-FTD fenotipleri ile ilişkili olduğu, İskandinav orijininden gelen ortak bir kurucudan kaynaklandığı ifade edilmektedir (Mok vd., 2012). Haplotip analizleri, *C9orf72* ekspansiyonu taşıyan vakaların çoğunun *C9orf72* genini çevreleyen 140 kb uzunluğunda bir bölgede aynı 20 tek nükleotid polimorfizmi (SNP) haplotipini paylaştığını göstermiş ve başka çalışmalar da bunu desteklemiştir (Byrne vd., 2012; Ratti vd., 2012). Bir Doğu Asya ülkesi olan Tayvan'da sporadik ve familyal olgulardaki ekspansiyon artışı prevalansı Avrupa değerlerine yakın olarak bildirilmiş, toplam 8 SNP ile yapılan haplotip analizlerinde mutasyonun saptandığı Tayvanlı ailelerin İskandinav orijinli ortak kurucu haplotip özelliklerini paylaştıkları, 17. yüzyılda Tayvan'ın, Hollanda ve İspanya kolonisi dönemlerinde bu mutasyonun Tayvanlı ailelere aktarılmış olabileceği bildirilmiştir (Ishiura & Tsuji, 2015). Bu nedenle yapılan her populasyon taraması hem klinik bulgular hem de kurucu etkinin belirlenmesi açısından oldukça önem taşımaktadır.

Ancak bir kurucu etki varsa, bunun Vikingler döneminden kaynaklandığı düşünülmekte ve Viking göç yolları (Şekil 5.1) ile ülkeler arasında bir uyum dikkati çekmektedir. Dolayısıyla, uzak bölgelerde ki buna Anadolu da dahil edilebilir, patojenik tekrar artışı prevalansının daha düşük olması beklenen bir durumdur. Ülkemizin tarihsel süreç içerisinde gerçekleşen farklı göç yollarına bağlı heterojen bir genetik alt yapısı bulunmaktadır. Bu nedenle, ülkemizde orijinleri farklı bölgelerden olan olguların değerlendirilmesine ihtiyaç duyulmakta ve olgularımızda haplotip analizleri yapılarak kurucu etkinin belirlenmesi gerekmektedir.



Şekil 5.1. Viking göç yolları

([www.ruf.rice.edu/~kemmer/Words04/history/vikings.html](http://www.ruf.rice.edu/~kemmer/Words04/history/vikings.html); 16.10.2017)

Bilgimiz dahilinde Türkiye popülasyonunda sadece FTLD spekturumunda *C9orf72* GGGGCC tekrar artışlarını saptamak amacıyla şimdiye kadar yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak farklı araştırmalarda ALS ve demans gruplarında yapılan iki çalışmaya ulaşılmıştır.

Özoğuz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 477 (443 indeks vaka) ALS vakasında *C9orf72* de dahil olmak üzere aday genleri incelemişlerdir. Bu olgulardan 361'i sporadik, 82'si ise familyal ALS olarak sınıflandırılmıştır. Sporadik ALS grubunda %3, familyal ALS grubunda ise %18 oranında ekspansiyon pozitif vaka bildirmişlerdir. Ancak bu tekrar artışı saptanan 4 olgunun üçünde FTD-ALS, bir tanesinde ise demans gözlenmiştir. Çalışma sonucunda *C9orf72* genindeki tekrar artışlarının ALS'de sık gözlemlendiği bildirilmiştir (Özoğuz vd., 2015).

Güven ve arkadaşlarının demans vakalarında majör FTD genleri olan *MAPT*, *GRN* ve *C9orf72*'nin frekanslarını belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında, Alzheimer (54), FTD (28), Lewy body demans (6), Parkinson-demans (2), KBD (1), diğer demanslar (4), PSP (2) olmak üzere toplamda 95 olgu taraması yapılmıştır. 74'ünü Türk vakaların oluşturduğu bu çalışmada 2 PPTA ve bir bvFTD olgusunda ekspansiyon saptanmıştır. Bu olgulardan ikisi Türk, biri Makedon orijinlidir. Çalışma sonucunda ekspansiyon saptanan olgu sıklığı %3.2 olarak belirlenmiştir. Ancak FTD tanısı alan olgular için bu oran %10.7 (3/28) olarak saptanmıştır (Güven vd., 2016).

Çalışmamızda saptanan patojenik *C9orf72* ekspansiyonunun ailesel olgulardaki oranı (%3.03), yukarıda belirtilen her iki çalışmada saptanan oranlardan daha düşüktür. Bu farklılığın, olguların etnik orijinlerinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Türkiye bilindiği üzere oldukça heterojen bir genetik alt yapıya sahiptir. Ülkemiz coğrafi konumu düşünüldüğünde, hem Asya hem de Avrupa genetik kimliğinden izler bulmak şaşırtıcı değildir. Risk haplotipleri ile bu durumun netleştirilmesi gerekmektedir. Bu çalışma kohortuna dahil edilen olguların büyük bölümünün İç Anadolu orijinli olmasına bağlı olarak düşük sıklıktaki *C9orf72* ekspansiyonu bölgesel bir özelliği de yansıtıyor olabilir. Ancak bunun yanı sıra oldukça heterojen bir klinik sergilemesi nedeniyle de tanısı oldukça zor FTD için misdiagnoz oranı da göz önünde tutulmalıdır.

Çalışmamızda öncelikle patolojik ekspansiyonun, sporadik olgularda saptanmayıp ailesel olgular arasında %3.03 sıklığında gözlenmesi, ailesel FTLD olguları arasında mutasyon sıklığının daha yüksek olduğuna ilişkin literatür verilerini destekler niteliktedir. Ancak ailelerden alınan bilgiler doğrultusunda ulaşılan bu verilerde yanlış ve/veya eksik bilgilendirmenin de olabileceği göz ardı edilmemelidir. Bunun yanı sıra, *C9orf72* ekspansiyonunun yaşa bağlı veya azalmış penetrans gösterdiğine ilişkin görüşler de bulunmaktadır (Majounie vd., 2012; Murphy vd., 2017). Aile bireylerinde FTLD için asemptomatik bireylerin hayatını kaybetmesi, probanda saptanan mutasyonun sporadik olduğu izlenimini yaratabilir. Bu nedenle familial olguların yanısıra sporadik olgularda da *C9orf72* geni analizinin yapılması gerektiği görüşündeyiz.

Kullanılan yöntemler ve bu yöntemlerin büyük G4C2 tekrar artışlarını saptayabilme rezolusyonları çalışmalar arasında gözlenen farklılıkların bir diğer nedenidir. Yaygın olarak kolay ve efektif bir yöntem olarak RP-PCR kullanılmaktadır ve bu yöntem ile kullanılan primerlere bağlı olarak 60' a kadar G4C2 artışı belirlenebilmekte, ancak tekrar artışının net sayısı özellikle yüksek tekrar içeren olgularda belirlenememektedir.

Çalışmalarda kullanılan yöntemlerin çeşitliliği beraberinde elde edilen sonuçlarda da farklılıklara neden olmaktadır. Bu durum, 14 laboratuvarın aynı örneklerde farklı sonuçlar elde ettiği karşılaştırmalı bir çalışmada da vurgulanmıştır (Akimoto vd., 2014).

Çalışmamız bulgular bölümünde belirttiği üzere sadece bir olguda >30 üstü tekrar saptanmış ancak tekrarın net sayısı belirlenememiştir. Bu olguda size PCR yöntemi sadece normal aralıkta 2 tekrar taşıyan allel belirlenebilmiştir. Bu gibi olgularda genotipleme için size ve RP-PCR'in birlikte kullanılması gerekmektedir. Bu nedenle popülasyonlar arası farklılığın belirlenmesi için bütün çalışmalarda ortak bir PCR yöntemi kullanılması gerektiğini düşünmekteyiz.

*C9orf72* allellerindeki G4C2 heksanükleotid ekspansiyon büyüklüğü 2-4000 tekrar arasında değişmektedir. Literatürde minimum patojenik tekrar artışı sayısı, normal allellerin eşik değeri (cut-off) halen tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda kontrol grubu için allel frekans dağılımı; en yaygın 2 tekrar, ardından 5 ve 8 tekrar olarak bildirilmiş olsa bile, daha nadir olmakla birlikte >30 tekrar sayısının sağlıklı popülasyonda gözlemlendiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Beck vd., 2013; Itzcovich vd., 2016; Ogaki vd., 2013; Renton vd., 2011; Van der Zee vd., 2013).

Çalışmamız bulgular bölümünde belirtildiği üzere kontrol grubunda minimum 2 maksimum 12 tekrar gözlenmiştir. Literatürdeki verilere paralel olarak en yaygın allelik tekrar artışı 2, 5 ve 8 olarak belirlenmiştir. Ancak hiçbir kontrol olgumuzda >12 üstü tekrar sayısına rastlanmamıştır. Sağlıklı bireyler arasında allelik G4C2 heksanükleotid tekrar sayısı açısından İskandinav toplumlarındaki oranların aksine Türk olgularda tekrar sayısı artışının çok yüksek olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Türk popülasyonunda sağlıklı bireyler arasındaki allelik tekrar artışına ilişkin başka bir veriye rastlanmamıştır.

