



**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

Dahili Tıp Bilimleri / Tıbbi Genetik

**EPİLEPSİ TANILI ÇOCUK HASTALARDA GENETİK  
ETİYOLOJİNİN HEDEFLENMİŞ YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ  
VERİLERİNE DAYANARAK RETROSPEKTİF OLARAK  
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Özden ÖZTÜRK

ORCID ID: 0000-0001-8558-7901

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İbrahim TEKEDERELİ

Malatya-2022

# İÇİNDEKİLER

|                                                              |      |
|--------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                | iv   |
| ÖZET.....                                                    | v    |
| ABSTRACT.....                                                | vi   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                          | vii  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                         | ix   |
| TABLolar DİZİN.....                                          | xiii |
| 1. GİRİŞ .....                                               | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                       | 2    |
| 2.1 Epilepsi Hastalığı.....                                  | 2    |
| 2.1.1 Epilepsi Tanımı.....                                   | 2    |
| 2.1.2 Epilepsilerin Epidemiyolojisi.....                     | 2    |
| 2.1.3 Epilepsilerin Sınıflandırılması.....                   | 5    |
| 2.1.4 Epilepsi Patofizyolojisi.....                          | 11   |
| 2.1.5 Epilepsi Tanısı.....                                   | 12   |
| 2.1.5.1 Genetik Tanı Yöntemleri.....                         | 14   |
| 2.1.6 Epilepsi Tedavisi.....                                 | 16   |
| 2.1.6.1 Antiepileptik İlaç Tedavisi.....                     | 16   |
| 2.1.6.2 Cerrahi Tedavi.....                                  | 18   |
| 2.1.6.3 Vagal Sinir Stimülasyonu (VNS).....                  | 19   |
| 2.1.6.4 Ketojenik Diyet.....                                 | 19   |
| 2.1.6.5 Diğer Tedaviler.....                                 | 21   |
| 2.1.6.6 Kişiselleştirilmiş Tedavi.....                       | 22   |
| 2.2 Epilepsi Etiyolojisi.....                                | 24   |
| 2.2.1 Yapısal Nedenler.....                                  | 24   |
| 2.2.2 Enfeksiyöz Nedenler.....                               | 24   |
| 2.2.3 Metabolik Nedenler.....                                | 25   |
| 2.2.4 İmmun Nedenler.....                                    | 25   |
| 2.2.5 Genetik Etiyoloji.....                                 | 25   |
| 2.2.6 Bilinmeyen Nedenler.....                               | 28   |
| 2.2.7 Neonatal nöbetlerde etiyoloji.....                     | 28   |
| 2.3 Epilepsi Etiyolojisinde Yeni Nesil Dizileme Analizi..... | 29   |
| 2.3.1 Saptanan Varyantların Sınıflandırılması.....           | 32   |

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.2 Hedefli Gen Panelleri.....                                      | 35 |
| 2.3.2.1 Panel Genleri.....                                            | 37 |
| 2.4 Amaç.....                                                         | 38 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                               | 39 |
| 3.1 Olgu Seçimi.....                                                  | 39 |
| 3.2 Moleküler Genetik Çalışma.....                                    | 39 |
| 3.2.1 Epilepsi Panelinin Özellikleri.....                             | 39 |
| 3.2.2 Genomik DNA izolasyonu.....                                     | 40 |
| 3.2.2.1 DNA'nın kalite ve miktar tayinleri.....                       | 41 |
| 3.2.3 Kütüphane hazırlanması.....                                     | 41 |
| 3.2.3.1 Fragmentasyon ve 1.PCR.....                                   | 42 |
| 3.2.3.2 Adaptör Bağlanması, 2. PCR.....                               | 42 |
| 3.2.3.3 Hedef Zenginleştirme Prosedürü.....                           | 44 |
| 3.2.3.4 Amplifikasyon (Universal PCR).....                            | 45 |
| 3.2.3.5 Kütüphane Kantifikasyonu.....                                 | 47 |
| 3.2.4 Kütüphanelerin Yeni Nesil Dizi Analizi Cihazına Yüklenmesi..... | 49 |
| 3.2.5 Ham Datanın Elde Edilmesi-Veri Analizi.....                     | 49 |
| 3.2.6 VUS Varyantların Yeniden Analiz Edilmesi.....                   | 50 |
| 3.2.7 Tanısal Değerin Belirlenmesi ve İstatistiksel Analiz.....       | 50 |
| 4. BULGULAR.....                                                      | 51 |
| 4.1 Klinik Bulgular.....                                              | 51 |
| 4.2 Yeni Nesil Dizileme Bulguları.....                                | 54 |
| 4.2.1 Olgu 2 ve Olgu 36.....                                          | 70 |
| 4.2.2 Olgu 5.....                                                     | 72 |
| 4.2.3 Olgu 6 ve Olgu 88.....                                          | 73 |
| 4.2.4 Olgu 7, Olgu 31 ve Olgu 33.....                                 | 75 |
| 4.2.5 Olgu 11.....                                                    | 77 |
| 4.2.6 Olgu 10.....                                                    | 78 |
| 4.2.7 Olgu 18, Olgu 19, Olgu 21, Olgu 48, Olgu 67 ve Olgu 89.....     | 79 |
| 4.2.8 Olgu 71 ve Olgu 107.....                                        | 85 |
| 4.2.9 Olgu 24.....                                                    | 88 |
| 4.2.10 Olgu 29.....                                                   | 89 |
| 4.2.11 Olgu 34.....                                                   | 90 |
| 4.2.12 Olgu 38, Olgu 52, Olgu 55 ve Olgu 81.....                      | 92 |

|                                                  |     |
|--------------------------------------------------|-----|
| 4.2.13 Olgu 41 ve Olgu 49.....                   | 93  |
| 4.2.14 Olgu 43 ve Olgu 69.....                   | 95  |
| 4.2.15 Olgu 45.....                              | 96  |
| 4.2.16 Olgu 47, Olgu 58, Olgu 80 ve Olgu 90..... | 97  |
| 4.2.17 Olgu 50.....                              | 99  |
| 4.2.18 Olgu 59 ve Olgu 105.....                  | 101 |
| 4.2.19 Olgu 61.....                              | 103 |
| 4.2.20 Olgu 63.....                              | 104 |
| 4.2.21 Olgu 77.....                              | 106 |
| 4.2.22 Olgu 79.....                              | 108 |
| 4.2.23 Olgu 91.....                              | 109 |
| 4.2.24 Olgu 92.....                              | 110 |
| 4.2.25 Olgu 99.....                              | 110 |
| 4.2.26 Olgu 101.....                             | 112 |
| 5. TARTIŞMA.....                                 | 114 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....                        | 127 |
| KAYNAKLAR.....                                   | 128 |
| EKLER.....                                       | 152 |
| Ek-1. Etik Kurul Kararı.....                     | 152 |

## TEŞEKKÜR

Tez danışmanlığımı üstlenen, asistanlık eğitimimde bilgi ve deneyimiyle yol gösteren kıymetli hocam Prof. Dr. İbrahim Tekedereli'ye

Asistanlık eğitimimde katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Elif Yeşilada, Prof.Dr. Ahmet Koç ve Dr.Öğr. Üyesi Cemal Ekici başta olmak üzere İnönü Üniversitesi Tıbbi Genetik bölümü ailesine,

Uzmanlık eğitimimde klinik bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocam Prof. Dr. Ferda Özkınay ve Ege Üniversitesi Hastanesi Çocuk Genetik ekibine,

Asistanlık eğitimim boyunca bana Tıbbi Genetiği sevdiren, emek veren ve yol gösteren kıymetli hocam Prof. Dr. Haydar Bağış'a

Hayatım boyunca desteklerini her zaman arkamda hissettiğim, beni koşulsuz seven canım ailem, annem Ayşe Ünlü, babam Hüseyin Ünlü, ablam Gül Koçer ve kardeşim Ahmet Ünlü'ye

Her adımında yanımda olan beni destekleyen kıymetli eşim Serdar Öztürk ve canım kızım Ayşe Ece Öztürk'e çok teşekkür ederim.

## ÖZET

### **Epilepsi Tanılı Çocuk Hastalarda Genetik Etiyolojinin Hedeflenmiş Yeni Nesil Dizi Analizi Verilerine Dayanarak Retrospektif Olarak Araştırılması**

**Amaç:** Epilepsi çocukların %0,5 ile %1'ini etkileyen tekrarlayan nöbetlerle karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Etiyolojisinde çeşitli faktörler bulunmakla birlikte genetik faktörler etiyolojinin %40-50'sinde yer almaktadır. Son zamanlarda yeni nesil dizileme teknolojilerindeki gelişmeler sayesinde, epilepsili hastalarda etiyolojide çok sayıda moleküler değişik saptanmıştır. Bu da epilepsi hastalarında kesin etiyolojinin belirlenerek kişiselleştirilmiş tedavilerin önünü açmıştır. Bu tez çalışmasında epilepsi tanılı çocuk hastalarda hedeflenmiş NGS verileri retrospektif olarak incelenerek, epilepsi panelinin klinik karar verme üzerindeki etkisinin incelenmesi ve NGS sisteminin pediatrik epilepsi hastalarındaki tanı değerinin saptanması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu tez çalışmasına İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Polikliniği'nde 2018-2021 tarihleri arasında epilepsi tanısı ile değerlendirilen ve tanı testi olarak hedefli NGS analizleri yapılmış 107 çocuk hasta(0-18 yaş) dahil edildi. Çalışmada patojenik, muhtemel patojenik ve VUS varyantlar yer aldı. Elde edilen nedensel varyantlar ile NGS panelinin tanı değeri hesaplandı.

**Bulgular:** Çalışmada 20 patojenik, 5 muhtemel patojenik ve 49 klinik önemi bilinmeyen olmak üzere 74 varyant saptandı. VUS varyantlar yeniden analiz edildikten sonra 15'i benign, 15'i muhtemel benign, 5'i muhtemel patojenik, 1'i patojenik olmak üzere 36 varyantın ACMG sınıflandırması tekrar belirlendi. Buna göre toplamda 31 patojenik-muhtemel patojenik (P, LP) ve 13 VUS varyant tespit edildi. Bu çalışmada, 110 epilepsi geni içeren NGS panelinin prediktif değeri %28 olarak hesaplandı.

**Sonuç:** Çalışmamızda, epilepsi hastalarındaki hedefli yeni NGS analizinin tanısal değeri güncel literatür verileriyle uyumlu olarak tespit edilmiştir. Olgularda NGS ile genetik etiyolojinin belirlenmesi prognoz tahmin edilmesi ve uygun tedavinin seçilmesine olanak sağlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Epilepsi, gen paneli, yeni nesil dizileme

## ABSTRACT

### **Retrospective Investigation of Genetic Etiology in Pediatric Epilepsy Patients Based on Targeted Next Generation Sequence Analysis Datas**

**Aim:** Epilepsy is a multifactorial disease which affects 0.5% to 1% of children and is characterized with recurrent seizures. Although various factors are shown to be responsible in its etiology; genetic factors are involved in 40-50% of the etiology. Numerous molecular changes have been identified in the etiology in patients with epilepsy by means of recent advances in NGS technologies. This paved the way for personalized treatments by determining the exact etiology in epilepsy patients. In this thesis study, it was aimed to examine the effect of the epilepsy panel on clinical decision making and to determine the diagnostic value of the NGS system in pediatric epilepsy patients by retrospectively examining the data of the targeted NGS panel in pediatric patients with epilepsy.

**Material and Method:** In this thesis study, 107 pediatric patients(0-18 years old), who were evaluated with the diagnosis of epilepsy in İnönü University Faculty of Medicine Medical Genetics Polyclinic between 2018-2021 and to whom targeted NGS analyzes was performed for diagnosis, were included. The study included variants that are pathogenic, LP, and of VUS. The diagnostic value of the NGS panel was calculated with the obtained causal variants.

**Findings:** In the study, 74 variants were detected, of which 20 were pathogenic, 5 were LP, and 49 were of VUS. After reanalysis of VUS variants, the ACMG classification of 36 variants, including 15 benign, 15 likely benign, 5 LP, and 1 pathogenic, were redefined. Accordingly, a total of 31 P, LP and 13 VUS variants were detected. In this study, the predictive value of the NGS panel containing 110 epilepsy genes was calculated as 28%.

**Conclusion:** In our study, the diagnostic value of targeted NGS analysis in epilepsy patients was determined in accordance with current literature data. Identification of genetic etiology with NGS in cases allows prediction of prognosis and selection of appropriate treatment.

**Keywords:** Epilepsy, gene panel, next generation sequencing

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- AEİ:** Antiepileptik ilaç
- ACMG:** American College of Medical Genetics and Genomics
- AMP:** Association for Molecular Pathology
- AMPA:** a-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropiyonik asit
- ANT:** Talamus ön çekirdeği
- ASD:** Atrial septal defekt
- BAM:** Binary Alignment Map
- CADD:** Combined Annotation Dependent Depletion
- Cav3.2:** T tipi kalsiyum kanalı
- CMA:** Kromozomal mikroyarray
- CMT:** Talamus sentromedian çekirdeği
- CMV:** Sitomegalovirüs
- CNV:** Kopya numarası varyasyonları
- CT:** Cycle Threshold
- CUL3:** Cullin-3
- DBS:** Derin beyin stimülasyonu
- E:** Erkek
- EEG:** Elektroensefalografi
- EDTA:** Ethylene diamine tetra acetic acid
- EKO:** Ekokardiyografi
- f:** Frekans
- FDA:** Food and Drug Administration
- FDG-PET:** Florodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi
- FIRES:** Ateşli enfeksiyonla ilişkili epilepsi sendromu
- FERA:** Fragmentation, end-repair, and A-addition
- FISH:** Floresan in situ hibridizasyon
- GERP:** Genomic Evolutionary Rate Profiling
- GLUT1:** Glukoz transporter 1
- HGMD:** Human Gene Mutation Database
- HHV6:** İnsan herpes virüsü tip 6
- ILAE:** International League Against Epilepsy
- KD:** Ketojenik diyet

**K:** Kız

**LGIT:** Düşük glisemik indeks tedavisi

**LP:** Muhtemel patojenik

**MAD:** Modifiye Atkins diyeti

**MCT:** Orta zincirli trigliserit diyeti

**mGluR:** Metabotropik glutamat reseptörleri

**MLPA:** Multipleks ligasyona bağlı prob amplifikasyonu

**µl:** Mikrolitre

**MRI:** Magnetik rezonans görüntüleme

**MSS:** Merkezi sinir sistemi

**NGS:** Yeni nesil dizileme

**NMPA:** N-metil-D-aspartat

**NORSE:** Yeni başlangıçlı refrakter status epileptikus

**NTC:** No template control

**OD:** Otozomal dominant

**OMIM:** Online Mendelian Inheritance in Man

**OR:** Otozomal resesif

**QCI:** Qiagen Clinical Insight

**P:** Patojenik

**PET:** Pozitron emisyon tomografisi

**PCR:** Polimeraz zincir reaksiyonu

**PDHD:** Piruvat dehidrojenaz eksikliği

**pM:** Pikomolar

**USG:** Ultrasonografi

**WES:** Whole-Exome Sequencing

**WGS:** Whole-Genome Sequencing

**XL:** X-linked

**XLD:** X-linked dominant

**XLR:** X-linked resesif

**VCF:** Variant Calling Format

**VCUG:** Voiding Sistrouretrografi

**VNS:** Vagal sinir simülasyonu

**VSD:** Ventriküler septal defekt

**VUS:** Klinik önemi bilinmeyen

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekil No   | Sayfa No                                                                                                            |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Şekil 2.1  | Ülkelerin epilepsi aktif dönem prevalansları.....3                                                                  |
| Şekil 2.2  | 2017 ILAE nöbet tiplerinin temel sınıflandırması.....6                                                              |
| Şekil 2.3  | 2017 ILAE nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırması.....6                                                      |
| Şekil 2.4  | 1981 terminolojisi ile yeni 2017 terminolojisinin karşılaştırılması.....7                                           |
| Şekil 2.5  | 2017 ILAE epilepsi sınıflaması.....8                                                                                |
| Şekil 2.6  | Neonatal epilepsilerin sınıflandırılması ve etiyojisi.....9                                                         |
| Şekil 2.7  | Neonatal ve infant dönem epilepsi sendromları.....10                                                                |
| Şekil 2.8  | Epilepside rol oynayan hücrel fonksiyonlar ve yollar.....11                                                         |
| Şekil 2.9  | Epilepsili hastalarda genetik test algoritması.....15                                                               |
| Şekil 3.1  | QIAseq Library Quant Assay Kit düzeni(Rotor 72).....29                                                              |
| Şekil 4.1  | Çalışmaya dahil edilen olguların cinsiyet dağılımı.....48                                                           |
| Şekil 4.2  | Çalışmaya dahil edilen olguların nöbet başlangıç yaşı.....51                                                        |
| Şekil 4.3  | Olguların nöbet başlangıç tipi.....52                                                                               |
| Şekil 4.4  | Çalışmaya dahil edilen olgularda saptanan beyin MRI bulguları.....52                                                |
| Şekil 4.5  | Olgularda bulunan varyantların patojenitelerinin sınıflandırılması.....55                                           |
| Şekil 4.6  | Olgularda saptanan varyantların patojenite ve cinsiyet ilişkisi.....55                                              |
| Şekil 4.7  | Epilepsi hastalarında tespit edilen patojenik, muhtemel patojenik,<br>VUS varyantların genlere göre dağılımı.....59 |
| Şekil 4.8  | P, LP ve VUS varyant saptanan genlerin kalıtımı.....60                                                              |
| Şekil 4.9  | P ve LP varyant saptanan genlerin kalıtımı.....60                                                                   |
| Şekil 4.10 | Olgularda tespit edilen varyantların mutasyon tipleri.....60                                                        |
| Şekil 4.11 | P ve LP varyant saptanan genlerin kodladığı proteinlerin fonksiyon<br>sınıflandırması.....61                        |
| Şekil 4.12 | Tekrar analiz edilen VUS varyantların patojenite sınıflaması.....61                                                 |
| Şekil 4.13 | SCN2A geninde saptanan c.4141A>G , p.N1381Y heterozigot<br>varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....70             |
| Şekil 4.14 | SCN2A geninde saptanan c.1964C>G, p.S655C heterozigot<br>varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....71               |
| Şekil 4.15 | SPTAN1 geninde saptanan c.374T>C, p.M125T heterozigot<br>varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....72               |
| Şekil 4.16 | TSC1 geninde saptanan c.2407dupT, p.C803fs*23 heterozigot                                                           |

|                   |                                                                                                                               |    |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|                   | varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....                                                                                    | 73 |
| <b>Şekil 4.17</b> | <i>SYNGAPI</i> geninde saptanan c.3885+107C>G heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....                          | 74 |
| <b>Şekil 4.18</b> | <i>SYNGAPI</i> geninde saptanan c.3963_3964delAGinsCC heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....                  | 74 |
| <b>Şekil 4.19</b> | <i>SCN1A</i> geninde saptanan c.3749C>T, p.T1250M heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....                      | 76 |
| <b>Şekil 4.20</b> | <i>SCN1A</i> geninde saptanan c.4757G>A, p.G1586E heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....                      | 76 |
| <b>Şekil 4.21</b> | <i>SCN1A</i> geninde saptanan c.4554dupA, p.P1519fs*18 heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....                 | 77 |
| <b>Şekil 4.22</b> | <i>MECP2</i> geninde saptanan c.916C>T, p.R306C heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü.....                        | 78 |
| <b>Şekil 4.23</b> | <i>CACNA1H</i> geninde saptanan heterozigot varyantın c.3422_3442delGGCGCTCCAGCTGGAGCAGCC) BAM verisindeki görüntüsü.....     | 79 |
| <b>Şekil 4.24</b> | Olgu 18'de <i>TSC2</i> geninde saptanan c.1831C>T, p.R611W heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....               | 80 |
| <b>Şekil 4.25</b> | Olgu 67'de <i>TSC2</i> geninde saptanan c.1831C>T, p.R611W heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....               | 81 |
| <b>Şekil 4.26</b> | Olgu 19'da <i>TSC2</i> geninde saptanan c.4258_4261delTCAG, p.S1420fs*55 heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü..... | 81 |
| <b>Şekil 4.27</b> | Olgu 21'de <i>TSC2</i> geninde saptanan c.1832C>T, p.R611W heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....               | 82 |
| <b>Şekil 4.28</b> | Olgu 89'da <i>TSC2</i> geninde saptanan heterozigot varyantın c.226-3C>G BAM verisindeki görüntüsü.....                       | 82 |
| <b>Şekil 4.29</b> | Olgu 48'de <i>TSC2</i> geninde saptanan heterozigot varyantın c.5138G>A, p.R1713H BAM verisindeki görüntüsü.....              | 84 |
| <b>Şekil 4.30</b> | Olgu 48'de <i>EFHC1</i> geninde saptanan heterozigot varyantın c.628T>C, p.F210L BAM verisindeki görüntüsü.....               | 84 |
| <b>Şekil 4.31</b> | Olgu 71'de <i>TSC2</i> geninde saptanan heterozigot varyantın c.2506A>G, p.T836A BAM verisindeki görüntüsü.....               | 86 |
| <b>Şekil 4.32</b> | Olgu 71'de <i>KCNT1</i> geninde saptanan heterozigot varyantın                                                                |    |

|                   |                                                                                                                         |     |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
|                   | c.3451G>C, p.E1151Q BAM verisindeki görüntüsü.....                                                                      | 86  |
| <b>Şekil 4.33</b> | Olgu 71'de <i>PCDH19</i> geninde saptanan hemizigot varyantın<br>c.1529C>A, p.P510H BAM verisindeki görüntüsü.....      | 87  |
| <b>Şekil 4.34</b> | Olgu 107'de <i>PCDH19</i> geninde saptanan heterozigot varyantın<br>c.1178C>T, p.P393L BAM verisindeki görüntüsü.....   | 88  |
| <b>Şekil 4.35</b> | Olgu 24'de <i>GABRA1</i> geninde saptanan c.961T>C, p.Y321H<br>heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....     | 89  |
| <b>Şekil 4.36</b> | Olgu 29'da <i>KCNQ2</i> geninde saptanan c.923C>T, p.P308L<br>heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....      | 90  |
| <b>Şekil 4.37</b> | Olgu 34'de <i>SZT2</i> geninde saptanan c.7391T>C, p.V2464A<br>heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....     | 91  |
| <b>Şekil 4.38</b> | Olgu 34'de <i>SZT2</i> geninde saptanan c.3941_3943dupGCA<br>heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....       | 91  |
| <b>Şekil 4.39</b> | <i>GRIN2A</i> geninde saptanan c.2190C>G, p.Y730* heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....               | 93  |
| <b>Şekil 4.40</b> | Olgu 41'de <i>PRRT2</i> geninde saptanan c.621dupA, p.S208fs*17<br>heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü..... | 94  |
| <b>Şekil 4.41</b> | Olgu 49'da <i>PRRT2</i> geninde saptanan c.649dupC, p.R217fs*8<br>heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....  | 95  |
| <b>Şekil 4.42</b> | <i>TBC1D24</i> geninde saptanan c.649dupC, p.R217fs*8 homozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....             | 96  |
| <b>Şekil 4.43</b> | Olgu 45'de <i>CHRNA2</i> geninde saptanan c.223C>T, p.R75C<br>heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....      | 97  |
| <b>Şekil 4.44</b> | <i>ALDH7A1</i> geninde saptanan c.1597delG, p.A533fs* homozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....             | 98  |
| <b>Şekil 4.45</b> | <i>ALDH7A1</i> geninde saptanan c.328C>T, p.R110* homozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....                 | 99  |
| <b>Şekil 4.46</b> | <i>KCTD7</i> geninde saptanan c.280C>T, p.R94W heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....                  | 100 |
| <b>Şekil 4.47</b> | <i>KCTD7</i> geninde saptanan c.719A>T, p.D240V heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....                 | 100 |
| <b>Şekil 4.48</b> | Olgu 59'da <i>UBE3A</i> geninde saptanan c.707T>C, p.I236T<br>heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....      | 102 |
| <b>Şekil 4.49</b> | Olgu 59'da <i>CDKL5</i> geninde saptanan c.3083C>T, p.T1028M                                                            |     |

|                   |                                                                                                                  |     |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
|                   | hemizigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....                                                               | 102 |
| <b>Şekil 4.50</b> | Olgu 105’de <i>CDKL5</i> geninde saptanan c.1415_1416delCA<br>hemizigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü..... | 103 |
| <b>Şekil 4.51</b> | <i>SCN8A</i> geninde c.3491-4C>T heterozigot varyantın<br>BAM verisindeki görüntüsü.....                         | 104 |
| <b>Şekil 4.52</b> | <i>SPTAN1</i> geninde saptanan c.3641G>A, p.R1214H heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....       | 105 |
| <b>Şekil 4.53</b> | <i>SPTAN1</i> geninde saptanan c.374T>C, p.M125T heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....         | 105 |
| <b>Şekil 4.54</b> | <i>GLDC</i> geninde saptanan c.560C>A, p.T187K heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....           | 107 |
| <b>Şekil 4.55</b> | <i>GLDC</i> geninde saptanan c.2195A>T, p.N732I heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....          | 107 |
| <b>Şekil 4.56</b> | <i>SYN1</i> geninde saptanan c.1424A>C, p.Q475P hemizigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....            | 108 |
| <b>Şekil 4.57</b> | <i>NHLRC1</i> geninde saptanan c.436G>A, p.D146N homozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....           | 109 |
| <b>Şekil 4.58</b> | <i>SLC13A5</i> geninde saptanan c.997C>T, p.R333* heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....        | 111 |
| <b>Şekil 4.59</b> | <i>SLC13A5</i> geninde saptanan c.1597A>G, p.N533D heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....       | 112 |
| <b>Şekil 4.60</b> | <i>DEPDC5</i> geninde saptanan c.257A>C, p.Y86S heterozigot<br>varyantın BAM verisindeki görüntüsü.....          | 113 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

| Tablo No          | Sayfa No                                                                                                                                   |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tablo 2.1</b>  | Epilepsi prevalansı için tahmin değerleri.....4                                                                                            |
| <b>Tablo 2.2</b>  | Çocukluk dönemi epilepsi sendromları.....10                                                                                                |
| <b>Tablo 2.3</b>  | Bazı karakteristik EEG paternleriyle epilepsi sendromları ilişkisi.....14                                                                  |
| <b>Tablo 2.4</b>  | Yetişkinlerde ve çocuklarda nöbetler için başlangıç monoterapisi ve ek tedavi için öneriler.....18                                         |
| <b>Tablo 2.5</b>  | Ketojenik diyet tedavisinin ortalama %50'den daha faydalı (>%70) olarak rapor edildiği epilepsi sendromları ve durumları.....21            |
| <b>Tablo 2.6</b>  | Çocuklarda seçilmiş epilepsi sendromlarında tedavi seçenekleri.....23                                                                      |
| <b>Tablo 2.7</b>  | Yaşlara göre epilepsi genleri.....27                                                                                                       |
| <b>Tablo 2.8</b>  | NGS için yaygın olarak kullanılan ticari analizlerin fragmentasyon tekniğine ve hibridizasyon yöntemlerine göre temel farklılıkları.....31 |
| <b>Tablo 2.9</b>  | Varyantların değerlendirilmesinde kullanılan veritabanları.....33                                                                          |
| <b>Tablo 2.10</b> | Varyantların değerlendirilmesinde kullanılan veritabanları.....34                                                                          |
| <b>Tablo 2.11</b> | Epilepsi Panelindeki 110 Genin Fonksiyon Sınıflaması.....37                                                                                |
| <b>Tablo 3.1</b>  | Epilepsi panelinde yer alan genler.....40                                                                                                  |
| <b>Tablo 3.2</b>  | DNA Fragmentasyon PCR Protokolü.....42                                                                                                     |
| <b>Tablo 3.3</b>  | Adaptör ligasyon karışım komponentleri.....43                                                                                              |
| <b>Tablo 3.4</b>  | Adaptör ligasyon PCR aşamaları.....43                                                                                                      |
| <b>Tablo 3.5</b>  | Hedef zenginleştirme protokolü reaktifleri.....44                                                                                          |
| <b>Tablo 3.6</b>  | Hedef zenginleştirme PCR protokolü.....45                                                                                                  |
| <b>Tablo 3.7</b>  | Universal PCR Amplifikasyon karışımı hazırlanması.....46                                                                                   |
| <b>Tablo 3.8</b>  | Termal döngü koşulları.....46                                                                                                              |
| <b>Tablo 3.9</b>  | ILMN standardının seyreltilmesi.....47                                                                                                     |
| <b>Tablo 3.10</b> | Kütüphane örneklerinin dilüsyonu.....47                                                                                                    |
| <b>Tablo 3.11</b> | PCR karışımı hazırlanması.....47                                                                                                           |
| <b>Tablo 3.12</b> | Real time PCR döngüsü.....48                                                                                                               |
| <b>Tablo 4.1</b>  | Olguların bazı demografik özellikleri ve tanı prosedürleri.....53                                                                          |
| <b>Tablo 4.2</b>  | Olgularda saptanan patojenik, muhtemel patojenik ve VUS varyantlar.....56                                                                  |
| <b>Tablo 4.3</b>  | Klinik önemi değişen VUS varyantlar.....62                                                                                                 |
| <b>Tablo 4.4</b>  | Hedeflenmiş NGS panelinin epilepsili çocuk hastalarda tanısal değeri.....63                                                                |

|                   |                                                                                                       |    |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 4.5</b>  | VUS, muhtemel patojenik ve patojenik varyant saptanan hastaların klinik bulguları.....                | 64 |
| <b>Tablo 4.6</b>  | <i>SCN2A</i> geninde saptanan varyantlar ve <i>SCN2A</i> geni ile ilişkili fenotipler.....            | 70 |
| <b>Tablo 4.7</b>  | Olgu 36'da <i>SPTANI</i> geninde saptanan varyantlar ve <i>SPTANI</i> geni ile ilişkili fenotip.....  | 71 |
| <b>Tablo 4.8</b>  | <i>TSC1</i> geninde saptanan varyant ve <i>TSC1</i> geni ile ilişkili fenotip.....                    | 72 |
| <b>Tablo 4.9</b>  | Olgu 88'de <i>SYNGAP1</i> geninde saptanan varyant.....                                               | 73 |
| <b>Tablo 4.10</b> | <i>SCN1A</i> geninde saptanan varyantlar.....                                                         | 75 |
| <b>Tablo 4.11</b> | <i>SCN1A</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                        | 75 |
| <b>Tablo 4.12</b> | Olgu 11'de <i>MECP2</i> geninde saptanan varyant ve özellikleri.....                                  | 77 |
| <b>Tablo 4.13</b> | <i>MECP2</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                        | 77 |
| <b>Tablo 4.14</b> | Olgu 10'da <i>CACNA1H</i> geninde saptanan varyant ve özellikleri.....                                | 78 |
| <b>Tablo 4.15</b> | <i>CACNA1H</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                      | 78 |
| <b>Tablo 4.16</b> | <i>TSC2</i> geninde saptanan varyantlar ve özellikleri.....                                           | 79 |
| <b>Tablo 4.17</b> | <i>TSC2</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                         | 80 |
| <b>Tablo 4.18</b> | Olgu 48'de <i>TSC2</i> ve <i>EFHC1</i> genlerinde saptanan varyantlar.....                            | 83 |
| <b>Tablo 4.19</b> | <i>EFHC1</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                        | 83 |
| <b>Tablo 4.20</b> | Olgu 71 ve olgu 107'de saptanan varyantlar ve özellikleri.....                                        | 85 |
| <b>Tablo 4.21</b> | <i>KCNT1</i> ve <i>PCDH19</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                       | 85 |
| <b>Tablo 4.22</b> | Olgu 24'de <i>GABRA1</i> geninde saptanan varyant ve özellikleri.....                                 | 88 |
| <b>Tablo 4.23</b> | <i>GABRA1</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                       | 88 |
| <b>Tablo 4.24</b> | Olgu 29'da <i>KCNQ2</i> geninde saptanan varyant ve özellikleri.....                                  | 89 |
| <b>Tablo 4.25</b> | <i>KCNQ2</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                        | 89 |
| <b>Tablo 4.26</b> | Olgu 34'de <i>SZT2</i> geninde saptanan varyantlar.....                                               | 90 |
| <b>Tablo 4.27</b> | <i>SZT2</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                         | 90 |
| <b>Tablo 4.28</b> | Olgu 38, Olgu 52, Olgu 55 ve Olgu 81'de <i>GRIN2A</i> geninde saptanan varyantlar ve özellikleri..... | 92 |
| <b>Tablo 4.29</b> | <i>GRIN2A</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                       | 92 |
| <b>Tablo 4.30</b> | Olgu 41 ve Olgu 49'da <i>PRRT2</i> geninde saptanan varyantlar ve özellikleri.....                    | 93 |
| <b>Tablo 4.31</b> | <i>PRRT2</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                                                        | 93 |
| <b>Tablo 4.32</b> | Olgu 43 ve olgu 69'da saptanan varyant ve özellikleri.....                                            | 95 |
| <b>Tablo 4.33</b> | <i>TBC1D24</i> geni ile ilişkili hastalıklar.....                                                     | 95 |

|                   |                                                                          |     |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tablo 4.34</b> | Olgu 45'de <i>CHRNA2</i> geninde saptanan varyant ve özellikleri.....    | 96  |
| <b>Tablo 4.35</b> | <i>CHRNA2</i> geniyle ilişkili fenotipler.....                           | 96  |
| <b>Tablo 4.36</b> | <i>ALDH7A1</i> geninde saptanan varyantlar ve özellikleri.....           | 97  |
| <b>Tablo 4.37</b> | <i>ALDH7A1</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                         | 98  |
| <b>Tablo 4.38</b> | Olgu 50'de <i>KCTD7</i> geninde saptanan varyantlar ve özellikleri.....  | 99  |
| <b>Tablo 4.39</b> | <i>KCTD7</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                           | 99  |
| <b>Tablo 4.40</b> | Olgu 59 ve olgu 105'de saptanan varyantlar.....                          | 101 |
| <b>Tablo 4.41</b> | <i>UBE3A</i> ve <i>CDKL5</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....           | 101 |
| <b>Tablo 4.42</b> | Olgu 61'de saptanan <i>SCN8A</i> varyantı ve özellikleri.....            | 103 |
| <b>Tablo 4.43</b> | <i>SCN8A</i> geni ile ilişkili hastalıklar.....                          | 103 |
| <b>Tablo 4.44</b> | Olgu 63'de <i>SPTAN1</i> geninde saptanan varyantlar ve özellikleri..... | 104 |
| <b>Tablo 4.45</b> | <i>SPTAN1</i> geni ile ilişkili hastalık özellikleri.....                | 104 |
| <b>Tablo 4.46</b> | Olgu 77'de <i>GLDC</i> geninde saptanan varyantlar ve özellikleri.....   | 106 |
| <b>Tablo 4.47</b> | <i>GLDC</i> geniyle ilişkili fenotipik özellikler.....                   | 106 |
| <b>Tablo 4.48</b> | Olgu 79'da saptanan <i>SYN1</i> varyantının özellikleri.....             | 108 |
| <b>Tablo 4.49</b> | <i>SYN1</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                            | 108 |
| <b>Tablo 4.50</b> | Olgu 91'de <i>NHLRC1</i> geninde saptanan varyant ve özellikleri.....    | 109 |
| <b>Tablo 4.51</b> | <i>NHLRC1</i> geniyle ilişkili hastalık fenotipi.....                    | 109 |
| <b>Tablo 4.52</b> | Olgu 92'de <i>KCNMA1</i> geninde saptanan varyant ve özellikleri.....    | 110 |
| <b>Tablo 4.53</b> | <i>KCNMA1</i> geniyle ilişkili hastalıklar.....                          | 110 |
| <b>Tablo 4.54</b> | Olgu 99'da <i>SLC13A5</i> geninde saptanan varyantların özellikleri..... | 110 |
| <b>Tablo 4.55</b> | <i>SLC13A5</i> geniyle ilişkili hastalık fenotipi.....                   | 111 |
| <b>Tablo 4.56</b> | Olgu 101'de <i>DEPDC5</i> geninde saptanan varyant ve özellikleri.....   | 112 |
| <b>Tablo 4.57</b> | <i>DEPDC5</i> geniyle ilişkili hastalık fenotipi.....                    | 112 |
| <b>Tablo 5.1</b>  | Literatürde bildirilen epilepsi ile ilişkili hedefli gen panelleri.....  | 124 |

# 1.GİRİŞ

Çocuklukta önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olan epilepsiler, klinik ve genetik heterojenite gösteren bir hastalık grubudur. Her yaştan bireyi etkilemekle birlikte çocuklarda daha sık ortaya çıkmaktadır. Çocukluk dönemindeki sıklığı %0,5-1 olarak belirtilmektedir.<sup>1</sup> Düşük orta gelirli ülkelerde epilepsi prevalansı daha yüksektir. Klinik olarak epilepsi tanısı konulan hastalarda epilepsi sınıflaması yapılması International League Against Epilepsy (ILAE) tarafından önerilmektedir.<sup>2,3</sup> Bu sınıflamada nöbet başlangıç yaşı, nöbet tipi, epilepsi sendromları ve etiyolojiye göre sınıflama yapılmaktadır. Epilepsi etiyolojisinde farklı faktörler sorumlu olmak birlikte olguların %40-50'sinin genetik nedenli olduğu düşünülmektedir. Mendeliyan kalıtımla birlikte birden fazla genin etkili olduğu kompleks kalıtım modelleri de epilepsi patogeneğinde etkili olabilmektedir.<sup>4</sup>

Yeni nesil dizileme teknolojisi (NGS) başta olmak üzere moleküler genetik teknolojilerindeki son gelişmeler, bu yollarda rol oynayan epilepsi ile ilişkili genlerin hızlı bir şekilde tanımlanmasına yol açmıştır.<sup>5</sup> NGS tekniği genetik analizlerin sırayla yapılması yerine aynı anda birçok geni dizileme imkanı sunmaktadır. Epilepsinin genetik heterojenitesinden dolayı, son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda epilepsi hastalarının tanısı için yeni nesil dizileme genetik testlerinin kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Epilepsi ve yeni nesil dizileme teknolojisinin etkinliği ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış ve pediatrik epilepsi hastalarında epilepsi panellerinin tanı koyma oranının %0,08 ile %48 arasında değiştiği gösterilmiştir.<sup>6</sup>

Bu tez çalışmasında, epilepsi tanısı olan 0-18 yaş grubundaki 107 hastada genetik etiyolojinin hedefli yeni nesil dizi analizi verilerine göre retrospektif araştırılması, sonuçların genotip fenotip korelasyonu ile yorumlanması ve epilepsi gen panelinin tanı değerinin hesaplanması amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 Epilepsi Hastalığı

#### 2.1.1 Epilepsi Tanımı

Nöbet, beyinde ani ve kontrolsüz nöronal aktiviteden dolayı meydana gelen bir bozukluktur. Nöbetler provoke edilmiş (akut semptomatik/ tetiklenmiş) veya provoke edilmemiş (tetiklenmemiş) şekilde olabilmektedir. Provoke edilmiş nöbet, toksik, metabolik, inflamasyon, enfeksiyon ve yapısal nedenlere bağlı olarak meydana gelen akut semptomatik nöbetlerdir. Provoke edilmemiş nöbetler terimi ise potansiyel uyaran bir durumun olmadığına ortaya çıkan nöbetleri ifade etmektedir.<sup>7</sup>

Epilepsi, akut sistemik veya nörolojik bir hasar tarafından provoke edilmemiş tekrarlayan nöbetlerle karakterize merkezi sinir sistemi (MSS) bozukluğudur.<sup>2</sup> Daha spesifik olarak epilepsi tanısı için bir kişide; a) >24 saat arayla meydana gelen en az iki provoke edilmemiş veya refleks nöbet; b) provoke edilmemiş veya refleks bir nöbet ve 10 yıl içinde iki provoke edilmemiş nöbetten sonra genel tekrarlama riskine ( $\geq 60\%$ ) benzer başka bir nöbet geçirme olasılığı; veya c) bir epilepsi sendromunun teşhisi gereklidir.<sup>2</sup>

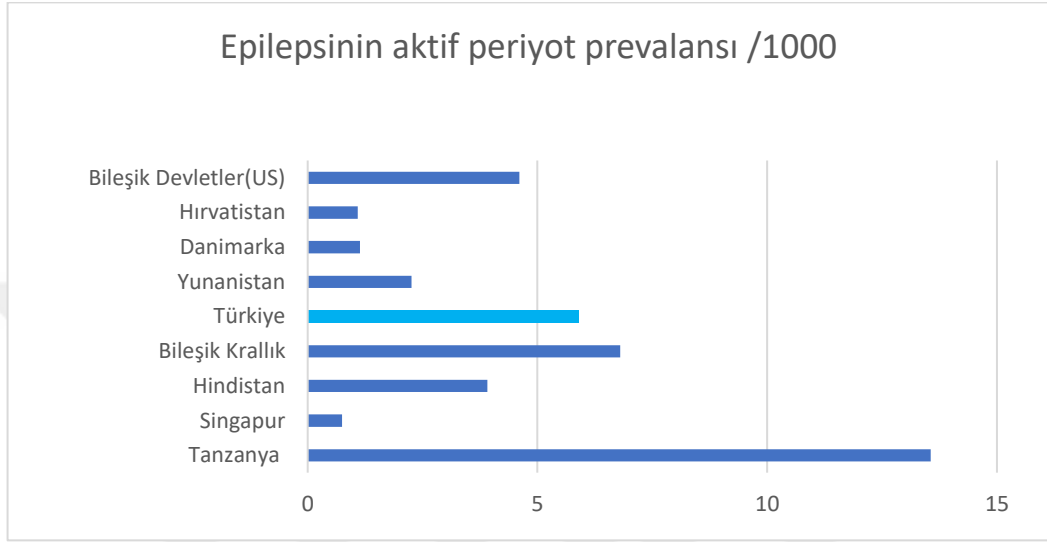
Nöbet ve epilepsi arasındaki ayrımı tanımak esastır. Epilepsi antiepileptik ilaçlarla ve bazı durumlarda cerrahiyle kronik tedavi gerektirebilirken, izole bir nöbetin tedavisi altta yatan nedene yöneliktir.

#### 2.1.2 Epilepsilerin Epidemiyolojisi

Epilepsi, dünyada nüfusun %1-3'ünü etkileyen, sık gözlenen nörolojik hastalıklardan biridir. Dünya çapında yaklaşık 70 milyon insanı etkilediği öngörülmektedir.<sup>8</sup> Epilepsi gelişiminde yaş, coğrafi konum ve ekonomik durumlar risk faktörleri arasında yer almaktadır. Düşük ve orta gelirli ülkelerde epilepsi prevalansı, yüksek gelirli ülkelerin yaklaşık iki katıdır.<sup>1,9</sup> Bunun nedeninin düşük-orta gelirli ülkelerde, kafa travmalarının, sıtma, nörosistiserkoz, invaziv bakteriyel enfeksiyonlar gibi kraniyal enfeksiyonların ve akraba evlilikleri fazla olması nedeniyle genetik etiyolojili epilepsilerin yüksek insidansının olabileceği belirtilmiştir.<sup>10,11</sup>

Epilepsi prevalansı ile ilgili 2017 yılında yapılan bir meta-analizde aktif nokta prevalansı 1000 kişide 6,38, aktif periyot prevalansı 2,83/1000 ve yaşam boyu prevalans 7,6/1000 olarak hesaplanmıştır.<sup>12</sup> Bu çalışmada epilepsinin ülkelere göre aktif periyot

prevalansı değerlendirilmiş ve Türkiye’de 1000 kişide 5,6 olarak tespit edilmiştir (Şekil 2.1).<sup>12</sup> Türkiye’de küçük popülasyonlarda yapılan çeşitli çalışmalarda epilepsi prevalansı 6,1-12,2/1000 arasında değiştiği gösterilmiştir.<sup>13-15</sup> Türkiye’de yapılan bir çalışmada çocukluk çağındaki epilepsilerin (0-16 yaş) prevalansı %0,8 olarak tespit edilirken, erkeklerde prevalans %0,95 ve kızlarda %0,65 olarak bildirilmiştir.<sup>15</sup>



Şekil 2.1 Ülkelerin epilepsi aktif dönem prevalansları<sup>12</sup>

Pek çok prevalans çalışması bildirilmesine rağmen, epilepsi insidansı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Epilepsi insidansı ile ilgili yapılan bir meta-analizde, yıllık kümülatif insidans 67,77/100.000 iken, yıllık insidansı oranı 61,4 /100.000 kişi olarak saptanmıştır (Tablo 2.1).<sup>12</sup> Bu çalışmada epilepsi insidansının da prevalansla benzer şekilde düşük-orta gelirli ülkelerde (139/100.000 kişi) yüksek gelirli ülkelere (48,9/100.000 kişi) göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir.<sup>12</sup> Bu rakamlar düşük-orta gelirli ülkelerde yaşayan popülasyonlarda, sanayileşmiş ülkelerdekilerle karşılaştırıldığında epilepsinin daha büyük bir sorun oluşturduğunu açıkça göstermektedir.<sup>16</sup>

Tablo2.1 Epilepsi prevalansı için tahmin değerleri<sup>12</sup>

| Aktif Nokta Prevalans      |                           |                              |                                              |
|----------------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------------------------------|
|                            | Alt gruplar               | Dahil edilen tahmin sayıları | 1000'de Tahmin Değerleri (%95 güven aralığı) |
| Genel                      |                           | 67                           | 6,38 (5,57-7,30)                             |
| Cinsiyete göre             | Kadın                     | 28                           | 6,85 (5,55-8,47)                             |
|                            | Erkek                     | 27                           | 7,31 (6,06-8,81)                             |
| Yaşa göre                  | 0-9                       | 12                           | 5,19 (3,54-7,62)                             |
|                            | 10-19                     | 12                           | 8,86 (6,58-11,92)                            |
|                            | 20-29                     | 12                           | 9,14 (7,17-11,64)                            |
|                            | 30-59                     | 12                           | 7,94 (6,20-10,15)                            |
|                            | 60+                       | 12                           | 7,17 (4,67-11,01)                            |
| Ülkelerin gelirlerine göre | Düşük ve orta             | 50                           | 6,68 (5,45-8,18)                             |
|                            | Yüksek                    | 13                           | 5,49 (4,16-7,26)                             |
| Nöbet tipine göre          | Aktif jeneralize          | 10                           | 4,33 (2,55-8,32)                             |
|                            | Aktif fokal               | 10                           | 2,99 (1,39-6,42)                             |
|                            | Aktif bilinmeyen nöbetler | 7                            | 0,81 (0,28-2,32)                             |
| Epilepsi etiyolojine göre  | Tahminen genetik          | 5                            | 1,70 (0,75-3,90)                             |
|                            | Yapısal/Metabolik         | 5                            | 2,70 (1,12-3,81)                             |
|                            | Bilinmeyen orjin          | 3                            | 3,15 (2,57-3,87)                             |
| Aktif Periyot Prevalansı   |                           |                              |                                              |
| Genel                      |                           | 11                           | 2,83 (1,53-5,26)                             |
| Cinsiyete göre             | Erkek                     | 6                            | 3,47 (1,22-9,84)                             |
|                            | Kadın                     | 6                            | 2,92 (1,36-6,26)                             |
| Yaşa göre                  | <18                       | 22                           | 4,80 (4,17-5,52)                             |
|                            | 19+                       | 22                           | 5,43 (3,93-7,50)                             |
| Ülkelerin gelirlerine göre | Düşük ve orta             | 3                            | 6,79 (2,77-16,65)                            |
|                            | Yüksek                    | 8                            | 2,06 (1,00-4,25)                             |
| Yaşam Boyu Prevalans       |                           |                              |                                              |
| Genel                      |                           | 56                           | 7,6 (6,17-9,38)                              |
| Cinsiyete göre             | Erkek                     | 20                           | 6,99 (5,3-9,20)                              |
|                            | Kadın                     | 18                           | 7,62 (5,52-10,50)                            |

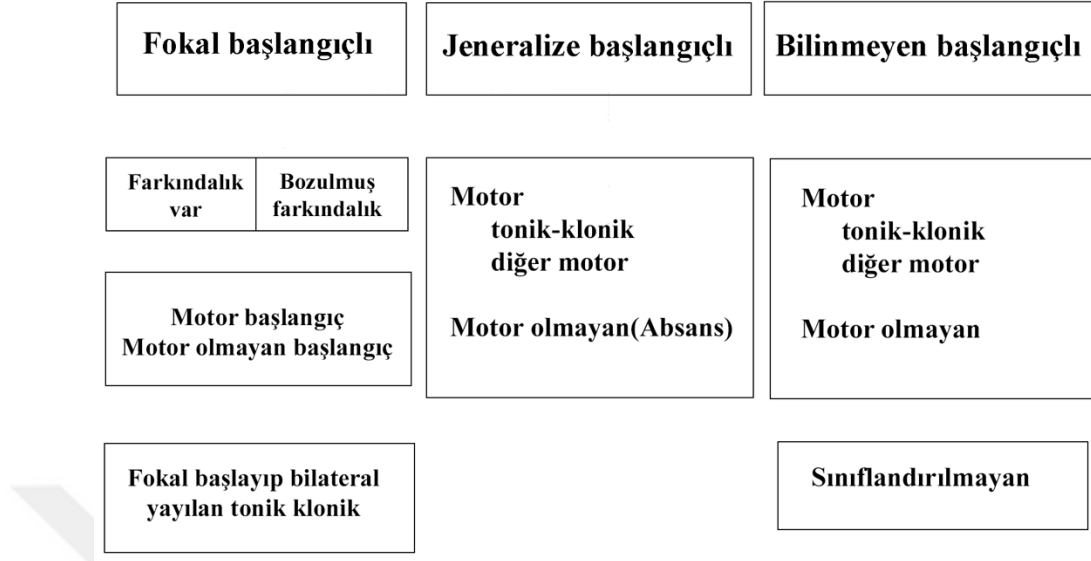
|                            |               |    |                   |
|----------------------------|---------------|----|-------------------|
| Yaşa göre                  | <18           | 30 | 7,24 (5,74-9,14)  |
|                            | 19+           | 24 | 8,59 (5,92-12,46) |
| Ülkelerin gelirlerine göre | Düşük ve orta | 41 | 8,75 (7,23-10,59) |
|                            | Yüksek        | 15 | 5,18 (3,75-7,15)  |

### 2.1.3 Epilepsilerin Sınıflandırılması

Nöbetler ile ilgili ilk modern sınıflama 1964'te Gastaut ve arkadaşları tarafından önerilmiş ve bu sınıflamanın uluslararası kullanımı 1970'te yaygın hale gelmiştir.<sup>17,18</sup> 1970'den önce nöbet ve epilepsi tipleri arasında genellikle ayırım yapılmadığından, elektroensefalografinin (EEG) yaygın kullanımına başlanması ile nöbet sınıflandırması ilk olarak 1981'de güncellenmiştir.<sup>19</sup> Bu sınıflandırmada, basit parsiyel, kompleks parsiyel, jeneralize ve sınıflandırılmayan terimleri kullanılmıştır. Epilepsi sınıflaması, 1985, 1989, 2010, 2014 yıllarında kısmen güncellense de, son sınıflama şeması Uluslararası Epilepsi ile Savaş Komisyonu (ILAE) tarafından 2017'de revize edilmiştir (<https://www.ilae.org/guidelines>).<sup>2,19-25</sup> Buna göre nöbetler jeneralize başlangıçlı, fokal başlangıçlı ve başlangıç nedeni belli olmayan nöbetler olarak ayrılmıştır (Şekil 2.2 ve 2.3). 2017 yılında yayınlanan ILAE sınıflaması, önceki sınıflandırmalarla karşılaştırıldığında, alternatif terimler kullanılarak daha önce sınıflandırılmayan nöbet ve epilepsi türlerinin sınıflandırmaya dahil edilmesine olanak sağlamıştır.<sup>3,24,25</sup>

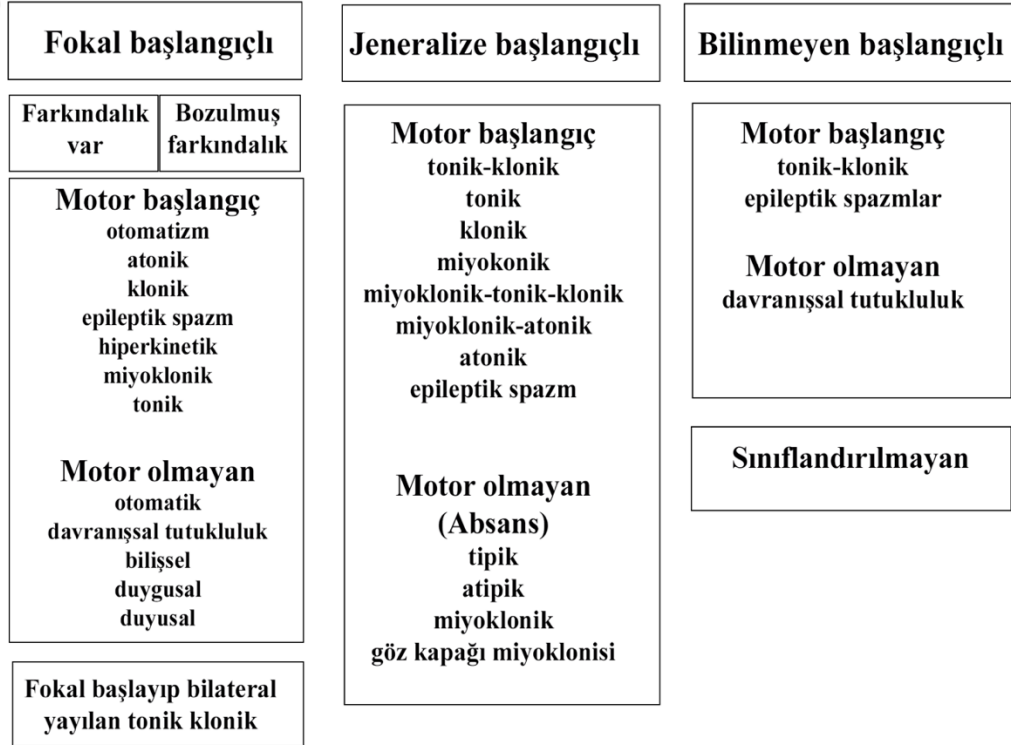
Yeni sınıflandırmada, sınıflandırmayı kullanan kişinin uzmanlığına göre hem temel hem de genişletilmiş bir sınıflama tanımlanmıştır (Şekil 2.2 ve 2.3). Temel versiyonun pratisyen hekimler, pediatristler, hemşireler ve sağlık çalışanları için daha faydalı olacağı, genişletilmiş versiyonun ise epileptologlar/nörofizyologlar ve araştırmacılara yardımcı olacağı beklenmektedir. Temel sınıflandırmada nöbetler, fokal, jeneralize ve bilinmeyen olarak ayrılmıştır. Eski sınıflandırmadaki 'parsiyel' terimi yerine 'fokal' kullanılmakla birlikte 'jeneralize' terimi değiştirilmemiştir.<sup>3,26,27</sup>

## 2017 ILAE Nöbet Tiplerinin Temel Sınıflandırması

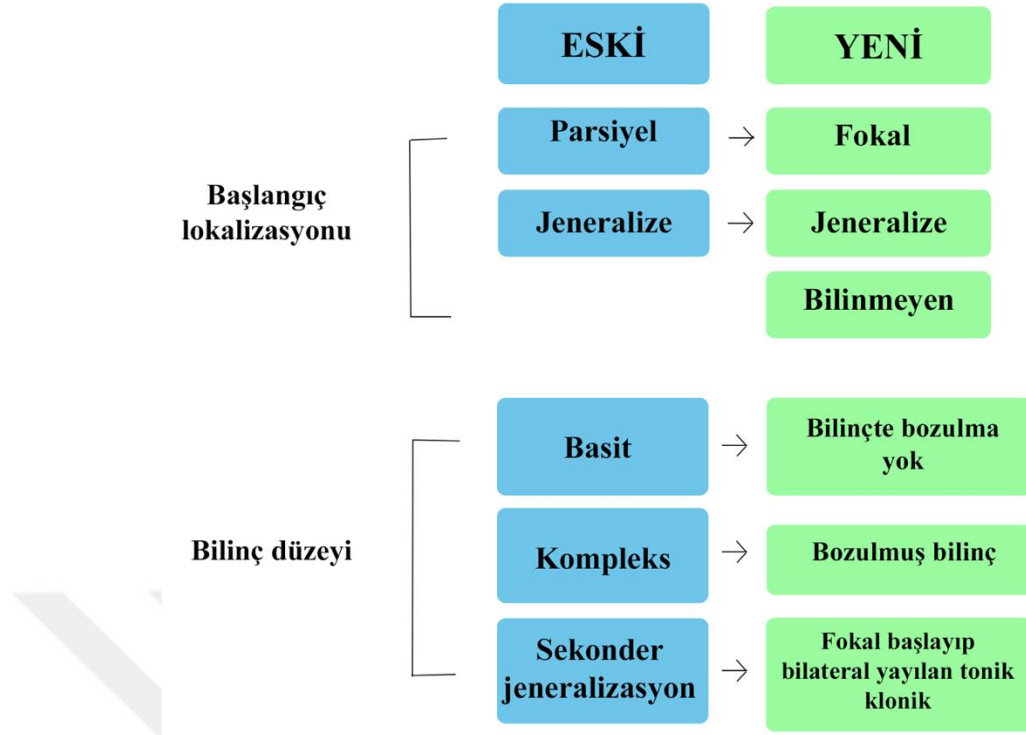


Şekil 2.2 2017 ILAE nöbet tiplerinin temel sınıflandırması<sup>3</sup>

## 2017 ILAE Nöbet Tiplerinin Genişletilmiş Sınıflandırması



Şekil 2.3 2017 ILAE nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırması<sup>3</sup>



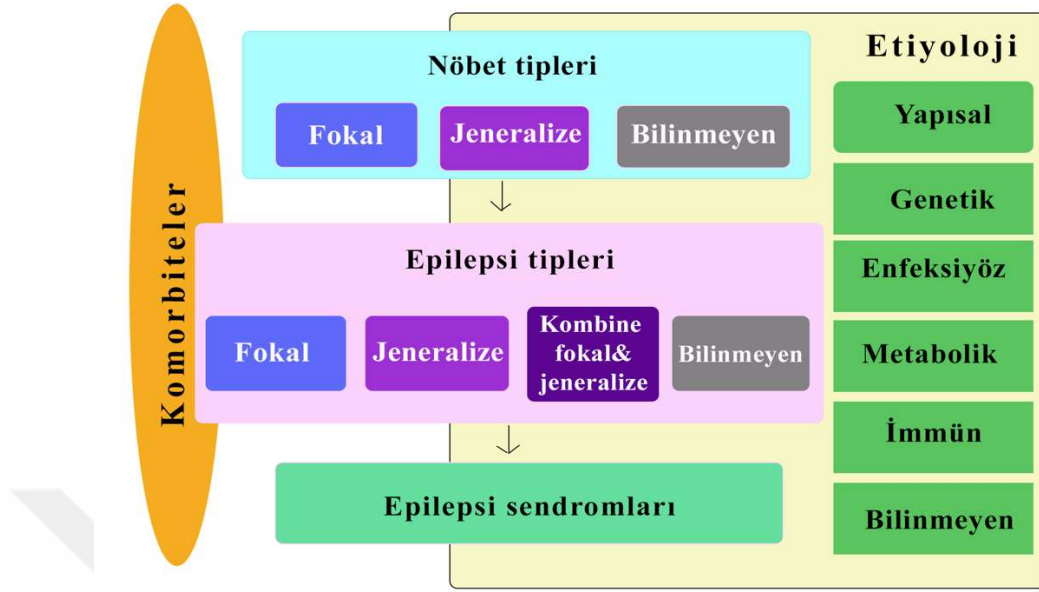
Şekil 2.4 1981 terminolojisi ile yeni 2017 terminolojisinin karşılaştırılması <sup>3,24</sup>

Beynin bir hemisferinin etkileyen fokal başlangıçlı nöbetler, epilepsi hastalarında en sık görülen nöbet türüdür. Fokal nöbetler opsiyonel olarak “korunmuş farkındalık” ve ‘bozulmuş farkındalık’ olarak sınıflandırılarak sırasıyla eski ‘basit parsiyel’ ve ‘kompleks parsiyel’ nöbet terimlerinin yerine kullanılmaktadır (Şekil 2.4). Farkındalık bilinmiyorsa, nöbet tipi sınıflandırılırken bu sınıflama düzeyi çıkarılmalıdır. Temel sınıflandırmada, bir fokal nöbet için farkındalık düzeyinin değerlendirilmesinden sonraki adım, başlangıcın “motor” veya “motor olmayan” olarak tanımlanmasını içermektedir. <sup>3,24</sup>

Jeneralize başlangıçlı nöbet, kliniğe ve EEG'deki bulgulara göre nöbetin başlangıcında her iki hemisferin de etkinleşmiş olmasıdır. Jeneralize nöbetleri sınıflandırırken farkındalık düzeyi atlanır, çünkü çoğu jeneralize nöbette farkındalık bozulmuştur. Nöbetlerin fokal başlayıp jeneralize devam eden nöbetler için kullanılan ‘sekonder jeneralize nöbet’ terimi artık ‘fokal başlangıçlı bilateral tonik-klonik nöbetler’ olarak adlandırılmaktadır. <sup>3,24</sup>

‘Bilinmeyen başlangıçlı nöbetler’ terimi, nöbet başlangıcının bilinmediği ancak diğer belirtilerin bilindiği durumlarda kullanılmaktadır (Şekil 2.5). Nöbet başlangıcının bilinmesi çok önemlidir ve başlangıcına tanık olunmayan ve ardından tonik-klonik aktiviteye sahip bir nöbet “başlangıçlı bilinmeyen bilateral tonik-klonik nöbet” olarak tanımlanmalıdır. <sup>3</sup>

## 2017 ILAE Epilepsi Sınıflandırması

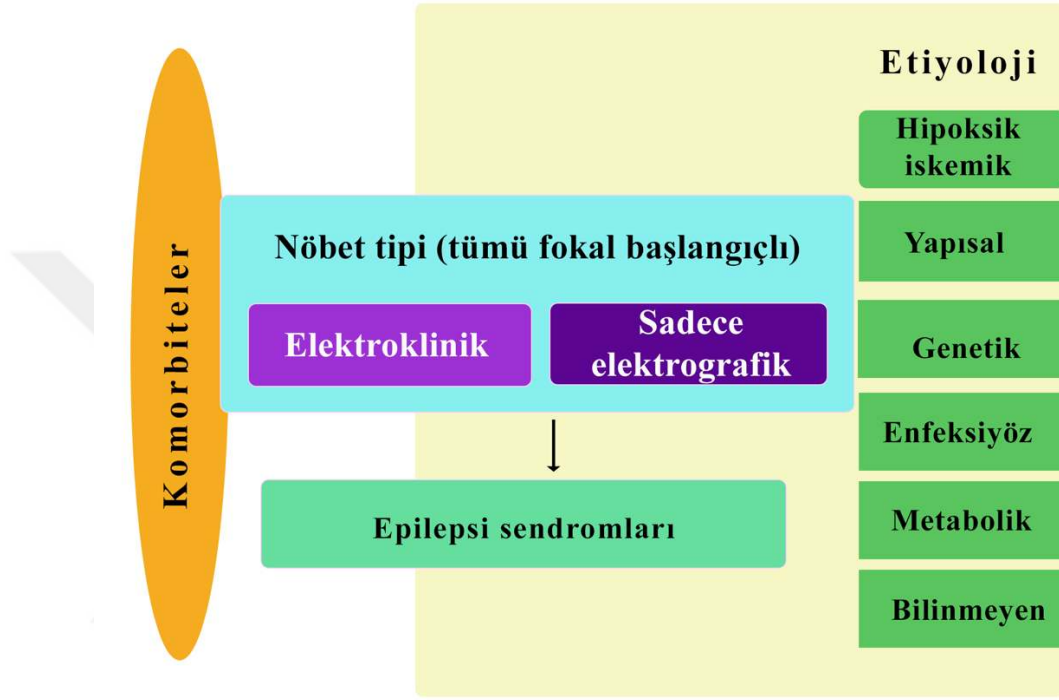


Şekil2.5 2017 ILAE epilepsi sınıflaması<sup>3</sup>

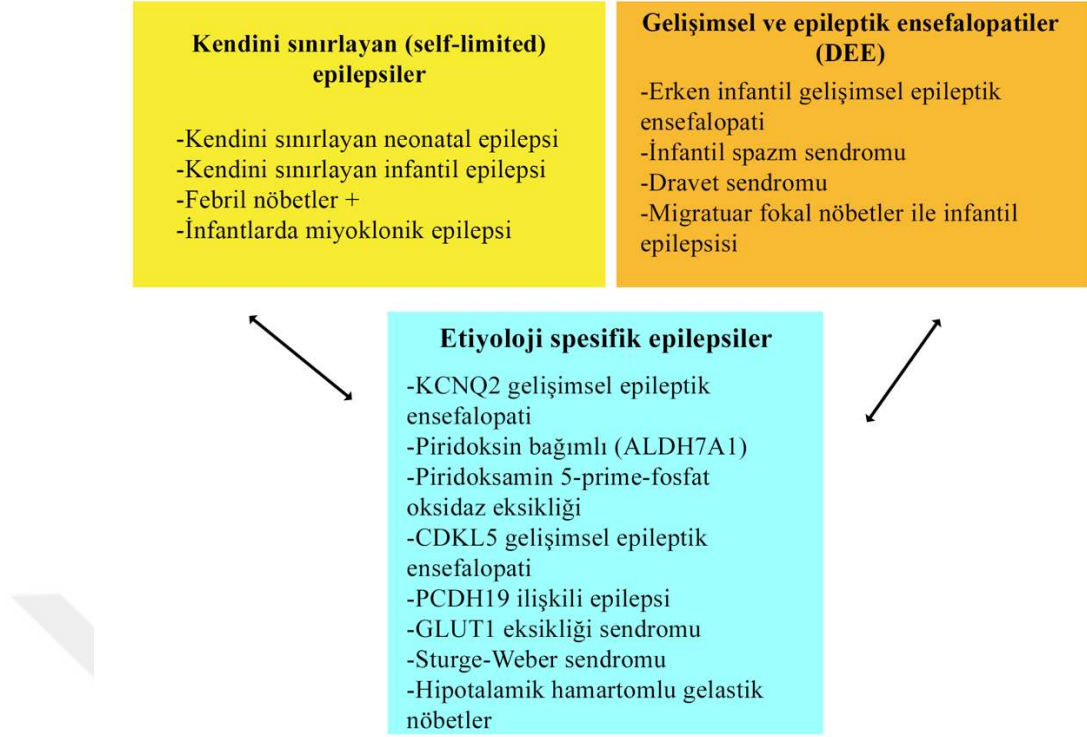
Nöbet tipi sınıflandırıldıktan sonra, mümkünse hastanın epilepsi tipi ve epilepsi sendromu belirlenmelidir.<sup>24</sup> Epilepsi tipleri, fokal, jeneralize, kombine fokal & jeneralize ve bilinmeyen olarak sınıflandırılmıştır. Epilepsi sendromları, nöbet tipleri, EEG bulguları, görüntüleme bulguları, yaşa bağlı özellikler, nöbet tetikleyiciler ve prognoz gibi birlikte ortaya çıkan özellik kümelerini ifade eder. Epilepsi sendromları, ILAE tarafından neonatal ve infant dönem (0-2 yaş), çocukluk dönemi (2-12 yaş), değişken yaşlarda başlangıçlı epilepsi sendromları ve idiyopatik jeneralize epilepsi sendromu olmak üzere 4 kategoride sınıflandırılmıştır (<https://www.ilae.org/guidelines>).<sup>28</sup> Neonatal ve infant dönemde başlayan nöbetler kendini sınırlayan epilepsiler ve gelişimsel epileptik ensefalopatiler olarak ayrılmıştır (Şekil 2.7). Bu yaş grubunda epilepsi insidansı yüksektir ve sıklıkla önemli komorbiditeler ve mortalite ile ilişkilidir. İki yaşın altında başlayan kendi kendini sınırlayan epilepsi sendromlarının nöbet geçirme eğilimi yaşla sınırlıdır ve nöbetler tipik olarak ilaca yanıtıdır. Gelişimsel ve epileptik ensefalopati kavramı şiddetli erken başlangıçlı epilepsi ve nörogelişimsel bozuklukları tanımlamak için kullanılmaktadır.<sup>28</sup>

2017 ILAE sınıflandırması, hem yetişkinlerde hem de çocuklardaki nöbetler için geçerlidir fakat yenidoğan nöbetleri, çoğu zaman akut bir nedenle tetiklenen nöbetlerdir ve sadece elektrografik olabildiği için esas olarak daha büyük çocuklar ve yetişkinler için geliştirilen sınıflandırma şemalarına uymayabilir. Bu nedenle 2017 ILAE sınıflamaları

doğrultusunda yenidoğan dönemindeki nöbetler için yeni bir sınıflandırma yapılmıştır (Şekil 2.6).<sup>29</sup> Bu sınıflamada bu yaş grubundaki nöbetlerin teşhisinde EEG'nin önemi vurgulanarak EEG korelasyonu olmayan klinik olaylar sınıflandırmaya dahil edilmemiştir. Yenidoğan dönemindeki nöbetlerin fokal başlangıçlı olduğu gösterilmiş olduğundan, fokal ve jeneralize olarak sınıflandırılmamıştır (Şekil 2.6).<sup>29</sup>



Şekil 2.6 Neonatal epilepsilerin sınıflandırılması ve etiyolojisi<sup>29</sup>



Şekil 2.7 Neonatal ve infant dönem epilepsi sendromları (<https://www.ilae.org/guidelines>)

Çocuklukta başlayan epilepsi sendromları, kendini sınırlayan fokal epilepsi sendromları, genetik jeneralize epilepsiler ve hem fokal hem de jeneralize nöbetleri olan gelişimsel epileptik ensefalopatiler olmak üzere üç ana gruba ayrılabilir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2 Çocukluk dönemi epilepsi sendromları (<https://www.ilae.org/guidelines>)

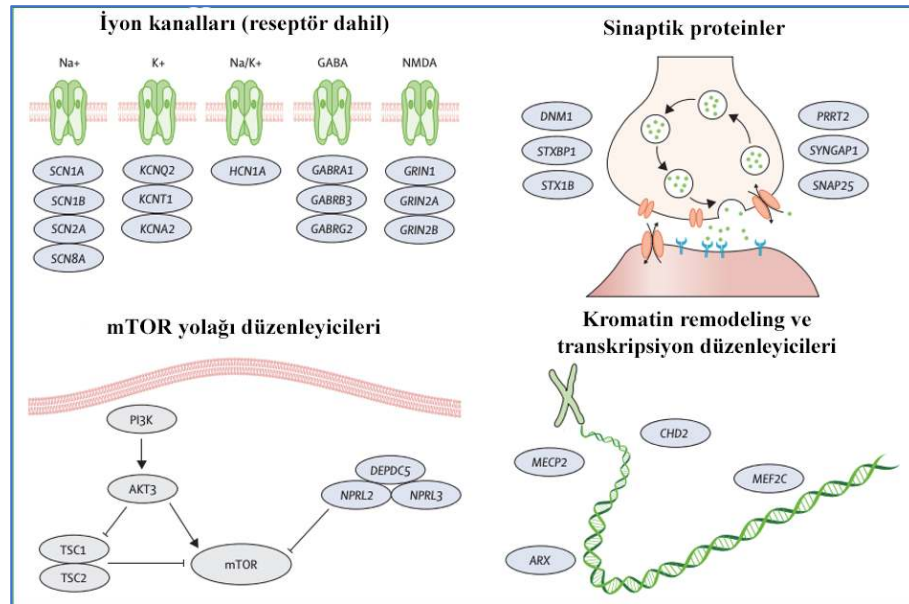
| KENDİNİ SINIRLAYAN FOKAL EPİLEPSİLER                 | GENETİK JENERALİZE EPİLEPSİLER   | GELİŞİMSEL EPİLEPTİK ENSEFALOPATİLER                                   |
|------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Sentrotemporal spike ile kendini sınırlayan epilepsi | Miyoklonik-atonik epilepsi       | Lennox-Gastaut sendromu                                                |
| Otonomik nöbetlerle kendini sınırlayan epilepsi      | Çocukluk çağı absans epilepsi    | Uykuda spike-wave aktivasyonu ile gelişimsel epileptik ensefalopatiler |
| Çocukluk çağı oksipital görsel epilepsi              | Göz kapağı miyoklonik epilepsisi | Febril enfeksiyon ilişkili epilepsi sendromu                           |
| Fotosensitif oksipital lob epilepsisi                | Miyoklonik absans epilepsi       | Hemikonvülsiyon-Hemipleji Epilepsi                                     |

Nöbet ve epilepsi tiplerini sınıflandırmak klinisyenler, araştırmacılar, hastalar ve aileleri için son derece önemlidir. Araştırma açısından bakıldığında, bu sınıflandırmalar, farklı tipte nöbetler ve epilepsi için medikal veya cerrahi tedavilerin ve tedaviye yanıtların araştırılmasını sağlar.