Rollinson ve arkadaşları, bvFTD ve ALS tanısı olan ve post-mortem patolojik değerlendirmelerde tanıları doğrulanan iki kardeşte kan ve beyin örneklerinde tekrarlanan RP-PCR analizlerine rağmen tekrar artışının saptanmadığını, buna karşılık Southern blot analizi ile 1500-3000 tekrarın belirlendiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, muhtemelen 10 bp'lik delesyonun bölgede ikincil bir yapı oluşturduğunu ve bu yapı nedeniyle tekrar bölgesinin RP-PCR ile amplifiye olamadığını öne sürmektedirler. Gerçek-pozitif olguların %25 kadarının, tekrar bölgesine komşu 10bp'lik delesyon nedeniyle RP-PCR ile belirlenemediği bildirilmektedir (Rollinson vd., 2015). Bu durum, çalışmamızda diğer çalışmalara oranla patojenik tekrar artışı oranının düşük olmasının bir nedeninin de bu delesyon kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Bu delesyonun belirlenmesi, alternatif primerlerin kullanılmasını gerektirmektedir. Ancak çalışmamızda, bütçenin sınırlı olması nedeniyle bu bölge için ek bir inceleme yapılamamıştır. Olgularımızda bu delesyona yönelik çalışmalar yapılarak saptadığımız bu oranın gerçekten sadece çalışma kohortunun temsil ettiği bölgede mi daha düşük, yoksa 10 bp'lik delesyonu içeren olgulara bağlı olarak mı ekspansiyonun maskelendiğinin belirlenmesi gerektiği düşüncesindeyiz.

Verilerimize dayanarak ülkemiz FTLD olgularının etiolojisinde, *C9orf72* genindeki GGGGCC tekrar artışları çok yaygın bir neden olarak görülmemektedir. Ancak eğer kurucu bir etki varsa, genetik sürüklenmenin Şekil 5.1'de görüldüğü üzere Viking göç yollarını içine alan Türkiye'nin deniz kıyısına yakın bölgelerinde olması sebebiyle, bu bölgelerde tekrar artışlarının daha sık gözlenmesi beklenebilir. Orta Anadolu kökenli bireylerde bu nedenle ekspansiyonun daha düşük bir yüzdede gözlenmesi söz konusu olabilir. Bu

nedenle çalışma verilerimizin bütün şehirlerden alınan hasta örnekleriyle desteklenmesine ihtiyaç duyulmakta ve olgularımızda haplotip analizleri yapılarak kurucu etkinin belirlenmesi gerekmektedir.

## **5.2- FTLD Spektrumunda C9orf72 Orta Derece/Patojenik GGGCC Heksanükleotid Tekrar Dağılımları ve Klinik Özelliklerinin Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması**

Henüz 'normal' tekrar allelleri ile 'patojenik' tekrar artışı arasındaki eşik değer net olarak açıklığa kavuşmamıştır. Sağlıklı kontrol gruplarında 24 tekrara kadar normal tekrar uzunluğu bildirilirken, 32-35 tekrarın sağlıklı bireylerde saptandığı da rapor edilmiştir. Elde edilen bulgular arasındaki bu farklılığın altında C9orf72 temelli hastalığın azalmış penetrans özelliği ile hastalığın ortaya çıkış yaşındaki değişkenliğin etkili olduğu düşünülmektedir.

Şimdiye kadar yapılan bir çok çalışma, minimum patojenik ekspansiyon sınırını >30 tekrar olarak almaktadır (Renton vd., 2011). Drosophila modelleri >30 artışının nörodejenerasyona neden olması için yeterli olduğunu göstermektedir (Xu vd., 2013). Ancak hastalığa sebep olan minimum tekrar sayısı hala net olarak belirlenememiştir.

Bilindiği gibi Huntington hastalığı, Spinocerebellar ataksi gibi diğer tekrar artışı kaynaklı hastalıklarda normal tekrar aralığı ile minimal patolojik tekrar sayısı arasında bir gri zon bulunmaktadır. Örnek olarak Huntington hastalığında 27-35 CAG tekrarı, Spinocerebellar atakside de 22-35 CAG tekrarı verilebilir. C9orf72-bağlantılı hastalıkta >30 tekrar sayısı genel olarak patojenik olarak kabul edilmektedir. 24-28 tekrara sahip ALS olguları, hatta 20-22 tekrarın gözlemlendiği FTD olguları ve kardeşleri bildirilmiştir. Çoğu çalışmada orta derece tekrar taşıyan bireylerin klinik özellikleri belirtilmediğinden ve/veya orta derece tekrar taşıyan olguların bildirildiği yayınlarda çelişkili veriler olması sebebiyle bu konu hala bilinmezliğini korumaktadır. FTD-spektrumundaki olguların tekrar artışlarının rapor edildiği 13 literatürün değerlendirilmesi sonucunda; sporadik FTD olgularının kontrol bireylerindeki benzer allel frekans dağılımı gösterdikleri, en sık 2 tekrar ve bunu 5, 6, 7 veya 8 tekrarın izlediği gözlenmiştir (Ng & Tan, 2017)

Simón-Sánchez ve arkadaşları otozomal dominant FTD+ALS olan bir ailede, klinik FTD grubunda yer alan probandin tekrar uzunluğunu 26 olarak belirlemiş ve bu yüzden tekrar artışı taşımadığını düşünmüşlerdir. Ancak aile çalışmasında etkilenen aile üyelerinde 8-29 aralıklarla tekrarlar saptarken, henüz etkilenmemiş bir aile bireyinde ise ekspansiyon olduğunu bildirmişlerdir (Simón-Sánchez vd., 2012). Bunun yanı sıra başka bir çalışmada klinik olarak PSP tanısı alan bir olguda ve aile öyküsünde demans/parkinsonizm öyküsü olan bir olguda 27 tekrar saptanmıştır (Schottlaender vd., 2015).

Nuytemans ve arkadaşları, orta derece tekrarların artmış Parkinson riskiyle önemli oranda ilişkili olduğunu düşünmüşler, kontrol grubuna kıyasla (%0.3) daha fazla orta derece tekrar (%2) bildirmişlerdir. Ancak bildirilen olguların azlığı ve bazı kontrollerde ara tekrarların görülmesi, *C9orf72* ara tekrarlarının büyük olasılıkla PD için bir duyarlılık faktörü olabileceğine dikkat çekmişlerdir (Nuytemans vd., 2013).

Çalışmamızda tek bir FTD-parkinson olgusu bulunmakla birlikte bu olguda orta derecede tekrar saptanması (2-24) literatür verilerini destekler niteliktedir. Bu olguda yürütücü işlevler ve dikkat bozukluğu ile başlayan klinik tabloya sonradan rijidite, bradikinezi de eklenmiştir. Aslında parkinsonla ilerleyen FTD için majör genetik faktörün kromozom 17 ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak bu olguda *MAPT* ve *PGRN* genlerinde herhangi bir patojenik mutasyon tespit edilmemiştir. Hem parkinsonda hem de FTD'de gözlenen orta derece tekrarların iki hastalığın birlikteliğinde ortaya çıkması, bu olgularda sonradan gelişebilecek olan parkinsonun habercisi olabilir. Bu nedenle parkinson özellikleri gösteren FTD olgularında orta derece tekrarların göz ardı edilmemesi gerektiği görüşündeyiz. Ancak daha geniş FTD-parkinson olgu serilerinde yapılacak çalışmalarla kesin sonuçlara ulaşılabilir.

Yüzdokuz olguluk FTD kohortunda yapılan çalışmada 4 mutasyon taşıyıcısı (> 30 tekrar) ve aynı zamanda, 20-22 tekrar içeren 5 proband tespit edilmiş ve ara tekrarların frontotemporal bozulmayla ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Gómez-Tortosa vd., 2013).

Gómez-Tortosa ve arkadaşlarının bulgularına paralel olarak olgularımızın toplam %4'ünde orta derece tekrarın saptanması ve olgu-kontrol grupları arasında tekrar sayısı artışında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmesi, orta derece tekrarların hastalığa neden olabilecek bir faktör olarak değerlendirilmesi gerektiğini desteklemektedir. Bunun yanı sıra daha geniş hasta popülasyonunda bu orta derece tekrarların değerlendirilmesi daha açık sonuçlar verecektir görüşündeyiz.

Üçlü nükleotid tekrar hastalıklarında gözlenen antipasyon gibi *C9orf72* orta uzunluklu allellerin, gelecek kuşaklarda tam mutasyonlara ve bazı kuşaklar arası değişikliğe eğilimi olduğu öne sürülmüştür (I Gijssels vd., 2016; Thys & Wang, 2015). *C9orf72* taşıyıcılarında tekrar artışı olan bölgeye komşu GC-zengin bölgelerdeki indel sıklığının artması, bu bölgenin replikasyonunun atlanmasına bağlı olarak takip eden patolojik genişlemelerde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Van der Zee vd., 2013).

Olgularımızda saptadığımız orta derece tekrarların, artış saptanan bölge etrafında sıklıkla gözlenen indeller nedeniyle DNA replikasyonu sırasında ortaya çıkabilecek hatalarla patolojik sınıra ulaşması da ihtimal dahilindedir.

Ancak bunun aksini ifade eden veriler de bulunmaktadır. 22 tekrara kadar artışı olan 20 ailenin indeks olgularının değerlendirildiği bir çalışmada, ara tekrar uzunluğunun artmadığı ve patolojik genişlemenin gözlenmediği görülmüştür. Buna bağlı olarak orta derecede tekrar artışının pre-mutasyondan çok hastalığa yatkınlığa neden olabileceği öne sürülmüştür. Ancak kaç tekrarın bu etkiye neden olduğunun belirlenmesi ancak kuşaklar boyu incelenebilecek olgular ile mümkün olabilecektir.