### 2.1.4 Epilepsi Patofizyolojisi

Epilepsi patofizyolojisini araştıran çalışmalarda insan epilepsini taklit eden çeşitli hayvan modelleri kullanılmıştır. Bu çalışmalarda nöbetin temel mekanizmasının kortikal nöronlardaki uyarılma ve inhibisyon arasındaki dengesizlik olduğu gösterilmiştir. Eksitasyon/inhibisyon dengesizliği, genler ve hücreler arası sinyalleşme basamaklarından yaygın nöronal devrelere kadar birçok beyin fonksiyonu seviyesindeki bir değişiklikten kaynaklanabilir. Bu dengesizlik, normal bir nöronal ağı, aşırı uyarılabilir bir ağa dönüştüren olaylar dizisinin meydana gelmesine neden olur.<sup>7</sup>

Nöronal aktivitenin kompleksliği, bir veya daha fazla hücresel bölgedeki elektriksel aktivasyon seviyesini kontrol eden çeşitli mekanizmalardan kaynaklanmaktadır. Voltaj ve ligand kapılı kanalların tipi, sayısı ve dağılımı, ikinci haberci sistemlerinin aktivasyonu, hücre dışı iyon konsantrasyonundaki değişiklikler, sinaptik bağlantıların yeniden şekillenmesi, kromatin düzenlemeler, sinyal iletim yolları ve glial hücreler tarafından nörotransmitter metabolizmasının modüle edilmesi gibi durumların da nöron uyarılabilirliğini etkileyen faktörler olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.8).<sup>30,31</sup>



Şekil 2.8 Epilepside rol oynayan hücresel fonksiyonlar ve yollar<sup>31</sup>

Epilepsi genel olarak anormal nöronal uyarılabilirlik ile karakterizedir. Glutamat, yetişkin memeli beyinde baskın uyarıcı nörotransmitterdir ve çok sayıda reaksiyonun normal yürütülmesi için kritik öneme sahiptir. Glutamatın uyarıcı etkilerine çeşitli iyonotropik ve metabotropik reseptör alt sınıfları aracılığıyla aracılık eder. Postsinaptik iyonotropik glutamat reseptörleri arasında a-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit (AMPA) reseptörleri hızlı uyarıcı nörotransmisyon için kritikken, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri, bilgi işleme için gerekli olan yavaş postsinaptik uyarıcı potansiyellerin çoğuna aracılık eder. Bu reseptörlere ek olarak presinaptik ve postsinaptik metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR'ler) de epilepsi ile ilişkilendirilmiştir.<sup>32,33</sup> Epilepside, iyonotrofik ve metabotropik reseptörlerin disfonksiyonu, astrositik glutamat taşıyıcılarının anormal ekspresyonu, nöronal veya astrositik enzimlerin fonksiyon bozukluğu olabilir.<sup>34</sup> NMDA ve AMPA reseptörlerinin mutasyonları nöronal yeniden düzenleme ile epileptik sürece katkıda bulunmaktadır.<sup>33,34</sup> Glutamaterjik düzensizlik sinapslarda glutamatın birikmesine neden olabilir ve glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu, eksitotoksikite ve nihayetinde hücre ölümü ile sonuçlanarak epilepsiye neden olabilir.<sup>34,35</sup> Ek olarak, inhibitör Gama aminobütirik asit (GABA) düzeylerinde bir azalma da nöbet riskini artıracaktır.<sup>36</sup> GABA ve glutamatın hem sentez hem de işlevlerindeki birbirine bağıllığı, bu iki nörotransmitter arasındaki dengenin epilepsi gelişimindeki önemini göstermektedir.<sup>32</sup>

Beyinde eksitasyon/ inhibisyon dengesini değiştiren faktörler genetik veya kazanılmış olabilir. Epilepsiye yol açan genetik patolojiler, anormal sinaptik bağlantıların görüldüğü kortikal displazideki gibi nöronal devre düzeyinde, anormal GABA reseptör alt birimlerinin olduğu Angelman sendromundaki gibi reseptör düzeyinde ve potasyum kanal mutasyonlarının neden olduğu benign ailesel yenidoğan epilepsisindeki gibi iyon kanalı düzeyinde olabilir. Benzer şekilde kazanılmış serebral hasarlar da nöronal devre işlevini değiştirebilir. Örneğin, uzun süreli ateşli nöbetler veya kafa travması sonrasında hipokampal devrede yapısal değişiklik meydana gelebilir.<sup>30</sup>

### **2.1.5 Epilepsi Tanısı**

Epilepsinin standart tanısı öyküye, fiziksel ve nörolojik muayeneye, biyokimyasal testler ve enzim analizlerine, EEG ve nörogörüntüleme bulgularına bağlıdır. Klinik öykü, nöbet öncesini, son 24 saatteki nöbet sayısını, nöbetin başlangıcını, uzunluğunu ve tanımlanmasını, bilinç düzeyini, fokal yönlerini ve postiktal dönemi içermelidir. Nöbeti provoke edebilecek hipoglisemi, hiperglisemi, ateş, elektrolit bozuklukları, kafa

travması, menenjit ve ensefalit gibi durumlara dikkat edilmelidir. Hastanın özgeçmişi, geçirdiği hastalıklar, kullandığı ilaçlar ve aile öyküsü sorgulanmalıdır. Biyokimyasal testler, tam kan sayımı, serum elektrolitleri, kan glukoz seviyesi, kreatinin kinazı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testlerini içermelidir.<sup>37</sup>

Nörogörüntüleme teknolojisindeki ilerlemeler, epilepsiye neden olabilecek anormal beyin yapılarının tespit edilmesini sağlamış ve epilepsili hastaların değerlendirilmesinde, hastalığın prognozunda, yönetiminde ve özellikle cerrahi tedavi düşünüldüğünde giderek daha fazla önem kazanmıştır. Magnetik rezonans görüntüleme (MRI), patolojinin daha iyi anatomik tanımlanması ve karakterizasyonu nedeniyle epileptik hastalarda tercih edilen görüntüleme yöntemidir. İlk provoke edilmemiş nöbet meydana geldiğinde veya epilepsi tanısı doğrulandığında beyin MRI önerilmektedir. Pediatrik epilepside hastalarda yapısal lezyon yoksa, devam eden miyelinasyon nedeniyle MRI'ın tekrarlanması gerekmektedir.<sup>38,39</sup>

Epilepsili çocukların beyin MRI ile değerlendirildiği bir çalışmada hastaların yaklaşık üçte birinde görüntülemelerde anormal bulgular saptanmıştır. Bu çalışmada en sık görülen bulgular, kronik enfarktlara bağlı ensefalomalazi, serebral atrofi, nöronal migrasyon bozuklukları (fokal kortikal displazi, pakigiri, lisensefali ve subkortikal heterotopi), periventriküler lökomalazi ve hipokampal skleroz olarak tanımlanmıştır.<sup>40</sup> Ayrıca epilepsi hastalarının beyin ölçümlerinin değerlendirildiği bir çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, tüm epilepsi gruplarında sağ talamusta daha düşük hacim ve bilateral olarak presantral girusta daha düşük kalınlık saptandığı bildirilmiştir.<sup>41</sup>

Epilepsi tanısında kullanılan gelişmiş nörogörüntüleme tekniklerinden tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi ve florodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi (FDG-PET) beyin metabolizması ve kan perfüzyonu yoluyla epileptojenik alanların serebral fonksiyonel değişiklikleri hakkında bilgi sağlar. PET, özellikle epilepsi cerrahisi düşünülen hastalarda epileptojenik odağın tespiti amacıyla klinik çalışmalarda kullanılmaktadır.<sup>38</sup>

EEG çocuklarda ve yetişkinlerde epileptojenik korteksi tanımlamanın spesifik bir yöntemidir. Başlangıçta, epilepsili hastaların %12-50'sinde EEG normal olabileceğini gösterilmekle birlikte tekrarlanan EEG ile tanısal verimi artmaktadır.<sup>42,43</sup> Standart EEG ile nöbet ayrımı yapılamayan ve tanı konulamayan hastalarda, uzun dönem video EEG monitörizasyonu yapılması önerilmektedir.<sup>43</sup> Bazı karakteristik EEG paternleri epilepsi sendromları ile ilişkilendirilmiştir (Tablo 2.3). Böylece EEG, epilepside tedavi seçimi ve

prognozunun değerlendirilmesi için önemli olan bazı epilepsi sendromlarının tanımlanmasına yardımcı olmaktadır.<sup>42</sup>

Tablo 2.3 Bazı karakteristik EEG paternleriyle epilepsi sendromları ilişkisi.<sup>42</sup>

| EEG paterni                                                          | Epilepsi sendromu            |
|----------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| Anterior temporal spike (diken)                                      | Mezial temporal lob epilepsi |
| Jeneralize 3 Hz diken-dalga kompleksi                                | Absans epilepsi              |
| >4 Hz diken-dalga komplekleri,<br>jeneralize multidiken (polispikes) | Juvenil miyoklonik epilepsi  |
| Jeneralize yavaş diken-dalga kompleksi                               | Lennox-Gastaut sendromu      |
| Bölgesel (ekstratemporal) multidiken                                 | Fokal kortikal displazi      |
| Hipsaritmi                                                           | West sendromu                |
| Burst supresyon                                                      | Ohtahara sendromu            |
| Jeneralize diken-dalga ve multifokal<br>diken-dalga değişiklikleri   | Dravet sendromu              |

#### 2.1.5.1 Genetik tanı yöntemleri

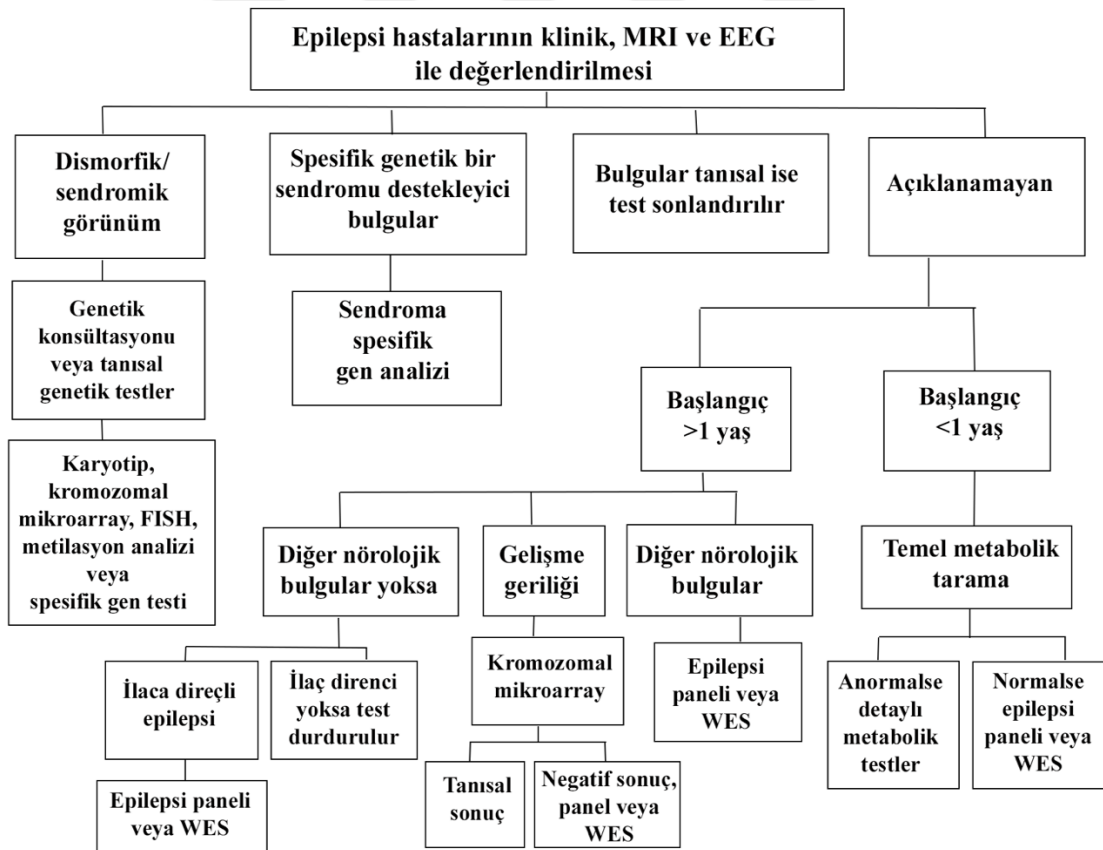
Genetik teknolojisindeki gelişmeler, aday gen çalışmaları ve bağlantı analizlerinin yapılması epilepsiyle ilişkili birçok genin keşfedilmesine olanak sağlamıştır. Ayrıca yeni genlerin tanımlanması sayesinde epilepsi patogeneziyle ilgili yeni yollar da keşfedilmiştir. Altta yatan genetik nedenin bilinmesi, gereksiz invaziv tanı testlerinin elimine edilmesi, sonraki gebeliklerde tekrar riskinin belirlenerek genetik danışmanlık verilebilmesi ve hedefe yönelik tedavilerin verilmesi veya değiştirilmesi açısından önemlidir.

Epilepsi hastalarında fenotipin spesifik olmaması ve genetik heterojenite göstermesi nedeniyle genetik tanı için hangi moleküler genetik kullanılacağına karar vermek zor olmaktadır. Bu yüzden son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda epilepsi hastalarının tanısı için kromozom analizi, kromozomal mikroarray (CMA), multipleks ligasyona bağlı prob amplifikasyonu (MLPA), floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve yeni nesil dizileme (NGS) gibi genetik testlerinin kullanılması için çeşitli algoritmalar geliştirilmiştir (Şekil 2.9).<sup>4,44</sup>

Epilepsi ve gelişim geriliği, zihinsel yetersizlik ve/veya dismorfik özellikleri olan hastalarda ilk tercih genetik test çoğu durumda CMA'dır. Yapılan bir çalışmada generalize epilepsi ve entellüktüel yetersizliği olan hastaların %28'inde patojenik kopya

numarası varyasyonları (CNV) tespit edildiği bildirilmiştir.<sup>45</sup> Bununla birlikte, tüm epilepsiler söz konusu olduğunda CMA'nın tanı verimi çok daha düşüktür. Epileptik ensefalopati, fokal veya jeneralize epilepsi olup olmadığına bakılmasının epilepsi hastalarının yaklaşık %5'ine tanı koyduğu gösterilmiştir.<sup>46-48</sup> CMA kullanılmasının artması nedeniyle konvansiyonel karyotiplemenin epilepsi tanısında kullanımı azalmasına rağmen, ring kromozom 20, Wolf Hirschhorn sendromu, Pallister Killian sendromu ve mozaik ring kromozom 18 gibi kromozomal bozuklukların da epilepsiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>4</sup>

Hastanın klinik bulgularının belirli bir epilepsi sendromuna işaret ettiği durumda spesifik tek gen analizi çalışmak uygun olabilir. Ayrıca klinik ve genetik heterojenite içeren durumlar için gen panelleri, tüm ekzom dizileme (WES) ve tüm genom dizileme (WGS) çalışılması önerilmektedir.<sup>4</sup> CMA, WES ve panel testlerinin etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda trio-WES'in daha yüksek tanı oranı olduğunu gösterilmiştir.<sup>49,50</sup>



Şekil 2.9 Epilepsili hastalarda genetik test algoritması.<sup>44</sup>

## 2.1.6 Epilepsi Tedavisi

Epilepside temel tedavi antiepileptik ilaç (AEİ) tedavisi olmasına rağmen son zamanlarda vagal sinir simülasyonu (VNS), implante edilebilir beyin nörostimülatörleri, ketojenik diyet veya modifiye Akins diyeti, nöbet odağının cerrahi rezeksiyonu ve genetik olarak hedefe yönelik tedaviler olmak üzere yeni gelişmeler bildirilmiştir.<sup>51-54</sup>

### 2.1.6.1 Antiepileptik İlaç Tedavisi

Epilepsi tanısı doğrulandıktan sonra çoğu hasta antiepileptik ilaçlar ile tedavi edilir. AEİ tedavisi, genellikle 24 saatten fazla arayla meydana gelen iki provoke edilmemiş nöbetten sonra başlanır. Çünkü ikinci nöbetten sonra nöbetlerin üç ayda %32, bir yılda %57, dört yılda %73 ile yüksek tekrarlama riski vardır.<sup>55</sup> Anormal EEG sonuçları, nöbetlere yatkınlık yaratan bir sendromun varlığı, ciddi kafa travması veya serebral palsi gibi risk faktörlerinin yokluğunda, tedaviyi ikinci nöbete kadar geciktirmenin bir ile iki yıllık remisyon oranlarını etkilemediği gösterilmiştir.<sup>55,56</sup>

Epilepsi tedavisine hastanın yaşı, cinsiyeti, nöbet tipi, komorbiditeler, çocuk doğurma potansiyeli ve ilaçların yan etkileri ile etkileşim profilleri göz önünde bulundurularak uygun monoterapi ile başlamalıdır (Tablo 2.4).<sup>56,57</sup> Nöbetler tipik olarak fokal başlangıçlı ve jeneralize başlangıçlı olarak sınıflandırıldığından ilaç seçimi de bu sınıflandırmaya göre değişmektedir. Doğru sınıflandırma yapılmadan ilaç başlanması, bazı ilaçların (karbamazepin, gabapentin, okskarbazepin, fenitoin, pregabalın, tiagabin ve vigabatrin gibi) absans ve miyoklonik nöbetleri şiddetlendirdiği gibi, klinik tablonun kötüleşmesine neden olabilir.<sup>57</sup>

Epilepsili hastaların %50'si ilk monoterapiye yanıt verirken, yaklaşık %30'u AEİ tedavisine dirençli olduğu bildirilmiştir.<sup>58</sup> İlaça dirençli (veya refrakter) epilepsi kavramı, tam nöbet kontrolünü sürdürmek için tolere edilen, uygun şekilde seçilen ve kullanılan iki AEİ programının (ister monoterapi olarak ister kombinasyon halinde) başarısızlığını tanımlamaktadır.<sup>59</sup> İlaça dirençli epilepsili veya kompleks epilepsi sendromu olan (West sendromu, Dravet sendromu, tüberoskleroz kompleksi gibi) hastaların erken tanımlanması, hastaların nöbet kontrolünü sağlama şanslarını artırmak, nörobilişsel gelişimin bozulmasını ve çocuklarda geri dönüşü olmayan psikolojik ve sosyal sorunları önlemek için çok önemlidir.<sup>60</sup>

Antiepileptik ilaçların yan etkisi %7 ila %31 arasında değişmektedir.<sup>55</sup> AEİ'lerin sık görülen yan etkileri arasında baş dönmesi, uyuşukluk, yorgunluk, baş ağrısı ve gastrointestinal rahatsızlıklar yer alır.<sup>53,61</sup> Bazı AEİ'lerin uzun süreli kullanımı azalmış

kemik mineral yoğunluğu ve osteoporoz ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, uzun süreli AED kullanımı ile osteoporoz riskini en aza indirmek için diyet ve yaşam tarzı tavsiyelerinin yanı sıra kemik dansitometrisi ve diğer kemik metabolizma testleri tavsiye edilmektedir.<sup>57</sup>

Bazı AEİ'lerin teratojenik etki gösterdiği bilinmekle birlikte, tüm AEİ'ler arasında, prenatal valproat maruziyeti, majör konjenital malformasyonlar, gecikmiş bilişsel beceriler ve nörogelişimsel gelişim bozukluğu açısından en yüksek risk ile ilişkilendirilmiştir. Hamile ve potansiyel doğurgan kadınlarda, majör konjenital malformasyon görülme riski en düşük olduğundan ilk tercih AEİ tedavisi lamotrijin ve levetirasetamdır.<sup>62</sup>

Birçok epilepsi hastasının yaşam boyu tedavi gerektirdiği, birden fazla AEİ aldığı ve epilepsi ile ilgili olan veya olmayan hastalıklar için başka ilaçlar kullanabileceği göz önüne alındığında AEİ'leri seçerken farmakokinetik etkileşim riskini en aza indirmek önemlidir. Farmakokinetik etkileşimler, AEİ ve diğer ilaçların absorpsiyonu, taşınmasını, dağılımını, metabolizmasını ve eliminasyonu etkileyerek plazma konsantrasyonlarını değiştirebilir. Bu durum ilacın etkisinin veya tolere edilebilirliğinin azalmasına neden olabilir. Yapılan çalışmalarda bazı yeni AEİ'nin (özellikle brivarasetam, lakozamid, gabapentin ve levetirasetam) karaciğer enzimlerini indüklemedikleri veya inhibe etmedikleri için daha düşük etkileşim eğilimine sahip olduğu bildirilmiştir.<sup>57</sup>

AEİ tedavisinin başarısı, nöbet tipinin doğru belirlenmesi, uyumlu dozda ve uygun ilaç seçimi, EEG bulgularından ziyade hastanın semptomlarının tedavi edilerek, yaşam kalitesinin artırılması ve morbidite ile mortalitenin azaltılmasıdır.<sup>56</sup>

Tablo 2.4 Yetişkinlerde ve çocuklarda nöbetler için başlangıç monoterapisi ve ek tedavi için öneriler<sup>57</sup>

| Nöbet tipi                                                            | 1.tercih monoterapi                                                                                      | İlk tercihe alternatif monoterapi                                       | Ek tedavi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Fokal başlangıçlı nöbetler</b>                                     | Karbamazepin<br>Lamotrijin ( $\geq 12y$ )<br>Levetirasetam ( $\geq 16y$ )<br>Okskarbazepin ( $\geq 6y$ ) | Topiramat ( $\geq 6y$ )<br>Valproat                                     | Brivarasetam ( $\geq 4 y$ )<br>Karbamazepin<br>Gabapentin ( $\geq 6 y$ )<br>Lakosamid ( $\geq 4 y$ )<br>Lamotrijin ( $\geq 2 y$ )<br>Levetirasetam ( $\geq 1 ay$ )<br>Okskarbazepin ( $\geq 6 y$ )<br>Perampanel ( $\geq 12 y$ )<br>Pregabalin ( $\geq 18 y$ )<br>Tiagabin ( $\geq 12 y$ )<br>Topiramat ( $\geq 2 y$ )<br>Valproat |
| <b>Jeneralize başlangıçlı tonik klonik nöbetler (tonik ve atonik)</b> | Valproat                                                                                                 | Karbamazepine<br>Lamotrijin ( $\geq 12 y$ )<br>Topiramat ( $\geq 6 y$ ) | Karbamazepin<br>Lamotrijin ( $\geq 2y$ )<br>Levetirasetam ( $\geq 12 y$ )<br>Topiramat ( $\geq 2y$ )<br>Valproat                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Absans nöbetler</b>                                                | Etosuksimid ( $\geq 3y$ )<br>Valproat                                                                    | Lamotrijin ( $\geq 2y$ )                                                | Etosuksimid ( $\geq 3y$ )<br>Lamotrijin ( $\geq 2y$ )<br>Valproat                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Miyoklonik nöbetler</b>                                            | Valproat                                                                                                 |                                                                         | Levetirasetam ( $\geq 12 y$ ;<br>juvenil miyoklonik<br>epilepside)<br>Valproat                                                                                                                                                                                                                                                     |

Kısaltma: y: yaş

### 2.1.6.2 Cerrahi Tedavi

AEİ'lere dirençli hastalarda nöbet odağının cerrahi rezeksiyonu, lobektomi ve korpus kallostomi gibi cerrahi yöntemler kullanılmaktadır.<sup>56</sup> Yakın zamanda yapılan sistematik bir incelemede, rezektif epilepsi cerrahisinden sonra, epilepside nöbet sıklığının azaldığı gösterilmiştir.<sup>63</sup>

Lobektomi genellikle temporal veya frontal lobların büyük kısmını kapsayan beyindeki bir lobun çıkarılmasıdır. Korpus kallostomi ise birden fazla epileptik odağı olan veya odak saptanamayan hastalara uygulanan iki serebral hemisferin bağlantısının kesilerek nöbetlerin şiddetini ve sıklığını azaltan ilaca dirençli epilepsi için palyatif bir

cerrahidir. Yapılan bir meta-analizde korpus kallostomi sonrası düşme ataklarının %55,3 azaldığı ve tam nöbet kontrolünün %18 olduğu bildirilmiştir.<sup>64</sup>

Cerrahiden sonra rezeksiyon bölgesine bağlı olarak bilişsel bozukluklar yaygındır. Örneğin sol temporal lob rezeksiyonu sözel hafıza kusurları (%44) ve isimlendirme bozukluğu (%34) ile ilişkiliyken, sağ temporal lob rezeksiyonundan sonra sözel bellek bozuklukları (%20) yaygındır. Epilepsi cerrahisinde bilişsel bozuklukların yanısıra, nörolojik defisitler (%5), tıbbi komplikasyonlar, beyin omurilik sıvısı kaçağı (%8,5), aseptik menenjit (%3,6) ve serebral olmayan bakteriyel enfeksiyonlar (%3) gibi yan etkiler görüldüğü rapor edilmiştir.<sup>63</sup>

### **2.1.6.3 Vagal Sinir Stimülasyonu (VNS)**

VNS, rezektif cerrahi için aday olmayan veya cerrahisi başarısız olarak kabul edilen refrakter epilepsili hastalarda kullanılabilen etkili ve nispeten güvenli bir yardımcı tedavidir. 12 yaşından büyük fokal epilepsili hastalar için Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmıştır.<sup>54</sup> VNS'nin nöbetleri düzenlediği mekanizma kesin olarak bilinmemekle birlikte, yetişkinlerde ve çocuklarda nöbet sıklığını azalttığı ve diğer AEİ'lerden farklı olarak hafif ve çoğunlukla geçici stimülasyonla ilişkili yan etkiler gösterdiği rapor edilmiştir.<sup>51</sup> Bununla birlikte, klinik çalışmalarda bildirilen faydadaki değişkenlik nedeniyle, VNS'nin epilepsideki kullanımına ilişkin tartışmalar devam etmektedir. VNS uygulanan 74 klinik çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde, nöbet sıklığı tedaviden sonra 3-12 ay arası %36 ve tedaviden 1 yıl sonra %51 ile ortalama %45 azalırken, hastaların dörtte birinin tedaviden herhangi bir fayda görmediğini ve tam nöbet kontrolünün nadiren elde edildiğini belirtilmiştir.<sup>65</sup> Yakın zamanda yapılan sistemik bir analizde yüksek frekanslı VNS'nin, ilaca dirençli epilepsili hastalarda kontrole kıyasla nöbet sıklığında azalma ve tedavi yanıtında iyileşme sağladığı gösterilmiştir.<sup>66</sup>

### **2.1.6.4 Ketojenik Diyet**

Oruç tutmanın hastalıkların tedavisindeki rolü insanlık tarafından binlerce yıldır bilinmektedir. Hipokrat, oruç tutmanın nöbet sıklığını azaltabileceğini belirtmiştir. 1910'da Hugh Conklin, oruç tutmayı epilepsiyi kontrol etmek için bir tedavi yöntemi olarak tanıtmıştır. Epilepsi tedavisinde "Ketojenik diyet (KD)" kavramı ilk kez Russel Wilder tarafından 1921'de kullanılmıştır. Yüksek yağlı, düşük karbonhidrat ve protein oranlı ketojenik diyet, orucun fizyolojik etkilerini taklit ederek vücudun enerji kaynağını glikozdan ketonlara kaydırarak keton oluşumunu indükler. Yağ asitlerinin

oksidasyonu ile oluşan ketonların kan beyin bariyerini geçerek beyindeki enerji dengesindeki rolüyle nöronal uyarılabilirliği etkilediği öne sürülmektedir.<sup>52,67</sup>

Ketojenik diyet tedavisi, çeşitli epilepsi türlerinde kullanılan farmakolojik olmayan bir tedavidir. Klasik KD, orta zincirli trigliserit diyeti (MCT), modifiye Atkins diyeti (MAD), ve düşük glisemik indeks tedavisi (LGIT) olmak üzere 4 tane majör ketojenik diyet tedavisi vardır. Çeşitli diyet türlerini karşılaştıran az sayıda çalışma olmasına rağmen, yakın tarihli bir randomize çalışmada, 158 çocukta medyan nöbet azalmasının klasik KD'de %66, MAD'de %45 ve LGIT'de %54 olduğunu bildirilmiştir.<sup>52</sup>

Ketojenik diyet ve epilepsi ile ilgili çeşitler çalışmaları yapılmasına rağmen, ketojenik diyetin nöbete etkisinin araştırıldığı ilk randomize kontrollü klinik araştırma 2008'de dirençli epilepsi kliniği olan 103 çocukta (54 çocuk KD ve 49 çocuk kontrol grubu) Neal ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada ketojenik diyetin nöbet sıklığına etkisi diyetten 3 ay sonra karşılaştırılmış ve diyet grubundaki 28 çocukta (%38), kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %50'den fazla ve diyet grubundaki beş çocukta (%7) nöbet sıklığında %90'dan fazla azalma olduğu saptanmıştır.<sup>68</sup> Çalışmada semptomatik jeneralize veya fokal sendromlar arasında tedavinin etkinliği açısından anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte 3. ayda ketojenik diyet ile ilgili en sık yan etkiler kabızlık, kusma, enerji eksikliği ve açlık olarak rapor edilmiştir.

Ketojenik diyetin çocuklarda başarısız iki antiepileptik ilaç tedavisinden sonra ve özellikle diyetle %50 den daha fazla yanıt veren Glukoz transporter 1 (GLUT1) eksikliği, miyoklonik-atonik nöbetler (Doose sendromu), piruvat dehidrojenaz eksikliği (PDHD), infantil spazmlar, Dravet sendromu, tuberoz skleroz kompleksi ve Ohtahara sendromu gibi bazı epilepsi sendromlarında kullanılması önerilmektedir (Tablo 2.5).<sup>67</sup> Yapılan çalışmalarda juvenil miyoklonik epilepsi, arjinosüksinat liyaz eksikliği, Landau-Kleffner sendromu, fosfofruktokinaz eksikliği, Rett sendromu, Lennox-Gastaut sendromu gibi sendromlarda da ketojenik diyetin etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>57</sup>

Ko ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, epileptik ensefalopati paneline alınmış (73 patojenik mutasyonu olan, 82 patojenik mutasyonu olmayan) 155 hasta retrospektif olarak incelenmiş ve tanımlanmış patojenik mutasyonları olan 73 hastada ketojenik diyetle yanıt verme oranının tedavi başlangıcından 3, 6 ve 12 ay sonra sırasıyla %52,1, %49,3 ve %43,8 olduğu gösterilmiştir. Özellikle *SCN1A*, *KCNQ2*, *STXBPI* ve *SCN2A* gen mutasyonlu hastalar tedaviye daha iyi yanıt gösterirken, *CDKL5* mutasyonları olan 10 hastada tedaviye yanıt gözlenmemiştir. Bu nedenle, genetik nedenin belirlenmesi epilepsili hastalarda KD'nin etkinliğini tahmin etmeye yardımcı olabilir.<sup>69</sup>

Tablo 2.5 Ketojenik diyet tedavisinin ortalama %50'den daha faydalı (>%70) olarak rapor edildiği epilepsi sendromları ve durumları<sup>67</sup>

|                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ketojenik diyet tedavisinin ortalama %50'den daha faydalı (>%70) olarak rapor edildiği epilepsi sendromları ve durumları |
| Angelman sendromu                                                                                                        |
| Kompleks 1 mitokondriyal hastalıklar                                                                                     |
| Dravet sendromu                                                                                                          |
| Doose sendromu (miyoklonik-atonik nöbetlerle epilepsi)                                                                   |
| GLUT1 eksikliği                                                                                                          |
| Febril enfeksiyon ilişkili epilepsi sendromu (FIRES)                                                                     |
| Ohtahara sendromu                                                                                                        |
| İnfanıl spazmlar                                                                                                         |
| Piruvat dehidrogenaz eksikliği (PDHD)                                                                                    |
| Süper refraktör status epileptikus                                                                                       |
| Tüberoskleroz kompleksi                                                                                                  |

KD tedavisi, beyin enerjisi metabolizmasının 2 farklı bozukluğu olan GLUT1 eksikliği ve PDHD için ilk tercih edilen tedavidir.<sup>70-72</sup> GLUT1 eksikliğinde, kan-beyin bariyeri boyunca glikoz taşınması bozulduğundan çeşitli tiplerde nöbet, gelişimsel gecikme ve kompleks hareket bozuklukları meydana gelmektedir.<sup>70</sup> PDHD'de piruvat asetil KoA'ya metabolize edilemez ve laktik asidoz, nöbetler ve şiddetli ensefalopatinin eşlik ettiği mitokondriyal bozuklukla sonuçlanır. Her iki bozuklukta da KD tedavisi kavramı, metabolik ketonları sağlayarak gelişmekte olan beyin için alternatif bir serebral yakıt olarak kullanılmasıdır. KD ayrıca refrakter status epileptikus tedavisinde ve bazı şiddetli inflamatuvar epilepsilerde kullanılmaktadır.<sup>73</sup>

Genel olarak, epilepsi için KD tedavisinin nöbet sıklığının yanı sıra biliş ve davranış üzerindeki olumlu etkileri gözlemlendiği bildirilmiştir. KD tedavisinde gastrointestinal bozukluklar, metabolik anormallikler, böbrek taşı ve kardiyak anormallikler gibi yan etkiler rapor edilmiştir.<sup>52,73,74</sup>

#### 2.1.6.5 Diğer Tedaviler

Talamus ön çekirdeğine (ANT), talamus sentromedian çekirdeğine (CMT) ve hipokampusu uygulanan derin beyin stimülasyonu (DBS), ilaca dirençli hastalarda uzun süreli etkinlik gösteren alternatif bir nörostimülasyon yöntemidir. Dirençli epilepsisi olan hastalarda DBS etkinliğinin araştırıldığı bir meta-analizde ANT, CMT ve hipokampusun

uyarılmasından sonra ortalama nöbet azalması sırasıyla %60,8, %73,4 ve %67,8 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada dirençli fokal nöbetlerde ANT'nin, jeneralize nöbetler için CMT'nin ve temporal lob nöbetleri için hipokampal DBS'nun daha etkili olduğu öne sürülmüştür.<sup>73,76</sup>

İmmünoterapi, otoimmün epilepsinin nadir görülen vakalarında ek tedavi olarak umut vaad etmektedir. Özellikle, ateşli enfeksiyonla ilişkili epilepsi sendromu (FIRES) olan hastalar, steroidler veya intravenöz immünoglobulinler gibi standart immün tedavinin başarısızlığından sonra interlökin-1 reseptör antagonisti ile hedeflenen immünoterapiden fayda gördüğü gösterilmiştir.<sup>77</sup>

#### **2.1.6.6 Kişiselleştirilmiş Tedavi**

Son yıllarda epilepsinin genetik nedenlerinin belirlenmesinde ve epilepsinin patofizyolojisinin altında yatan moleküler mekanizmaların anlaşılmasında büyük ilerleme kaydedilmiştir. Bu gelişmeler, potansiyel terapötik hedeflerin tanımlanmasını sağlayarak hastalar için en etkili tedavinin seçmesine olanak sağlamıştır. GLUT1 eksikliğinde ketojenik diyet, piridoksin bağımlı epilepsilerde B6 vitamini, tuberoskleroz kompleksi ile ilişkili fokal nöbetleri tedavi etmek için mTOR inhibitörleri (everolimus) kullanılmaktadır.<sup>78</sup> Bazı durumlarda aynı gendeki farklı mutasyonlar farklı tedavi yaklaşımları gerektirmektedir. Örneğin, sodyum kanal blokerleri *SCN2A* ve *SCN8A* için fonksiyon kazancı mutasyonlarında etkiliyken fonksiyon kaybı mutasyonlarında klinik tabloyu kötüleştirebilir.<sup>78,79</sup> Bu nedenle, patojenik varyantlar multidisipliner incelendikten sonra tedavi stratejileri tanımlanmalıdır. Giderek artan sayıda hedef ve ilacın belirlenmesiyle, hassas tıbbın alanı hızla gelişmektedir ve epilepsi tedavisinin ilerlemesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir. Çocuklarda seçilmiş epilepsi sendromlarında tedavi seçenekleri Tablo 2.6'da gösterilmiştir.

Tablo 2.6 Çocuklarda seçilmiş epilepsi sendromlarında tedavi seçenekleri<sup>57</sup>

| Sendrom                                                                  | 1. Seçenek                           | 2. Seçenek                                                | Kaçınılması gerekenler                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Çocukluk çağı absans epilepsi                                            | Etosuksimid                          | Valproat (Lamotrijin)                                     | Karbamazepin<br>Gabapentin<br>Oksarbazepine<br>Fenobarbital<br>Fenitoin<br>Tiagabin, Vigabatrin |
| Rolandik epilepsi (Sentrotemporal spike)                                 | Valproat<br>Levetirasetam<br>Sultiam | Karbamazepin                                              |                                                                                                 |
| West sendromu (infantil spazm)                                           | ACTH/Prednizolon+<br>Vigabatrin      | Topiramat<br>Benzodiazepinler<br>Valproat                 |                                                                                                 |
| Dravet sendrome                                                          | Valproat+Stiripentol+<br>Klobazam    | Topiramat<br>Kannabidiol<br>Fenfuramin<br>Ketojenik diyet | Sodyum kanal blokerleri                                                                         |
| Lennox–Gastaut sendrome                                                  | Valproat<br>Rufnamid<br>Klobazam     | Kannabidiol<br>Ketojenik diyet                            | Karbamazepin<br>Okskarbazepin,<br>Fenitoin<br>Tiagabin                                          |
| KCNQ2, SCN2A, SCN8A genleriyle ilişkili neonatal başlangıçlı epilepsiler | Karbamazepin                         | Fenitoin                                                  |                                                                                                 |

## 2.2 Epilepsi Etiyolojisi

Epilepsi dünyadaki en yaygın nörolojik hastalıklardan biridir ve her yaşta ortaya çıkabilen tekrarlayan provoke edilmemiş nöbetler ile karakterizedir. Epilepsi, multifaktöriyel ve poligenik bir hastalık olduğu için vakaların yaklaşık yarısında kesin etiyoloji bilinmemektedir.<sup>16</sup> Kolay sınıflandırmak amacıyla epilepsi etiyolojisi ILAE tarafından yapısal, metabolik, genetik, enfeksiyöz, immün ve bilinmeyen olarak 6 sınıfa ayrılmıştır.<sup>25,26</sup> Bazı vakalar birkaç etiyolojik kategoride sınıflandırılabilmesiyle beraber hangi etiyolojik sınıflandırma tedavi ve yönetim konusunda daha önemliyse öncelikli etiyolojik kategori olarak sınıflandırılabilir.

### 2.2.1 Yapısal Nedenler

Bu kategoride epilepsi gelişimi riskini arttıran yapısal beyin anomalileri yer almaktadır. Hastanın kliniği ve EEG bulgularıyla uyumlu olarak hastanın nöbetlerine neden olduğu düşünülen bir beyin görüntüleme bulgusu saptanması yapısal etiyolojiyi ifade eder.<sup>25,27</sup> Yapısal etiyolojiler kortikal gelişim malformasyonu gibi konjenital veya inme, kafa travması, enfeksiyon ve hipoksik-iskemik ensefalopati gibi kazanılmış nedenlere bağlı olabilir.<sup>80</sup> Yapısal bir anormalliğin altında yatan neden, genetik, edinilmiş veya her ikisi de olabilir. Ayrıca bir hastada birçok etiyolojik faktör birlikte bulunabilir. Örneğin; tuberosklerozlu hastaların epilepsi etiyolojisinde hem yapısal beyin bozuklukları hem de sinyal yollarında görev alan *TSC1* ve *TSC2* genleri nedeniyle genetik faktörler yer almaktadır. Bu hastalarda yapısal etiyoloji belirlemek epilepsi cerrahisi için önemliyken, genetik etiyolojiye neden olan genleri belirlemek hastalara genetik danışmanlık verilmesi ve kişiselleştirilmiş tedavi seçenekleri açısından önemli rol oynamaktadır.<sup>78</sup>

### 2.2.2 Enfeksiyöz Nedenler

Enfeksiyöz etiyoloji kavramı, epilepsinin doğrudan nöbetlerin temel semptom olduğu bilinen bir enfeksiyondan kaynaklanmasıdır.<sup>25</sup> Enfeksiyöz etiyolojiye nörosistiserkoz, tüberküloz, HIV, subakut sklerozan panensefalit, konjenital enfeksiyonlar (CMV, Zika virüsü gibi), serebral sıtma ve toksoplazma gibi enfeksiyonlar örnek verilebilir.<sup>10,11,25</sup> Yenidoğan döneminde toksoplazma, erken çocukluk döneminde insan herpes virüsü tip 6 (HHV6) enfeksiyonu, yaşlılarda Creutzfeldt-Jakob hastalığı gibi değişen yaş gruplarında enfeksiyonlara bağlı olarak nöbetler gelişebilmektedir.<sup>81</sup> MSS

enfeksiyonları epilepsi gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. MSS enfeksiyonlarından sağ kalanların araştırıldığı kohortlarda, gelişmiş ülkelerde nöbet riski %6,8- 8,3 arasında iken, düşük gelirli ülkelerde bu riskin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.<sup>82</sup> Özellikle kaynakların sınırlı olduğu Sahra altı Afrika gibi bölgelerde epilepsinin en yaygın önlenabilir nedeni enfeksiyöz etkenlerdir.<sup>11,83</sup> Ayrıca bu vakaları enfeksiyöz olarak sınıflandırmanın tedavi etkileri vardır ve bu nedenle çoğu zaman yapısal bir sınıflandırmadan daha öncelikli olarak kategorize edilir.<sup>82</sup>

### **2.2.3 Metabolik Nedenler**

Epilepsinin, doğrudan bir metabolik bozukluk sonucu ortaya çıkması metabolik etiyoloji kavramını açıklamaktadır. Çeşitli amino asit metabolizma bozuklukları, enerji metabolizması bozuklukları, kofaktör ilişkili metabolik hastalıklar, pürin ve pirimidin metabolik hastalıkları, konjenital glikozilasyon bozuklukları, lizozomal ve peroksizomal bozukluklara bağlı nöbetler bu kategoriye örnek verilebilir. 384 epilepsili çocuğun çeşitli metabolik testlerle değerlendirildiği bir çalışmada 16 çocukta Leigh sendromu, nonketotik hiperglisinemi, Zellweger sendromu, mitokondriyal hastalıklar, metilmalonik asidemi, piruvat dehidrojenaz eksikliği, GM1 gangliosidoz ve Alper-Huttenlocher hastalığı gibi metabolik hastalık tanısı tespit edilmiştir.<sup>84</sup> Metabolik epilepsilerin çoğu etiyolojide genetikdir, ancak bazı metabolik etiyolojiler kazanılmış olabilir.<sup>25</sup>

Epilepsi ile başvuran çocuklar değerlendirilirken metabolik hastalıklar her zaman göz önünde bulundurulmalıdır. Bunun nedeni, birçok metabolik bozukluğun potansiyel olarak tedavi edilebilir olması ve bu hastalıklar uygun şekilde tedavi edildiğinde nöbet kontrolünün sağlanabilmesi, komplikasyonların önlenmesi veya en aza indirilebilmesidir.<sup>73,78</sup>

### **2.2.4 İmmün Nedenler**

Epilepsiye neden olan otoimmün merkezi sinir sistemi inflamasyonu gibi birçok otoimmün hastalık vardır. Antikor aracılı limbik ensefalit, kökeni bilinmeyen epilepside nöbetlerin giderek daha fazla tanımlanan bir nedeni olarak gösterilmiştir. Otoimmün ensefalit ve epilepsi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>85,86</sup>

### **2.2.5 Genetik Etiyoloji**

Epilepsilerin yarısından fazlasının genetik bir temele sahip olduğu tahmin edilmektedir. Başta yeni nesil dizileme olmak üzere genetik teknolojisindeki gelişmeler,

epilepsi ile ilişkili çok sayıda genin tanımlanmasına yol açmıştır. Bununla birlikte, genetik anormalliklerle ilişkili epilepsiler büyük heterojenlik göstermektedir. Epilepsinin genetik etiyolojisi monogenik veya poligenik olabilir. Çeşitli veritabanları taranarak yapılan bir çalışmada; yalnızca epilepsilere veya temel semptom olarak epilepsili sendromlara neden olan 84 gen, nörogelişimsel malformasyonlar ve epilepsilerle ilişkili 73 gen, fiziksel veya diğer sistemik anormalliklere epilepsi veya nöbetlerin eşlik ettiği 536 gen ve potansiyel epilepsi ile ilişkili 284 gen olmak üzere epilepsi ile ilişkili toplam 977 gen tanımlanmıştır.<sup>5</sup> Bazı genlerdeki varyantlar primer olarak epilepsiye veya epilepsi sendromlarına neden olurken (örneğin, *SCN1A* mutasyonları, febril nöbetlerle birlikte epilepsilere neden olur), bazı genlerdeki değişiklikler beynin gelişimsel malformasyonları ile ilişkili olabilir (örneğin, *TSC1* ve *TSC2* genleri tüberoskleroza neden olur).<sup>87</sup> Yaşlara göre epilepsinin genetik etiyolojik nedenleri Tablo 2.7de gösterilmiştir.