*C9orf72* GGGGCC tekrarının CpG adacığindeki hipermetilasyon ALS olgularında bildirilmiştir. ALS ve FTD-ALS olgularında homozigot normal kısa tekrarlar (2-6 tekrar) ile homozigot orta derece tekrarlar (7-24 tekrar) metilasyon düzeyleri açısından karşılaştırıldığında hem hasta hem de kontrol gruplarında özellikle orta derece artış (>8 artış) olanlarda az ama anlamlı düzeyde hipermetilasyon ve *C9ORF72* promoter aktivitesinde bir düşüş gözlenmiştir (I Gijssels vd., 2016).

Orta derece tekrarların gen promotorunun normal transkripsiyonel aktivitesini veya artmış RNA toksisitesini etkileyerek bu hastalıkta bir risk etkisi oluşturma potansiyeli (DeJesus-Hernandez vd., 2011; Van der Zee vd., 2013) olabileceği göz ardı edilmemelidir. Ancak 43 tekrarı olan bireylerde *C9orf72*'nin heksanükleotid tekrarına yakın CpG adacığında metilasyon değişikliği olmadığını savunan çalışmaların da (Xi vd., 2013) olduğu düşünüldüğünde verilerimizin daha geniş orta derece tekrar olgusunda yapılacak metilasyon çalışmalarlarıyla desteklenmesi bu sonuçları daha da kuvvetlendirecektir.

Van Blitterswijk ve arkadaşları yaptıkları çalışmayla çalışmamıza başka bir açıdan bakmamızı sağlamışlardır. Daha küçük ekspansiyonların erken başlangıç yaşına neden olabileceği, ancak bunun yanı sıra örnek toplama yaşının da etkili olabileceği ve tekrar boyutlarının bireysel yaşa bağlı olarak uzayabileceği hakkında bir hipotez ortaya koymuşlardır. Bunun yanı sıra araştırmacılar kan, frontal korteks ve serebellumda tekrar sayılarının eşit olmadığını tespit etmişlerdir (Van Blitterswijk vd., 2013).

Bu açıdan düşünüldüğünde çalışmamızda tespit ettiğimiz %4 sıklıkla saptadığımız orta derece tekrarların sonraki dönem içinde patojenik tekrar sınırına ulaşma olasılığı bulunmaktadır. Ayrıca kanda bulduğumuz tekrar sayısının beyin dokularında korelasyonu gerekmektedir. Bunun yanı sıra orta derece tekrar gözlenen presemptomatik bir aile ferdinde yaşa bağlı olarak bu tekrar sayısının patojenik sınıra ulaşma ihtimali göz önünde bulundurularak genetik danışma verilmesi gerektiği görüşündeyiz. Özetle çalışma verilerimiz tekrar sayısı artışının FTLD spektrumu ve kontroller arasındaki anlamlı farka dayanarak orta derece tekrarların da FTD için bir risk faktörü olabileceği fikrini desteklemektedir.



*C9orf72* ekspansiyonu ile ilişkili en yaygın klinik fenotip *dvFTD* olarak tanımlanmıştır (L. Benussi vd., 2014; Ilse Gijssels vd., 2012; Hsiung vd., 2012; Majounie vd., 2012; Tim Van Langenhove vd., 2013)

Yetmiş bir kişilik *dvFTD* kohortumuzda sadece bir olguda (%1.4) oranında ekspansiyon saptanmıştır. Ancak hem alt tipler arasındaki sayısal orantısızlık hem de hasta sayısındaki azlık nedeniyle istatistiksel verilere yansımamıştır. Ayrıca *dvFTD*'nin, *FTLD* spektrumunda en sık görülen alt tip olması sebebiyle ekspansiyonun *dvFTD*'de belirleyici bir unsur olmadığı düşüncesindeyiz.

Yapılan çalışmalarda *C9orf72* ekspansiyonunun *FTD* olgularında halusinasyon sıklığını artırdığı gösterilmiştir (Kertesz vd., 2013; Sharon vd., 2012; Snowden vd., 2012). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada Devenney ve arkadaşları, 57 hastalık *dvFTD* gruplarında (20 olguda *ALS* tutulumu pozitif) hastalarının %34'ünde psikotik özellikler olduğunu tespit etmişlerdir. *C9orf72* ekspansiyon taşıyıcılarının, olmayanlara göre daha yüksek oranda psikotik belirtiler gösterdiğini ( $p=0.006$ ), işitsel, görsel veya dokunsal halusinasyonların, *C9orf72* taşıyıcıların % 36'sında ve taşıyıcı olmayanların % 17'sinde mevcut olduğunu saptamışlardır (Devenney vd., 2017).

Snowden ve arkadaşlarının çalışmasında ise *C9orf72* ekspansiyonu taşıyan 32 olgudan 12 (%38)'sinde psikoz gözlenirken, normal tekrar sayısı gözlenen olguların sadece %4'ünde psikotik bulgulara rastlanmıştır. Araştırmacılar, *C9orf72* ekspansiyonları ve psikoz arasında güçlü bir ilişki olduğunu, *C9orf72* genindeki bu tekrar artışlarının yalnızca *FTD-MND* değil aynı zamanda geç başlangıçlı psikoz gelişmesinde de önemli bir role sahip olabileceğini öne sürmüşlerdir (Snowden vd., 2012)

Benzer şekilde çalışmamızda ekspansiyon pozitif olarak tespit ettiğimiz olguda 45 yaşında ciddi anksiyete ile başlayan semptomlara zaman içinde stereotipik hareketler, apati, episodik bellek bozukluğu, görsel ve işitsel halusinasyonlar eklenmiştir. Aile bireyleri tarafından olgunun annesinde de benzer semptomlar olduğu tarif edilmiştir. Psikotik semptom görülen 17 olgumuz bulunmakta ve oransal olarak bakıldığında %5.8'inde ekspansiyon pozitifliği gözlenmektedir.

Gómez-Tortosa ve arkadaşları orta derece tekrar gördükleri 5 vakanın klinik olarak ekspansiyon pozitif olarak saptadıkları hastalarla farklılığı olmadığını bildirmişlerdir (Gómez-Tortosa vd., 2013). Klinik özelliklerde, *C9orf72* tekrar artışları ile psikotik semptom varlığı anlamlı bulunmuştur. Burada ki en önemli bulgumuz, orta derece tekrar saptanan olguların %75 'inde psikotik semptomların görülmesi ve ekspansiyon pozitif hasta ile benzer

fenotipe sahip olması sebebiyle bulgularımız Gómez-Tortosa ve arkadaşlarının verilerini destekler niteliktedir.

Özoğuz ve arkadaşları sporadik Türk ALS grubunda %3, familial ALS grubunda ise %18 oranında ekspansiyon pozitif vaka bildirmişlerdir. Ancak bu tekrar artışı saptanan 4 olgunun üçünde FTD-ALS, bir tanesinde ise demans gözlenmiştir. (Özoğuz vd., 2015).

Çalışmamızda FTD-MNH birlikteliği olan 6 olgudan hiç birinde ekspansiyon saptanmamıştır. Ekspansiyon saptadığımız tek olgu dvFTD'dir. FTD olgularının yaklaşık %10'unda ilerleyen dönemde MNH ortaya çıktığı bilinmektedir. Bu nedenle olgumuzun klinik takibi önemlidir. Ancak mevcut verilerimize dayanarak, çalışmamız Özoğuz ve arkadaşlarının verileriyle paralellik göstermemektedir. Bu farklılığın temel kaynağı FTD-MNH olgu sayımızın azlığına bağlanmakla birlikte, Türkiye FTLD olgularında ALS'ye göre bu ekspansiyon oranının çok daha düşük oranda gözleendiği düşüncesindeyiz.

Bu bulgular eşliğinde *C9orf72* geni GGGGCC tekrar artışının hasta grubumuzda yaygın bir sebep olarak görülmediği saptanmıştır. Orta derece tekrarların FTLD için artmış bir risk faktörü olabileceğini, yada bir modifiye edici gen olarak görev yapabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiği aynı zamanda özellikle psikotik semptomlar gözlenen olgularda orta derece tekrarların değerlendirmeye alınması gerektiği görüşündeyiz. Ancak çalışma verilerimizin daha geniş hasta popülasyonunda ve Türkiye'nin bütün şehirlerinden alınacak örneklerle, haplotip analizleri ile birlikte değerlendirilmesi daha net sonuçlar verecektir. Bunun yanı sıra orta derece tekrar gözlenen olgularda yapılacak metilasyon, ekspresyon ve postmortem çalışmaları şu an için kabul edilen >30 patojenik sınırının yeniden değerlendirilmesinde etkili olacaktır.

## 6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda; FTLD spektrumundan tanı almış, yeni nesil dizileme teknolojisi ile *MAPT*, *PGRN*, *CHMP2B*, *VCP*, *FUS*, *TARDBP* genlerinde patojenik bir mutasyonun saptanmadığı 100 olgu ve nörolojik/psikiyatrik olarak patolojik bir bulgusu olmayan yaşla uyumlu 100 kontrol bireyinde *C9orf72* geni GGGGCC heksanükleotid tekrar sayıları RP-PCR (repeat primed PCR) ve sizing-PCR yöntemleri ile analiz edilmiş, bölgemizdeki hasta ve kontrol gruplarındaki tekrar artışı sıklığı belirlenmiş ve kliniğe yansması tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda;

1. Çalışmamızda, sporadik FTLD olgularında patolojik ekspansiyonu pozitif olan olguya rastlanmamıştır (0/67).
2. Familial bir olguda patojenik *C9orf72* ekspansiyonu (>30 tekrar) gözlenmiştir (1/33) (%3.03).
3. Kontrol grubunda minimum 2 maksimum 12 tekrar gözlenmiştir. En yaygın allelik tekrar artışı 2, 5, ve 8 olarak belirlenmiştir.
4. Olgu ve kontrol grupları arasında tekrar sayısı artışında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir.
5. Olgularımızın toplam %4'ünde orta derece tekrar saptanmıştır.
6. Psikotik semptom gözlenen 17 olgumuzun %5.8'inde (1/17) patojenik tekrar artışı, %17.6'sında (3/17) ise orta derece tekrar saptanmıştır. Orta ve patojenik tekrarlar ile psikotik semptomların varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir.