Tablo 2.7 Yaşlara göre epilepsi genleri.

| YAŞLARA GÖRE<br>EPİLEPSİ FENOTİPİ                                                | KALITIM | GENLER                                                                                                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NEONATAL DÖNEM                                                                   |         |                                                                                                                                                                 |
| Piridoksamın 5'-fosfat oksidaz eksikliği                                         | OR      | <i>PNPO</i>                                                                                                                                                     |
| Piridoksin bağımlı epilepsi                                                      | OR      | <i>ALDH7A1</i>                                                                                                                                                  |
| Benign familyal neonatal nöbetler                                                | OD      | <b>KCNQ2, KCNQ3</b>                                                                                                                                             |
| İNFAİTİL VE ÇOCUKLUK<br>DÖNEMİ                                                   |         |                                                                                                                                                                 |
| Familyal infantil miyoklonik epilepsi                                            | OR      | <b>TBC1D24</b>                                                                                                                                                  |
| Benign familyal infantil nöbetler                                                | OD      | <i>PRRT2, SCN2A, SCN8A</i>                                                                                                                                      |
| Amish infantil epilepsi sendromu                                                 | OR      | <i>ST3GAL5</i>                                                                                                                                                  |
| Erken infantil epileptik ensefalopati                                            | OD      | <i>CACNA1A, EEF1A2, FGF12, DNMI, GABRA1, GABRB3, GRIN2B, GRIN2D, GNAO1, HCN1, KCNA2, KCNB1, GABRB1, KCNQ2, SIK1, SLC1A2, KCNT1, SCN2A, SPTAN, SCN8A, STXBP1</i> |
|                                                                                  | OR      | <i>AARS, DOCK7, ARV1, GUF1, ITPA, PLCB1, FRRS1L, SLC12A5, SLC13A5, SLC25A12, UBA5, SLC25A22, NECAP1, ST3GAL3, WWOX, SZT2, TBC1D24</i>                           |
|                                                                                  | XLD     | <i>CDKL5</i>                                                                                                                                                    |
|                                                                                  | XLR     | <i>ARHGEF9</i>                                                                                                                                                  |
|                                                                                  | XL      | <i>PCDH19, ALG13</i>                                                                                                                                            |
| Dravet sendromu                                                                  | OD      | <b>SCN1A, SCN9A<sup>b</sup></b>                                                                                                                                 |
| Familyal febril nöbetler                                                         | OD      | <b>GABRG2, SCN1A, SCN9A, GPR98</b>                                                                                                                              |
|                                                                                  | OR      | <b>CPA6</b>                                                                                                                                                     |
| Febril nöbetlerle birlikte jeneralize epilepsi (GEF+)                            | OD      | <b>GABRD, SCN1A, SCN9A, STX1B, GABRG2, SCN1B</b>                                                                                                                |
| Jeneralize epilepsi ve paroksizmal diskinezi (GEPD)                              | OD      | <i>KCNMA1</i>                                                                                                                                                   |
| Miyoklonik atonik epilepsi                                                       | OD      | <i>SLC6A1</i>                                                                                                                                                   |
| Çocukluk başlangıçlı epileptik ensefalopati                                      | OD      | <i>CHD2</i>                                                                                                                                                     |
| Mental retardasyonun eşlik edebildiği fokal epilepsi ve konuşma bozukluğu (FESD) | OD      | <i>GRIN2A</i>                                                                                                                                                   |

|                                         |            |                                                                                 |
|-----------------------------------------|------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Çocukluk absans epilepsi                | OD         | <i>GABRG2</i>                                                                   |
|                                         | Bilinmeyen | <i>CACNA1H, GABRB3, GABRA1</i>                                                  |
| <b>JUVENİL DÖNEM VE SONRASI</b>         |            |                                                                                 |
| Juvenil absans epilepsi                 | OD         | <i>EFHC1, CLCN2<sup>a</sup></i>                                                 |
| Juvenil miyoklonik epilepsi             | OD         | <i>CACNB4, EFHC1, CLCN2<sup>a</sup>, GABRD</i>                                  |
|                                         | Bilinmeyen | <i>GABRA1</i>                                                                   |
| İdiyopatik jeneralize epilepsi          |            | <i>CACNB4, GABRD, SLC12A5, CLCN2<sup>a</sup>, SLC2A1</i>                        |
| Familyal erişkin miyoklonik epilepsi    | Bilinmeyen | <i>ADRA2B</i>                                                                   |
|                                         | OR         | <i>CNTN2</i>                                                                    |
| Familyal temporal lob epilepsisi        | OD         | <i>CPA6, LGII, GAL</i>                                                          |
| <b>NONSPESİFİK</b>                      |            |                                                                                 |
| Progresif miyoklonik epilepsi           | OD         | <i>KCNC1</i>                                                                    |
|                                         | OR         | <i>CERS1, EPM2A, GOSR2, CSTB, KCTD7, NHLRC1, PRDM8, LMNB2, PRICKLE1, SCARB2</i> |
| Noktornal frontal lob epilepsisi        | OD         | <i>CHRNA2, KCNT1, CHRNA4</i>                                                    |
|                                         | Bilinmeyen | <i>CHRNA2</i>                                                                   |
| Değişken odaklı familyal fokal epilepsi | OD         | <i>DEPDC5</i>                                                                   |

**Kalın italik:** multiple epilepsi fenotipi gösteren genler, OD, otozomal dominant; OR, otozomal resesif; XL, X'e bağlı; XLD, X'e bağlı dominant; XLR, X'e bağlı resesif.

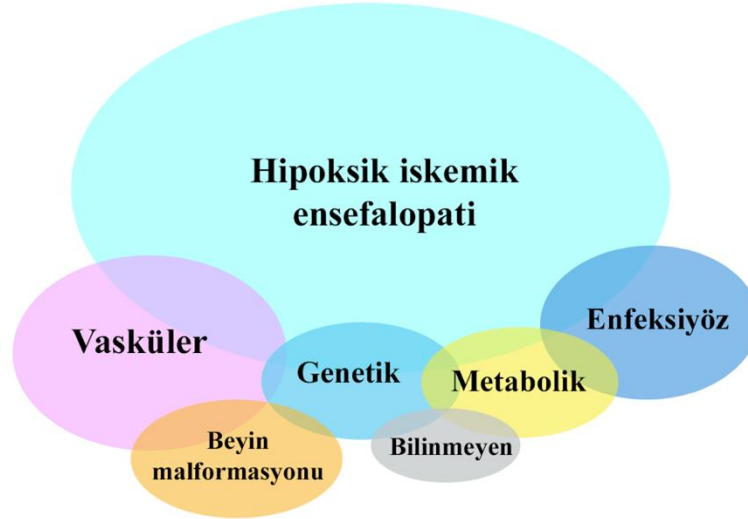
a Fenotiple ilgili açıklama, ilk raporun geri çekilmesinden sonra değiştirildi, b Potansiyel modifiye edici gen

## 2.2.6 Bilinmeyen Nedenler

Birçok epilepsili hastada kesin etiyoloji aydınlatılamaz ve bu gibi durumlarda tanı ve yönetim yalnızca elektroklinik bulgulara dayanmaktadır.<sup>25</sup>

## 2.2.7 Neonatal nöbetlerde etiyoloji

Neonatal nöbetlerin çoğu, altta yatan bir akut bir hastalık veya beyin hasarı tarafından tetiklenir.<sup>29</sup> Hipoksik-iskemik nedenler, bu yaş grubundaki nöbetlerin en sık etiyolojisi olduğu için ayrı bir antite olarak kabul edilmektedir (Şekil 2.10). Ayrıca, diğer yaş gruplarının aksine yenidoğanlarda nöbet etiyolojisinde immün süreçlerin rol oynadığına dair şu anda hiçbir kanıt bildirilmemiştir.<sup>29</sup>



Şekil 2.10 Neonatal dönemde nöbetlerde etiyoloji<sup>29</sup>

### 2.3 Epilepsi Etiyolojisinde Yeni Nesil Dizileme Analizi

Genetik moleküler tanı teknikleri, ilk kez 1977 yılında tanımlanan floresan boya ile işaretlenmiş 3'-OH grubu içermeyen spesifik zincir sonlandırıcı nükleotitlerin (dideoksi nükleotitler) kullanıldığı Sanger dizileme tekniğinden, milyonlarca DNA fragmentlerini dizileyebilen yeni nesil dizileme teknolojilerine kadar ilerlemiştir.<sup>88</sup> DNA dizi analizi için Sanger dizileme altın standart teknik olarak kabul edilmesine rağmen, kısa okuma uzunluğu ve sonuç verme süresinin uzunluğu gibi önemli kısıtlılıkları vardır.<sup>89</sup> Son zamanlarda masif paralel dizileme olarak da bilinen NGS, çok sayıda geni, hedeflenen gen panellerini, tüm ekzomu (protein kodlama bölgeleri) veya tüm genomu bir kerede dizileme yeteneği nedeniyle özellikle epilepsi gibi genetik heterojenite gösteren hastalıklarda Sanger dizilemenin yerini almaya başlamıştır. NGS, Sanger dizilemeye göre aynı anda çok sayıda örneğin ve bölgenin çalışılabilmesi, düşük miktarda DNA gerektirmesi, elektroforez gerektirmemesi ve daha düşük maliyet olması nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir.<sup>90</sup> NGS ile tanımlanan varyantların yorumlanması sonucunda hastalıklarla ilişkili aday genlerin keşfi, hastalığın prognozunun tahmin edilmesi ve hedefe yönelik kişiselleştirilmiş tedavilerin geliştirilmesi mümkün olabilmektedir.<sup>91</sup> NGS'nin çeşitli avantajlarının yanında kısa okumalar yapılması, varyantların hizalama ve sıralama hatalarından dolayı yanlış pozitif varyantlar saptanabilmesi, G/C tekrarlarının sayısının fazla olduğu bazı bölgelerde hatalı okumalar meydana gelmesi ve yapısal yeniden düzenlemelerde (translokasyon ve inversiyon) etkili olmaması gibi kısıtlamaları da mevcuttur.

NGS iş akışı, DNA izolasyonu, DNA'nın yüksek frekanslı ses dalgaları veya enzimatik reaksiyonlar yoluyla fragmentlere ayrılması, kütüphane hazırlama ve zenginleştirme, sıralama, baz arama, referans genoma hizalama ve varyant anotasyonu olmak üzere birden çok adımdan oluşmaktadır.<sup>92</sup> Günümüzde Ion Torrent, Illumina, Agilent, Pacific Bioscience, Oxford Nanopore Technologies ve Nanostring Technologies gibi farklı NGS platformları kullanılarak okumalar yapılmaktadır (Tablo 2.8).<sup>93</sup> Okumalar genomdaki referans dizi ile haritalanıp karşılaştırılır. Okumalar haritalandıktan sonra referans dizi birkaç baz pozisyonunda eşleşme meydana gelmediğinde varyant saptanmaktadır. Bu aşamadan sonra saptanan varyantlara anotasyon yapılarak, tespit edilen varyantlar, popülasyon veri tabanları ve varyant veri tabanlarındaki bilgilere göre sınıflandırılarak filtrelenir ve patojenite sınıflamasıyla klinik bulgular arasında korelasyon yapılarak NGS raporları oluşturulmaktadır.<sup>94,95</sup>

Tablo 2.8 NGS için yaygın olarak kullanılan ticari analizlerin fragmentasyon tekniğine ve hibridizasyon yöntemlerine göre temel farklılıkları<sup>93</sup>

| ŞİRKET<br>ADI/ANALİZ<br>(ASSAY) ADI                        | DNA FRAGMENTASYON<br>TEKNİĞİ                                                                                                                                       | FRAGMEN TİPİ VE<br>HİBRİDİZASYON METODU                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ThermoFisher/<br>AmpliSeq (Ion<br>Torrent)                 | Primer, bilinen amplifiye edilmiş<br>hedef bölgeleri yaratan genomik<br>DNA'ya bağlanır.                                                                           | Primerler, hedeflenen bölgeleri<br>çoğaltarak üst üste binen<br>(overlapping) ampikon<br>panelleriyle sonuçlanır.                                              |
| Agilent/<br>HaloPlex                                       | Transpozaz ile parçalama                                                                                                                                           | Sirküler DNA problemleri, genomik<br>DNA bölgelerini yakalamak için<br>hizalanır.                                                                              |
| Agilent/<br>SureSelect                                     | Ses dalgalarıyla (sonikasyon)<br>parçalama                                                                                                                         | Rastgele boyutlandırılmış DNA<br>fragmanları oluşturulur ve sentetik<br>oligonükleotitler daha sonra<br>çözümlerdeki ilgili bölgelere<br>bağlanır.             |
| Illumina/<br>Nextera                                       | Restriktif enzimlerle parçalama                                                                                                                                    | Eşit aralıklı, boşluklu problemler<br>DNA'ya bağlanır. Daha sonra<br>ortaya çıkan boşlukları doldurmak<br>için çift sonlu (paired-end) dizileme<br>kullanılır. |
| Pacific<br>Biosciences                                     | DNA'nın veya amplifiye spesifik<br>dizilerin rastgele kesilmesi                                                                                                    | Şablon fragmanları, her birinde<br>hairpin adaptörlerine bağlanır, bu<br>da sabit bir ssDNA ipliğine sahip<br>daireli DNA ile sonuçlanır.                      |
| Oxford Nanopore<br>Technologies                            | Sentrifugal kuvveti kullanılarak<br>Covaris G-tüpü aracılığıyla isteğe<br>bağlı parçalanma (NOT: uzun<br>okumalar gerektiğinde DNA<br>kesilmesi önerilmemektedir.) |                                                                                                                                                                |
| Nanostring<br>Technologies/<br>nCounter Analysis<br>System | Restriktif enzimlerle parçalama                                                                                                                                    | Hedeflenen genler için barkodlu<br>problemler DNA'ya bağlanırken başka<br>bir prob dizileme için dizi hedefini<br>bağlar.                                      |

Günümüzde NGS laboratuvarında kullanımı önemli ölçüde yaygınlaşmış ve çeşitli alanlarda NGS'in kullanımı ile ilgili yayınlar yapılmıştır. NGS özellikle genetik

hastalıkların tanısında, aday gen keşfinde, popülasyon çalışmalarında, kanser araştırmalarında, prenatal tanıda, adli tıp uygulamalarında, transkriptom çalışmalarında ve mitokondriyal genom çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir teknik haline gelmiştir. NGS, WGS, WES, hedefli gen panelleri, gen dizileme, RNA dizileme gibi çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır.<sup>93</sup>

WGS, genomda hem kodlayan hem de kodlamayan bölgelerdeki varyantlar hakkında bilgi sağlamaktadır. Kodlamayan bölgelerde (%98) bulunan varyantların etkisi şu anda iyi anlaşılmamış olmakla birlikte, tek bir varyantın veya varyant kombinasyonların hastalıkların patolojisi üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca uzun okumalar yapabilme kapasitesi nedeniyle trinükleotid tekrar artışlarını belirleyebilmektedir.<sup>96</sup>

WES, hastalıkla ilgili mutasyonların %85'ine neden olan genomun yaklaşık %1-2'sini oluşturan protein kodlama bölgelerini incelemektedir. Tüm ekzom dizilemenin önceden tanısı olmayan hastalarda, karyotip analizi (%5-10) ve CMA (%15-20) göre yaklaşık %25 ile daha fazla rapor edilmiş bir teşhis oranı vardır.<sup>97,98</sup> WGS ve WES, hedefli gen panellerinden farklı olarak hastalıklarla ilişkili olabilecek yeni aday genlerin saptanmasına olanak sağlamaktadır. Bununla birlikte WGS ve WES'de, hedeflenen bölgenin gen panellerine göre daha geniş olması nedeniyle bazı alanlarda düşük okuma derinliği saptanması, genomdaki tekrar dizileri, delesyon-duplikasyon bölgeleri ve psödogenler nedeniyle yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar saptanması gibi kısıtlılıklar da vardır.<sup>95</sup>

### **2.3.1 Saptanan Varyantların Sınıflandırılması**

NGS teknolojisinin yaygınlaşmasıyla saptanan yeni varyantların sınıflandırılması önemli hale gelmiştir. Bu yüzden 2015 yılında varyantların klinik önemini yorumlanması için The American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) tarafından uluslararası kriterlerle bir sınıflama kılavuzu yayınlanmıştır.<sup>94</sup> Bu kılavuza göre varyantlar, patojenik, muhtemel patojenik, klinik önemi bilinmeyen (VUS), benign ve muhtemel benign varyantlar olarak 5 kategoride sınıflandırılmıştır. Patojenik kriterler; çok güçlü, güçlü, orta ve destekleyici olarak tanımlanırken, benign kriterler; tek başına, güçlü ve destekleyici olarak kendi içinde ayrılmıştır. Varyantlar değerlendirilirken kullanılan veri tabanları tablo 2.9 ve tablo 2.10 da gösterilmiştir.

Tablo 2.9 Varyantların değerlendirilmesinde kullanılan veritabanları<sup>94</sup>

| POPÜLASYON VERİ TABANLARI                          |                                                                                                       |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ekzom<br>Agregasyon<br>konsorsiyumu                | <a href="http://exac.broadinstitute.org">http://exac.broadinstitute.org</a>                           |
| Genom<br>Agregasyon veri<br>tabanı                 | <a href="https://gnomad.broadinstitute.org">https://gnomad.broadinstitute.org</a>                     |
| Ekzom Varyant<br>Sunucusu                          | <a href="https://evs.gs.washington.edu/EVS">https://evs.gs.washington.edu/EVS</a>                     |
| 1000 genom<br>projesi                              | <a href="http://browser.1000genomes.org">http://browser.1000genomes.org</a>                           |
| dbSNP                                              | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp</a>                         |
| dbVar                                              | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar</a>                     |
| HASTALIKLAR İÇİN VERİTABANLARI                     |                                                                                                       |
| ClinVar                                            | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar</a>                 |
| OMIM                                               | <a href="http://www.omim.org">http://www.omim.org</a>                                                 |
| Human Genome<br>Mutation Database                  | <a href="http://www.hgmd.org">http://www.hgmd.org</a>                                                 |
| LOKUS /HASTALIK / ETNİK/ DİĞER ÖZEL VERİ TABANLARI |                                                                                                       |
| Human Genome<br>Variation Society                  | <a href="http://www.hgvs.org/dblist/dblist.html">http://www.hgvs.org/dblist/dblist.html</a>           |
| Leiden Open<br>Variation<br>Database               | <a href="http://www.lovd.nl">http://www.lovd.nl</a>                                                   |
| DECIPHER                                           | <a href="http://decipher.sanger.ac.uk">http://decipher.sanger.ac.uk</a>                               |
| DİZİLEME VERİ TABANLARI                            |                                                                                                       |
| NCBI Genome                                        | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome</a>                   |
| RefSeqGene                                         | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/rsg">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/rsg</a>           |
| Locus Reference<br>Genomic (LRG)                   | <a href="http://www.lrg-sequence.org">http://www.lrg-sequence.org</a>                                 |
| MitoMap                                            | <a href="http://www.mitomap.org/MITOMAP/HumanMitoSeq">http://www.mitomap.org/MITOMAP/HumanMitoSeq</a> |

Şekil 2. 10 Varyantların değerlendirilmesinde kullanılan veritabanları<sup>94</sup>

| TAHMİN ARAÇLARI                         |                                                                          |                  |                                                                                                                                           |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| YANLIŞ<br>ANLAMLI<br>VARYANTLAR<br>İÇİN | TEMEL                                                                    | ADI              | WEB SİTESİ                                                                                                                                |
|                                         | Evrimsel<br>Korunma                                                      | FATHMM           | <a href="http://fathmm.biocompute.org.uk">http://fathmm.biocompute.org.uk</a>                                                             |
|                                         |                                                                          | ConSurf          | <a href="http://consurftest.tau.ac.il">http://consurftest.tau.ac.il</a>                                                                   |
|                                         |                                                                          | PhD-SNP          | <a href="http://snps.biofold.org/phd-snp/phd-snp.html">http://snps.biofold.org/phd-snp/phd-snp.html</a>                                   |
|                                         |                                                                          | MutationAssessor | <a href="http://mutationassessor.org">http://mutationassessor.org</a>                                                                     |
|                                         |                                                                          | SIFT             | <a href="http://sift.jcvi.org">http://sift.jcvi.org</a>                                                                                   |
|                                         |                                                                          | PANTHER          | <a href="http://www.pantherdb.org/tools/csnpscoreform.jsp">http://www.pantherdb.org/tools/csnpscoreform.jsp</a>                           |
|                                         | Protein<br>yapı/fonksiyonu                                               | SNPs&GO          | <a href="http://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go">http://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go</a>                             |
|                                         | Protein<br>yapı/fonksiyon<br>ve evrimsel<br>korunma                      | MAPP             | <a href="http://mendel.stanford.edu/SidowLab/downloads/MAPP/index.html">http://mendel.stanford.edu/SidowLab/downloads/MAPP/index.html</a> |
|                                         |                                                                          | MutPred          | <a href="http://mutpred.mutdb.org">http://mutpred.mutdb.org</a>                                                                           |
|                                         |                                                                          | Align GVGD       | <a href="http://agvgd.iarc.fr/agvgd_input.php">http://agvgd.iarc.fr/agvgd_input.php</a>                                                   |
|                                         |                                                                          | MutationTaster   | <a href="http://www.mutationtaster.org">http://www.mutationtaster.org</a>                                                                 |
|                                         |                                                                          | PolyPhen-2       | <a href="http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2">http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2</a>                                                   |
|                                         | Varyant dizisi ve<br>protein dizi<br>homologu<br>arasındaki<br>benzerlik | PROVEAN          | <a href="http://provean.jcvi.org/index.php">http://provean.jcvi.org/index.php</a>                                                         |
|                                         | Çoklu dizi<br>hizalama ve<br>protein yapı<br>analizi                     | nsSNPAnalyzer    | <a href="http://snpanalyzer.uthsc.edu">http://snpanalyzer.uthsc.edu</a>                                                                   |
|                                         | SIFT, Mutation<br>Assessor ve<br>PolyPhen-2<br>kombinasyonu              | Condel           | <a href="http://bg.upf.edu/condel/home">http://bg.upf.edu/condel/home</a>                                                                 |
|                                         | Simüle<br>varyantlarla                                                   |                  |                                                                                                                                           |

|                                                                    |                                                                                          |                          |                                                                                                                                             |
|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                    | insanlarda sabit/<br>neredeyse sabit<br>türetilmiş<br>alellerin kontrast<br>açıklamaları | CADD                     | <a href="http://cadd.gs.washington.edu">http://cadd.gs.washington.edu</a>                                                                   |
| KESİM<br>NOKTASINDA<br>BULUNAN<br>(SPLICİNG)<br>VARYANTLAR<br>İÇİN | Markov<br>modelleri                                                                      | GeneSplicer              | <a href="http://www.cbcb.umd.edu/software/GeneSplicer/gene_spl.shtml">http://www.cbcb.umd.edu/software/GeneSplicer/gene_spl.shtml</a>       |
|                                                                    | Pozisyona bağlı<br>sonuç                                                                 | Human Splicing<br>Finder | <a href="http://www.umd.be/HSF">http://www.umd.be/HSF</a>                                                                                   |
|                                                                    | Maksimum<br>entropi prensibi                                                             | MaxEntScan               | <a href="http://genes.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_scoreseq.html">http://genes.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_scoreseq.html</a> |
|                                                                    | Nöral ağlar                                                                              | NetGene2                 | <a href="http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2">http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2</a>                                               |
|                                                                    |                                                                                          | NNSplice                 | <a href="http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html">http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html</a>                                   |
| NÜKLEOTİD<br>KORUNUM<br>TAHMİNİ                                    |                                                                                          | GERP                     | <a href="http://mendel.stanford.edu/sidowlab/downloads/gerp/index.html">http://mendel.stanford.edu/sidowlab/downloads/gerp/index.html</a>   |
|                                                                    |                                                                                          | PhastCons                | <a href="http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/">http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/</a>                                               |
|                                                                    |                                                                                          | PhyloP                   | <a href="http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/">http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/</a>                                               |

### 2.3.2 Hedefli Gen Panelleri

Hedefli gen panellerinin, özellikle hastanın kliniğinin spesifik tek bir gene yönlendirmediği durumlarda ilk tercih olarak kullanılmasının faydaları gösterilmiştir.<sup>93</sup> NGS teknolojilerinin yaygın kullanımı epilepsi ile ilişkili genlerin hızlı bir şekilde tanımlanmasına yol açmıştır. Ayrıca hastalık ile ilişkilendirilmiş genleri içeren hedeflenmiş gen panellerinde, sonuçlarının yorumlanması WES ve WGS'e daha kolay olmaktadır.

Yapılan bir çalışmada epilepsi ve nöbetlerle ilişkili olabilecek 977 gen olduğu bildirilmiştir.<sup>5</sup> Epilepsi tanılı hastaların farklı sayıda gen içeren panellerle değerlendirildiği bir çalışmada epilepsi panellerinde seçilen gen sayısında değişkenlik (70 ile 465) olduğu gösterilmiştir.<sup>99</sup> Epilepsi panellerinin (35 ile 265 gen içeren) tanısal

verimi üzerine yapılan başka bir çalışmada tanı koyma oranının %10 ile %48,5 arasında olduğu belirtilmiştir.<sup>46</sup> Mercimek-Mahmutoğlu ve ark. (2015), ticari ürünlerle ilişkili epilepsi gen panelleri tanı koyma oranını gözden geçirerek genetik olarak teşhis edilen epilepsilerin %93'ünde teşhis için 38 genlik bir panelin yeterli olabileceğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda incelenecek genlerin fonksiyonel olarak sınıflandırılması Tablo 2.11 de gösterilmiştir.



### 2.3.2.1 Panel Genleri

Tablo 2.11 Epilepsi Panelindeki 110 Genin Fonksiyon Sınıflaması, Wang vd.,(2017)'den uyarlanmıştır.<sup>5</sup>

| PROTEİN FONKSİYONU       | GEN                                                                                                                                                                                      |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sodyum kanalı            | <i>SCN1A, SCN1B, SCN2A, SCN3A, SCN8A, SCN9A</i>                                                                                                                                          |
| Potasyum kanalı          | <i>KCNJ10, KCNMA1, KCNQ2, KCNQ3, KCNT1, KCTD7</i>                                                                                                                                        |
| Kalsiyum kanalı          | <i>CACNA1H, CACNB4</i>                                                                                                                                                                   |
| Klor kanalı              | <i>CLCN2</i>                                                                                                                                                                             |
| GABA-A reseptörü         | <i>GABRA1, GABRB3, GABRD, GABRG2</i>                                                                                                                                                     |
| NMDA reseptörü           | <i>GRIN2A, GRIN2B</i>                                                                                                                                                                    |
| Asetil kolin reseptörü   | <i>CHRNA2, CHRNA4, CHRNB2</i>                                                                                                                                                            |
| Enzim                    | <i>ACY1, ADSL, ALDH7A1, ASAH1, CDKL5, CERS1, CPA6, CPT2, EPM2A, GAMT, GLDC, MTHFR, NHLRC1, PLCB1, PNKP, PNPO, PPT1, QARS, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, ST3GAL3, ST3GAL5, TPP1, WWOX</i> |
| Enzim modülatörü         | <i>ARHGEF9, ARHGEF15, CSTB, TBC1D24</i>                                                                                                                                                  |
| Transporter              | <i>SLC13A5, SLC25A12, SLC25A22, SLC2A1, SLC19A3, SLC35A2, SLC6A8, SLC9A6</i>                                                                                                             |
| Reseptör                 | <i>SCARB2, FOLR, NRXN1</i>                                                                                                                                                               |
| Hücre adezyon molekülü   | <i>PCDH19</i>                                                                                                                                                                            |
| Sinyal iletimi           | <i>EFHC1, MAPK10, MTOR, SYNGAP1, TSC1, TSC2, DEPDC5</i>                                                                                                                                  |
| Membran trafiği          | <i>GOSR2, STXBPI, SYN1</i>                                                                                                                                                               |
| Hücre iskeleti           | <i>SPTAN1, SGCE</i>                                                                                                                                                                      |
| Transkripsiyon regülatör | <i>CNTNAP2, MECP2, RBFOX1, RBFOX3, UBE3A, ZEB2</i>                                                                                                                                       |
| Transkripsiyon faktörü   | <i>FOXG1, MEF2C, TCF4</i>                                                                                                                                                                |

|                    |                                                                                                                                                                     |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sınıflandırılmayan | <i>AMT, ARX, DRD2, GCSH, JRK, LGI1, MBD5, MFSD8, NEDD4L, NEU1, NOL3, PIGA, PIGO, PIGV, POLG, PRICKLE1, PRICKLE2, PRRT2, ROGDI, SAMHD1, SRPX2, SZT2, TBCE, TREX1</i> |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### 2.4 Amaç

Epilepsi, geniş fenotipik ve klinik spektruma sahip olup çocukluk çağında önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Etiyolojisi multifaktöriyel olmakla birlikte epilepsi vakalarının yaklaşık yarısında genetik nedenlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Son zamanlarda birden fazla genin paralel dizilenmesine olanak sağlayan NGS tekniğinin epilepsi hastalarında rutin tanı testi olarak kullanılması spesifik genetik etiyolojinin belirlenmesine olanak sağlamıştır. Çalışmamızda çocukluk çağı epilepsi hastalarında genetik etiyoloji, hedefli yeni nesil dizi analizi verilerine göre retrospektif olarak araştırılarak, sonuçların genotip fenotip korelasyonu ile yorumlanması ve epilepsi gen panelinin tanı değerinin hesaplanması amaçlanmıştır.

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1 Olgu Seçimi**

Çalışmaya, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda 2018-2021 tarihleri arasında epilepsi tanısı ile takip edilen 0-18 yaş arası 107 hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyeti, yaşı, nöbet tipi, tanı yaşı, ilaç kullanımı, Beyin MR, EEG gibi tetkikleri, özgeçmiş ve soygeçmişi ile ilgili bilgiler Tıbbi Genetik polikliniği hasta dosyalarından ve Enlil Elektronik Bilgi Yönetim Sisteminden temin edilmiştir. Epilepsi hastalarına rutin olarak uygulanan Epilepsi NGS paneli sonuçları Tıbbi Genetik laboratuvarı arşiv kayıtlarından elde edilmiştir.

Epilepsi hastalarının genetik ve klinik verilerinin retrospektif olarak incelenmesi amaçlanan araştırmamızda; çalışmaya dahil edilen hastaların klinik bilgileri ve pedigrileri polikliniğe başvurusunda kaydedilmiş, bilgilendirilmiş onam formları ıslak imzalı olacak şekilde yasal vasilerinden alınmıştır. Araştırma "İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu" 22.02.2022 tarih ve 2022/3125 sayılı karar ile onaylanmıştır.

Olguların çalışmaya dahil edilme kriterleri

- 1.Epilepsi tanısı almış olmak
- 2.0-18 yaş aralığında bulunmak
- 3.Epilepsi NGS paneli çalışılmış olması

Olguların çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

- 1.18 yaşından büyük olan yetişkin hastalar
- 2.Periferik kandan NGS tekniğiyle gen mutasyon analizi çalışılmamış olması

#### **3.2 Moleküler Genetik Çalışma**

##### **3.2.1 Epilepsi Panelinin Özellikleri**

Araştırmada, GRCh37 (hg19) referans dizisi baz alınarak, Tablo 3.1'de yer alan 110 genin ekzon ve ekzon-intron bileşkesindeki varyantları saptayabilecek QIAGEN tarafından hazırlanan Qiaseq Targeted DNA Paneli kullanılmıştır.

Tablo 3.1 Epilepsi panelinde yer alan genler

|                 |                 |                 |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <i>ACY1</i>     | <i>ADSL</i>     | <i>AMT</i>      | <i>ALDH7A1</i>  | <i>ARHGEF15</i> |
| <i>ARHGEF9</i>  | <i>ARX</i>      | <i>ASAH1</i>    | <i>CACNA1H</i>  | <i>CACNB4</i>   |
| <i>CLCN2</i>    | <i>CNTNAP2</i>  | <i>CPT2</i>     | <i>CPA6</i>     | <i>CSTB</i>     |
| <i>CDKL5</i>    | <i>CERS1</i>    | <i>CHRNA4</i>   | <i>CHRNA2</i>   | <i>CHRNA2</i>   |
| <i>DEPDC5</i>   | <i>DRD2</i>     | <i>EPM2A</i>    | <i>EFHC1</i>    | <i>FOLR1</i>    |
| <i>GAMT</i>     | <i>GCSH</i>     | <i>GOSR2</i>    | <i>GLDC</i>     | <i>GRIN2A</i>   |
| <i>FOXP1</i>    | <i>GABRA1</i>   | <i>GABRD</i>    | <i>GABRB3</i>   | <i>GABRG2</i>   |
| <i>KCNQ3</i>    | <i>KCNT1</i>    | <i>LGI1</i>     | <i>KCTD7</i>    | <i>MAPK10</i>   |
| <i>MBD5</i>     | <i>MECP2</i>    | <i>MFSD8</i>    | <i>MEF2C</i>    | <i>MTHFR</i>    |
| <i>GRIN2B</i>   | <i>JRK</i>      | <i>KCNMA1</i>   | <i>KCNJ10</i>   | <i>KCNQ2</i>    |
| <i>MTOR</i>     | <i>NEDD4L</i>   | <i>NHLRC1</i>   | <i>NEU1</i>     | <i>NOL3</i>     |
| <i>NRXN1</i>    | <i>PCDH19</i>   | <i>PIGO</i>     | <i>PIGA</i>     | <i>PIGV</i>     |
| <i>PLCB1</i>    | <i>PNKP</i>     | <i>POLG</i>     | <i>PNPO</i>     | <i>PPT1</i>     |
| <i>PRICKLE1</i> | <i>PRICKLE2</i> | <i>QARS</i>     | <i>PRRT2</i>    | <i>RBFOX1</i>   |
| <i>RBFOX3</i>   | <i>RNASEH2A</i> | <i>RNASEH2C</i> | <i>RNASEH2B</i> | <i>ROGDI</i>    |
| <i>SAMHD1</i>   | <i>SCARB2</i>   | <i>SCN1B</i>    | <i>SCN1A</i>    | <i>SCN2A</i>    |
| <i>SCN3A</i>    | <i>SCN8A</i>    | <i>SGCE</i>     | <i>SCN9A</i>    | <i>SLC13A5</i>  |
| <i>SLC19A3</i>  | <i>SLC25A12</i> | <i>SLC2A1</i>   | <i>SLC25A22</i> | <i>SLC35A2</i>  |
| <i>SLC6A8</i>   | <i>SLC9A6</i>   | <i>SRPX2</i>    | <i>SPTAN1</i>   | <i>ST3GAL3</i>  |
| <i>ST3GAL5</i>  | <i>STXBP1</i>   | <i>SYNGAP1</i>  | <i>SYN1</i>     | <i>SZT2</i>     |
| <i>TBC1D24</i>  | <i>TBCE</i>     | <i>TPP1</i>     | <i>TCF4</i>     | <i>TREX1</i>    |
| <i>TSC1</i>     | <i>TSC2</i>     | <i>WVOX</i>     | <i>UBE3A</i>    | <i>ZEB2</i>     |

### 3.2.2 Genomik DNA izolasyonu

Onam veren hastalardan 2 ml periferik kan örneği EDTA'lı (Ethylene diamine tetra acetic acid) tüpe alındıktan sonra İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Tanı Merkezine transfer edilmiştir. Genomik DNA izolasyonu, hastaların 200 µl kan örneği ile QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak spin kolon yöntemi ile QIAcube® cihazında (Qiagen, Almanya) üreticinin önerdiği protokollerle otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Aşağıdaki aşamaları içermektedir.

- 1) Çalışmaya başlamadan önce solüsyonlar çıkarılarak oda sıcaklığına getirilir.

- 2) 1,5 ml'lik ependorflara etiketleme yaptıktan sonra, ependorf tüpler, Rotor adaptörler ve spin kolonlar belirtilen konfigürasyonda QIAcube cihazına yerleştirilir.
- 3) Her örnek için 20 µl proteinaz K mikrosantrifüj tüplerine eklendikten sonra 200 mikrolitre kan eklenir.
- 4) Her örneğe 200 µl Buffer AL, 200 µl etanol, 500 µl Buffer AW1, 500 µl Buffer AW2 ve 200 µl Buffer AE solüsyonları cihaza belirtilen prosedürlere uygun olarak eklendikten sonra QIAamp DNA Blood Mini Kit prosedürüne göre QIAcube cihazında otomatik DNA izolasyonu yapılır.

#### **3.2.2.1 DNA'nın kalite ve miktar tayinleri**

DNA izolasyonundan sonra DNA'nın konsantrasyon analizi için Qubit® (Thermo Fisher Scientific, USA) florometre ile ölçüm yapılmıştır. DNA'nın florometrik ölçümü spesifik olarak DNA'ya bağlanan florojenik boyaların kullanımıyla bir UV ışını ile uyardıktan sonra yayılan dalga boyunun flometreler ile ölçülmesine dayanır.

- 1) Standart ve örneklerin ölçümü için Working solution hazırlanır.
- 2) Working solutiona; 1 µl Reagent ve 199 µl HS Buffer eklenir.
- 3) Önce standartların ölçümü için, 2 ayrı standart tüpünden birine 190 µl Working solution ve 10 µl Standart 1, diğer tüpe de 190 µl Working solution ile 10 µl Standart 2 eklendikten sonra kısa bir vortex-spin sonrasında standartların ölçümleri yapılır.
- 4) Örneklerin DNA kalite ve miktar ölçümü için 198 µl Working solution ve ependorf tüplerinden 2 µl DNA örneği alınarak özel Qubit tüplerine eklenir.
- 5) 2 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra Qubit cihazı açılarak dsDNA-dsDNA High Sensitivity programı seçilerek örnekler ölçülür.
- 6) Ölçümden sonra DNA örneklerinin konsantrasyonu 10 ng/µl olacak şekilde nuclease free su ile dilüe edilir.

#### **3.2.3 Kütüphane hazırlanması**

Hastalardan elde edilen genomik DNA'dan kütüphane hazırlanması için, DNA örneğinin enzimatik yöntemler kullanılarak rastgele fragmanlara ayrılması, pürifikasyonu, DNA uç onarımı, elde edilen DNA fragman zincirlerinin 3' ucuna "A" nükleotidi eklenmesi, pürifikasyon, ardından fragmanlarının her iki ucuna adaptör

bağlanması, PCR ile amplifikasyon, bağlanmayan adaptörlerin uzaklaştırılması için purifikasyon, hedef zenginleştirme işlemi için QIAseq Targeted DNA Panel kiti ile prop hibridizasyonu, fragmanlardan hibridize olmayanların uzaklaştırılması için purifikasyon, hedef kütüphanenin seçilmesi ve amplifikasyon sonrası purifikasyon işlemleri sırasıyla yapılmıştır. Ardından dizileme ham verilerini elde etmek için hazırlanan kütüphane NGS platformunda Miseq® de (Illumina, ABD) yürütülmüştür. Islak laboratuvar aşamaları aşağıdaki basamakları içermektedir.

### 3.2.3.1 Fragmentasyon ve 1.PCR

Genomik DNA örneği enzimatik yöntemler kullanılarak rastgele fragmanlara ayrılır.

1. Plate (plaka) çıkarılarak soğuk buz üzerine alınır.
2. Plakaya yapılan dilüsyon hesabına göre toplamı 16,75 µl olmak üzere DNA ve nükleaz içermeyen su ilave edilir.
3. 2,5 µl fragmentasyon buffer (10x) ve 0,75 µl FERA (Fragmentation, end-repair, and A-addition) solüsyonu spin-vortex-spin yapılarak ve 5 µl fragmentasyon enzim mix vortekslenmeden plakaya koyulur.
4. Plaka Thermalcycle'a konularak ve aşağıdaki PCR programına göre reaksiyon başlatılır (Tablo 3.2).

Tablo 3.2 DNA Fragmentasyon PCR Protokolü

|   | İnkübasyon sıcaklığı | İnkübasyon zamanı |
|---|----------------------|-------------------|
| 1 | 4°C                  | 1 dk              |
| 2 | 32°C                 | 24 dk             |
| 3 | 72°C                 | 30 dk             |
| 4 | 4°C                  | Bekleme           |

### 3.2.3.2 Adaptör Bağlanması, 2. PCR

PCR dan sonra 25 µl örnekler buza konularak adaptör bağlanması aşamasına geçilir.

1. DNA ligasyonu için gerekli ajanlar hazırlanır. Ligasyon Tamponu (5x) ve Ligasyon Solüsyonunu oda sıcaklığında çözüldükten sonra buz üzerinde çalışılır.

Tüp hafifçe sallanarak karıştırıldıktan sonra kısaca santrifüjlenir. DNA Ligaz, kullanımdan hemen önce dondurucudan çıkardıktan sonra buz üzerine yerleştirilmelidir.

2. Adaptör ligasyon karışımı aşağıdaki tablodaki oranlara göre hazırlanır (Tablo 3.3). Ligasyon solüsyonu çok viskoz olduğundan her reaksiyona ayrı ayrı eklenmelidir.

Tablo 3.3 Adaptör ligasyon karışım komponentleri

| KOMPONENT                          | HACİM/REAKSİYON |
|------------------------------------|-----------------|
| FERA reaksiyonu (zaten tüpte olan) | 25 µl           |
| Ligasyon Buffer, 5x                | 10 µl           |
| IL-N7## adapter                    | 2,8 µl          |
| DNA ligaz                          | 5 µl            |
| Ligasyon Solüsyonu                 | 7,2 µl          |
| Toplam                             | 50 µl           |

3. Reaksiyonlar aşağıdaki tabloya göre Thermalcycle'a koyularak inkübe edilir (Tablo 3.4).

Tablo 3.4 Adaptör ligasyon PCR aşamaları

|   | İnkübasyon sıcaklığı | İnkübasyon zamanı |
|---|----------------------|-------------------|
| 1 | 4°C                  | 1 dk              |
| 2 | 20°C                 | 15 dk             |
| 3 | 4°C                  | Bekleme           |

4. Çalışma bittiğinde, Adaptör DNA ligasyonunun temizlenmesi için her numuneye 50 µl nükleaz içermeyen su eklendikten sonra 100 µl QIAseq bead (magnetik boncuk) eklenir. Karışım pipetlenerek iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilip ardından magnetik stand üzerinde 10 dakika bekletilir.
5. Magnetik boncuklar hala manyetik stand üzerindeyken, 200 µl %80 etanol ekleyip süpernatant atılarak bu aşama 1 kez daha tekrarlandıktan sonra etanol uzaklaştırılır ve oda sıcaklığında 10 dakika boyunca havada kurutulur.

6. Boncuklar manyetik standdan çıkarıldıktan sonra 52 µl nükleaz içermeyen su eklenerek boncuklardan DNA ayrıştırılır ve pipetaj yaparak karıştırılır. Bu aşamadan sonra magnetik standın üzerine plaka koyularak solüsyon berraklaşana kadar bekletildikten sonra 50 µl süpernatant yeni tüplere aktarılır.
7. 2. Temizleme aşaması için, örnekler 50 µl QIAseq Bead ekleyip pipetleyerek iyice karıştırıldıktan 5 dakika oda sıcaklığında ve 5 dk magnetik stand üzerinde inkübe edilir. Çözelti temizlendikten sonra, boncuklar hala manyetik stand üzerindeyken, süpernatant atılır.
8. 200 µl %80 etanol eklenip süpernatant atılarak bu aşama bir kez daha tekrarlandıktan sonra etanol uzaklaştırılır ve oda sıcaklığında 15 dakika boyunca havada kurutulur.
9. Boncuklar manyetik standdan çıkarıldıktan sonra 12 µl nükleaz içermeyen su eklenerek boncuklardan DNA ayrıştırılır ve pipetaj yaparak karıştırılır. Bu aşamadan sonra magnetik stand üzerine plaka koyularak solüsyon berraklaşana kadar bekletildikten sonra 9,4 µl süpernatant yeni plakaya aktarılır.

### 3.2.3.3 Hedef Zenginleştirme Prosedürü

1. Hedef zenginleştirme için gerekli reaktifler aşağıdaki tabloya göre hazırlanır (Tablo 3.5).

Tablo 3.5 Hedef zenginleştirme protokolü reaktifleri

| Komponent                                    | Hacim/reaksiyon |
|----------------------------------------------|-----------------|
| Örnek (adaptör ligasyon protokolünden gelen) | 9,4 µl          |
| TEPCR buffer, 5x                             | 4 µl            |
| HotStarTaq DNA polimeraz                     | 0,8 µl          |
| IL-forward primer                            | 0,8 µl          |
| QIAseq Targeted DNA Panel                    | 5 µl            |
| Toplam                                       | 20 µl           |

2. TEPCR Buffer (5x), QIAseq Hedefli DNA Paneli ve IL-Forward Primer oda sıcaklığında çözüldükten sonra buza koyulur. Tüpü hafifçe sallayarak karıştırdıktan sonra kısaca santrifüjlenir. HotStarTaq DNA Polimeraz, kullanımdan hemen önce dondurucudan çıkarılır ve buza yerleştirilir.

3. Hedef zenginleştirme reaksiyonu santrifüj iyice karıştırıldıktan sonra 3. PCR için Thermalcycle'a yerleştirilir. Bu aşamada epilepsi panelinde >1500 primer/tüp olduğu için aşağıdaki tablodaki PCR protokolü uygulanır (Tablo 3.6).

Tablo 3.6 Hedef zenginleştirme PCR protokolü

|                        | Zaman<br>(1,500-12,000<br>primer/tüp) | Sıcaklık     |
|------------------------|---------------------------------------|--------------|
| Başlangıç denatürasyon | 13 dk<br>2 dk                         | 95°C<br>98°C |
| 6 siklus               | 15 sn<br>15 dk                        | 98°C<br>66°C |
| 1 siklus               | 5 dk                                  | 72°C         |
| Bekleme                | ∞                                     | 4°C          |

4. Çalışma bittiğinde, her numuneyi 100 µl'ye getirmek için 80 µl nükleaz içermeyen su eklenir ve ardından 100 µl QIAseq Bead ilave edilir. Pipetajla karıştırıldıktan sonra 5 dk oda sıcaklığında ve 5 dk magnetik standda bekletilip süpernatant atılır.
5. Boncuklar hala manyetik stand üzerindeyken 200 µl %80 etanol eklenip, süpernatant atılır. Bu aşama 2. kez tekrarlandıktan sonra tüm etanol kalıntıları tamamen temizlenmelidir.
6. 10 dakika boyunca havada kurutulduktan sonra boncuklar manyetik standdan çıkarılır ve 16 µl nükleaz içermeyen su eklenerek boncuklardan DNA ayrılır. Çözelti temizlenene kadar plakayı manyetik rafa geri koyulup 13,4 µl süpernatant yeni plakaya aktarılır.

#### 3.2.3.4 Amplifikasyon (Universal PCR)

1. Universal PCR için gerekli reaktifler hazırlanır. UPCR Buffer (5x) oda sıcaklığında çözünür. Tüpü hafifçe sallayarak karıştırılır ve ardından kısaca santrifüjlenir. HotStarTaq DNA Polimeraz, kullanımdan hemen önce dondurucudan çıkarılmalı ve buza yerleştirilmelidir.
2. PCR aşağıdaki tabloya göre hazırlanır ve adaptör tüplerine eklenir (Tablo 3.7). Kısaca santrifüjlenir, pipetaj yapıldıktan sonra tekrar kısaca santrifüjlenir.

Tablo 3.7 Universal PCR Amplifikasyon karışımı hazırlanması

| Komponent                             | Hacim/reaksiyon |
|---------------------------------------|-----------------|
| Örnek (hedef zenginleştirmeden gelen) | 13,4 µl         |
| HotStarTaq DNA                        | 1µl             |
| Nükleaz free su                       | 1,6 µl          |
| UPCR, Buffer, 5x                      | 4 µl            |
| Toplam                                | 20 µl           |

3. Döngü koşullarını kullanarak bir termal cycle programlanır (Tablo 3.8)

Tablo 3.8 Termal döngü koşulları

|                        | Zaman<br>(1500-12,000 primer/tüp) | Sıcaklık     |
|------------------------|-----------------------------------|--------------|
| Başlangıç denatürasyon | 13 dk<br>2 dk                     | 95°C<br>98°C |
| 20 siklus              | 15 sn<br>2 dk                     | 98°C<br>60°C |
| 1 siklus               | 5 dk                              | 72°C         |
| Bekleme                | ∞                                 | 4°C          |

sn: saniye dk: dakika

4. Reaksiyon tamamlandıktan sonra reaksiyonlar buz üzerine yerleştirilir. 80 µl nükleaz içermeyen su ve 100 µl QIAseq Bead eklenir. Oda sıcaklığında 5 dakika ve 5 dk magnetik standda inkübe edildikten sonra süpernatant atılır.
5. 200 µl etanol eklenir sonra süpernatant atılır ve bu aşama bir kez daha tekrarlanarak önce 200 µllik sonra 10 µllik pipetle süpernatant uzaklaştırılır. Magnetik standda iken 10 dk kurutulur.
6. Boncuklar manyetik standdan çıkarılır ve 30 µl nükleaz içermeyen su eklenerek boncuklardan DNA ayrıştırılır. Daha sonra pipetleyerek iyice karıştırılır. Solüsyon temizlenene kadar plakalar manyetik standa geri koyulur.
7. 28 µl süpernatantı yeni plakaya aktarılır.

### 3.2.3.5 Kütüphane Kantifikasyonu

Hazırlanan kütüphanenin kantifikasyonu, QIAseq Library Quant Assay Kiti kullanılarak Real Time PCR (Rotor Gene) cihazında gerçekleştirilir.

1. ILMN DNA standartı buz üzerinde eritildikten sonra 5 seri dilüsyonla seyreltilir (Tablo 3.9) ILMN standart dilüsyonu için 5 tüp hazırlandıktan sonra her tüpe 45 µl dilüsyon buffer eklenir. İlk tüpe ILMN standartından alınan 5µl eklenip pipetaj yapılarak karıştırılır. Ardından ilk tüpten alınan 5 µl solüsyon 2. tüpe aktarılır ve aynı işlemler sırasıyla diğer tüpler için de tekrarlanır.

Tablo 3.9 ILMN standardının seyreltilmesi

| Standart | Illumina DNA standartı | Dilüsyon Buffer |
|----------|------------------------|-----------------|
| Std1     | 5 µl dilüe edilmemiş   | 45 µl           |
| Std2     | 5 µl Std1              | 45 µl           |
| Std3     | 5 µl Std2              | 45 µl           |
| Std4     | 5 µl Std3              | 45 µl           |
| Std5     | 5 µl Std4              | 45 µl           |

2. Kütüphane örnekleri 3 dilüsyon hazırlanır (1:50, 1:5000, 1:50000) (Tablo 3.10).

Tablo 3.10 Kütüphane örneklerinin dilüsyonu

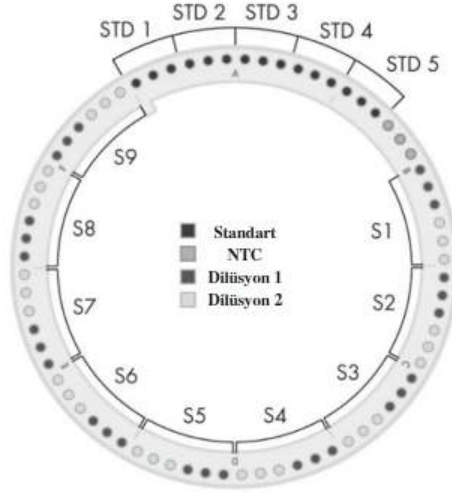
| Dilüsyon   | Kütüphane     | Dilüsyon Buffer |
|------------|---------------|-----------------|
| Dilüsyon 1 | 1 µl          | 49 µl           |
| Dilüsyon 2 | 1 µl (1:50)   | 99 µl           |
| Dilüsyon 3 | 4 µl (1:5000) | 36 µl           |

3. PCR karışımı SYBR Green ROX FAST mastermix kullanılarak aşağıdaki tablodaki oranlara göre (1 örnek için) hazırlanır (Tablo 3.11).

Tablo 3.11 PCR karışımı hazırlanması

| İçerik                        | Rotor disk 72 |
|-------------------------------|---------------|
| RNAaz/DNAaz içermeyen su      | 6,7 µl        |
| Primer mix (10 µM)            | 0,8 µl        |
| SYBR Green ROX FAST Mastermix | 10 µl         |
| Toplam hacim                  | 17,5 µl       |

4. Tüplere 17,5 µl PCR karışımı dağıtılır ve her bir tüpe 2,5 µl dilue standartlardan (3'er tekrar) sırasıyla eklenir. Ardından NTC 3 tekrar eklenir. Dilue edilen kütüphaneler (1/5000 ve 1/50.000) sırasıyla eklenir ve Real-Time PCR (Rotor Gene) cihazına yüklenir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 QIAseq Library Quant Assay Kit düzeni (Rotor 72)

5. Real time PCR cihazı (Rotor Gene) aşağıdaki döngüde kurulur ve 30 siklus sonunda floresan ışıma için data toplanır (Tablo 3.12).

Tablo 3.12 Real time PCR döngüsü

| Siklus | Süre                           | Sıcaklık                     | Yorum                                                     |
|--------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 1      | 10 dk                          | 95°C                         | HotStarTaq DNA polimeraz bu sıcaklık adımında aktive olur |
| 30     | 15 sn<br>5 sn<br>5 sn<br>60 sn | 95°C<br>68°C<br>65°C<br>60°C | Floresan data toplanması yapılır                          |

6. PCR döngüsü bittikten sonra örneklerin reaksiyona girdiği döngü (Cycle Threshold (CT)) değerleri 'Illumina Data Analiz Programı\_72'lik rotor disk için' Excel programına yüklenir. CT değeri pikomolar (pM) cinsine dönüştürülerek kütüphane kantifikasyonu tamamlanır.

### 3.2.4 Kütüphanelerin Yeni Nesil Dizi Analizi Cihazına Yüklenmesi

1. Dilüsyona başlamadan önce Illumina Experiment Manager kullanılarak SampleSheet hazırlanır.
2. Kütüphane konsantrasyonları nükleaz içermeyen su kullanılarak 4 nM'e (yükleme konsantrasyonu) indirilir.
3. Her bir örnekten 5 µl alınarak tek bir tüpte ortak kütüphane (megapol) hazırlanır.
4. Kütüphanenin denatürasyonu için, 1N stok NaOH nükleaz içermeyen su ile dilüe edilerek 0,2 N NaOH hazırlanır.
5. Ortak kütüphane tüpünden 5 µl ve 0,2 N NaOH'den 5 µl pipetajla karıştırılarak oda sıcaklığında 5 dk denatürasyona bırakılır.
6. 1,5 ml'lik ependorf tüpe Hibridizasyon buffer 990 µl eklenir. 5 dk dolduktan sonra içerisine 10 µl örnek (5 µl 4nM kütüphane ve 5 µl 0,2 N NaOH ) eklenerek 20 pM kütüphane hazırlanır.
7. Kullanılan kartuşa (v2/v3) ve kütüphaneye göre örneklerin dilüsyonuna devam edilir.(v2: 12pM, v3:15pM-20pM)
8. Yeni bir 1,5 ml'lik ependorf tüpü 'Forward primer' olarak etiketlenir. Bu tüpe 597 µl Hibridizasyon Buffer (HT1) eklendikten sonra üzerine Qiaseq A Read1 Custom Primerden 3 µl eklenir.
9. Kütüphane yüklenmesi aşamasında, kartuşun 17. pozisyonundaki kuyucuğa 600 µl kütüphane örnekleri ve 18. kuyucuğa 600 µl 'Forward primer' olarak hazırlanan tüpten 600 µl alınarak yükleme yapılır. Kartuş tanıtılarak Miseq cihazında dizileme işlemi başlatılır.

### 3.2.5 Ham Datanın Elde Edilmesi-Veri analizi

Dizilemeden sonra hedeflenmiş genlerin dizilerini içeren ham veri formatında FastQ dosyaları elde edildi. FastQ dosyaları Qiagen Clinical Insight (QCI) Analyze ile dönüştürülerek BAM (Binary Alignment/Map) ve VCF (Variant Calling Format) dosyaları analize hazır hale getirildi. Verilerin analizi için QCI Interpret yazılımı kullanıldı. Genlerin transkriptleri 'Ensembl' ve RefSeq' veri tabanlarından, protein izoform ve domain bilgileri 'UniProt' veritabanından elde edildi. Varyantların yazımı Human Genome Variation Society tarafından yayınlanan kılavuza göre yapıldı.

Elde edilen varyantlar AMP (Association for Molecular Pathology) ve ACMG tarafından yayınlanan varyantların sınıflandırma kılavuzlarına göre değerlendirilmiştir.

Varyant yorumlama için ‘Franklin Genoox’ ve ‘VarSome’ araçlarının toplu tahmin yorumları kullanılmıştır. Missense (yanlış anlamlı) varyantların etkilerini değerlendirmek için “Mutation Taster”, “SIFT”, “PolyPhen”, “CADD”, PROVEAN ve “MutPred2”, splicing (mRNA kırılma bölgesi) varyantları değerlendirmek için “Netgene2” ve “Human Splicing Finder” varyant tahmin araçları kullanılmıştır. Aile segregasyon analizleriyle birlikte patojenik, muhtemel patojenik ve klinik önemi belirsiz olarak ACMG kriterlerine göre sınıflandırılan varyantlar klinik bulgularla birlikte değerlendirilmiş ve genotip fenotip korelasyonu yapılmıştır.

### **3.2.6 VUS Varyantların Yeniden Analiz Edilmesi**

Hastaların klinik bilgileri ve genetik test sonuçları Tıbbi Genetik Anabilim Dalı arşivinden elde edilmiştir. Varyantların sınıflandırılması, veri tabanlarının ve literatür bilgilerinin güncellenmesi nedeniyle değişebileceğinden VUS varyant tespit edilen olgular yeniden analiz edilmiştir. Bu varyantların analizi için ClinVar, Franklin ve Varsome veri tabanları kullanılmıştır. Ayrıca Pubmed ve arama motorları kullanılarak varyant ile ilişkili literatürde bildirilen yayınlar incelenmiştir. VUS varyantlar son ACMG kriterlerine göre 5 kategoride sınıflandırılarak tekrar analiz edilmiştir.

### **3.2.7 Tanısal Değerin Belirlenmesi ve İstatistiksel Analiz**

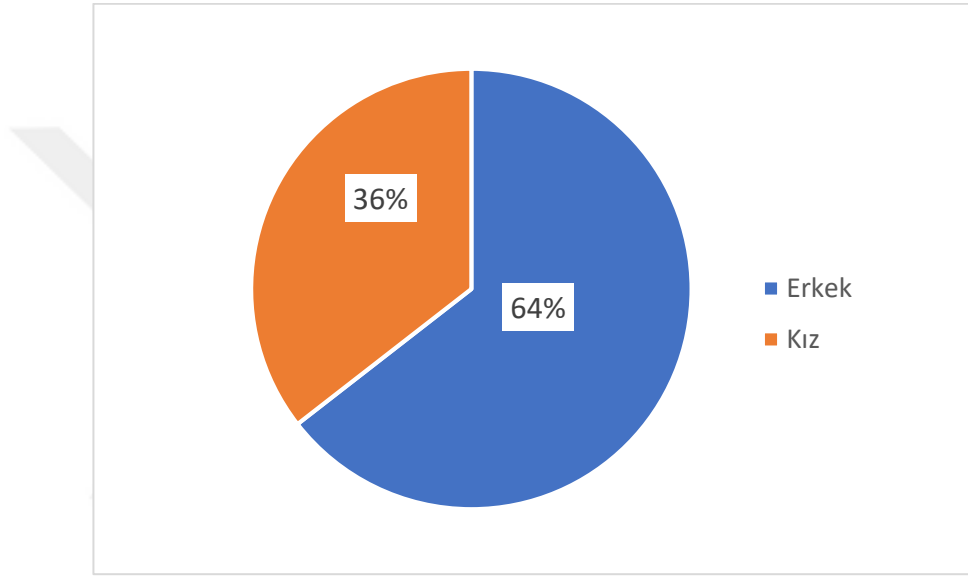
Bu çalışmada, ilk değerlendirmede patojenik (Sınıf I) ve muhtemel patojenik (Sınıf II) varyant saptanan olgular tüm hasta sayısına oranlanarak epilepsi gen panelinin prediktif değeri yüzde cinsinden (%) hesaplanmıştır. VUS (Sınıf III) varyantların yeniden analizi sonucu elde edilen nedensel varyantlar da dahil edilerek bir tanısal değer daha hesaplanmıştır. Saptanan tanısal değerler, farklı sayıda gen panellerinin prediktif değeriyle karşılaştırılmıştır.

Çalışmada hastaların elde edilen veriler Excel programına girilerek hastalarda saptanan epilepsi ilişkili klinik ve genetik bulgular arasındaki ilişki medyan, ortalama, sıklık ve oran gibi tanımlayıcı istatistiksel metodlar kullanılarak analiz edilmiştir. Tablolar ve grafikler yüzde cinsinden hesaplanarak oluşturulmuştur.

## 4.BULGULAR

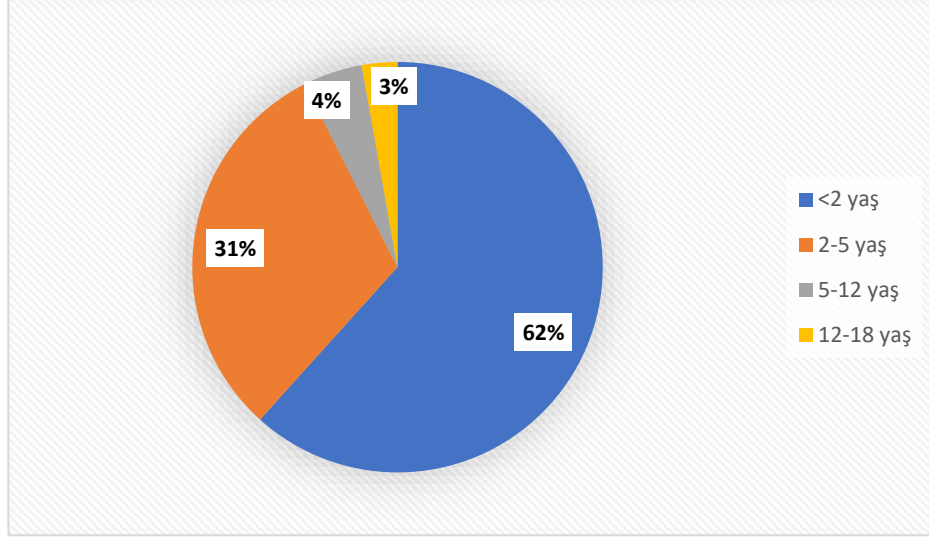
### 4.1 Klinik Bulgular

Çalışmaya İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Polikliniği'nde 2018-2021 tarihleri arasında epilepsi tanısı ile değerlendirilen ve tanı testi olarak hedefli NGS analizleri yapılmış 107 çocuk hasta (0-18 yaş) alınmıştır. Tüm olgular epilepsi tanısı ile başvurmuştur ve yaş ortalamaları 6,8'dir (8 ay-17 yaş aralığında). Bu hastaların %64,4'ü erkek, %35,6'sı kız hastadır (Şekil 4.1).



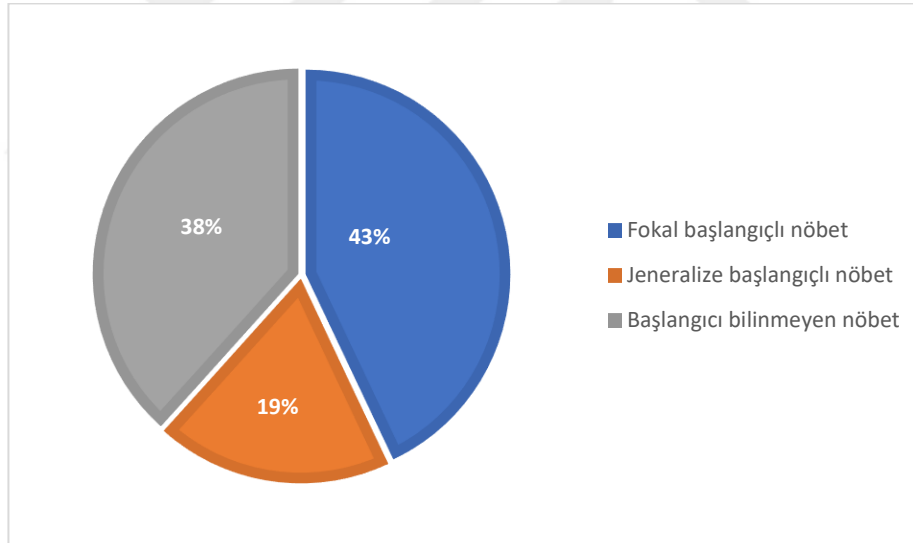
Şekil 4.1 Çalışmaya dahil edilen olguların cinsiyet dağılımı

Olguların nöbet başlangıç yaşı ortalaması 22 aydı (2 gün -13 yaş). Olguların ilk nöbeti 2. Gün ile 13 yaş arasında değişmekteydi. Hastaların nöbet başlangıç yaşı <2 yaş, 2-5 yaş, 6-12 yaş ve 13-18 yaş olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Buna göre 2 yaşından önce ilk nöbetini geçirenler %62, 2-5 yaş arası %31, 6-12 yaş grubu %4 ve 13 yaşından sonra ilk nöbetinin geçirenler hastaların %3'ünü oluşturmaktaydı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Çalışmaya dahil edilen olguları nöbet başlangıç yaşı

Hastalar başlangıç nöbet tipine göre sınıflandırıldığında fokal nöbetler (%43) en yaygın grubu oluşturmaktadır. Olguların %38'inde nöbet başlangına ulaşılamazken, jeneralize başlangıçlı nöbetler olguların %19'unu oluşturmaktadır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Olguların nöbet başlangıç tipi

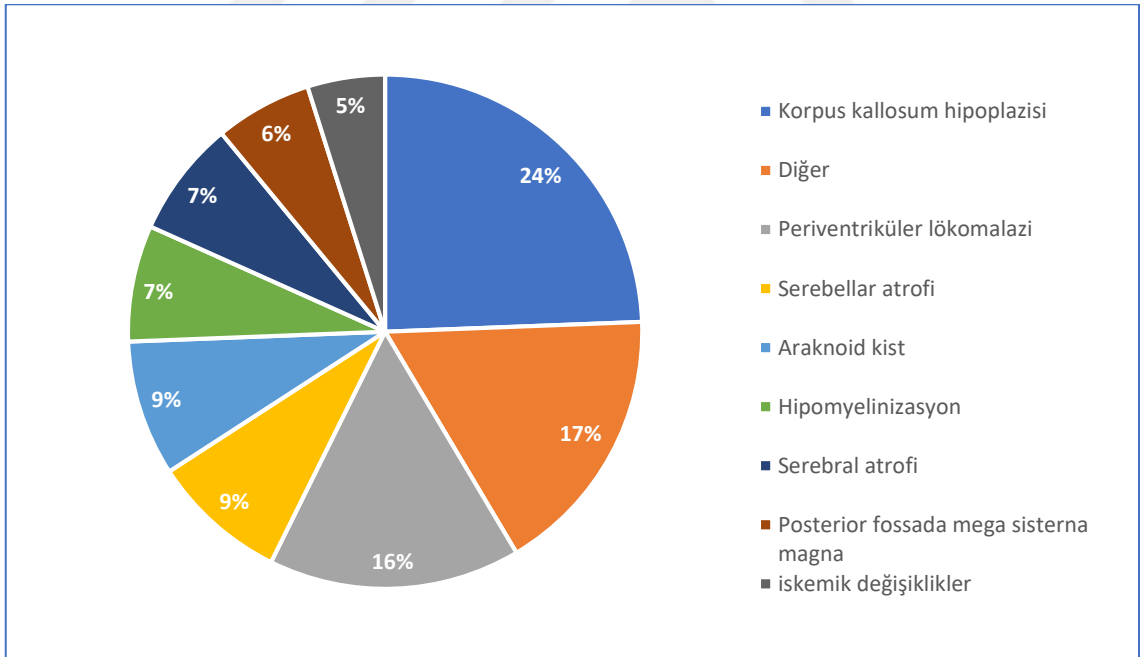
Hastaların 79'unda ailede nöbet öyküsü yokken, 28 hastanın ailesinde ve yakın akrabalarında epilepsi öyküsü vardı (%26) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Olguların bazı demografik özellikleri ve tanı prosedürleri

| Özellik                                                    | Sayısı / yüzdesi (%) |
|------------------------------------------------------------|----------------------|
| Hasta                                                      |                      |
| Erkek                                                      | 69 (%64)             |
| Kız                                                        | 38 (%36)             |
| Nöbetlerin başlangıç yaşı ortalaması                       | 22 ay                |
| Nöbet başlangıç tipi                                       |                      |
| Fokal başlangıç                                            | 46 (%43)             |
| Jeneralize başlangıç                                       | 20 (%19)             |
| Bilinmeyen başlangıç                                       | 41 (%38)             |
| Genetik test sırasında nöbet sıklığı                       |                      |
| Günlük                                                     | 21 (%20)             |
| Haftalık                                                   | 19 (%18)             |
| Aylık                                                      | 22 (%21)             |
| 6 ayda 1                                                   | 11 (%10)             |
| Yıllık                                                     | 7 (%6)               |
| Nöbet yok                                                  | 13 (%12)             |
| Bilinmeyen                                                 | 14 (%13)             |
| Gelişme geriliği                                           |                      |
| Var                                                        | 63 (%59)             |
| Yok                                                        | 37 (%35)             |
| Bilinmeyen                                                 | 7 (%6)               |
| Genetik test sırasında antiepileptik ilaç kullanımı sayısı |                      |
| 0                                                          | 3 (%3)               |
| 1                                                          | 50 (%47)             |
| 2                                                          | 21 (%20)             |
| 3                                                          | 23 (%21)             |
| 4                                                          | 10 (%9)              |
| Beyin MRI' da anormallikler saptanması                     |                      |
| Var                                                        | 51 (%48)             |
| Yok                                                        | 45 (%42)             |
| Bilinmeyen                                                 | 11 (%10)             |

|             |          |
|-------------|----------|
| Aile öyküsü |          |
| Var         | 28 (%26) |
| Yok         | 79 (%74) |

Beyin MRI görüntüleme bulguları incelendiğinde, 45 hastanın (%42) beyin MRI görüntülemesi normalken, hastaların 51'inde (%48) beyinde çeşitli anormaller tespit edildi ve 11 hastanın (%10) beyin MRI bilgisine ulaşamadı. Buna göre bu hastalarda korpus kallosum hipoplazisi (%24) ve periventriküler lökomalazi (%16) beyin MRI ile saptanan en yaygın bozukluklardı. Diğer MRI bulguları, serebellar atrofi, araknoid kist, hipomyelinizasyon, serebral atrofi, posterior fossada mega sisterna magna, periventriküler beyaz cevherde sinyal artışı, iskemik değişiklikler ve diğer anomaliler (kavernom, astrositom, kavum septum pellucidum et vargae varyasyonu, pakigri, polimikrogri, J tipi sella görünümü, kortikal displazi, korpus kallosum agenezisi, subdural efüzyon, gri cevher heterotropisi, subependimal multiple nodüller ve ventrikül dilatasyonu) saptandı (Şekil 4.4).

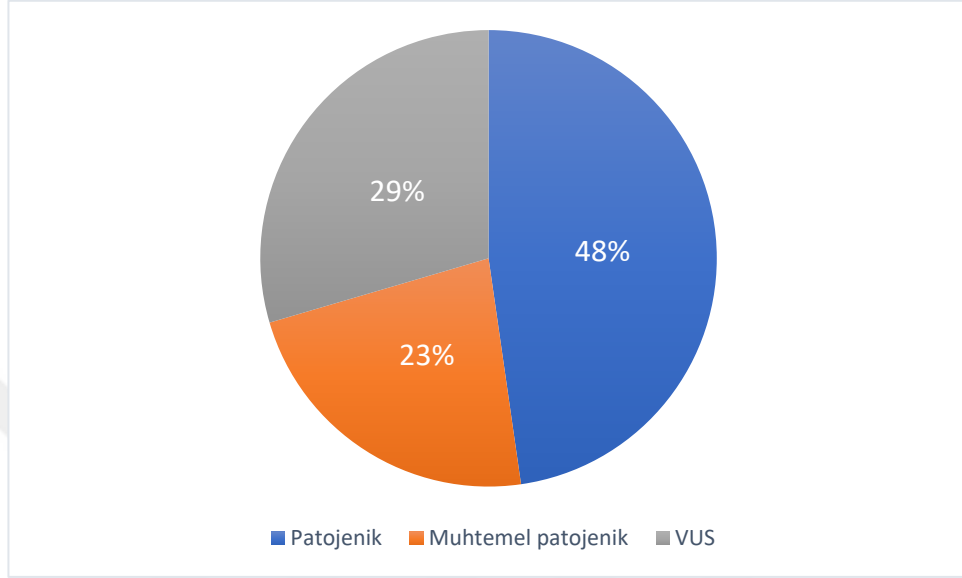


Şekil 4.4 Çalışmaya dahil edilen olgularda saptanan beyin MRI bulguları

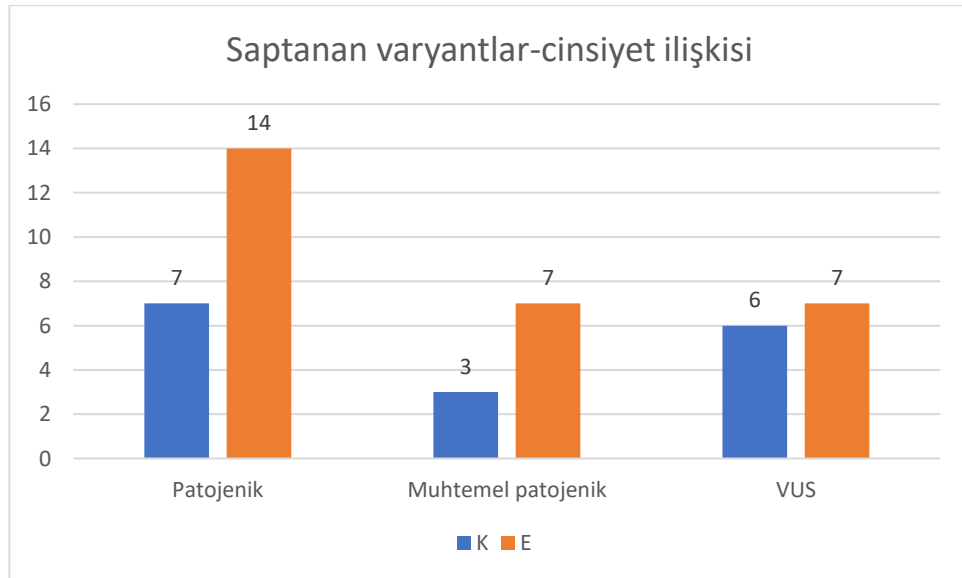
#### 4.2 Yeni Nesil Dizileme Bulguları

Hedefli yeni nesil dizileme ile hastalarda ACMG sınıflamasına göre 20 patojenik, 5 muhtemel patojenik ve 49 klinik önemi bilinmeyen olmak üzere 74 varyant saptanmıştır. VUS varyantlar yeniden analiz edildikten sonra 15'i benign, 15'i muhtemel benign, 5'i muhtemel patojenik, 1'i patojenik olmak üzere 36 varyantın ACMG

sınıflandırması değişmiş ve 13 VUS varyantın sınıflaması değişmemiştir. Buna göre toplamda 31 patojenik- muhtemel patojenik (P, LP) ve 13 VUS varyant tespit edilmiştir. Olgularda saptanan varyant türleri Şekil 4.5'de ve saptanan varyantların cinsiyete göre dağılımı Şekil 4.6' da gösterilmiştir.