Avrupa ve İskandinav toplumlarında FTD grubu için oldukça yüksek oranda gözlenen bu mutasyonun, Asya toplumunda oldukça nadir görüldüğü bilinmektedir. Coğrafi koşulları düşünüldüğünde Asya ve Avrupa arasında köprü görevi gören Türkiye için çalışmamız FTLD spektrumunda bilgimiz dahilindeki ilk çalışmadır ve çalışma sonucunda Türkiye için bu mutasyonun İskandinav toplumlarından çok daha az sıklıkta gözlendiği belirlenmiştir. Ancak bu bulgunun bölgesel bir özelliği yansıtmaması olasılığını dışlamak için hem farklı etnikteki Türk bireylerinden daha geniş çalışmalar yapılması hem de bu olgularda haplotip analizleriyle verilerimizin desteklenmesi gerekmektedir.

%4 sıklıkla saptadığımız orta derece tekrarların artış saptanan bölge etrafında sıklıkla gözlenen indeller nedeniyle DNA replikasyonu sırasında ortaya çıkabilecek hatalarla sonraki dönem içinde patojenik sınıra ulaşma olasılığı bulunmaktadır. Ayrıca kanda bulduğumuz tekrar sayısının beyin

dokularında korelasyonu gerekmektedir. Bunun yanı sıra orta derece tekrar gözlenen presemptomatik aile bireylerinde yaşa bağlı olarak bu tekrar sayısının patojenik sınıra ulaşma ihtimali göz önünde bulundurularak genetik danışma verilmesi gereklidir düşüncesindeyiz.

Orta derece tekrarların FTLD için artmış bir risk faktörü olabileceğini, yada bir modifiye edici gen olarak görev yapabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiği, aynı zamanda özellikle psikotik semptomlar gözlenen olgularda orta derece tekrarların da değerlendirmeye alınması gerektiğini düşünmekteyiz. Ancak orta derece tekrar saptadığımız olgularda yapılacak metilasyon, ekspresyon ve postmortem çalışmaları şu an için kabul edilen >30 patojenik sınırının yeniden değerlendirilmesinde etkili olacaktır.

Patojenik ve orta derece tekrar saptanan olguların aile bireylerinde de analizlerin yapılması, analizi yapılan hastalara ve aile bireyelerine genetik danışma verilmesi ve klinik bulgu vermeyen mutasyon taşıyıcısı aile bireylerin FTLD kliniği gelişimi açısından takibe alınması gerekmektedir.

FTLD genetiği ile ilgili asosiasyon, fenotip-genotip korelasyon çalışmaları her geçen süre daha da artarak devam etmektedir. Tüm veriler birlikte değerlendirildiği zaman sıklıkların çok geniş aralıklarda gözleendiği, etnik farklılıkların olduğu bu artışların farklı populasyonlarda sıklıklarının değerlendirilmesi gerektiği literatürde önemle vurgulanmaktadır. Bunun yanı sıra belirlenen mutasyonları taşıyan olgularda fenotip-genotip korelasyonunun kurulması ve literatürde ortak bir birlikteliğin sağlanması ile birlikte bu genetik değişiklikler prognostik öneme sahip olacaktır. Genetik faktörlerin aydınlatılması patofizyolojik süreçleri hedef alan tedavi stratejilerinin belirlenmesine öncülük edecektir. Ayrıca aile içinde presemptomatik bireylerin risk değerlendirmesi yapılabilecektir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akimoto, C., Volk, A. E., van Blitterswijk, M., Van den Broeck, M., Leblond, C. S., Lumbroso, S., . . . van Rheenen, W. (2014). A blinded international study on the reliability of genetic testing for GGGGCC-repeat expansions in C9orf72 reveals marked differences in results among 14 laboratories. *Journal of medical genetics*, jmedgenet-2014-102360.
- Alavi, A., Nafissi, S., Rohani, M., Shahidi, G., Zamani, B., Shamschiri, H., . . . Elahi, E. (2014). Repeat expansion in C9ORF72 is not a major cause of amyotrophic lateral sclerosis among Iranian patients. *Neurobiology of aging*, 35(1), 267. e261-267. e267.
- Bang, J., Spina, S., & Miller, B. L. (2015). Frontotemporal dementia. *The Lancet*, 386(10004), 1672-1682.
- Barker, H. V., Niblock, M., Lee, Y.-B., Shaw, C. E., & Gallo, J.-M. (2017). RNA Misprocessing in C9orf72-Linked Neurodegeneration. *Frontiers in cellular neuroscience*, 11.
- Beck, J., Poulter, M., Hensman, D., Rohrer, J. D., Mahoney, C. J., Adamson, G., . . . Fratta, P. (2013). Large C9orf72 hexanucleotide repeat expansions are seen in multiple neurodegenerative syndromes and are more frequent than expected in the UK population. *The American Journal of Human Genetics*, 92(3), 345-353.
- Belzil, V. V., Bauer, P. O., Prudencio, M., Gendron, T. F., Stetler, C. T., Yan, I. K., . . . Rademakers, R. (2013). Reduced C9orf72 gene expression in c9FTD/ALS is caused by histone trimethylation, an epigenetic event detectable in blood. *Acta neuropathologica*, 126(6), 895-905.
- Benajiba, L., Le Ber, I., Camuzat, A., Lacoste, M., Thomas-Anterion, C., Couratier, P., . . . Decousus, M. (2009). TARDBP mutations in motoneuron disease with frontotemporal lobar degeneration. *Annals of neurology*, 65(4), 470-473.
- Benussi, A., Padovani, A., & Borroni, B. (2015). Phenotypic heterogeneity of monogenic frontotemporal dementia. *Frontiers in aging neuroscience*, 7.
- Benussi, L., Rossi, G., Glionna, M., Tonoli, E., Piccoli, E., Fostinelli, S., . . . Pantieri, R. (2014). C9ORF72 hexanucleotide repeat number in frontotemporal lobar degeneration: a genotype-phenotype correlation study. *Journal of Alzheimer's Disease*, 38(4), 799-808.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Borroni, B., Archetti, S., Del Bo, R., Papetti, A., Buratti, E., Bonvicini, C., . . . Di Lorenzo, D. (2010). TARDBP mutations in frontotemporal lobar degeneration: frequency, clinical features, and disease course. *Rejuvenation research*, 13(5), 509-517.
- Borroni, B., Bonvicini, C., Alberici, A., Buratti, E., Agosti, C., Archetti, S., . . . Gennarelli, M. (2009). Mutation within TARDBP leads to frontotemporal dementia without motor neuron disease. *Human mutation*, 30(11).
- Brandt, R., Hundelt, M., & Shahani, N. (2005). Tau alteration and neuronal degeneration in tauopathies: mechanisms and models. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1739(2), 331-354.
- Buchman, V. L., Cooper-Knock, J., Connor-Robson, N., Higginbottom, A., Kirby, J., Razinskaya, O. D., . . . Shaw, P. J. (2013). Simultaneous and independent detection of C9ORF72 alleles with low and high number of GGGGCC repeats using an optimised protocol of Southern blot hybridisation. *Molecular neurodegeneration*, 8(1), 12.
- Byrne, S., Elamin, M., Bede, P., Shatunov, A., Walsh, C., Corr, B., . . . Lynch, C. (2012). Cognitive and clinical characteristics of patients with amyotrophic lateral sclerosis carrying a C9orf72 repeat expansion: a population-based cohort study. *The Lancet Neurology*, 11(3), 232-240.
- Cannon, A., Baker, M., Boeve, B., Josephs, K., Knopman, D., Petersen, R., . . . Snowden, J. (2006). CHMP2B mutations are not a common cause of frontotemporal lobar degeneration. *Neuroscience letters*, 398(1), 83-84.
- Capozzo, R., Sassi, C., Hammer, M. B., Arcuti, S., Zecca, C., Barulli, M. R., . . . Seripa, D. (2017). Clinical and genetic analyses of familial and sporadic frontotemporal dementia patients in Southern Italy. *Alzheimer's & Dementia*.
- Chen, Y., Lin, Z., Chen, X., Cao, B., Wei, Q., Ou, R., . . . Shang, H.-F. (2016). Large C9orf72 repeat expansions are seen in Chinese patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of aging*, 38, 217. e215-217. e222.
- Cohn-Hokke, P. E., Elting, M. W., Pijnenburg, Y. A., & van Swieten, J. C. (2012). Genetics of dementia: update and guidelines for the clinician. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 159(6), 628-643.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Couratier, P., Corcia, P., Lautrette, G., Nicol, M., & Marin, B. (2017). ALS and frontotemporal dementia belong to a common disease spectrum. *Revue Neurologique*.
- Cruts, M., Theuns, J., & Van Broeckhoven, C. (2012). Locus-specific mutation databases for neurodegenerative brain diseases. *Human mutation*, 33(9), 1340-1344.
- Çıkrıkçılı, U., & Çakır, S. (2016). Frontotemporal Demans. *Turkiye Klinikleri Journal of Psychiatry Special Topics*, 9(4), 58-64.
- Çobanoğlu, G., İskender, C., & Başak, A. N. (2011). Motor Nöron Hastalıklarına Örnek Olarak ALS: Charcot ve SOD1'den Post-Genomik Döneme. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*, 4(2), 67.
- Davidson, Y. S., Barker, H., Robinson, A. C., Thompson, J. C., Harris, J., Troakes, C., . . . Rollinson, S. (2014). Brain distribution of dipeptide repeat proteins in frontotemporal lobar degeneration and motor neurone disease associated with expansions in C9ORF72. *Acta neuropathologica communications*, 2(1), 70.
- DeJesus-Hernandez, M., Mackenzie, I. R., Boeve, B. F., Boxer, A. L., Baker, M., Rutherford, N. J., . . . Adamson, J. (2011). Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron*, 72(2), 245-256.
- Devenney, E. M., Landin-Romero, R., Irish, M., Hornberger, M., Mioshi, E., Halliday, G. M., . . . Hodges, J. R. (2017). The neural correlates and clinical characteristics of psychosis in the frontotemporal dementia continuum and the C9orf72 expansion. *NeuroImage: Clinical*, 13, 439-445.
- Dobson-Stone, C., Hallupp, M., Loy, C. T., Thompson, E. M., Haan, E., Sue, C. M., . . . Rene, R. (2013). C9ORF72 repeat expansion in Australian and Spanish frontotemporal dementia patients. *PloS one*, 8(2), e56899.
- Edbauer, D., & Haass, C. (2016). An amyloid-like cascade hypothesis for C9orf72 ALS/FTD. *Current opinion in neurobiology*, 36, 99-106.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Englund, B., Brun, A., Gustafson, L., Passant, U., Mann, D., Neary, D., & Snowden, J. (1994). Clinical and neuropathological criteria for frontotemporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 57(4), 416-418.
- Eriksen, J. L., & Mackenzie, I. R. (2008). Progranulin: normal function and role in neurodegeneration. *Journal of neurochemistry*, 104(2), 287-297.
- Eruslu, D., & Başak, A. N. Miyotonik Distrofi: Kural Tanımayan Bir Üçlü-Tekrar Hastalığının Moleküler Biyolojisi ve TP-PCR Yöntemi ile DNA Tanısı Myotonic Dystrophy: Molecular Biology and DNA Analysis of a Triplet-Repeat Disorder, that does not Obey Rules.
- Eslinger, P. J., Moore, P., Antani, S., Anderson, C., & Grossman, M. (2012). Apathy in frontotemporal dementia: behavioral and neuroimaging correlates. *Behavioural neurology*, 25(2), 127-136.
- Ferrari, R., Thumma, A., & Momeni, P. (2013). Molecular genetics of frontotemporal dementia. *eLS*.
- Floris, G., Borghero, G., Cannas, A., Di Stefano, F., Murru, M. R., Corongiu, D., . . . Serra, A. (2015). Clinical phenotypes and radiological findings in frontotemporal dementia related to TARDBP mutations. *Journal of neurology*, 262(2), 375-384.
- Fratta, P., Poulter, M., Lashley, T., Rohrer, J. D., Polke, J. M., Beck, J., . . . Waite, A. J. (2013). Homozygosity for the C9orf72 GGGGCC repeat expansion in frontotemporal dementia. *Acta neuropathologica*, 126(3), 401-409.
- Gendron, T. F., & Petrucelli, L. (2017). Disease Mechanisms of C9ORF72 Repeat Expansions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, a024224.
- Ghanim, M., Guillot-Noel, L., Pasquier, F., Jornea, L., Deramecourt, V., Dubois, B., . . . Brice, A. (2010). CHMP2B mutations are rare in French families with frontotemporal lobar degeneration. *Journal of neurology*, 257(12), 2032-2036.



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Gijssels, I., Cruts, M., & Van Broeckhoven, C. (2017). The Genetics of C9orf72 Expansions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, a026757.
- Gijssels, I., Van Langenhove, T., van der Zee, J., Sleegers, K., Philtjens, S., Kleinberger, G., . . . Pereson, S. (2012). A C9orf72 promoter repeat expansion in a Flanders-Belgian cohort with disorders of the frontotemporal lobar degeneration-amyotrophic lateral sclerosis spectrum: a gene identification study. *The Lancet Neurology*, 11(1), 54-65.
- Gijssels, I., Van Mossevelde, S., Van Der Zee, J., Sieben, A., Engelborghs, S., De Bleeker, J., . . . Zhang, M. (2016). The C9orf72 repeat size correlates with onset age of disease, DNA methylation and transcriptional downregulation of the promoter. *Molecular psychiatry*, 21(8), 1112.
- Gitler, A. D., & Tsuiji, H. (2016). There has been an awakening: emerging mechanisms of C9orf72 mutations in FTD/ALS. *Brain research*, 1647, 19-29.
- Gómez-Tortosa, E., Gallego, J., Guerrero-López, R., Marcos, A., Gil-Neciga, E., Sainz, M. J., . . . Ayuso, C. (2013). C9ORF72 hexanucleotide expansions of 20–22 repeats are associated with frontotemporal deterioration. *Neurology*, 80(4), 366-370.
- Gorno-Tempini, M. L., Hillis, A. E., Weintraub, S., Kertesz, A., Mendez, M., Cappa, S. e., . . . Boeve, B. F. (2011). Classification of primary progressive aphasia and its variants. *Neurology*, 76(11), 1006-1014.
- Götzl, J. K., Lang, C. M., Haass, C., & Capell, A. (2016). Impaired protein degradation in FTLD and related disorders. *Ageing research reviews*, 32, 122-139.
- Güven, G., Lohmann, E., Bras, J., Gibbs, J. R., Gurvit, H., Bilgic, B., . . . Emre, M. (2016). Mutation frequency of the major frontotemporal dementia genes, MAPT, GRN and C9ORF72 in a Turkish cohort of dementia patients. *PloS one*, 11(9), e0162592.
- Gydesen, S., Brown, J., Brun, A., Chakrabarti, L., Gade, A., Johannsen, P., . . . Yancopoulos, D. (2002). Chromosome 3 linked frontotemporal dementia (FTD-3). *Neurology*, 59(10), 1585-1594.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