Şekil 4.5 Olgularda bulunan varyantların patojenitelerinin sınıflandırılması



Şekil 4.6 Olgularda saptanan varyantların patojenite ve cinsiyet ilişkisi

Hastalarda saptanan patojenik, muhtemel patojenik ve VUS varyantlar Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Olgularda saptanan patojenik, muhtemel patojenik ve VUS varyantlar

| Hasta No | Gen            | Nükleotid Değişimi                              | Aminoasit değişimi          | Zigosite | Patojenite Sınıfı | Transkript numarası |
|----------|----------------|-------------------------------------------------|-----------------------------|----------|-------------------|---------------------|
| 2        | <i>SCN2A</i>   | c.4141A>T                                       | p.N1381Y                    | HET      | 2                 | NM_0010401<br>42.3  |
| 5        | <i>TSC1</i>    | c.2407dupT                                      | p.C803fs*23                 | HET      | 2                 | NM_000368.5         |
| 7        | <i>SCN1A</i>   | c.3749C>T                                       | p.T1250M                    | HET      | 3                 | NM_0011659<br>63.4  |
| 10       | <i>CACNA1H</i> | c.3422_3442del<br>GGCGCTCCA<br>GCTGGAGCA<br>GCC | p.R1141_S1147de<br>IRRSSWSS | HET      | 3                 | NM_021098.3         |
| 11       | <i>MECP2</i>   | c.916C>T                                        | p.R306C                     | HET      | 1                 | NM_004992.4         |
| 18       | <i>TSC2</i>    | c.1831C>T                                       | p.R611W                     | HET      | 1                 | NM_000548.5         |
| 19       | <i>TSC2</i>    | c.4258_4261del<br>TCAG                          | p.S1420fs*55                | HET      | 1                 | NM_000548.5         |
| 21       | <i>TSC2</i>    | c.1832G>A                                       | p.R611Q                     | HET      | 1                 | NM_000548.5         |
| 24       | <i>GABRA1</i>  | c.961T>C                                        | p.Y321H                     | HET      | 2                 | NM_0011276<br>48.2  |
| 29       | <i>KCNQ2</i>   | c.923C>T                                        | p.P308L                     | HET      | 1                 | NM_0013822<br>35.1  |
| 31       | <i>SCN1A</i>   | c.4757G>A                                       | p.G1586E                    | HET      | 1                 | NM_0011659<br>63.4  |
| 33       | <i>SCN1A</i>   | c.4554dupA                                      | p.P1519fs*18                | HET      | 1                 | NM_0011659<br>63.4  |

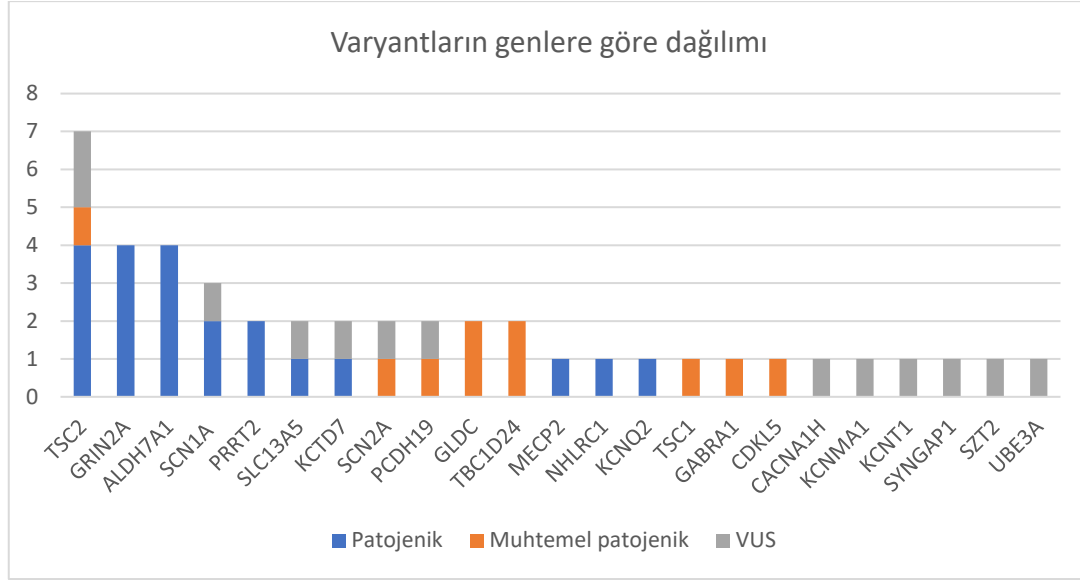
|    |                |                       |             |     |   |                    |
|----|----------------|-----------------------|-------------|-----|---|--------------------|
| 34 | <i>SZT2</i>    | c.3941_3943dup<br>GCA | p.S1314dup  | HET | 3 | NM_015284.4        |
| 36 | <i>SCN2A</i>   | c.1964C>G             | p.S655C     | HET | 3 | NM_0010401<br>42.3 |
| 38 | <i>GRIN2A</i>  | c.2190C>G             | p.Y730*     | HET | 1 | NM_00833.5         |
| 41 | <i>PRRT2</i>   | c.621dupA             | p.S208fs*17 | HET | 1 | NM_145239.3        |
| 43 | <i>TBC1D24</i> | c.28G>A               | p.V10M      | HOM | 2 | NM_0011991<br>07.2 |
| 47 | <i>ALDH7A1</i> | c.1597delG            | p.A533fs*   | HOM | 1 | NM_001182.5        |
| 48 | <i>TSC2</i>    | c.5138G>A             | p.R1713H    | HET | 2 | NM_000548.5        |
| 49 | <i>PRRT2</i>   | c.649dupC             | p.R217fs*8  | HET | 1 | NM_0012564<br>42.2 |
| 50 | <i>KCTD7</i>   | c.280C>T              | p.R94W      | HET | 1 | NM_153033.5        |
|    | <i>KCTD7</i>   | c.719A>T              | p.D240V     | HET | 3 | NM_153033.5        |
| 52 | <i>GRIN2A</i>  | c.2190C>G             | p.Y730*     | HET | 1 | NM_00833.5         |
| 55 | <i>GRIN2A</i>  | c.2190C>G             | p.Y730*     | HET | 1 | NM_00833.5         |
| 58 | <i>ALDH7A1</i> | c.328C>T              | p.R110*     | HOM | 1 | NM_001182.5        |
| 59 | <i>UBE3A</i>   | c.707T>C              | p.I236T     | HET | 3 | NM_130839.5        |
| 67 | <i>TSC2</i>    | c.1831C>T             | p.R611W     | HET | 1 | NM_000548.5        |
| 69 | <i>TBC1D24</i> | c.28G>A               | p.V10M      | HOM | 2 | NM_0011991<br>07.2 |
| 71 | <i>TSC2</i>    | c.2506A>G             | p.T836A     | HET | 3 | NM_000548.5        |
|    | <i>PCDH19</i>  | c.1529C>A             | p.P510H     | HEM | 3 | NM_0011848<br>80.2 |

|     |                |                           |            |     |   |                    |
|-----|----------------|---------------------------|------------|-----|---|--------------------|
|     | <i>KCNT1</i>   | c.3451G>C                 | p.E1151Q   | HET | 3 | NM_020822.3        |
| 77  | <i>GLDC</i>    | c.560C>A                  | p.T187K    | HET | 2 | NM_000170.3        |
|     | <i>GLDC</i>    | c.2195A>T                 | p.N732I    | HET | 2 | NM_000170.3        |
| 80  | <i>ALDH7A1</i> | c.1597delG                | p.A533fs*  | HOM | 1 | NM_001182.5        |
| 82  | <i>GRIN2A</i>  | c.2190C>G                 | p.Y730*    | HET | 1 | NM_000833.5        |
| 88  | <i>SYNGAP1</i> | c.3963_3964del<br>AGinsCC | p.A1322P   | HET | 3 | NM_006772.3        |
| 89  | <i>TSC2</i>    | c.226-3C>G                | -          | HET | 3 | NM_000548.5        |
| 90  | <i>ALDH7A1</i> | c.1597delG                | p.A533fs*  | HOM | 1 | NM_001182.5        |
| 91  | <i>NHLRC1</i>  | c.436G>A                  | p.D146N    | HOM | 1 | NM_198586.3        |
| 92  | <i>KCNMA1</i>  | c.2303A>C                 | p.E768A    | HET | 3 | NM_0010147<br>97.3 |
| 99  | <i>SLC13A5</i> | c.997C>T,                 | p.R333*    | HET | 1 | NM_177550.5        |
|     | <i>SLC13A5</i> | c.1597A>G                 | p.N533D    | HET | 3 | NM_177550.5        |
| 105 | <i>CDKL5</i>   | c.1415_1416del<br>CA      | p.T472fs*6 | HEM | 2 | NM_003159.2        |
| 107 | <i>PCDH19</i>  | c.1178C>T                 | p.P393L    | HET | 2 | NM_0011848<br>80.2 |

HET: Heterozigot, HEM: Hemizigot, HOM: Homozigot

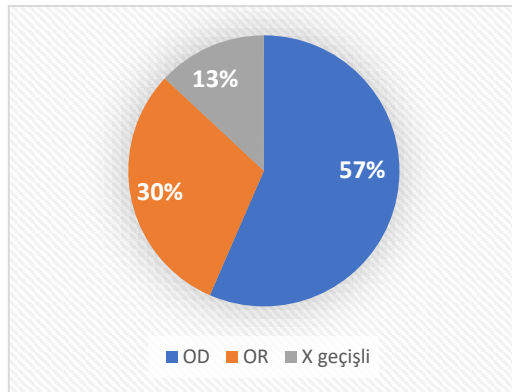
Çalışmada 23 farklı gende 44 varyant (P(21), LP(10), VUS(13)) tespit edildi. Buna göre *TSC2* geninde 4 patojenik, 1 muhtemel patojenik ve 2 VUS varyant saptandı. Tüm hastaların %6,5'unda (7/107), varyantların ise %16'ünde (7/44) *TSC2* varyantı bulundu. *ALDH7A1* ve *GRIN2A* geninde 4 patojenik, *PRRT2* 2 patojenik varyant, *SCN1A* geninde 2 patojenik ve 1 VUS varyant, *MECP2*, *NHLRC1* ve *KCNQ2* geninde 1 patojenik varyant tespit edildi. *SCN2A* ve *PCDH19* geninde 1 muhtemel patojenik ve 1 VUS varyant saptandı. *GLDC* geninde 2 muhtemel patojenik varyant, *SLC13A5* ve *KCTD7* geninde 1

patojenik ve VUS varyant ile segregasyon analiziyle bileşik heterozigotluk saptandı. *TBC1D24* geninde homozigot 2 muhtemel patojenik tespit edildi. *TSC1*, *GABRA1* ve *CDKL5* geninde sadece muhtemel patojenik varyant saptanırken 6 varyant sadece VUS'du. Varyantların genlere göre dağılımı ve patojenitesi şekil 4.7'de gösterilmiştir.

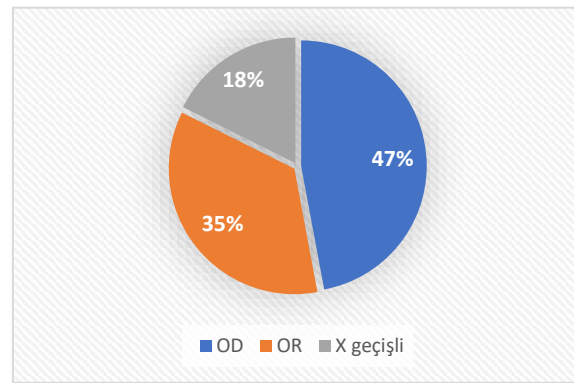


Şekil 4.7 Epilepsi Hastalarında tespit edilen patojenik, muhtemel patojenik, VUS Varyantların Genlere Göre Dağılımı

Hastalarda saptanan 23 farklı genin 13'ünün (*GRIN2A*, *TSC2*, *SCN1A*, *CACNA1H*, *PRRT2*, *SCN2A*, *SYNGAP1*, *KCNQ2*, *TSC1*, *GABRA1*, *KCNMA1*, *UBE3A*, *KCNT1*) otozomal dominant, 7'sinin (*ALDH7A1*, *NHLRC1*, *SLC13A5*, *GLDC*, *TBC1D24*, *KCTD7*) otozomal resesif ve 3'ünün X'e bağlı (*MECP2*, *PCDH19*, *CDKL5*) kalıtım paterni gösterdiği saptandı. Varyant saptanan genlerin kalıtım paternleri Şekil 4.8 ve 4.9'da gösterilmiştir.

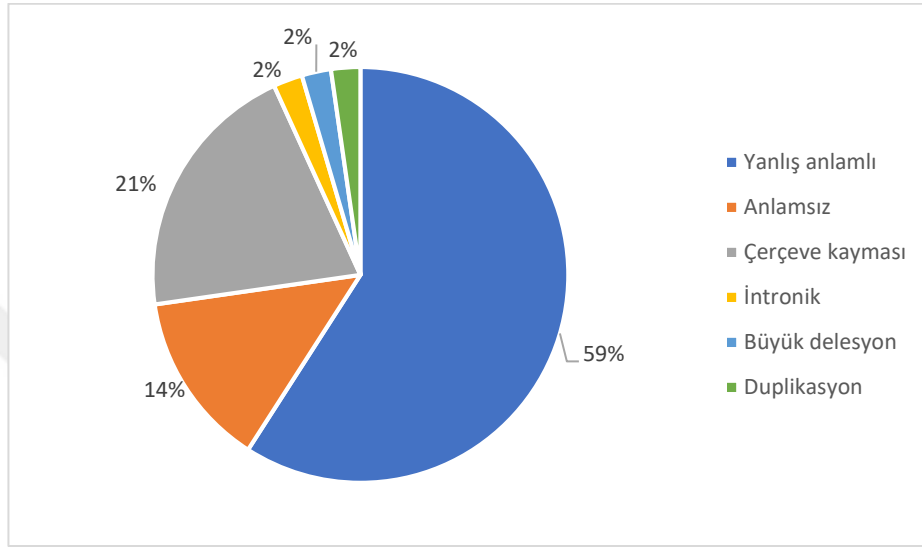


Şekil 4.8 P, LP ve VUS varyant saptanan genlerin kalıtımı



Şekil 4.9 P ve LP varyant saptanan genlerin kalıtımı

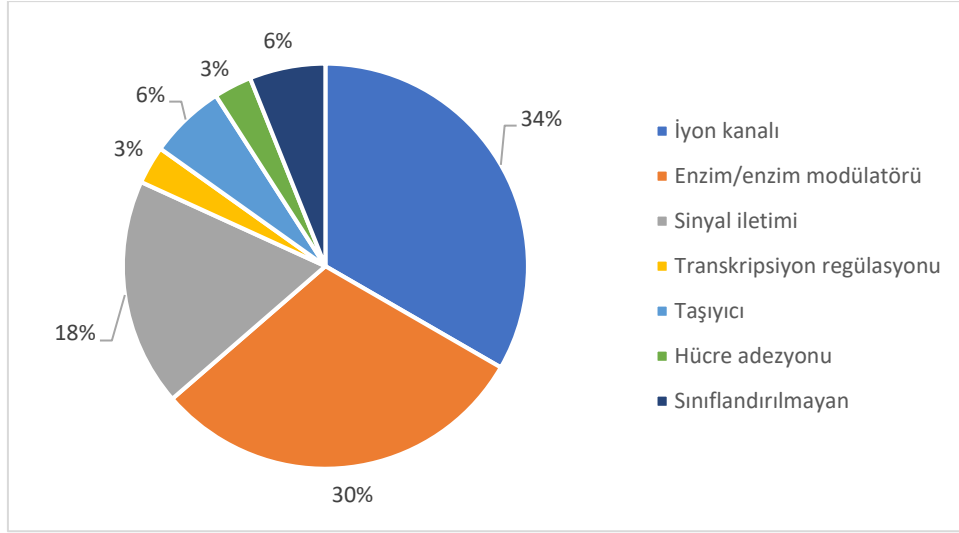
Olgularda saptanan varyantlar mutasyon tiplerine göre değerlendirildi. Buna göre en sık tespit edilen mutasyon tipi yanlış anlamlı (%59) mutasyondur. Varyantların %20'sinde çerçeve kayması, %14'ünde anlamsız mutasyon ve %7'inde diğer mutasyon tipleri saptandı. Olgularda tespit edilen nedensel varyantların mutasyon tipleri şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10 Olgularda tespit edilen varyantların mutasyon tipleri

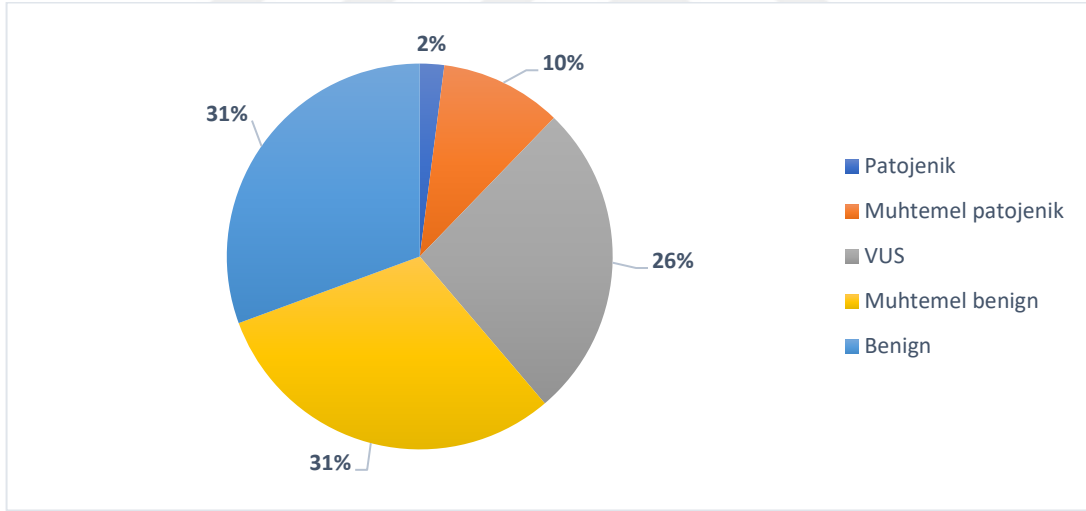
Varyantların (P, LP ve VUS) %39'inde iyon kanalı kodlayan genlerde (*SCN1A*, *SCN2A*, *SCN8A*, *KCNQ2*, *KCNMA1*, *KCNT1*, *KCTD7*, *CACNA1H*, *GABRA1*, *GRIN2A*) saptanırken, sinyal iletimi genleri (%20), enzim kodlayan genler (%13), transkripsiyonu düzenleyen genler (%5), taşıyıcı proteinleri kodlayan genler (%5), enzim modülatörü genler (%4), hücre adezyonu proteinini kodlayan genler (%4) ve sınıflandırılmayan genler (%10) tespit edildi. P ve LP varyantların kodladığı proteinlerin fonksiyonel sınıflamasında ise en sık iyon kanalı kodlayan genlerde (%34) (*SCN1A*, *SCN2A*, *KCNQ2*, *KCTD7*, *GRIN2A*, *GABRA1*) saptandı. Patojenik varyantların %30'u ise enzim/enzim modülatörü (*CDKL5*, *GLDC*, *NHLRC1*, *TBC1D24*, *ALDH7A1*) kodlayan genlerde tespit edildi.

Varyant saptanan genlerin kodladığı proteinlerin fonksiyon sınıflandırması şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11 P ve LP Varyant saptanan genlerin kodladığı proteinlerin fonksiyon sınıflandırması

Hastalarda tespit edilen ‘VUS’ varyantlar son ACMG kriterlerine yeniden değerlendirildiğinde, varyantların %26’sı VUS, %31’i benign, %31’i muhtemel benign, %10 muhtemel patojenik ve %2 patojenik varyant olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3 ve Şekil 4.12).



Şekil 4.12 Tekrar analiz edilen VUS varyantların patojenite sınıflaması

Tablo 4.3 Klinik önemi değişen VUS varyantlar

| Varyant                                        | ACMG<br>(2018-2021) | ACMG<br>(2022)     |
|------------------------------------------------|---------------------|--------------------|
| <i>KCTD7</i> : c.280C>T HET (NM_153033.5)      | VUS                 | Patojenik          |
| <i>TBCID24</i> : c.28G>A HOM (NM_001199107.2)  | VUS                 | Muhtemel patojenik |
| <i>GABRA1</i> : c.961T>C HET (NM_001127644.2)  | VUS                 | Muhtemel patojenik |
| <i>GLDC</i> : c.2195A>T HET (NM_000170.3)      | VUS                 | Muhtemel patojenik |
| <i>PCDH19</i> : c.1178C>T HET (NM_001184880.2) | VUS                 | Muhtemel patojenik |

|                                                  |     |                    |
|--------------------------------------------------|-----|--------------------|
| <i>TBC1D24</i> : c.28G>A HOM ((NM_001199107.2)   | VUS | Muhtemel patojenik |
| <i>GABRG2</i> : c.653C>T HET (NM_198903.2)       | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>SYNGAP1</i> : c.3885+107C>G HET (NM_006772.3) | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>CHRNA2</i> : c.223C>T HET (NM_000742.4)       | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>NOL3</i> : c.185T>C HET ((NM_001185057.2)     | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>GRIN2B</i> : c.2199A>G HET (NM_000834.5)      | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>CDKL5</i> : c.3083C>T HEM (NM_003159.2)       | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>SPTAN1</i> : c.374T>C HET (NM_001130438.3)    | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>SCN1B</i> : c.632G>A HET (NM_001037.5)        | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>NOL3</i> : c.185T>C HET ((NM_001185057.2)     | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>SPTAN1</i> : c.374T>C HET (NM_001130438.3)    | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>SPTAN1</i> : c.3641G>A HET (NM_001130438.3)   | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>NOL3</i> : c.185T>C HET ((NM_001185057.2)     | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>SYN1</i> : c.1424A>C HEM (NM_133499.2)        | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>DEPDC5</i> : c.257A>C HET (NM_001136029.3)    | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>SCN8A</i> : c.3491-4C>T HET (NM_001177984.2)  | VUS | Muhtemel benign    |
| <i>SCN1B</i> : c.749G>A HET (NM_001037.5)        | VUS | Benign             |
| <i>SCN2A</i> : c.1976G>A HET (NM_001040142.3)    | VUS | Benign             |
| <i>CHRNA2</i> : c.202C>T HET (NM_000742.4)       | VUS | Benign             |
| <i>KCNQ2</i> : c.1294C>T HET (NM_172107.4)       | VUS | Benign             |
| <i>TSC2</i> : c.2539C>T HET (NM_000548.5)        | VUS | Benign             |
| <i>SZT2</i> : c.7391T>C HET (NM_015284.4)        | VUS | Benign             |
| <i>KCNQ3</i> : c.2071G>A HET ((NM_004519.4)      | VUS | Benign             |
| <i>SCN9A</i> : c.5746C>T HET (NM_001365536.1)    | VUS | Benign             |
| <i>GABRD</i> : c.659G>A HET (NM_000815.5)        | VUS | Benign             |
| <i>GRIN2A</i> : c.2899G>C HET (NM_001134407.3)   | VUS | Benign             |
| <i>PNKP</i> : c.58C>T HOM (NM_007254.4)          | VUS | Benign             |
| <i>EFHC1</i> : c.628T>C HET (NM_001172420.2)     | VUS | Benign             |
| <i>MEF2C</i> : c.309G>A HET (NM_002397.5)        | VUS | Benign             |
| <i>TCF4</i> : c.-22A>G HET (NM_001243226.3)      | VUS | Benign             |
| <i>DEPDC5</i> : c.3311C>T HET (NM_001136029.3)   | VUS | Benign             |

HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, HEM: Hemizigot

Bu çalışmada, epilepsi NGS panelinin epilepsili çocuk hastalarda ilk saptanan tanısal değeri %21,5 (P,LP) ve VUS varyantların yeniden analiz edilmesiyle %28 olarak hesaplandı.

Hesaplanan prediktif değerler tablo 4.4’de gösterilmiştir.

*Tablo 4.4 Hedeflenmiş NGS panelinin epilepsili çocuk hastalarda tanısal değeri*

|                                                                 | <b>Prediktif Değer</b> |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------|
| <b>ilk değerlendirme Patojenik ve Muhtemel Patojenik (n=23)</b> | <b>%21,5</b>           |
| <b>VUS varyantların yeniden analizi sonucu (n=30)</b>           | <b>%28</b>             |
| <b>(Patojenik, Muhtemel Patojenik + VUS)</b>                    |                        |

VUS, muhtemel patojenik ve patojenik varyant saptanan hastaların klinik özellikleri ve bulguları Tablo 4.5 de özetlenmiştir.

Tablo 4.5 VUS, muhtemel patojenik ve patojenik varyant saptanan hastaların klinik bulguları

| Olgu | Yaş | K/<br>E | Nöbet<br>başlangıç<br>yaşı | Nöbet<br>başlangıç<br>Tipi | Ek klinik bulgular                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Beyin MR                                        | Varyant                                                                 | Varyant<br>sınıfı |
|------|-----|---------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 2    | 9 y | E       | 1 ay                       | Fokal                      | Dikkat eksikliği hiperaktivite, stereotipik hareketler, nöromotor gerilik                                                                                                                                                                                                                                                                                                | N                                               | SCN2A:c.4141A>T,<br>p.N1381Y HET                                        | 2                 |
| 5    | 16y | E       | 12 y                       | Fokal                      | İnguinal herni, burun kenarlarında ve çenede anjiofibrom, periungual fibrom (5-6 yıldır), pulmoner emboli öyküsü                                                                                                                                                                                                                                                         | Sol pariyetalde yaklaşık 13 mm çapında kavernom | TSC1:c.2407dupT,<br>p.C803fs*23                                         | 2                 |
| 7    | 10y | E       | 1 y                        | Fokal                      | Nöromotor gelişme geriliği, torakolomber kifoskolyoz, kelebek vertebra, T3 vertebra distalinde siringomyeli.<br>Meningomyelosel ve gergin omurilik opere, hidrosefali nedeniyle şant takılmış<br>Batın USG: Sol böbrek parankim ekosu grade III artmış, Sol böbrek üst zon kaliksleri ektazik görünümde<br>VCUG: solda grade 3 reflü ile birlikte prostatik üretra geniş | Korpus kallosum ince, chiari malformasyonu      | SCN1A:c.3749C>T,<br>p.T1250M HET                                        | 3                 |
| 10   | 4y  | K       | 2y                         | Jeneralize                 | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | N                                               | CACNA1H:c.3411_3431delCTGGAGCAGCCGGCGCTCCAG,p.R1141_S1147delRRSSWSS HET | 3                 |
| 11   | 13y | K       | 18 ay                      | Jeneralize                 | Nöromotor gelişim 1,5 yaşına kadar normalken 1,5 yaşından sonra kazanılmış becerilerin kaybı mevcut, mikrosefali, strabismus, stereotipik hareketler                                                                                                                                                                                                                     | Serebral atrofi                                 | MECP2:c.916C>T,<br>p.R306C HET                                          | 1                 |
| 18   | 3y  | E       | 2y                         | Fokal                      | Böbrekte anjiomyolipom                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | N                                               | TSC2:c.1831C>T,<br>p.R611W HET                                          | 1                 |

|    |     |   |       |            |                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                |                                                                 |        |
|----|-----|---|-------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------|
| 19 | 1y  | E | 9 ay  | Fokal      | Göğsünde 2x1 cm, sol bacağına 1x1 cm, sırtında 1x1 cm büyüklüğünde hipopigmente lezyonlar<br>EKO: Sol ventrikül hipertrofisi, en büyüğü 9x12 mm boyutunda olan aort kapağı altına uzanım gösteren her iki ventrikül içerisinde çok sayıda rabdomyom izlenmiştir. | Beyin MRI yok                                                                                                                                                                                  | TSC2: c.4258_4261 delTCAG, p.S1420fs*55                         | 1      |
| 21 | 16y | K | 1y    | Fokal      | Nöromotor gerilik<br>Beyindeki tüberler nedeniyle beyin cerrahide opere, operasyondan sonra sağ hemiplejik, sağ fasiyal paralizi<br>Toraks BT: akciğerde nodüller<br>Batin USG: dalak alt polde hamartom, her iki böbrekte anjiomiyolipom<br>EKO: Normal         | Her iki lateral ventrikül duvarında kalsifiye subependimal nodüller, dev hücreli astrositom, serebral subkortikal beyaz cevherlerde kortikal tüber ile uyumlu çok sayıda intensiteler izlendi. | TSC2:c.1832G>A, p.R611Q HET                                     | 1      |
| 24 | 6y  | E | 11 ay | Jeneralize | Dirençli epilepsi, fototerapi öyküsü, nöromotor gelişim geriliği<br>Otizm nedeniyle takipli, diğer insanlarla iletişimi zayıf, hayali arkadaşı var                                                                                                               | N                                                                                                                                                                                              | GABRA1:c.961T>C, p.Y321H HET                                    | 2      |
| 29 | 4y  | E | 1 ay  | Jeneralize | Nöromotor gelişim geriliği, hipotoni, konstipasyon                                                                                                                                                                                                               | Korpus kallosum ince, hipomyelinizasyon                                                                                                                                                        | KCNQ2:c.923C>T, p.P308L HET                                     | 1      |
| 31 | 13y | E | 6 ay  | Bilinmeyen | Skolyoz                                                                                                                                                                                                                                                          | N                                                                                                                                                                                              | SCN1A:c.4757G>A, p.G1586E HET                                   | 1      |
| 33 | 2y  | E | 1y    | Fokal      | Skolyoz                                                                                                                                                                                                                                                          | N                                                                                                                                                                                              | SCN1A:c.4554dupA, p.P1519fs*18 HET                              | 1      |
| 34 | 11y | K | 3ay   | Bilinmeyen | Nöromotor gelişim geriliği, hipotoni                                                                                                                                                                                                                             | Korpus kallosum hipoplazik                                                                                                                                                                     | SZT2:c.7391T>C, p.V2464A HET +c.3941_3943dup GCA p.S1314dup HET | 5<br>3 |

|    |     |   |       |            |                                                                                                                                                            |                                                                                                                  |                                                                      |        |
|----|-----|---|-------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|--------|
| 36 | 4y  | K | 3 ay  | Fokal      | Sol lomber bölgede 3x1 cm hipopigmente makül mevcut, bilateral elde tek transvers çizgi, prematürite                                                       | Beyin MRI yok                                                                                                    | SCN2A:c.1964C>G,<br>p.S655C HET +<br>SPTAN1:c.374T>C,<br>p.M125T HET | 3<br>4 |
| 38 | 4y  | K | 2y    | Bilinmeyen | Mikrosefali, emme güçlüğü, spastisite                                                                                                                      | Serebellar atrofi, korpus kallosum hipoplazik, posterior fossada mega sisterna magna görünümü, hipomyelinizasyon | GRIN2A:c.2190C>G,<br>p.Y730* HET                                     | 1      |
| 41 | 2y  | E | 6 ay  | Fokal      | Göğüste cafe au lait lekesi                                                                                                                                | Korpus kallozum diffüz incelmıştır. Periventriküler derin beyaz cevherde sinyal artışı, hipomyelinizasyon        | PRRT2:c.621dupA,<br>p.S208fs*17 HET                                  | 1      |
| 43 | 3y  | K | 2y    | Jeneralize | Jeneralize tonik klonik, miyoklonik nöbet<br>Status epileptikus öyküsü, mikrosefali, ataksik yürüyüş, işitme kaybı, öğrenme güçlüğü<br>Kalça çıkığı öyküsü | Periventriküler beyaz cevherde hiperintens, diffüzyon artışı                                                     | TBC1D24: c.28G>A,<br>p.V10M HOM                                      | 2      |
| 47 | 17y | K | 4y    | Jeneralize | Jeneralize tonik klonik nöbet<br>Piridoksin tedavisine yanıtı                                                                                              | Beyin MRI yok                                                                                                    | ALDH7A1:c.1597delG,<br>p.A533fs HOM                                  | 1      |
| 48 | 11y | E | 7 ay  | Fokal      | Karın sol alt bölgede 2x3 cm hipopigmente lezyon, nöromotor gelişme geriliği, hipotoni, dirençli epilepsi, sekonder jeneralize nöbet                       | N                                                                                                                | TSC2:c.5138G>A,<br>p.R1713H HET                                      | 2      |
| 49 | 1y  | E | 10 ay | Fokal      | Nöromotor gelişme geriliği                                                                                                                                 | Periventriküler lökomalazi, korpus kallozum hipoplazik. hipomyelinizasyon, kavum septum inter pellucidum         | PRRT2:c.649dupC,<br>p.R217fs*8 HET                                   | 1      |
| 50 | 6y  | E | 3y    | Bilinmeyen | Dirençli epilepsi, nöromotor gelişme geriliği, miyoklonik nöbet, konuşma geriliği                                                                          | N                                                                                                                | KCTD7:c.280C>T,<br>p.R94W<br>HET+c.719A>T,<br>p.D240V                | 1<br>3 |

|    |     |   |        |            |                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                   |                                                                                                                          |             |
|----|-----|---|--------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 52 | 5y  | K | 4y     | Fokal      | Nöromotor gelişme geriliği, mental retardasyon                                                                                                                                                                                                                                 | Beyin MRI yok                                                     | <i>GRIN2A</i> :c.2190C>G, p.Y730*                                                                                        | 1           |
| 55 | 14y | E | 3y     | Bilinmeyen | Öğrenme güçlüğü                                                                                                                                                                                                                                                                | Beyin MRI yok                                                     | <i>GRIN2A</i> :c.2190C>G, p.Y730* HET                                                                                    | 1           |
| 58 | 3y  | E | 3 gün  | Jeneralize | Miyoklonik nöbet, dirençli epilepsi, hidrosel, hepatosplenomegali, nöromotor gelişme geriliği, hipotoni, konuşma geriliği<br>Status epileptikus öyküsü<br>Kan glutamik asit yüksekliği, hiperhomosisteinemi, pes ekinovarus, karaciğer fibrozisi, piridoksin tedavisine yanıtı | Ventrikül dilatasyonu, araknoid kist, korpus kallosum hipoplazisi | <i>ALDH7A1</i> :c.328C>T, p.R110* HOM                                                                                    | 1           |
| 59 | 10y | E | 6 ay   | Fokal      | Jeneralize tonik klonik nöbet, status epileptikus öyküsü                                                                                                                                                                                                                       | Parietooksipital atrofi, sol lateral ventrikül asimetrik dilate   | <i>UBE3A</i> :c.707T>C, p.I236T HET                                                                                      | 3           |
| 61 | 2y  | K | 20 gün | Bilinmeyen | Fototerapi öyküsü, umbilikal herni                                                                                                                                                                                                                                             | Periventriküler lökomalazi, korpus kallozum difüz ince            | <i>SCN8A</i> :c.3491-4C>T HET                                                                                            | 4           |
| 63 | 6y  | E | 2y     | Bilinmeyen | Nöromotor gelişim geriliği, fasiyal asimetri, öğrenme güçlüğü, tekrarlayan akciğer enfeksiyonu, boy kısalığı                                                                                                                                                                   | N                                                                 | <i>SPTAN1</i> :c.3641G>A, p.R1214H                                                                                       | 4           |
| 67 | 4y  | E | 1y     | Fokal      | Vücudunda 5 adet 2x1 cm hipopigmente maküller, yüzde anjiofibromlar, alında shagreen yaması                                                                                                                                                                                    | Bilateral subependimal bölgelerde multipl nodüller                | <i>TSC2</i> :c.1831C>T, p.R611W HET                                                                                      | 1           |
| 69 | 5y  | K | 3y     | Jeneralize | Jeneralize tonik klonik nöbet                                                                                                                                                                                                                                                  | N                                                                 | <i>TBC1D24</i> : c.28G>A, p.V10M HOM                                                                                     | 2           |
| 71 | 3y  | E | 1y     | Fokal      | Nöromotor gelişme geriliği, hipotoni, nistagmus, boy kısalığı, inmemiş testis, bilateral elde tek transvers çizgi, sinirlilik                                                                                                                                                  | N                                                                 | <i>TSC2</i> :c.2506A>G, p.T836A HET+<br><i>PCDH19</i> :c.1529C>A, p.P510H HEM+,<br><i>KCNT1</i> :c.3451G>C, p.E1151Q HET | 3<br>3<br>3 |

|    |      |   |     |            |                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                |                                                       |        |
|----|------|---|-----|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------|
| 77 | 5y   | E | 1y  | Bilinmeyen | Nöromotor gelişme geriliği, frontal bossing, alt ekstremitelerde spastisite, saçlı deride parsiyel alopesi, bilateral optik atrofi, solunum sıkıntısı MR spektroskopik incelemede; 3,5-3,55 seviyelerinde glisin pikinin olduğu metabolik spektro izlenmektedir<br>EKO:patent foramen ovale | Posterior fossada mega sisterna magna görünümü, korpus kallozum splenium agenezisi             | GLDC:c.560C>A, p.T187K HET<br>+c.2195A>T, p.N732I HET | 2<br>2 |
| 79 | 8y   | E | 1y  | Bilinmeyen | Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu Boyunda ve karında 1x3 cm hipopigmente maküller, sağ dirsekte cafe au lait lekesi Batın USG: Hepatomegali, sol böbrekte 8 mm, sağ böbrek orta zonda 18 mm çapında kist izlendi.<br>EKO: Artiyal septal defekt                                      | Araknoid kist                                                                                  | SYN1:c.1424A>C, p.Q475P HEM                           | 4      |
| 80 | 11ay | E | 1ay | Jeneralize | Solunum sıkıntısı, emme güçlüğü, piridoksin tedavisine yanıtı                                                                                                                                                                                                                               | Beyin MRI yok                                                                                  | ALDH7A1:c.1597delG, p.A533fs*                         | 1      |
| 82 | 10y  | E | 1y  | Fokal      | Nöromotor gelişme geriliği, sinirlilik, konuşmada gerilik                                                                                                                                                                                                                                   | Mega sisterna magna                                                                            | GRIN2A:c.2190C>G, p.Y730* HET                         | 1      |
| 88 | 13y  | K | 7y  | Jeneralize | Nöromotor gelişme geriliği, mental retardasyon                                                                                                                                                                                                                                              | Beyin MRI yok                                                                                  | SYNGAP1:c.3963_3964delAGinsCC, p.A1322P HET           | 3      |
| 89 | 16y  | E | 6y  | Fokal      | Göz: bilateral astrositom Sırtta ve bacaklarda hipopigmente lezyonları mevcut, sağ bacak üst iç kısımda 0,5x0,5 cm hiperpigmente lezyon mevcut                                                                                                                                              | Bilateral servikal kortikal ve subkortikal kesimlerde çok sayıda tüber yapıları izlenmektedir. | TSC2:c.226-3C>G HET                                   | 3      |
| 90 | 12y  | K | 3y  | Bilinmeyen | Piridoksin tedavisine yanıtı                                                                                                                                                                                                                                                                | Araknoid kist                                                                                  | ALDH7A1:c.1597delG p.A533fs HOM                       | 1      |
| 91 | 17y  | K | 12y | Bilinmeyen | Miyoklonik epilepsi                                                                                                                                                                                                                                                                         | Beyin MRI yok                                                                                  | NHLRC1:c.436G>A, p.D146N HOM                          | 1      |
| 92 | 7y   | K | 3y  | Jeneralize | Jeneralize tonik klonik nöbet                                                                                                                                                                                                                                                               | N                                                                                              | KCNMA1:c.2303A>C, p.E768A HET                         | 3      |

|     |    |   |       |            |                                                                                                                                                                                              |                                                                             |                                                                     |        |
|-----|----|---|-------|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------|
| 99  | 8y | E | 1 ay  | Fokal      | Osteopeni, nöromotor gelişim geriliği, konuşma bozukluğu, hipertrofik kısa lingual frenulum, nistagmus, mikrosefali, boy kısalığı<br>EKO: sekundum ASD, VSD<br>Opere postaksiyel polidaktili | Periventriküler lökomalazi                                                  | <i>SLC13A5</i> :c.997C>T,<br>p.R333* +c.1597A>G,<br>p<br>.N533D HET | 1<br>3 |
| 101 | 5y | E | 1 ay  | Fokal      | -                                                                                                                                                                                            | Beyin MRI yok                                                               | <i>DEPDC5</i> :c.257A>C,<br>p.Y86S HET                              | 4      |
| 105 | 7y | E | 3ay   | Jeneralize | Nöromotor gelişim geriliği, dirençli epilepsi<br>Sterotipik hareketler (ellerde ve kollarda)                                                                                                 | Bilateral oksipital horn sentrum semiovale düzeyi beyaz cevherde lökomalazi | <i>CDKL5</i> :c.1415_1416delCA, p.T472fs*6<br>HEM                   | 2      |
| 107 | 4y | K | 11 ay | Jeneralize | Nöromotor gelişme geriliği                                                                                                                                                                   | N                                                                           | <i>PCDH19</i> :c.1178C>T,<br>p.P393L HET                            | 2      |

#### 4.2.1 Olgu 2 ve Olgu 36

Tablo 4.6 SCN2A geninde saptanan varyantlar ve SCN2A geni ile ilişkili fenotipler

| Olgu | Gen   | Varyant                                        | Hastalık (OMIM numarası)                                                                    | Kalıtım modeli |
|------|-------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 2    | SCN2A | c.4141A>T,<br>p.N1381Y HET<br>(NM_001040143.2) | -Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 11 (#613721)<br><br>-Epizodik ataksi tip 9 (#618924) | OD<br><br>OD   |
| 36   |       | c.1964C>G,<br>p.S655C HET<br>(NM_001040143.2)  | -Benign familyal infantil nöbetler (#607745)                                                | OD             |

Olgu 2’de *SCN2A* geninin 23. ekzonunda saptanan de novo c.4141A>T, (p.N1381Y) heterozigot varyantı (Şekil 4.13) literatürde daha önce bildirilmemiş olup popülasyon veri tabanlarında bulunmamaktadır. Olgumuzda saptanan varyant proteinin disülfid bağlayıcı domaininde bulunmakta ve bu domaine ismini veren disülfid bağlarından birini etkilemektedir. *SCN2A* geninde saptanan c.4141A>T, (p.N1381Y) heterozigot varyant ACMG kılavuzuna göre sınıflandırılarak muhtemel patojenik olarak yorumlanmıştır. Böylece olgunun Tablo 4.5’de özetlenen epilepsi kliniği göz önüne alındığında, *SCN2A* geni ile ilişkili ‘Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 11 (#613721)’ ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.6).