- Haass, C., & Neumann, M. (2016). Frontotemporal dementia: from molecular mechanisms to therapy. *Journal of neurochemistry*, 138(S1), 3-5.
- Haeusler, A. R., Donnelly, C. J., & Rothstein, J. D. (2016). The expanding biology of the C9orf72 nucleotide repeat expansion in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(6), 383-395.
- Hsiung, G.-Y. R., DeJesus-Hernandez, M., Feldman, H. H., Sengdy, P., Bouchard-Kerr, P., Dwosh, E., . . . Rutherford, N. J. (2012). Clinical and pathological features of familial frontotemporal dementia caused by C9ORF72 mutation on chromosome 9p. *Brain*, 135(3), 709-722.
- Huey, E. D., Ferrari, R., Moreno, J. H., Jensen, C., Morris, C. M., Potocnik, F., . . . Hardy, J. (2012). FUS and TDP43 genetic variability in FTD and CBS. *Neurobiology of aging*, 33(5), 1016. e1019-1016. e1017.
- Hutchings, R., Palermo, R., Piguet, O., & Kumfor, F. (2017). Disrupted face processing in frontotemporal dementia: A review of the clinical and neuroanatomical evidence. *Neuropsychology review*, 1-13.
- Irwin, D. J., Cairns, N. J., Grossman, M., McMillan, C. T., Lee, E. B., Van Deerlin, V. M., . . . Trojanowski, J. Q. (2015). Frontotemporal lobar degeneration: defining phenotypic diversity through personalized medicine. *Acta neuropathologica*, 129(4), 469-491.
- Ishiura, H., & Tsuji, S. (2015). Epidemiology and molecular mechanism of frontotemporal lobar degeneration/amyotrophic lateral sclerosis with repeat expansion mutation in C9orf72. *Journal of neurogenetics*, 29(2-3), 85-94.
- Itzcovich, T., Xi, Z., Martinetto, H., Chrem-Méndez, P., Russo, M. J., de Ambrosi, B., . . . Rojas, G. (2016). Analysis of C9orf72 in patients with frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis from Argentina. *Neurobiology of aging*, 40, 192. e113-192. e115.
- Jiao, B., Tang, B., Liu, X., Yan, X., Zhou, L., Yang, Y., . . . Shen, L. (2014). Identification of C9orf72 repeat expansions in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia in mainland China. *Neurobiology of aging*, 35(4), 936. e919-936. e922.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kaivorinne, A.-L., Bode, M. K., Paavola, L., Tuominen, H., Kallio, M., Renton, A. E., . . . Remes, A. M. (2013). Clinical characteristics of C9ORF72-linked frontotemporal lobar degeneration. *Dementia and geriatric cognitive disorders extra*, 3(1), 251-262.
- Kertesz, A., Ang, L. C., Jesso, S., MacKinley, J., Baker, M., Brown, P., . . . Finger, E. C. (2013). Psychosis and Hallucinations in FTD with C9ORF72 mutation: A detailed clinical cohort. *Cognitive and behavioral neurology: official journal of the Society for Behavioral and Cognitive Neurology*, 26(3), 146.
- Kim, E.-J., Kwon, J. C., Park, K. H., Park, K.-W., Lee, J.-H., Choi, S. H., . . . Yoon, Y. C. (2014). Clinical and genetic analysis of MAPT, GRN, and C9orf72 genes in Korean patients with frontotemporal dementia. *Neurobiology of aging*, 35(5), 1213. e1213-1213. e1217.
- Kumar, V., Islam, A., Ahmad, F., & Hassan, M. I. (2016). Structural insight into C9orf72 hexanucleotide repeat expansions: Towards new therapeutic targets in FTD-ALS. *Neurochemistry international*, 100, 11-20.
- Lahut, S., Özeş, B., Açar, S., & Başak, A. N. (2012). TDP-43 Proteinopatileri: Nörodejeneratif konformasyon bozukluğu hastalıklarında yeni bir oyuncu. *Turkish Journal of Neurology*, 18, 1-10.
- Lashley, T., Rohrer, J. D., Mead, S., & Revesz, T. (2015). An update on clinical, genetic and pathological aspects of frontotemporal lobar degenerations. *Neuropathology and applied neurobiology*, 41(7), 858-881.
- Le Ber, I., Van Der Zee, J., Hannequin, D., Gijssels, I., Campion, D., Puel, M., . . . Van den Broeck, M. (2007). Progranulin null mutations in both sporadic and familial frontotemporal dementia. *Human mutation*, 28(9), 846-855.
- Liu, E. Y., Russ, J., Wu, K., Neal, D., Suh, E., McNally, A. G., . . . Lee, E. B. (2014). C9orf72 hypermethylation protects against repeat expansion-associated pathology in ALS/FTD. *Acta neuropathologica*, 128(4), 525-541.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Lynch, T., Sano, M., Marder, K., Bell, K., Foster, N., Defending, R., . . . Fahn, S. (1994). Clinical characteristics of a family with chromosome 17-linked disinhibition-dementia-parkinsonism-amyotrophy complex. *Neurology*, 44(10), 1878-1878.
- Mackenzie, I. R., Frick, P., Grässer, F. A., Gendron, T. F., Petrucelli, L., Cashman, N. R., . . . Troost, D. (2015). Quantitative analysis and clinico-pathological correlations of different dipeptide repeat protein pathologies in C9ORF72 mutation carriers. *Acta neuropathologica*, 130(6), 845-861.
- Mackenzie, I. R., & Neumann, M. (2016). Molecular neuropathology of frontotemporal dementia: insights into disease mechanisms from postmortem studies. *Journal of neurochemistry*, 138(S1), 54-70.
- Mackenzie, I. R., Rademakers, R., & Neumann, M. (2010). TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *The Lancet Neurology*, 9(10), 995-1007.
- Majounie, E., Renton, A. E., Mok, K., Dopper, E. G., Waite, A., Rollinson, S., . . . Simon-Sanchez, J. (2012). Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: a cross-sectional study. *The Lancet Neurology*, 11(4), 323-330.
- Mann, D., & Snowden, J. S. (2017). Frontotemporal lobar degeneration: Pathogenesis, pathology and pathways to phenotype. *Brain Pathology*.
- Moens, T. G., Partridge, L., & Isaacs, A. M. (2017). Genetic models of C9orf72: what is toxic? *Current Opinion in Genetics & Development*, 44, 92-101.
- Mok, K., Traynor, B. J., Schymick, J., Tienari, P. J., Laaksovirta, H., Peuralinna, T., . . . Boeve, B. F. (2012). The chromosome 9 ALS and FTD locus is probably derived from a single founder. *Neurobiology of aging*, 33(1), 209. e203-209. e208.
- Murphy, N. A., Arthur, K. C., Tienari, P. J., Houlden, H., Chiò, A., & Traynor, B. J. (2017). Age-related penetrance of the C9orf72 repeat expansion. *Scientific Reports*, 7.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Musso, M., Bocciardi, R., Parodi, S., Ravazzolo, R., & Ceccherini, I. (2006). Betaine, dimethyl sulfoxide, and 7-deaza-dGTP, a powerful mixture for amplification of GC-rich DNA sequences. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 8(5), 544-550.
- Neary, D., Snowden, J. S., Gustafson, L., Passant, U., Stuss, D., Black, S. a., . . . Albert, M. (1998). Frontotemporal lobar degeneration A consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology*, 51(6), 1546-1554.
- Neumann, M., Sampathu, D. M., Kwong, L. K., Truax, A. C., Micsenyi, M. C., Chou, T. T., . . . Clark, C. M. (2006). Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, 314(5796), 130-133.
- Neumann, M., Tolnay, M., & Mackenzie, I. R. (2009). The molecular basis of frontotemporal dementia. *Expert reviews in molecular medicine*, 11.
- Ng, A. S., & Tan, E.-K. (2017). Intermediate C9orf72 alleles in neurological disorders: does size really matter? *Journal of medical genetics*, 54(9), 591-597.
- Nuytemans, K., Bademci, G., Kohli, M. M., Beecham, G. W., Wang, L., Young, J. I., . . . Benatar, M. (2013). C9ORF72 intermediate repeat copies are a significant risk factor for Parkinson disease. *Annals of human genetics*, 77(5), 351-363.
- Ogaki, K., Li, Y., Takanashi, M., Ishikawa, K.-I., Kobayashi, T., Nonaka, T., . . . Funayama, M. (2013). Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTLD, PSP, and CBS. *Parkinsonism & related disorders*, 19(1), 15-20.
- Olszewska, D. A., Lonergan, R., Fallon, E. M., & Lynch, T. (2016). Genetics of frontotemporal dementia. *Current neurology and neuroscience reports*, 16(12), 107.
- Onur, E., & Yalınay, P. D. (2011). Frontotemporal Demans ve Psikiyatrik Belirtiler. *Dusunen Adam: Journal of Psychiatry & Neurological Sciences*, 24(3).
- Öğüten, E. G. (2017). Major ve Minor Nörokognitif Bozukluklar: Frontotemporal Demans. *Türkiye Klinikleri Journal of Psychiatry Special Topics*, 10(1), 9-21.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Özoğuz, A., Uyan, Ö., Birdal, G., Iskender, C., Kartal, E., Lahut, S., . . . Sen, N. E. (2015). The distinct genetic pattern of ALS in Turkey and novel mutations. *Neurobiology of aging*, 36(4), 1764. e1769-1764. e1718.
- Pan, X.-d., & Chen, X.-c. (2013). Clinic, neuropathology and molecular genetics of frontotemporal dementia: a mini-review. *Translational neurodegeneration*, 2(1), 8.
- Parkinson, N., Ince, P., Smith, M., Highley, R., Skibinski, G., Andersen, P., . . . Collinge, J. (2006). ALS phenotypes with mutations in CHMP2B (charged multivesicular body protein 2B). *Neurology*, 67(6), 1074-1077.
- Poorkaj, P., Bird, T. D., Wijsman, E., Nemens, E., Garruto, R. M., Anderson, L., . . . Schellenberg, G. D. (1998). Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Annals of neurology*, 43(6), 815-825.
- Pottier, C., Ravenscroft, T. A., Sanchez-Contreras, M., & Rademakers, R. (2016). Genetics of FTL: overview and what else we can expect from genetic studies. *Journal of neurochemistry*.
- Rademakers, R., Baker, M., Gass, J., Adamson, J., Huey, E. D., Momeni, P., . . . Stewart, H. (2007). Phenotypic variability associated with progranulin haploinsufficiency in patients with the common 1477C→ T (Arg493X) mutation: an international initiative. *The Lancet Neurology*, 6(10), 857-868.
- Rademakers, R., Cruts, M., & Van Broeckhoven, C. (2004). The role of tau (MAPT) in frontotemporal dementia and related tauopathies. *Human mutation*, 24(4), 277-295.
- Rainero, I., Rubino, E., Michelerio, A., D'Agata, F., Gentile, S., & Pinessi, L. (2017). Recent advances in the molecular genetics of frontotemporal lobar degeneration. *Functional neurology*, 32(1), 7.
- Rainero, I., Rubino, E., Negro, E., Gallone, S., Galimberti, D., Gentile, S., . . . Pinessi, L. (2011). Heterosexual pedophilia in a frontotemporal dementia patient with a mutation in the progranulin gene. *Biological psychiatry*, 70(9), e43-e44.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Rascovsky, K., Hodges, J. R., Knopman, D., Mendez, M. F., Kramer, J. H., Neuhaus, J., . . . Onyike, C. U. (2011). Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. *Brain*, *134*(9), 2456-2477.
- Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K., & Hodges, J. R. (2002). The prevalence of frontotemporal dementia. *Neurology*, *58*(11), 1615-1621.
- Ratti, A., Corrado, L., Castellotti, B., Del Bo, R., Fogh, I., Cereda, C., . . . Pensato, V. (2012). C9ORF72 repeat expansion in a large Italian ALS cohort: evidence of a founder effect. *Neurobiology of aging*, *33*(10), 2528. e2527-2528. e2514.
- Renton, A. E., Majounie, E., Waite, A., Simón-Sánchez, J., Rollinson, S., Gibbs, J. R., . . . Myllykangas, L. (2011). A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron*, *72*(2), 257-268.
- Riedl, L., Mackenzie, I. R., Förstl, H., Kurz, A., & Diehl-Schmid, J. (2014). Frontotemporal lobar degeneration: current perspectives. *Neuropsychiatric disease and treatment*, *10*, 297.
- Rohrer, J. D., Isaacs, A. M., Mizielińska, S., Mead, S., Lashley, T., Wray, S., . . . Hardy, J. (2015). C9orf72 expansions in frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet Neurology*, *14*(3), 291-301.
- Rohrer, J. D., Ridgway, G. R., Modat, M., Ourselin, S., Mead, S., Fox, N. C., . . . Warren, J. D. (2010). Distinct profiles of brain atrophy in frontotemporal lobar degeneration caused by progranulin and tau mutations. *Neuroimage*, *53*(3), 1070-1076.
- Rohrer, J. D., & Warren, J. D. (2011). Phenotypic signatures of genetic frontotemporal dementia. *Current opinion in neurology*, *24*(6), 542-549.
- Rollinson, S., Callister, J. B., Young, K., Ryan, S. J., Drueyeh, R., Rohrer, J. D., . . . Harris, J. (2015). A small deletion in C9orf72 hides a proportion of expansion carriers in FTLD. *Neurobiology of aging*, *36*(3), 1601. e1601-1601. e1605.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

- Sareen, D., O'Rourke, J. G., Meera, P., Muhammad, A., Grant, S., Simpkinson, M., . . . Sahabian, A. (2013). Targeting RNA foci in iPSC-derived motor neurons from ALS patients with a C9ORF72 repeat expansion. *Science translational medicine*, 5(208), 208ra149-208ra149.
- Schottlaender, L. V., Polke, J. M., Ling, H., MacDoanld, N. D., Tucci, A., Nanji, T., . . . Revesz, T. (2015). The analysis of C9orf72 repeat expansions in a large series of clinically and pathologically diagnosed cases with atypical parkinsonism. *Neurobiology of aging*, 36(2), 1221. e1221-1221. e1226.
- Seelaar, H., Rohrer, J. D., Pijnenburg, Y. A., Fox, N. C., & Van Swieten, J. C. (2011). Clinical, genetic and pathological heterogeneity of frontotemporal dementia: a review. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 82(5), 476-486.
- Selvaraj, B. T., Livesey, M. R., & Chandran, S. (2017). Modeling the C9ORF72 repeat expansion mutation using human induced pluripotent stem cells. *Brain Pathology*, 27(4), 518-524.
- Sharon, J. S., Takada, L. T., Rankin, K. P., Yokoyama, J. S., Rutherford, N. J., Fong, J. C., . . . DeJesus-Hernandez, M. (2012). Frontotemporal dementia due to C9ORF72 mutations Clinical and imaging features. *Neurology*, 79(10), 1002-1011.
- Sieben, A., Van Langenhove, T., Engelborghs, S., Martin, J.-J., Boon, P., Cras, P., . . . Cruts, M. (2012). The genetics and neuropathology of frontotemporal lobar degeneration. *Acta neuropathologica*, 124(3), 353-372.
- Simón-Sánchez, J., Dopper, E. G., Cohn-Hokke, P. E., Hukema, R. K., Nicolaou, N., Seelaar, H., . . . Deeg, D. J. (2012). The clinical and pathological phenotype of C9ORF72 hexanucleotide repeat expansions. *Brain*, 135(3), 723-735.
- Snowden, J. S., Neary, D., & Mann, D. M. (2002). Frontotemporal dementia. *The British Journal of Psychiatry*, 180(2), 140-143.
- Snowden, J. S., Rollinson, S., Thompson, J. C., Harris, J. M., Stopford, C. L., Richardson, A. M., . . . Robinson, A. (2012). Distinct clinical and pathological characteristics of frontotemporal dementia associated with C 9ORF72 mutations. *Brain*, 135(3), 693-708.



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Suh, E., Lee, E. B., Neal, D., Wood, E. M., Toledo, J. B., Rennert, L., . . . Elman, L. B. (2015). Semi-automated quantification of C9orf72 expansion size reveals inverse correlation between hexanucleotide repeat number and disease duration in frontotemporal degeneration. *Acta neuropathologica*, 130(3), 363-372.
- Suhonen, N.-M., Haanpää, R. M., Korhonen, V., Jokelainen, J., Pitkäniemi, A., Heikkinen, A.-L., . . . Hiltunen, M. (2017). Neuropsychological Profile in the C9ORF72 Associated Behavioral Variant Frontotemporal Dementia. *Journal of Alzheimer's Disease*, 58(2), 479-489.
- Suzuki, N., Maroof, A. M., Merkle, F. T., Koszka, K., Intoh, A., Armstrong, I., . . . Eggan, K. (2013). The mouse C9ORF72 ortholog is enriched in neurons known to degenerate in ALS and FTD. *Nature neuroscience*, 16(12), 1725-1727.
- Thys, R. G., & Wang, Y.-H. (2015). DNA replication dynamics of the GGGGCC repeat of the C9orf72 gene. *Journal of Biological Chemistry*, 290(48), 28953-28962.
- Todd, P. K., & Paulson, H. L. (2010). RNA-mediated neurodegeneration in repeat expansion disorders. *Annals of neurology*, 67(3), 291-300.
- Todd, T. W., & Petrucelli, L. (2016). Insights into the pathogenic mechanisms of Chromosome 9 open reading frame 72 (C9orf72) repeat expansions. *Journal of neurochemistry*, 138(S1), 145-162.
- Van Blitterswijk, M., DeJesus-Hernandez, M., Niemantsverdriet, E., Murray, M. E., Heckman, M. G., Diehl, N. N., . . . Bauer, P. O. (2013). Association between repeat sizes and clinical and pathological characteristics in carriers of C9ORF72 repeat expansions (Xpansize-72): a cross-sectional cohort study. *The Lancet Neurology*, 12(10), 978-988.
- Van Blitterswijk, M., Gendron, T. F., Baker, M. C., DeJesus-Hernandez, M., Finch, N. A., Brown, P. H., . . . Jiang, J. (2015). Novel clinical associations with specific C9ORF72 transcripts in patients with repeat expansions in C9ORF72. *Acta neuropathologica*, 130(6), 863-876.
- Van Blitterswijk, M., Mullen, B., Nicholson, A. M., Bieniek, K. F., Heckman, M. G., Baker, M. C., . . . Murray, M. E. (2014). TMEM106B protects C9ORF72 expansion carriers against frontotemporal dementia. *Acta neuropathologica*, 127(3), 397-406.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Van Deerlin, V. M., Sleiman, P. M., Martinez-Lage, M., Chen-Plotkin, A., Wang, L.-S., Graff-Radford, N. R., . . . Grossman, M. (2010). Common variants at 7p21 are associated with frontotemporal lobar degeneration with TDP-43 inclusions. *Nature genetics*, 42(3), 234-239.
- Van der Zee, J., Gijssels, I., Dillen, L., Van Langenhove, T., Theuns, J., Engelborghs, S., . . . Sieben, A. (2013). A Pan-European study of the C9orf72 repeat associated with FTL: Geographic prevalence, genomic instability, and intermediate repeats. *Human mutation*, 34(2), 363-373.
- Van der Zee, J., Van Langenhove, T., Kleinberger, G., Sleegers, K., Engelborghs, S., Vandenberghe, R., . . . Brys, J. (2011). TMEM106B is associated with frontotemporal lobar degeneration in a clinically diagnosed patient cohort. *Brain*, 134(3), 808-815.
- Van Langenhove, T., van der Zee, J., Gijssels, I., Engelborghs, S., Vandenberghe, R., Vandebulcke, M., . . . Ivanoiu, A. (2013). Distinct clinical characteristics of C9orf72 expansion carriers compared with GRN, MAPT, and nonmutation carriers in a Flanders-Belgian FTL cohort. *JAMA neurology*, 70(3), 365-373.
- Van Langenhove, T., Van Der Zee, J., Sleegers, K., Engelborghs, S., Vandenberghe, R., Gijssels, I., . . . De Deyn, P. (2010). Genetic contribution of FUS to frontotemporal lobar degeneration. *Neurology*, 74(5), 366-371.
- Van Mossevelde, S., van der Zee, J., Cruts, M., & Van Broeckhoven, C. (2017). Relationship between C9orf72 repeat size and clinical phenotype. *Current Opinion in Genetics & Development*, 44, 117-124.
- Waite, A. J., Bäumer, D., East, S., Neal, J., Morris, H. R., Ansorge, O., & Blake, D. J. (2014). Reduced C9orf72 protein levels in frontal cortex of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal degeneration brain with the C9ORF72 hexanucleotide repeat expansion. *Neurobiology of aging*, 35(7), 1779. e1775-1779. e1713.
- Warner, J. P., Barron, L., Goudie, D., Kelly, K., Dow, D., Fitzpatrick, D. R., & Brock, D. (1996). A general method for the detection of large CAG repeat expansions by fluorescent PCR. *Journal of medical genetics*, 33(12), 1022-1026.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Wen, X., Westergard, T., Pasinelli, P., & Trotti, D. (2017). Pathogenic determinants and mechanisms of ALS/FTD linked to hexanucleotide repeat expansions in the C9orf72 gene. *Neuroscience letters*, 636, 16-26.

[www.ruf.rice.edu/~kemmer/Words04/history/vikings.html](http://www.ruf.rice.edu/~kemmer/Words04/history/vikings.html)

Xi, Z., Zinman, L., Moreno, D., Schymick, J., Liang, Y., Sato, C., . . . Keith, J. (2013). Hypermethylation of the CpG island near the G 4 C 2 repeat in ALS with a C9orf72 expansion. *The American Journal of Human Genetics*, 92(6), 981-989.

Xiao, S., MacNair, L., McGoldrick, P., McKeever, P. M., McLean, J. R., Zhang, M., . . . Robertson, J. (2015). Isoform-specific antibodies reveal distinct subcellular localizations of C9orf72 in amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of neurology*, 78(4), 568-583.