Şekil 4.13 SCN2A geninde saptanan c.4141A>G (p.N1381Y) heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 36’de *SCN2A* geninin 13. ekzonunda saptanan c.1964C>G, p.S655C heterozigot varyant (Şekil 4.14) popülasyon veri tabanlarında bulunmamakla birlikte

literatürde daha önce bildirilmemiştir. Bu varyant ACMG kriterlerine göre VUS olarak sınıflandırılmakla birlikte Mutation Taster, Provean ve SIFT veri tabanlarında hastalık nedeni olarak yorumlanmıştır.

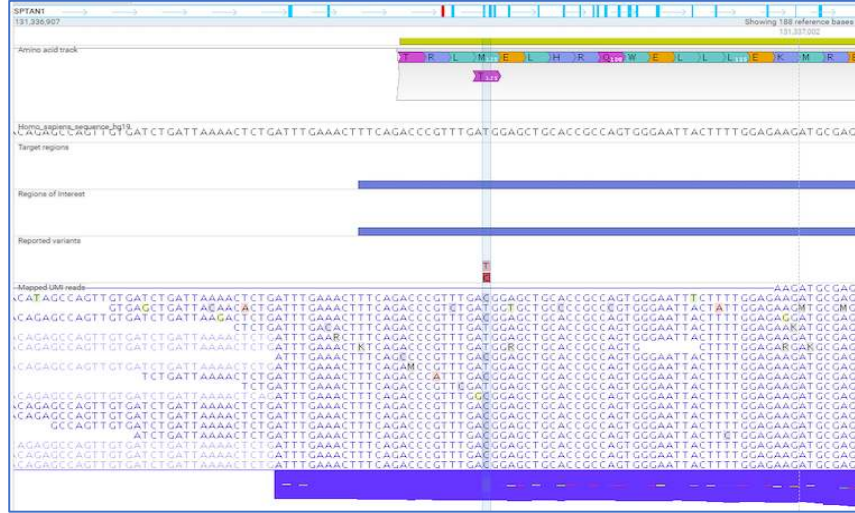


Şekil 4.14 SCN2A geninde saptanan c.1964C>G, p.S655C heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

Tablo 4.7 Olgu 36'da SPTAN1 geninde saptanan varyantlar ve SPTAN1 geni ile ilişkili fenotip

| Olgu | Gen    | Varyant                                      | Hastalık (OMIM numarası)                          | Kalıtım modeli |
|------|--------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------|
| 36   | SPTAN1 | c.374T>C,<br>p.M125T HET<br>(NM_001130438.3) | Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 5 (#613477) | OD             |

Olgu 36'da ayrıca SPTAN1 geninde c.374T>C, p.M125T heterozigot varyant (Şekil 4.15) saptanmıştır. Proteinin spektrin 1 tekrar bölgesi domaininde yer alan varyant, daha önce literatürde bildirilmemekle birlikte ACMG kılavuzuna göre Muhtemel benign olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca Mutation Taster veri tabanında hastalık nedeni olarak yorumlanmasına rağmen, Provean, SIFT ve Mutpred veri tabanlarında nötr, tolere edilebilir veya benign olarak sınıflandırılmıştır. Böylece olgu 36'nın Tablo 4.5'de özetlenen epilepsi kliniği göz önüne alındığında, SCN2A geni ile ilişkili 'Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 11 (#613721)' ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.7).



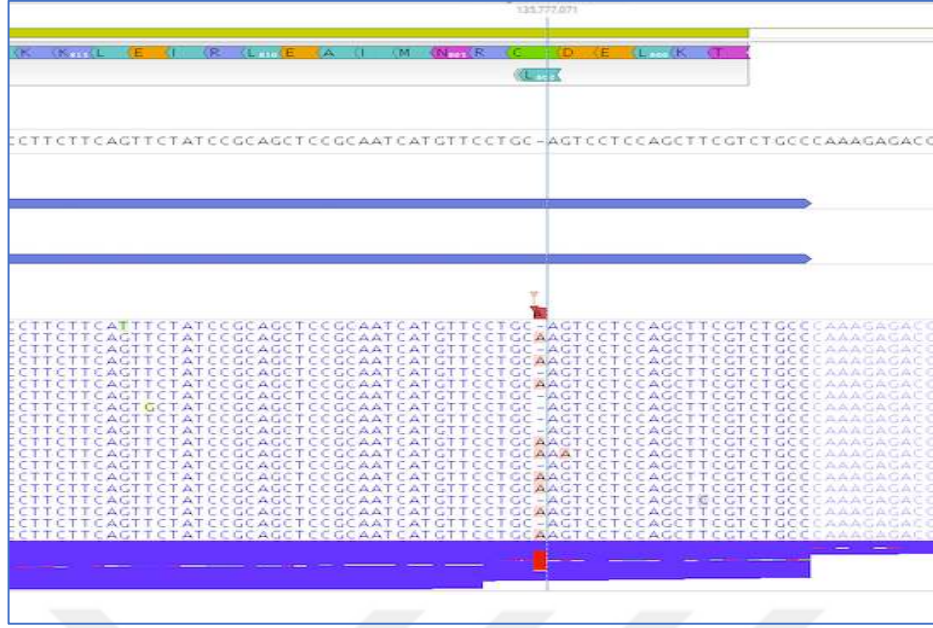
Şekil 4.15 SPTAN1 geninde saptanan c.374T>C, p.M125T heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

## 4.2.2 Olgu 5

Tablo 4.8 TSC1 geninde saptanan varyant ve TSC1 geni ile ilişkili fenotip

| Gen  | Varyant                                             | Hastalık (OMIM numarası)       | Kalıtım Modeli |
|------|-----------------------------------------------------|--------------------------------|----------------|
| TSC1 | c.2407dupT,<br>(p.C803fs*23)<br>HET<br>(NM_000386.) | -Tüberoskleroz tip 1 (#191100) | OD             |

TSC1 geninin 19. ekzonunda saptanan c.2407dupT, (p.C803fs\*23) heterozigot varyantı (Şekil 4.16) HGMD veri tabanında (CD078573) daha önce tanımlanmış olup popülasyon veri tabanlarında bulunamamaktadır. TSC1 geninde saptanan c.2407dupT, (p.C803fs\*23) heterozigot varyant ACMG kılavuzuna göre sınıflandırılarak muhtemel patojenik olarak yorumlanmıştır. Böylece olgunun Tablo 4.5’de özetlenen epilepsi ve diğer klinik özellikleri göz önüne alındığında, ‘Tüberoskleroz tip 1 (#191100)’ kliniği ile uyumludur (Tablo 4.8).



Şekil 4.16 TSC1 geninde saptanan c.2407dupT, (p.C803fs\*23) heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.3 Olgu 6 ve Olgu 88

Tablo 4.9 olgu 6 ve olgu 88'de SYNGAP1 geninde saptanan varyantlar

| Olgu | Varyant                                                                     | Patojenite sınıfı | Hastalık (OMIM numarası)              | Kalıtım modeli |
|------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|----------------|
| 6    | <i>SYNGAP1</i> :<br>c.3885+107C>G HET<br>(NM_006772.3)                      | 4                 | Otozomal dominant                     | OD             |
| 88   | <i>SYNGAP1</i> :<br>c.3963_3964delAGinsCC,<br>p.A1322P HET<br>(NM_006772.3) | 3                 | mental retardasyon tip 5<br>(#612621) |                |

Olgu 6'da *SYNGAP1* geninin 17. intronunda saptanan c.3885+107C>G heterozigot varyantı (Şekil 4.17) literatürde daha önce bildirilmemiş olup popülasyon veri tabanlarında bulunmamaktadır. *SYNGAP1* genindeki bu varyantın splicingi bozmadığı değerlendirildiğinden ACMG kılavuzuna göre sınıflandırılarak muhtemel benign olarak yorumlanmıştır.

Olgu 88'de *SYNGAP1* geninin 19. ekzonunda saptanan c.3963\_3964delAGinsCC heterozigot varyantı (Şekil 4.18) Provean veri tabanında nötral varyant olarak tanımlanmıştır. Popülasyon veri tabanlarında bulunmamakla birlikte literatürde daha önce tanımlanmamıştır. c.3963\_3964delAGinsCC varyantı ACMG kılavuzuna göre sınıflandırılarak klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştır. Yapılan segregasyon analizi ile *SYNGAP1* geninde saptanan varyant için her iki ebeveynin varyantı taşımadığı belirlenmiştir.

Böylece olgu 88'in Tablo 4.5'de özetlenen epilepsi kliniği, nöromotor gelişme geriliği ve mental retardasyon fenotipleri göz önüne alındığında, 'Otozomal dominant mental retardasyon tip 5' ile uyumlu olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.9).



Şekil 4.17 SYNGAP1 geninde saptanan c.3885+107C>G heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü



Şekil 4.18 SYNGAP1 geninde saptanan c.3963\_3964delAGinsCC heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.4 Olgu 7, Olgu 31 ve Olgu 33

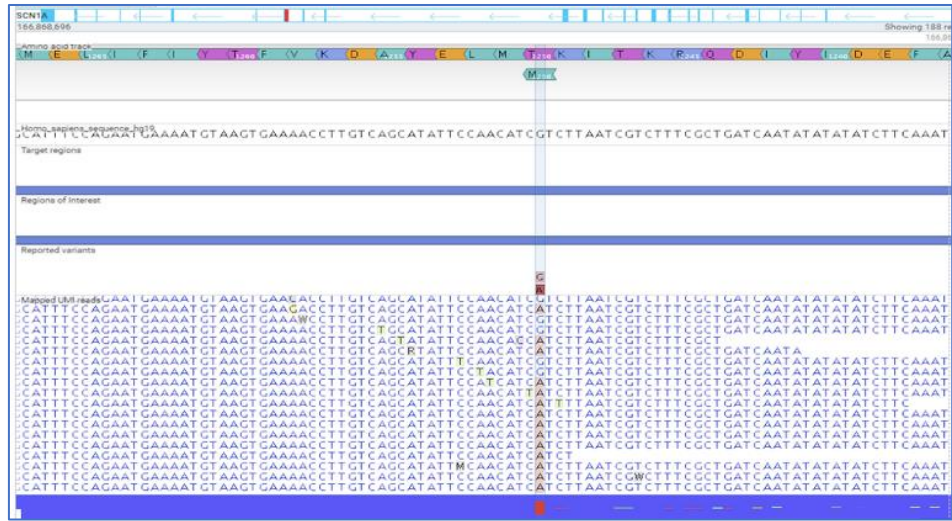
Tablo 4.10 SCN1A geninde saptanan varyantlar

| Olgu | Gen   | Varyant                     | Sınıf | Transkript numarası |
|------|-------|-----------------------------|-------|---------------------|
| 7    | SCN1A | c.3749C>T p.T1250M HET      | 3     | (NM_001165963.4)    |
| 31   |       | c.4757G>A p.G1586E HET      | 1     |                     |
| 33   |       | c.4554dupA p.P1519fs*18 HET | 1     |                     |

Tablo 4.11 SCN1A geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen   | Hastalık (OMIM numarası)                                                                                                                                                                                                                             | Kalıtım modeli |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| SCN1A | -Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 6B , nondravit (#619317)<br>-Dravet sendromu (#607208)<br>-Familyal febril nöbetler tip 3A (#604403)<br>-Febril nöbetlerle jeneralize epilepsi tip 2 (#604403)<br>-Familyal hemiplejik migren tip 3 (#609634) | OD             |

Olgu 7’da SCN1A geninin 21. ekzonunda saptanan c.3749C>T p.T1250M heterozigot varyant (Şekil 4.19, Tablo 4.10), genin hot-spot mutasyon bölgesinde bulunmakta olup, ACMG kılavuzuna göre sınıflandırılarak klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştır. Bu varyant dbSNP veri tabanında rs140731963 numarası ile tanımlanmıştır. Ayrıca literatürde çeşitli yayınlarda bu varyantın patojenik etki göstererek Dravet sendromuna (#607208) neden olduğu bildirilmiştir.<sup>100–104</sup>



Şekil 4.19 SCN1A geninde saptanan c.3749C>T p.T1250M heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 31’de SCN1A geninde saptanan heterozigot c.4757G>A (p.G1586E) varyant (Şekil 4.20), dbSNP veri tabanında rs121918742 numarası ile tanımlanmış olup ClinVar (ClinVar ID 68637) veri tabanında daha önce bildirilmiştir. Literatürde bu varyant çeşitli yayınlarda özellikle Dravet sendromu ve infantil miyoklonik epilepsi ile ilişkilendirilmiştir.<sup>105–107</sup> Ayrıca bu varyant ACMG kılavuzuna göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır.

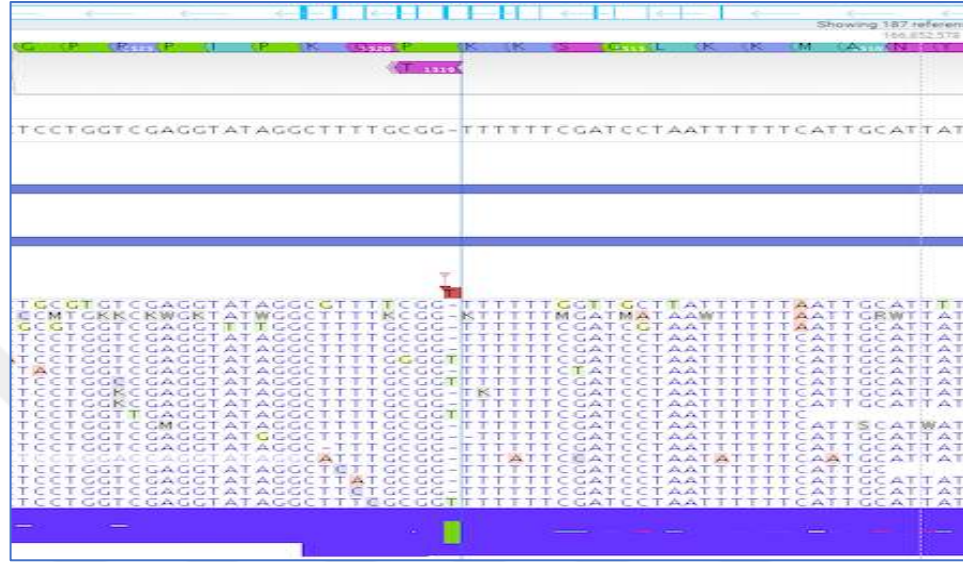


Şekil 4.20 SCN1A geninde saptanan c.4757G>A (p.G1586E) heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 33’de SCN1A genindeki 27. ekzonda lokalize c.4554dupA, p.P1519fs\*18 heterozigot varyant (Şekil 4.21) popülasyon veri tabanlarında bildirilmemiş olup ACMG’ye göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. HGMD veri tabanında (CI076994)

bildirilmiş olmakla birlikte Clinvar'da (ClinVar ID: 206920) patojenik olarak yorumlanmıştır.

Böylece her üç olgunun Tablo 4.5'de özetlenen klinik fenotipleri göz önüne alındığında, kliniklerinin 'Dravet sendromu (#607208)' ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.10 ve 4.11).



Şekil 4.21 SCN1A geninde saptanan c.4554dupA (p.P1519fs\*18) heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.5 Olgu 11

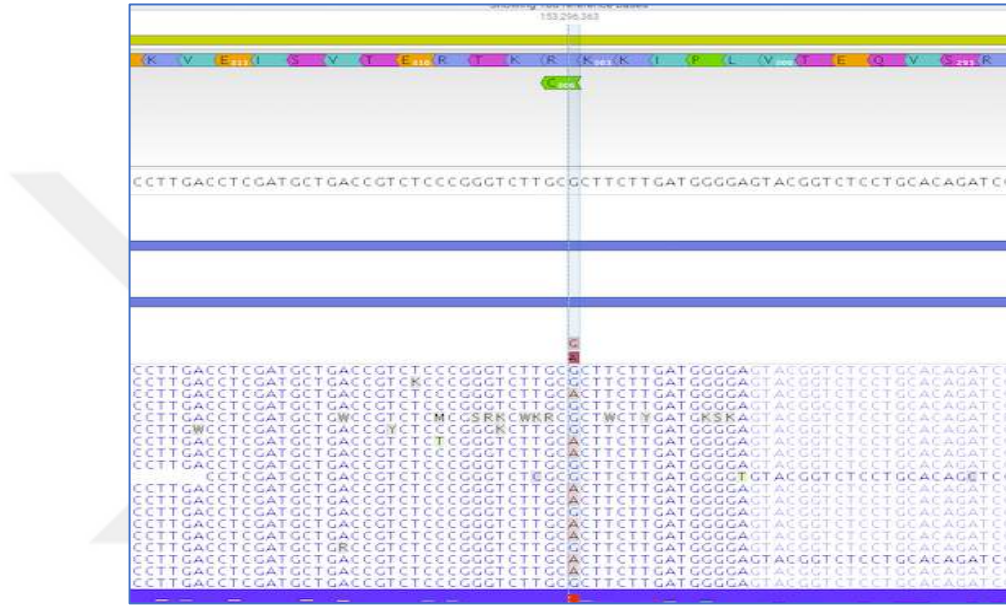
Tablo 4.12 Olgu 11'de MECP2 geninde saptanan varyant ve özellikleri

| Olgu | Gen   | Varyant               | Patojenite Sınıfı | Transkript numarası |
|------|-------|-----------------------|-------------------|---------------------|
| 11   | MECP2 | c.916C>T, p.R306C HET | 1                 | NM_004992.4         |

Tablo 4.13 MECP2 geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen   | Hastalık (OMIM numarası)                                                | Kalıtım modeli |
|-------|-------------------------------------------------------------------------|----------------|
| MECP2 | -Neonatal şiddetli ensefalopati (#300673)                               | XLR            |
|       | -X'e bağlı sendromik entelektüel gelişim bozukluğu, Lubs tipi (#300260) | XLR            |
|       | - X'e bağlı sendromik entelektüel gelişim bozukluğu tip 13 (#300055)    | XLR            |
|       | -Rett sendromu (#312750)                                                | XLD            |

Olgu 11’de *MECP2* geninin ekzon 4’ünde lokalize c.916C>T, p.R306C heterozigot varyantının (Tablo 4.12, Şekil 4.22) popülasyon verilerinde bulunmamakla birlikte, ClinVar veri tabanında (ClinVar ID:11824), HGMD veri tabanında (CM993354), dbSNP’de (rs28935468) ve literatürde çeşitli yayınlarda patojenik olarak bildirildiği saptanmıştır.<sup>108–110</sup> Böylece olgunun Tablo 4.5’de özetlenen klinik fenotipleri göz önüne alındığında, kliniği ‘Rett sendromu (#312750)’ ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.13).



Şekil 4.22 *MECP2* geninde saptanan c.916C>T, p.R306C heterozigot varyantının BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.6 Olgu 10

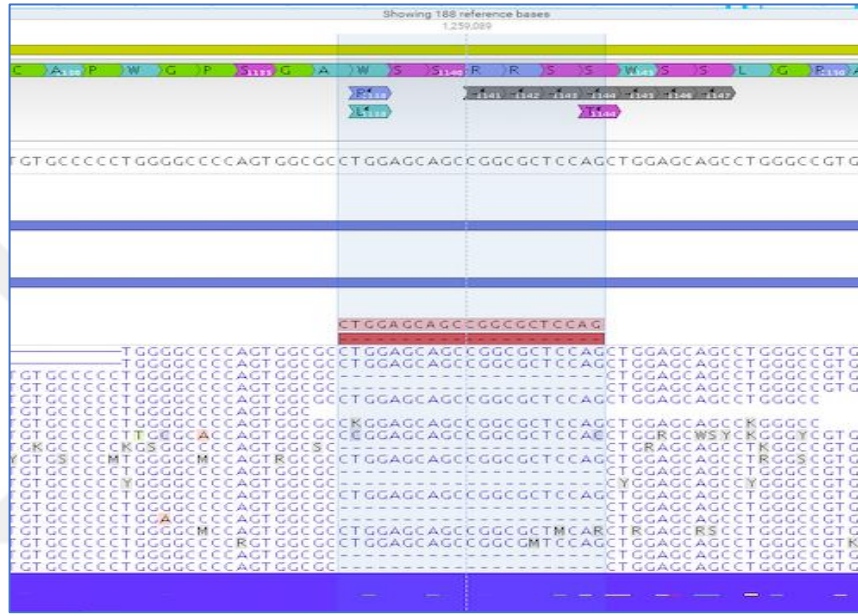
Tablo 4.14 Olgu 10’da *CACNA1H* geninde saptanan varyant ve özellikleri

| Olgu | Gen            | Varyant                                                                     | Patojenite Sınıfı | Transkript numarası |
|------|----------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------|
| 10   | <i>CACNA1H</i> | c.3422_3442delGGCGCTC<br>CAGCTGGAGCAGCC,<br>p.R1141_S1147delRRSSWS<br>S HET | 3                 | NM_021098.3         |

Tablo 4.15 *CACNA1H* geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen            | Hastalık (OMIM numarası)                                                                                                                                                  | Kalıtım modeli |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <i>CACNA1H</i> | -Familial hiperaldosteronizm tip 4 (#617027)<br>-Çocukluk çağı absans epilepsiye yatkınlık tip 6 (#611942)<br>-İdiyopatik jeneralize epilepsiye yatkınlık tip 6 (#611942) | OD             |

Olgu 10'da *CACNA1H* geninde heterozigot olarak saptanan c.3422\_3442delGGCGCTCCAGCTGGAGCAGCC, (p.R1141\_S1147delRRSSWSS) varyantı (Tablo 4.14, Şekil 4.23), dbSNP veri tabanında rs754765356 numarası ile tanımlanmış olup, Mutation Taster veri tabanında ‘hastalık nedeni’ ve ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır. Olgunun jeneralize epilepsi kliniği göz önüne alındığında, ‘Çocukluk çağı absans epilepsiye yatkınlık tip 6 (#611942)’ ve ‘İdiyopatik jeneralize epilepsiye yatkınlık tip 6 #611942)’ ile uyumlu olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.15).



Şekil 4.23 *CACNA1H* geninde saptanan c.3422\_3442delGGCGCTCCAGCTGGAGCAGCC, (p.R1141\_S1147delRRSSWSS) heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.7 Olgu 18, Olgu 19, Olgu 21, Olgu 48, Olgu 67 ve Olgu 89

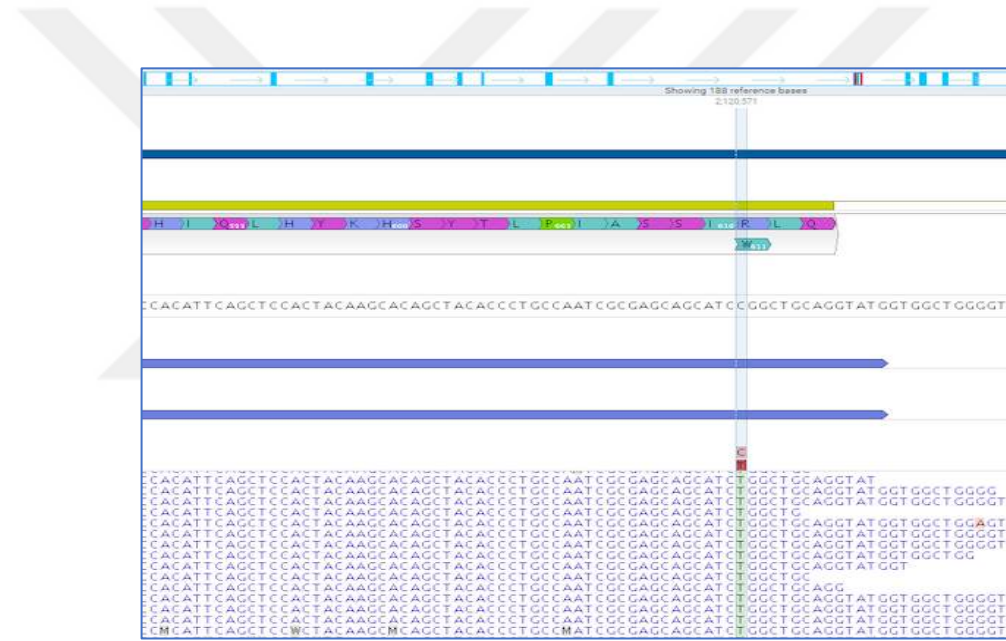
Tablo 4.16 *TSC2* geninde saptanan varyantlar ve özellikleri

| Olgu | Gen         | Varyant                              | Patojenite Sınıfı | Transkript numarası |
|------|-------------|--------------------------------------|-------------------|---------------------|
| 18   | <i>TSC2</i> | c.1831C>T, p.R611W HET               | 1                 | NM_000548.5         |
| 19   |             | c.4258_4261delTCAG, p.S1420fs*55 HET | 1                 |                     |
| 21   |             | c.1832G>A, p.R611Q HET               | 1                 |                     |
| 67   |             | c.1831C>T, p.R611W HET               | 1                 |                     |
| 89   |             | c.226-3C>G HET                       | 3                 |                     |
| 48   |             | c.5138G>A, p.R1713H HET              | 2                 |                     |

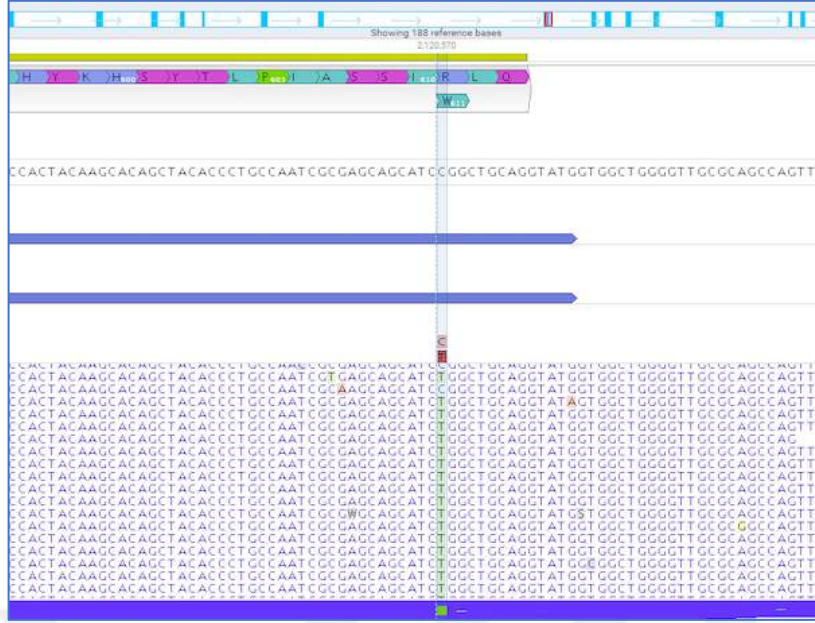
Tablo 4.17 TSC2 geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen  | Hastalık<br>(OMIM numarası)    | Kalıtım<br>modeli |
|------|--------------------------------|-------------------|
| TSC2 | -Tüberoskleroz tip 2 (#613254) | OD                |

Olgu 18’de ve Olgu 67’de *TSC2* geninin 17. ekzonunda c.1831C>T, p.R611W heterozigot olarak saptanan varyant (Şekil 4.24, Şekil 4.25 ve Tablo 4.16), genin hotspot mutasyon bölgesinde lokalize olmakla birlikte HGMD veri tabanında (CM961387) tanımlanmış olup, ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca bu varyant literatürde çeşitli yayınlarda Tüberoskleroz tip 2 ile ilişkili olarak bildirilmiştir.<sup>108,111,112</sup>

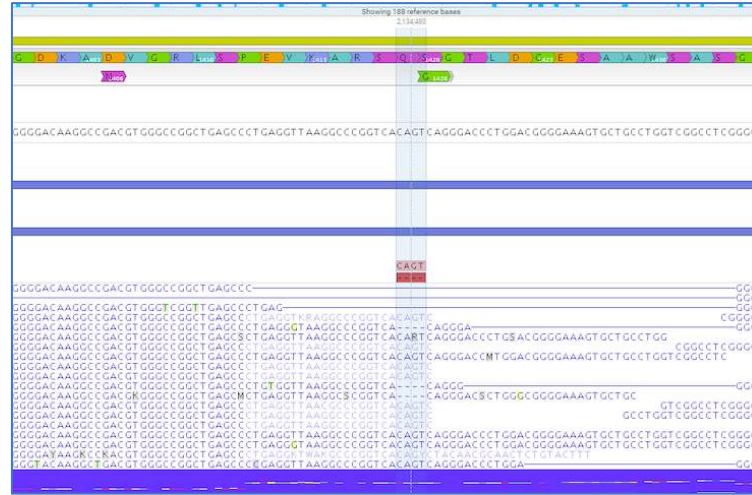


Şekil 4.24 Olgu 18 ‘de *TSC2* geninde saptanan c.1831C>T, p.R611W heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü



Şekil 4.25 Olgu 67’de TSC2 geninde saptanan c.1831C>T, p.R611W heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 19’da TSC2 geninde saptanan c.4258\_4261delTCAG, p.S1420fs\*55 heterozigot çerçeve kayması mutasyon (Tablo 4.16, Şekil 4.26) popülasyon verilerinde saptanmamış olup ACMG kriterlerine göre patojenik olarak yorumlanmıştır. Bu varyant dbSNP veri tabanında (rs137854132), Clinvar’da (ClinVar ID:50083) ve literatürde çeşitli yayınlarda Tüberoskleroz tip 2 nedeni olarak tanımlanmıştır.<sup>112,113</sup>



Şekil 4.26 Olgu 19 ‘da TSC2 geninde saptanan c.4258\_4261delTCAG, p.S1420fs\*55 heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

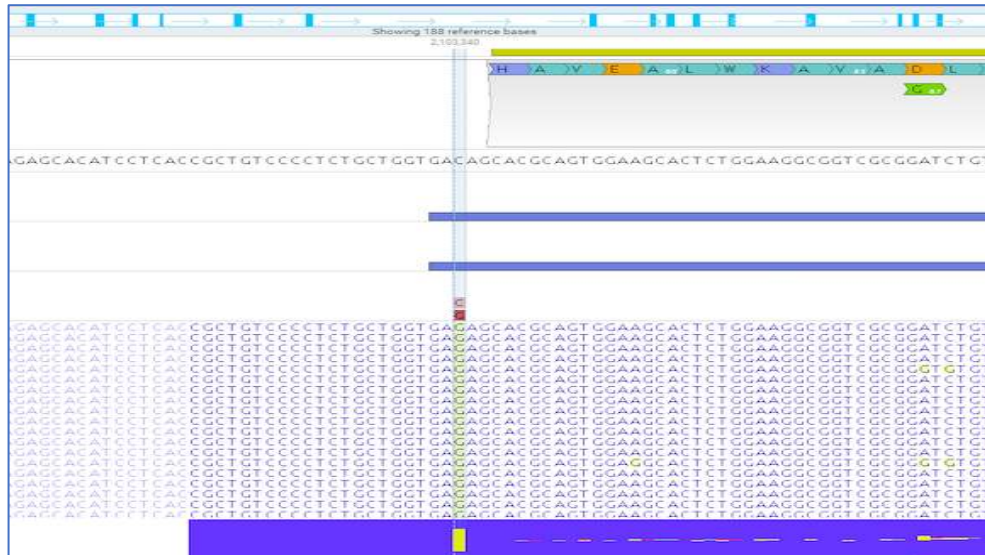
Olgu 21’de TSC2 geninin 17. Ekzonundan c.1832C>T, p.R611W saptanan varyant, genin hotspot mutasyon (Şekil 4.27) bölgesinde bulunmakla birlikte dbDNP veri tabanında da (rs 28934872) tanımlanmıştır. Ayrıca bu varyant ClinVar veri tabanında (ClinVar ID:12397) tanımlanmış olup ACMG kriterlerine göre patojenik olarak

sınıflandırılmıştır. Literatürde çeşitli yayınlarda Tüberoskleroz tip 2 ile ilişkili olduğu bildirilmiş ve bu varyantla ilgili fonksiyonel çalışmalar yapılmıştır.<sup>112,114,115</sup>



Şekil 4.27 Olgu 21 'de TSC2 geninde saptanan c.1832C>T, p.R611W heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 89'da TSC2 geninin 3.intronunda lokalize c.226-3C>G heterozigot varyantı (Şekil 4.28) popülasyon veri tabanlarında bulunmamakla birlikte, literatürde daha önce tanımlanmamıştır. Bu varyant dbSNP veri tabanında rs28935468 numarası ile bildirilmiş olup ACMG sınıflamasına göre klinik önemi belirsiz olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.28 Olgu 89 'da TSC2 geninde saptanan heterozigot varyantın (c.226-3C>G) BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 18, 19, 21, 67 ve 89 ‘un tablo 4.5’de özetlenen klinikleri ve epilepsi karakteri göz önüne alındığında, ‘Tüberoskleroz tip 2’ ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.17).

Olgu 48’de *TSC2* geninde saptanan muhtemel patojenik varyantın yanısıra *EFHC1* geninde de benign varyant saptanmıştır.

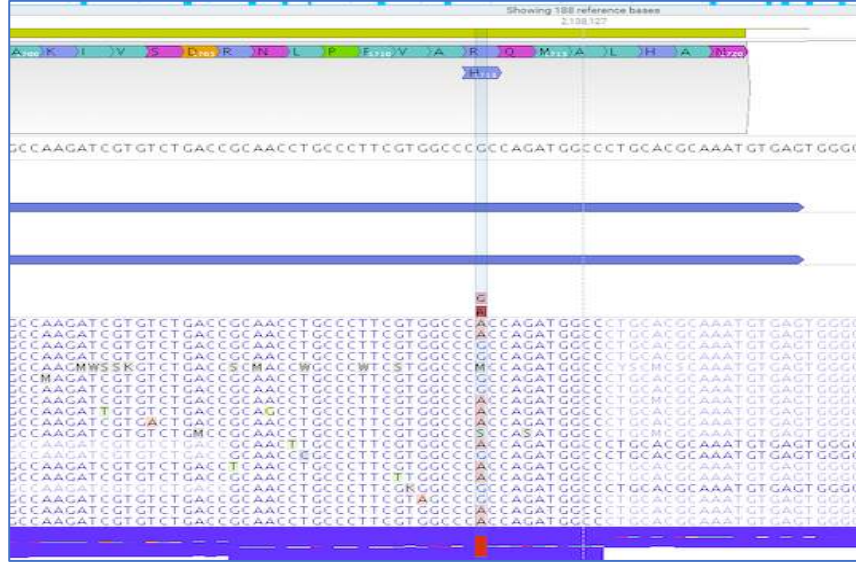
Tablo 4.18 Olgu 48’de *TSC2* ve *EFHC1* genlerinde saptanan varyantlar

| Olgu | Gen          | Varyant                    | Patojenite Sınıfı | Transkript numarası |
|------|--------------|----------------------------|-------------------|---------------------|
| 48   | <i>TSC2</i>  | c.5138G>A, p.R1713H<br>HET | 2                 | NM_000548.5         |
|      | <i>EFHC1</i> | c.628T>C, p.F210L          | 5                 | NM_001172420.2      |

Tablo 4.19 *EFHC1* geniyle ilişkili hastalıklar

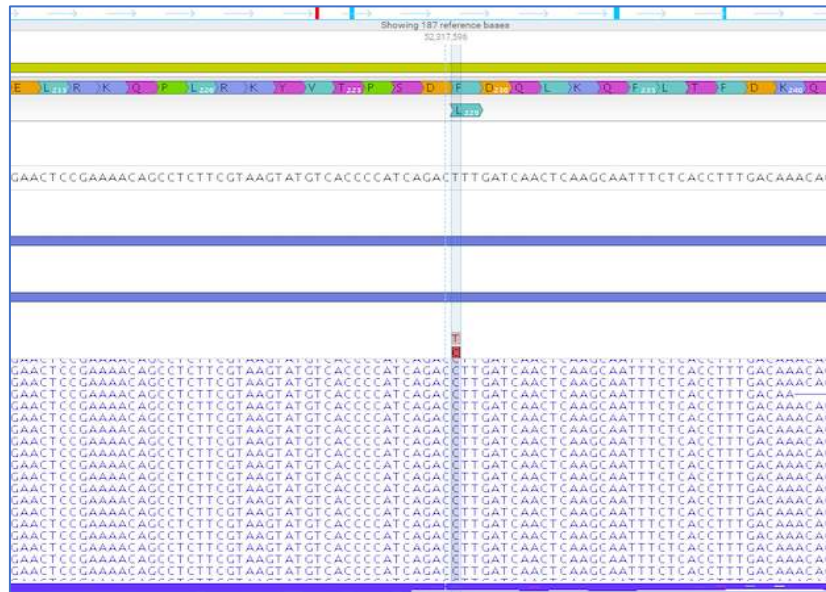
| Gen          | Hastalık<br>(OMIM numarası)                                                                          | Kalıtım modeli |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <i>EFHC1</i> | -Juvenil absans epilepsiye yatkınlık (#607631)<br>-Juvenil miyoklonik epilepsiye yatkınlık (#254770) | OD             |

Olgu 48’ de heterozigot olarak saptanan *TSC2* varyantı (c.5138G>A, p.R1713H) (Tablo 4.18, Şekil 4.29), genin 17 aminoasitlik hotspot mutasyon bölgesinde bulunmakta olup, dbSNP’de rs 45517395 numarasıyla tanımlanmış ve ClinVar veri tabanında muhtemel patojenik /patojenik olarak sınıflandırılmıştır (Clinvar ID: 49930). Literatürde çeşitli çalışmalarda Tüberoskleroz tip 2 ile ilişkili olduğu gösterilmiş olup ACMG kriterlerine göre muhtemel patojenik olarak yorumlanmıştır.<sup>114,116,117</sup> Olgunun tablo 4.5’de özetlenen kliniği göz önüne alındığında, ‘Tüberoskleroz tip 2’ ile uyumlu olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.17).