Xu, Z., Poidevin, M., Li, X., Li, Y., Shu, L., Nelson, D. L., . . . Wingo, T. S. (2013). Expanded GGGGCC repeat RNA associated with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia causes neurodegeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(19), 7778-7783.

Yu, C.-E., Bird, T. D., Bekris, L. M., Montine, T. J., Leverenz, J. B., Steinbart, E., . . . Miller, C. A. (2010). The spectrum of mutations in progranulin: a collaborative study screening 545 cases of neurodegeneration. *Archives of neurology*, 67(2), 161-170.

Zu, T., Gibbens, B., Doty, N. S., Gomes-Pereira, M., Huguet, A., Stone, M. D., . . . Ingram, M. A. (2011). Non-ATG-initiated translation directed by microsatellite expansions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(1), 260-265.

Zu, T., Liu, Y., Bañez-Coronel, M., Reid, T., Pletnikova, O., Lewis, J., . . . Subramony, S. (2013). RAN proteins and RNA foci from antisense transcripts in C9ORF72 ALS and frontotemporal dementia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(51), E4968-E4977.

## Ekler Dizini

### EK – 1: AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

#### AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

“Frontotemporal lobar dejenerasyon (FTLD) **spektrumunda** genetik değişikliklerin belirlenmesi” amacıyla bir bilimsel araştırma yapmayı planlamaktayız. Yapılması planlan araştırmanın ismi “Frontotemporal Lobar Dejenerasyon Spektrumunda Aday Genlerin Değerlendirilmesi” dir.

Frontotemporal lobar dejenerasyonu saptanan bu nedenle klinik takibi yapılan hastalardan alınan periferik kan örneklerinden yapılacak bu çalışmaya, tıbbi durumunuz bu koşullara uyduğu için sizi de davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmamak gönüllülük esasına dayalıdır. Araştırmaya katılma kararını tamamen hür iradeniz ile vermelisiniz. Bu kararı verirken hiç kimse tarafından size telkin ve baskıda bulunulamaz. Kararınızdan önce söz konusu bilimsel araştırma ve bu araştırmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda yapılacak işlemler hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra bu bilimsel araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

#### ***Bilimsel çalışma hakkında bilgiler***

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni, frontotemporal lobar dejenerasyonu gözlenen bir birey olmanızdır. Bu araştırma Tıbbi Genetik Anabilim Dalında gerçekleştirilecektir.

Bu araştırmada Nöroloji ve Psikiyatri Anabilim Daları tarafından Frontotemporal lobar dejenerasyonu gözlenen olgularda bu hastalık yelpazesıyla ilişkili genlerdeki değişiklikler incelenecektir. Bu genlerde meydana gelen hataların, sizdeki hastalığın gelişmesinde ve/veya ilerlemesinde rol oynayıp oynamadığının belirlenmesi, rol oynuyor ise hangi hataların daha sık gözleendiğinin saptanması, ilerleyen süreç içerisinde bu genlerin incelenerek erken tanı ve/veya hastalık tedavisine yönelik protokollerin geliştirilmesi için ipucu olacaktır.

Frontotemporal demanslar en yaygın gözlenen ikinci demans grubudur. Bu olgularda yapılacak genetik değerlendirmeler hastalığın patolojisini anlamaya ve henüz efektif bir tedavisi olmayan FTD olguları için terapötik ajanları geliştirmeye fırsat tanıyacaktır.

#### **Eğer Araştırmaya Katılmayı Kabul Ederseniz**

- ✓ Sizden aile öykünüz (pedigri analizi) alınacaktır.
- ✓ Bu çalışmaya davet edilmenize neden olan tıbbi durumunuz nedeniyle sizden alınacak kan örneğinden sadece söz konusu analizler gerçekleştirilecektir.

- ✓ Sizden söz konusu çalışma için ilave doku alınmayacaktır.
- ✓ Yukarıda belirtildiği gibi rutin tanı/tedavi kapsamında alınmış ya da alınacak olan örneklerinizden çalışmanın bir bölümü için genetik materyaliniz (DNA) izole edilecek ve bu materyal üzerinde söz konusu analizler yapılacaktır. Söz konusu genetik materyal uzun süreler için uygun koşullarda saklanabilir ve gelecekteki bilimsel çalışmalar için de kullanılabilir.
- ✓ Elde edilen genetik materyalinizin bu çalışma dışında gelecekteki bilimsel çalışmalar için de kullanılabilmesi tamamen sizin vereceğiniz onaya bağlıdır.
- ✓ Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgileriniz çok büyük bir hassasiyetle korunacaktır. İsimleriniz ve genetik analiz sonuçlarınız gizli tutulacaktır.
- ✓ Sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir.
- ✓ Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme yapılmayacaktır.
- ✓ Hekim ile aranızda kalması gereken size ait bilgilerin gizliliğine büyük özen ve saygı gösterilecektir.
- ✓ Gönüllü olarak katıldığınız çalışmanın herhangi bir aşamasında araştırmadan ayrılabilirsiniz. Ancak ayrılmadan önce araştırmacılara bu durumu bildirmeniz önemlidir.
- ✓ Çalışmaya katılmayı kabul etmemeniz durumunda tedavinizde ve klinik izlemlerinizde hiçbir değişiklik olmayacak, her zaman olduğu gibi aynı özen ve ihtimam ile hastalığınızın tedavisi sürdürülecektir.

### **Katılımcının (Gönüllü) / Hastanın Beyanı**

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Nöroloji Anabilim Dalı ve Psikiyatri Anabilim Dalı işbirliği ile bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler tarafıma aktarıldı.

Eğer bu araştırmaya katılırsam, hekim ile aramda kalması gereken, bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı gösterileceği, araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı kesin ve net bir şekilde belirtilmiştir.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Benden herhangi bir ücret talep edilmeyeceği ve bana da herhangi bir ödeme yapılmayacağı net ve kesin bir şekilde ifade edilmiştir.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğum bildirilmiştir. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını da bilincindeyim.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı herhangi bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımıma ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (gönüllü) olarak yer alma kararını tamamen hr iradem ile almış bulunuyorum. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllük içerisinde kabul ediyorum.

Katılımcı (Gönüllü):

*Adı, Soyadı:*

*Adres :*

*Telefon :*

*İmza :*

Katılımcı (Gönüllü) ile Grşen Araştırmacı

*Adı, Soyadı, nvani:*

*Adres :*

*Telefon :*

*İmza :*

## EK – 2: ETİK KURUL KARAR FORMU

<p>ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BAŞKANLIĞI</p> <p><b>KARAR FORMU</b></p>
<p><b>Karar Tarihi:</b> 20 Mart 2014</p> <p><b>Karar Sayısı:</b> 12</p>
<p>Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Prof.Dr.Sevilhan ARTAN tarafından yürütülen <i>“Frontotemporal lobar dejenerasyon spektrumunda aday genlerin değerlendirilmesi”</i> başlıklı çalışmanın yapılmasının uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir. Çalışmanızda başarılar dileriz.</p>

ASLI GİBİDİR

## Özgeçmiş

### Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Ebru ERZURUMLUOĞLU  
Doğum tarihi ve yeri : 08.09.1984  
Uyruğu : T.C  
Medeni durumu : Bekar  
İletişim adresleri : ebruerzurumluoglu@gmail.com

### Eğitim Durumu

(Tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru ilköğretim, lise, üniversite, yabancı dil / diller)

İlkokul : 60.Yıl Cumhuriyet İlköğretim Okulu  
Ortaokul : Sümer İlköğretim Okulu  
Lise : Nuh Mehmet Baldöktü Anadolu Lisesi  
Üniversite : ESOGU FEF Biyoloji Bölümü  
Yüksek Lisans : ESOGU Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD.  
Doktora : ESOGU Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD.  
Yabancı Dil : İngilizce

**Mesleki Deneyim** : Arş. Gör., ESOGU Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD.  
(2012-)

**Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:** Tıbbi Genetik Derneği

### Yayınlar

(Makale, Sözlü Bildiri, Poster Bildiri, Kitap, Kitap Bölümü vd.)

1. Çilingir O., Özkan S., Durak Aras B., **Erzurumluoğlu E.**, Kutlay Ö., Akıncı M., Emir B., Afagh A., Artan S., 2017, Association RAGE Gene Polymorphisms With Parkinson's Disease In A Turkish Cohort. Biomedical Research, 28(19), 8454-8460.
2. Küçük H., Aydın Y., **Erzurumluoğlu E.**, Özdemir M., Hassa H., Artan S., 2015, The effects of a heterochromatin polymorphism in chromosome 6 on premature ovarian failure. Asian Pacific Journal of Reproduction, 4(1), 41-43., Doi: 10.1016/S2305-0500(14)60056-7
3. Özdemir M., Yüksel Z., Karaer K., Tekin N., Küçük H., **Erzurumluoğlu E.**, Çilingir O., 2012, Partial Trisomies Of 8q And 15q Due To Maternal Balanced Translocations. Genetic Counseling, 23(3), 375-382.



## **Bilimsel Etkinlikler**

Burslar : TUBİTAK 1001 Proje bursu

Ödüller :

Projeler :

1. Liken Planus Hastalığında GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 Gen Polimorfizmlerin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, , 16/01/2015 -28/10/2016

2. Sporadik Parkinson Hastalığında RAGE Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, , 16/01/2015 - 25/11/2016

3. Frontotemporal Lobar Dejenerasyon Spektrumunda Aday Genlerin Değerlendirilmesi, TÜBİTAK 1001 Projesi, Bursiyer, 15/04/2015, -

Sözlü Konferans veya Seminerler :

Kurslar ve Eğitim Programlar