Şekil 4.29 Olgu 48 'de TSC2 geninde saptanan heterozigot varyantın (c.5138G>A, p.R1713H) BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 48' de *TSC2* genindeki varyanta ek olarak saptanan *EFHC1* c.628T>C, p.F210L heterozigot varyantı (Tablo 4.18, Şekil 4.30), popülasyon veri tabanlarında ve dbSNP veri tabanında (rs 137852776) saptanmış olup ClinVar veri tabanında (Clinvar ID: 2064) benign, muhtemel benign ve klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştır. ACMG sınıflamasına göre ise benign varyant olarak sınıflandırılmıştır. *EFHC1* geni varyantları Juvenil başlangıçlı absans epilepsiye yatkınlık (#607631) ve Juvenil miyoklonik epilepsiye yatkınlık (#254770) tablolarına neden olduğu bildirilmiştir (Tablo 4.19). Olgumuzdaki nöbetlerin infantil dönemde fokal nöbetler şeklinde başlaması nedeniyle bu varyantın olgudaki klinik tabloyu açıklamayacağı düşünülmüştür.



Şekil 4.30 Olgu 48 'de *EFHC1* geninde saptanan heterozigot varyantın (c.628T>C, p.F210L) BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.8 Olgu 71 ve Olgu 107

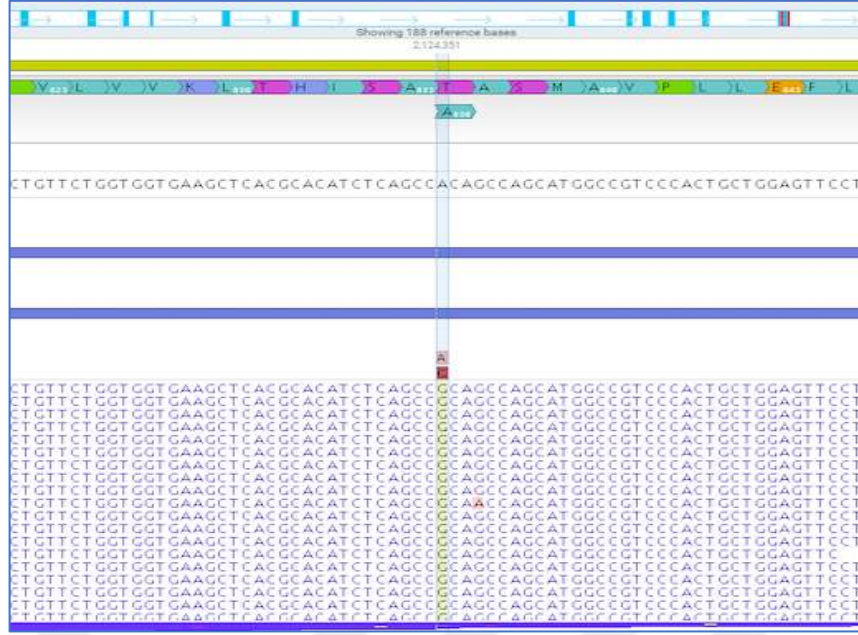
Tablo 4.20 Olgu 71 ve olgu 107'de saptanan varyantlar ve özellikleri

| Olgu | Gen           | Varyant                 | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|---------------|-------------------------|-------------------|---------------------|
| 71   | <i>TSC2</i>   | c.2506A>G, p.T836A HET  | 3                 | NM_000548.5         |
|      | <i>KCNT1</i>  | c.3451G>C, p.E1151Q HET | 3                 | NM_020822.3         |
|      | <i>PCDH19</i> | c.1529C>A, p.P510H HEM  | 3                 | NM_001184880.2      |
| 107  |               | c.1178C>T, p.P393L HET  | 2                 |                     |

Tablo 4.21 *KCNT1* ve *PCDH19* geniyle ilişkili hastalıklar

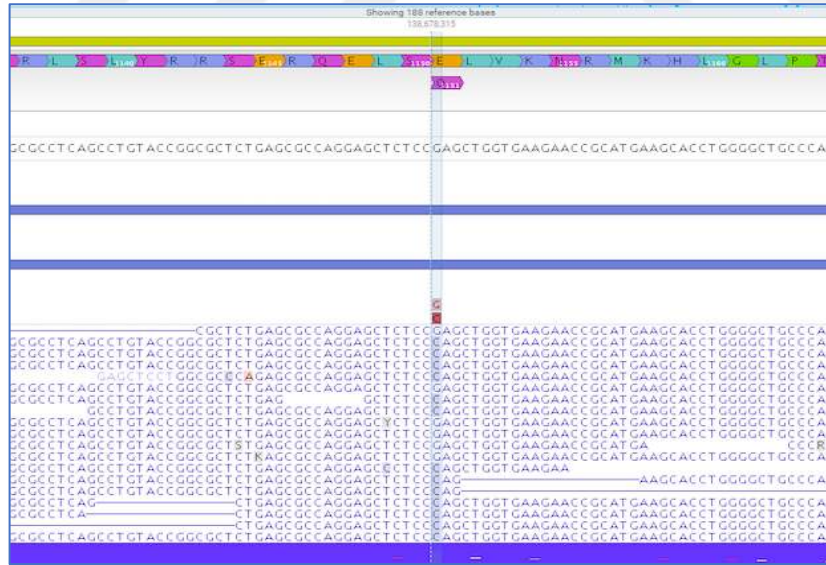
| Gen           | Hastalık (OMIM numarası)                                                                                 | Kalıtım modeli |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <i>KCNT1</i>  | -Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 14 (#614959)<br>-Nokturnal frontal lob epilepsisi tip 5 (#615005) | OD             |
| <i>PCDH19</i> | -Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 9 (#300088)                                                       | XL             |

Olgu 71' de saptanan *TSC2* varyantı (c.2506A>G, p.T836A heterozigot) (Tablo 4.20, Şekil 4.31) genin 22. ekzonunda bulunmakta olup, popülasyon verilerinde saptanmamıştır. Bu varyant Mutation Taster, Provean, SIFT ve MutPred veritabanında patojenik olarak tanımlanmakla birlikte ACMG sınıflamasına göre VUS olarak yorumlanmıştır.



Şekil 4.31 Olgu 71 'de *TSC2* geninde saptanan heterozigot varyantın (c.2506A>G, p.T836A) BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 71'de *TSC2* varyantına ek olarak saptanan *KCNT1* geninin 29.ekzonunda bulunan c.3451G>C, p.E1151Q heterozigot varyant (Tablo 4.20, Şekil 4.32) Mutation Taster ve SIFT veri tabanında patojenik olarak tanımlanırken, Provean veritabanında nötral olarak bildirilmiştir. Bu varyant ACMG kriterlerine göre VUS olarak yorumlanmakta olup literatürde daha önce rapor edilmemiştir.

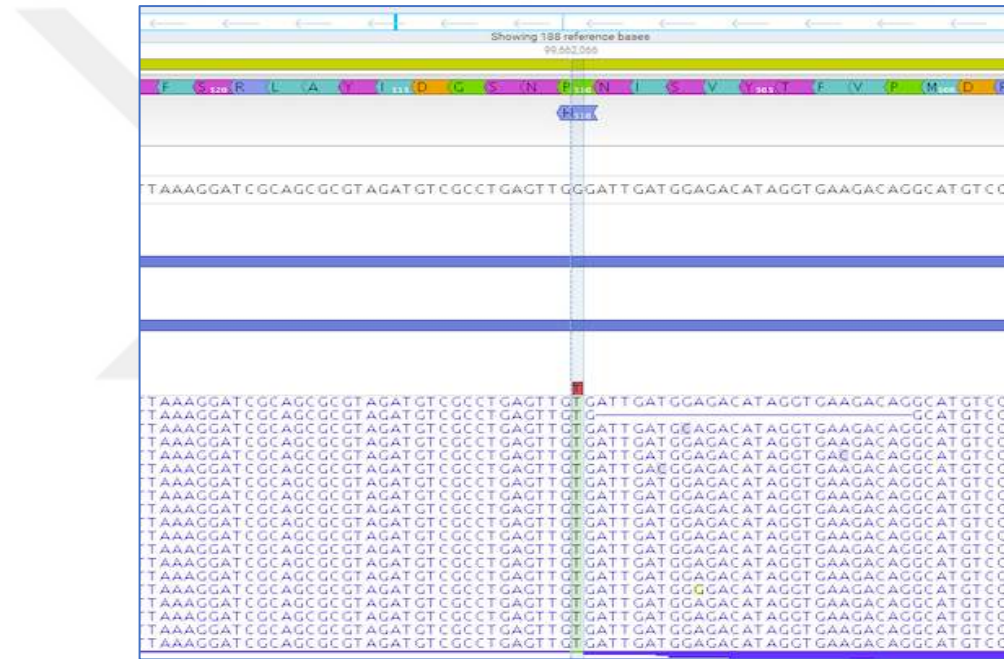


Şekil 4.32 Olgu 71 'de *KCNT1* geninde saptanan heterozigot varyantın (c.3451G>C, p.E1151Q) BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 71'de *TSC2* ve *KCNT1* genlerindeki VUS varyantlara ek olarak *PCDH19* geninde saptanan c.1529C>A, p.P510H hemizigot varyantı (Tablo 4.20, Şekil 4.33) genin ekzon 1'nde lokalize olup proteininin hotspot mutasyon bölgesi olan Cadherin 5 domaininde yer almaktadır. Bu varyant popülasyon verilerinde bulunmamakla birlikte

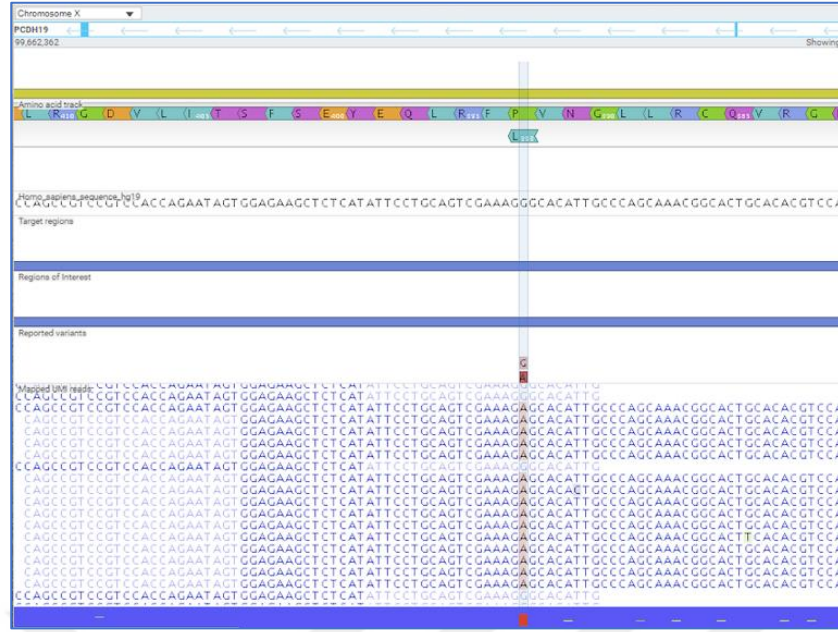
MutPred, Mutation Taster, Provean ve SIFT veri tabanlarında hastalık nedeni ve ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır. *PCDH19* varyantı taşıyan erkek bireylerde bu gen açısından mozaiklik durumları hariç olmak üzere epilepsi kliniği genellikle gözlenmemekle birlikte obsesyon, sinirlilik gibi psikiyatrik bozukluklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir.<sup>118,119</sup>

Böylece olgunun tablo 4.5’de özetlenen epilepsi kliniği, nöromotor gelişme geriliği ve hipotonisi göz önüne alındığında, ‘Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 14 (#614959)’ ve ‘Tüberoskleroz tip 2’ ile, psikiyatrik bozukluk (sinirlilik) kliniği ile ‘Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 9 (#300088)’ ile uyumlu olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.21).



Şekil 4.33 Olgu 71’de *PCDH19* geninde saptanan hemizigot varyantın (c.1529C>A, p.P510H) BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 107’de *PCDH19* geninde heterozigot olarak saptanan c.1178C>T, p.P393L varyantı (Tablo 4.20, Şekil 4.34) genin ekzon 1’inde lokalize olup proteininin hotspot mutasyon bölgesi olan Cadherin 4 domaininde yer almaktadır. Mutation Taster, MutPred, Provean ve SIFT veri tabanlarında hastalık nedeni ve ACMG kriterlerine göre muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Literatürde *PCDH19* patojenik gen varyantı taşıyan kız hastalarda epilepsi ve değişen derecelerde gelişme geriliği gözlemlendiği rapor edilmiştir. Böylece olgunun tablo 4.5’de özetlenen kliniği ve nöromotor gelişme geriliği göz önüne alındığında ‘Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 9 (#300088)’ ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.21).



Şekil 4.34 Olgu 107 'de PCDH19 geninde saptanan heterozigot varyantın (c.1178C>T, p.P393L) BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.9 Olgu 24

Tablo 4.22 Olgu 24'de GABRA1 geninde saptanan varyant ve özellikleri

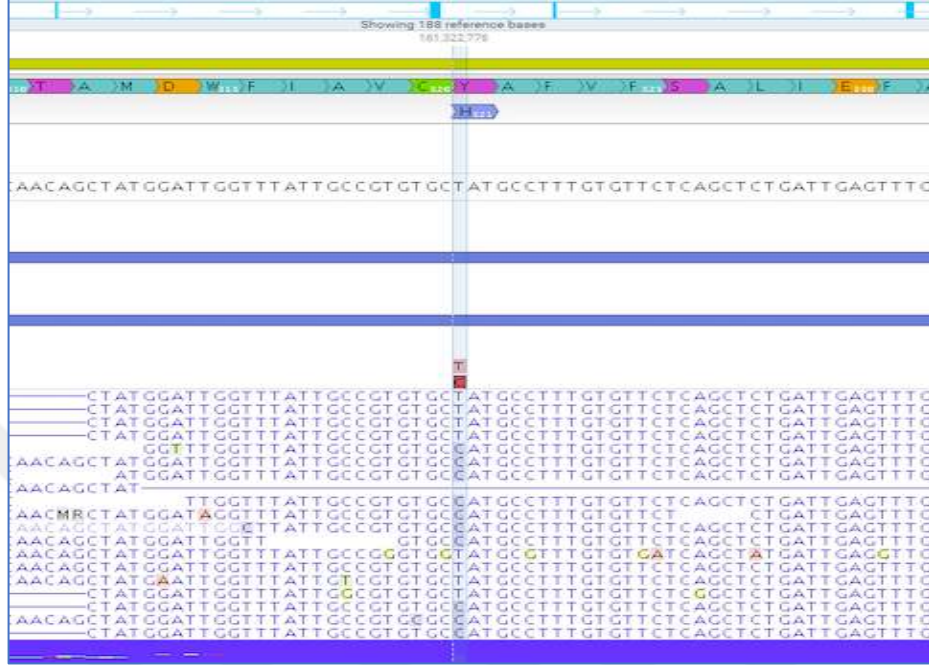
| Olgu | Gen    | Varyant                  | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|--------|--------------------------|-------------------|---------------------|
| 24   | GABRA1 | c.961T>C,<br>p.Y321H HET | 2                 | NM_001127648.2      |

Tablo 4.23 GABRA1 geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen    | Hastalık<br>(OMIM numarası)                                                                                                                                                | Kalıtım<br>modeli |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| GABRA1 | Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 19 (#615744)<br>Çocukluk çağı absans epilepsiye yatkınlık tip 4 (#611136)<br>Juvenil miyoklonik epilepsiye yatkınlık tip 5 (#611136) | OD                |

Olgu 24'de GABRA1 geninde heterozigot olarak saptanan c.961T>C, p.Y321H varyantı (Tablo 4.22, Şekil 4.35) genin 9. ekzonunda lokalize olup, popülasyon verilerinde bulunmamakla birlikte ACMG kriterlerine göre muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca MutPred, Mutation Taster, Provean ve SIFT veritabanlarında bu varyant hastalık nedeni olarak yorumlanmıştır. Olgunun Tablo 4.5'de özetlenen dirençli jeneralize nöbetleri ve nöromotor gelişim geriliği göz önüne alındığında

‘Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 19 (#615744)’ ve ‘Çocukluk çağı absans epilepsiye yatkınlık tip 4 (#611136)’ klinik tablolarıyla uyumlu olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.23).



Şekil 4.35 Olgu 24 'de GABRA1 geninde saptanan c.961T>C, p.Y321H heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.10 Olgu 29

Tablo 4.24 Olgu 29'da KCNQ2 geninde saptanan varyant ve özellikleri

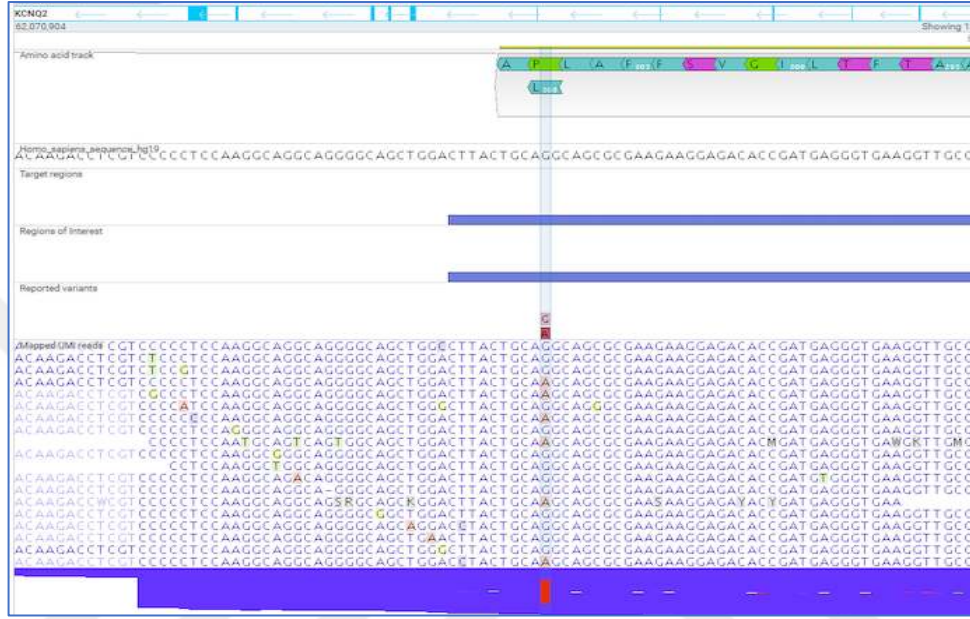
| Olgu | Gen   | Varyant                  | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|-------|--------------------------|-------------------|---------------------|
| 29   | KCNQ2 | c.923C>T,<br>p.P308L HET | 1                 | NM_001382235.1      |

Tablo 4.25 KCNQ2 geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen   | Hastalık<br>(OMIM numarası)                                                                   | Kalıtım<br>modeli |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| KCNQ2 | Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 7 (#613720)<br>Benign neonatal nöbetler tip 1 (#121200) | OD                |

Olgu 29'da KCNQ2 geninde tespit edilen c.923C>T, p.P308L heterozigot varyantı (Tablo 4.24, Şekil 4.36) genin hotspot mutasyon bölgesinde yer almakta olup popülasyon veritabanlarında saptanmamıştır. Bu varyant Provean, MutPred, SIFT, Mutation Taster ve Mutation Taster veri tabanlarında hastalık nedeni ve ACMG

kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca HDMD veri tabanında (CM1516549) bildirilmiştir. Böylece olgunun Tablo 4.5’de özetlenen nöbet kliniği, hipotoni, nöromotor gelişim geriliği ve beyin MRI bulguları göz önüne alındığında ‘Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 7 (#613720)’ ile uyumlu olduğu düşünülmüştür (Tablo 4.25).



Şekil 4.36 Olgu 29’da KCNQ2 geninde saptanan c.923C>T, p.P308L heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.11 Olgu 34

Tablo 4.26 Olgu 34’de SZT2 geninde saptanan varyantlar

| Olgu | Gen  | Varyant                              | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|------|--------------------------------------|-------------------|---------------------|
| 34   | SZT2 | c.7391T>C, p.V2464A HET              | 5                 | NM_015284.4         |
| 34   |      | c.3941_3943dupGCA,<br>p.S1314dup HET | 3                 |                     |

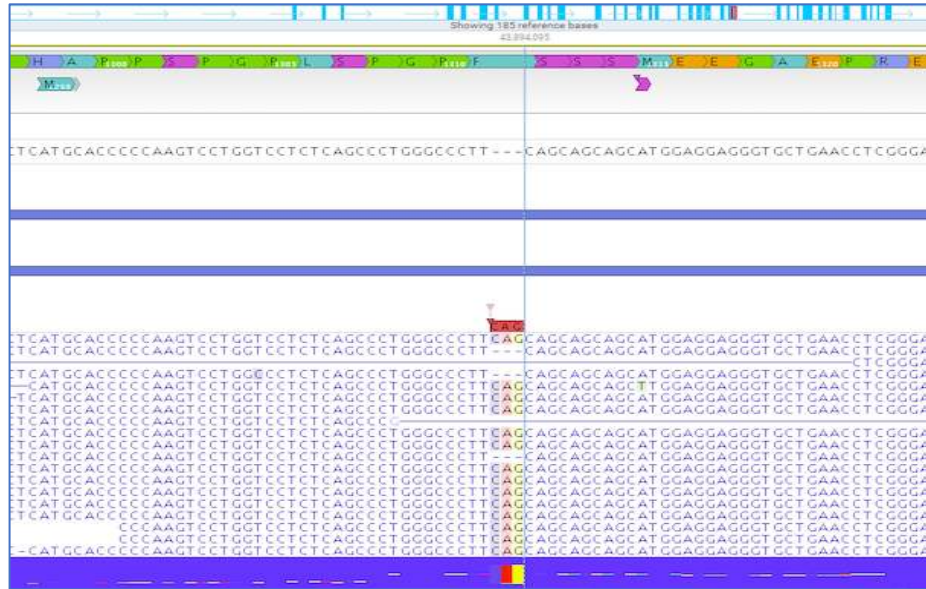
Tablo 4.27 SZT2 geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen  | Hastalık<br>(OMIM numarası)                        | Kalıtım<br>modeli |
|------|----------------------------------------------------|-------------------|
| SZT2 | Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 18 (#615476) | OR                |

Olgu 34’de SZT2 geninde tespit edilen c.7391T>C, p.V2464A varyantı benign ve c.3941\_3943dupGCA, p.S1314dup heterozigot varyantı (Tablo 4.26, Şekil 4.37 ve Şekil 38) ACMG kriterlerine göre VUS olarak sınıflandırılmıştır. Böylece olgunun tablo 4.5’de özetlenen nöbet kliniği, göz önüne alındığında ‘Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 18 (#615476)’ ile uyumlu olmadığını düşünülmektedir (Tablo 4.27).



Şekil 4.37 Olgu 34’de SZT2 geninde saptanan c.7391T>C, p.V2464A heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü



Şekil 4.38 Olgu 34’de SZT2 geninde saptanan c.3941\_3943dupGCA, p.S1314dup heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.12 Olgu 38, Olgu 52, Olgu 55 ve Olgu 81

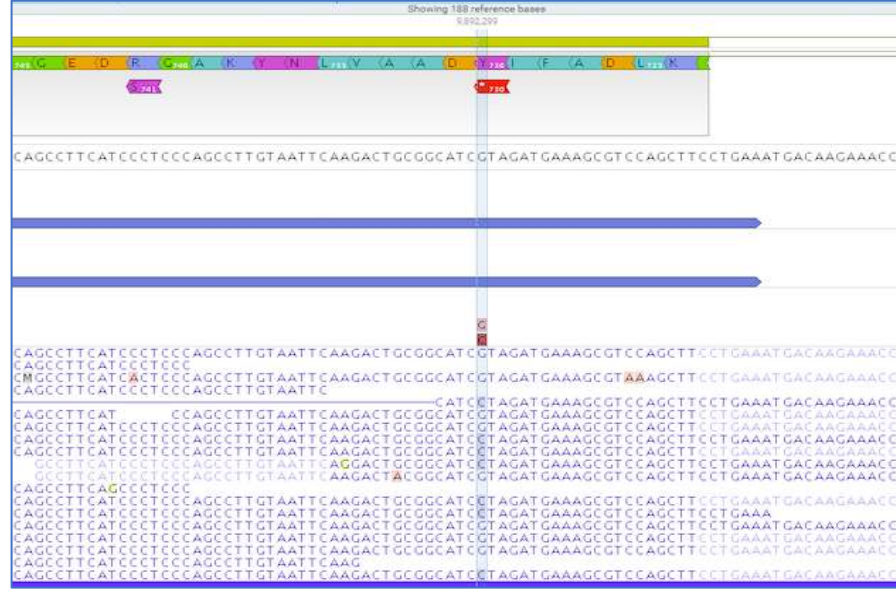
Tablo 4.28 Olgu 38, Olgu 52, Olgu 55 ve Olgu 81'de GRIN2A geninde saptanan varyantlar ve özellikleri

| Olgu | Gen    | Varyant                | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|--------|------------------------|-------------------|---------------------|
| 38   | GRIN2A | c.2190C>G, p.Y730* HET | 1                 | NM_00833.5          |
| 52   |        |                        |                   |                     |
| 55   |        |                        |                   |                     |
| 82   |        |                        |                   |                     |

Tablo 4.29 GRIN2A geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen    | Hastalık (OMIM numarası)           | Kalıtım modeli |
|--------|------------------------------------|----------------|
| GRIN2A | Landau-Kleffner Sendromu (#245570) | OD             |

Aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan Olgu 38, 52, 55 ve 81'de saptanan *GRIN2A* genindeki c.2190C>G, p.Y730\* heterozigot varyantı (Tablo 4.28, Şekil 4.39) genin 11.ekzonunda lokalize olmakla birlikte proteinin glutamat bağlayıcı bölgesini etkilemektedir. Bu varyant popülasyon veri tabanlarında bulunmamakta olup Mutation Taster ve ACMG kriterlerine göre patojenik olarak yorumlanmıştır. Böylece olguların Tablo 4.5'de özetlenen klinik tabloları göz önüne alındığında 'Landau-Kleffner Sendromu (#245570)' ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.29).



Şekil 4.39 GRIN2A geninde saptanan c.2190C>G, p.Y730\* heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.13 Olgu 41 ve Olgu 49

Tablo 4.30 Olgu 41 ve Olgu 49'da PRRT2 geninde saptanan varyantlar ve özellikleri

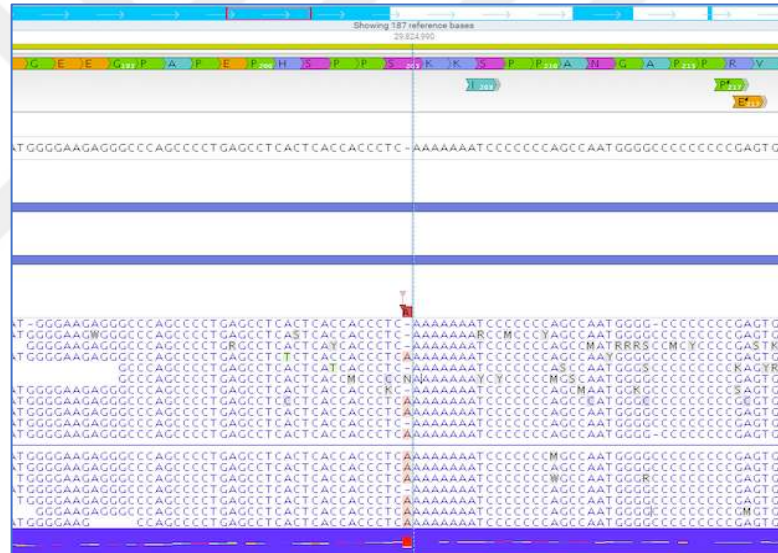
| Olgu | Gen   | Varyant                       | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|-------|-------------------------------|-------------------|---------------------|
| 41   | PRRT2 | c.621dupA,<br>p.S208fs*17 HET | 1                 | NM_001256442.2      |
| 49   |       | c.649dupC,<br>p.R217fs*8 HET  | 1                 |                     |

Tablo 4.31 PRRT2 geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen   | Hastalık<br>(OMIM numarası)                                                                                                                                              | Kalıtım<br>modeli |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| PRRT2 | -Paroksizmal koreatetozun eşlik ettiği familial infantil nöbetler (#602066)<br>-Epizodik kinesigenik diskinezi (#128200)<br>-Benign familial infantil nöbetler (#605751) | OD                |

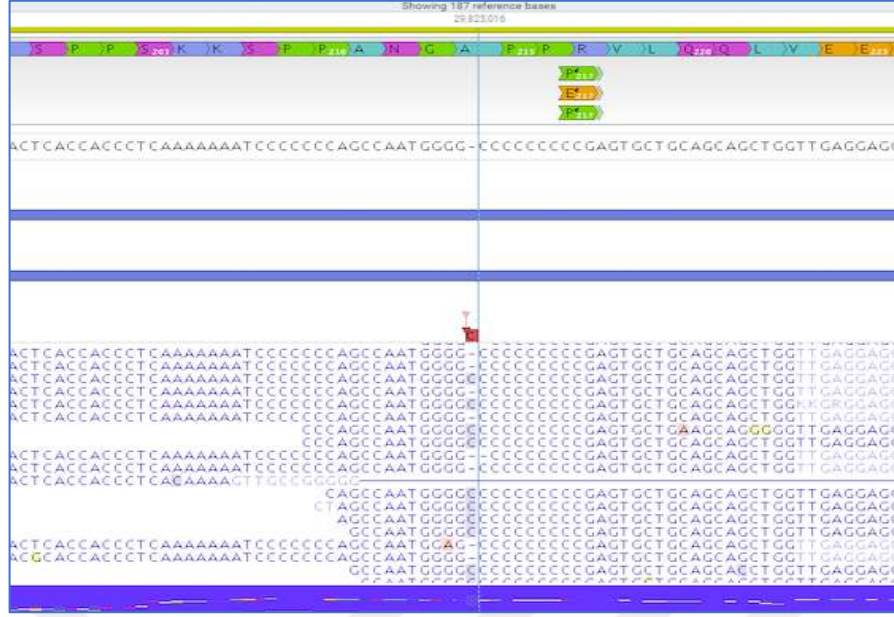
Olgu 41’de saptanan PRRT2 genindeki c.621dupA, p.S208fs\*17 heterozigot varyant (Tablo 4.30, Şekil 4.40) genin 2.ekzonunda lokalizedir. Bu varyant popülasyon veri tabanlarında saptanmamış olup ACMG kriterlerine göre patojenik olarak yorumlanmıştır. Ayrıca literatürde bir çalışmada bu varyantın kodon 224’te prematür terminasyona neden olarak iki hidrofobik segment ve sitoplazmik halkanın eksik olduğu

bir protein üretimiyle sonuçlandığı ve böylece PRRT2'nin hem ekspresyonunun hem de subsellüler lokalizasyonunun etkilendiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda c.621dupA varyantında proteinin heliks-loop-heliks alanı etkilenererek PRRT2'nin, nörotransmitter salınımı için gerekli bir SNARE proteini olan STX1B'ye bağlanmasında bozukluk olduğu bildirilmiştir.<sup>120</sup> Olguda saptanan varyant paternal kalıtmalı olup babasında da çocukluk döneminde epilepsi kliniği öyküsü mevcuttur. Paroksizmal koreatetozun eşlik ettiği familial infantil nöbetler (#602066) klinik tablosunda koreatetoz başlangıcı genellikle 6 yaşından sonra olduğundan olgumuzda bu fenotip henüz başlamamış olabilir. Böylece olgunun tablo 4.5'de özetlenen epilepsi kliniği göz önüne alındığında 'Paroksizmal koreatetozun eşlik ettiği familial infantil nöbetler (#602066)' veya 'Benign familial infantil nöbetler (#605751)' ile uyumlu olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.31).



Şekil 4.40 Olgu 41'de PRRT2 geninde saptanan c.621dupA, p.S208fs\*17 heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 49'da saptanan PRRT2 genindeki c.649dupC, p.R217fs\*8 heterozigot varyant (Tablo 4.29, Şekil 4.41) genin 2.ekzonunda lokalize olmakla birlikte genin hotspot mutasyon bölgesinde bulunmaktadır. Bu varyant popülasyon veri tabanlarında saptanmamış olup, ACMG kriterlerine göre patojenik olarak yorumlanmıştır. Ayrıca HGMD veri tabanında (HGMD ID:CI119818) tanımlanmıştır. Bu varyant epizodik diskinezi, paroksizmal koreatetozun eşlik ettiği familial infantil nöbetler, jeneralize tonik klonik nöbetler, febril konvülsiyon ve hemiplejik migren ile ilişkilendirilmiştir (Tablo 4.31).<sup>121–123</sup>



Şekil 4.41 Olgu 49'da PRRT2 geninde saptanan c.649dupC, p.R217fs\*8 heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.14 Olgu 43 ve Olgu 69

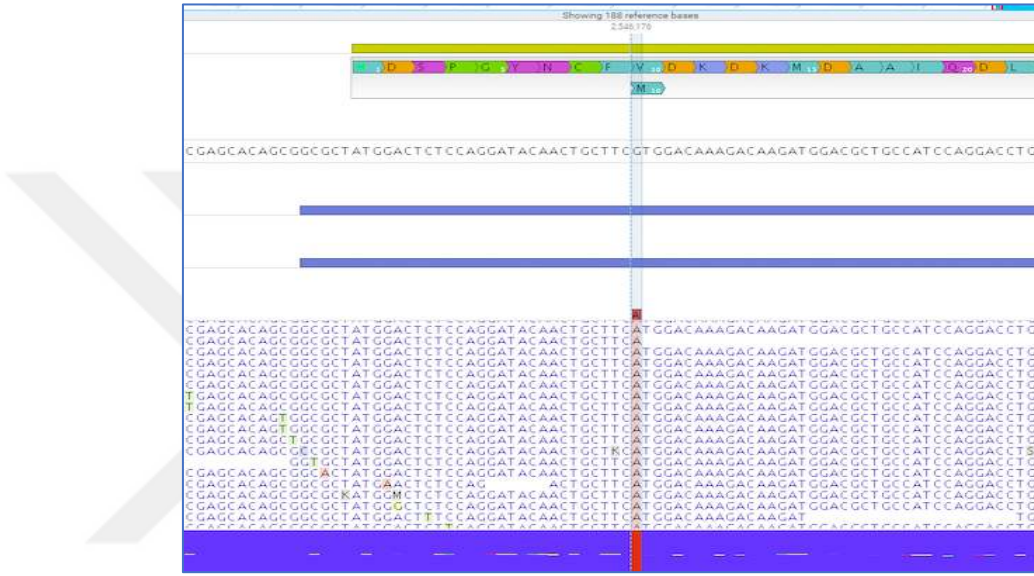
Tablo 4.32 Olgu 43 ve olgu 69'da saptanan varyant ve özellikleri

| Olgu | Gen     | Varyant             | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|---------|---------------------|-------------------|---------------------|
| 43   | TBC1D24 | c.28G>A, p.V10M HOM | 2                 | NM_001199107.2      |
| 69   |         |                     |                   |                     |

Tablo 4.33 TBC1D24 geni ile ilişkili hastalıklar

| Gen     | Hastalık (OMIM numarası)                                                                                | Kalıtım modeli |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| TBC1D24 | -Otozomal dominant sağırılık tip 65 (#616044)                                                           | OD             |
|         | -Otozomal resesif sağırılık tip 86 (#614617)                                                            | OR             |
|         | -Gelişimsel epileptik ensefalopati (#615338)                                                            | OR             |
|         | -DOORS sendromu (#220500)                                                                               | OR             |
|         | -Paroksizmal egzersizin indüklediği distoni ve yazar krampının eşlik ettiği rolandik epilepsi (#608105) | OR             |
|         | -Familiyal infantil miyoklonik epilepsi (#605021)                                                       | OR             |

Olgu 43’de ve Olgu 69’da *TBC1D24* geninde c.28G>A, p.V10M homozigot olarak saptanan varyant (Tablo 4.32, Şekil 4.42) popülasyon verisinde saptanmamakla birlikte ClinVar veri tabanında (ClinVar ID:646598) ve ACMG kriterlerine göre muhtemel patojenik olarak yorumlanmıştır. Mutation Taster ve SIFT veri tabanında hastalık sebebi olarak tanımlanmıştır. Aile segregasyon analizinde anne baba bu varyant açısından taşıyıcı olarak saptanmıştır. Hastaların klinik bulguları göz önüne alındığında olguların ‘DOORS (#220500) sendromu’ ilişkili olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.33).



Şekil 4.42 *TBC1D24* geninde saptanan c.649dupC, p.R217fs\*8 homozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.15 Olgu 45

Tablo 4.34 Olgu 45’de *CHRNA2* geninde saptanan varyant ve özellikleri

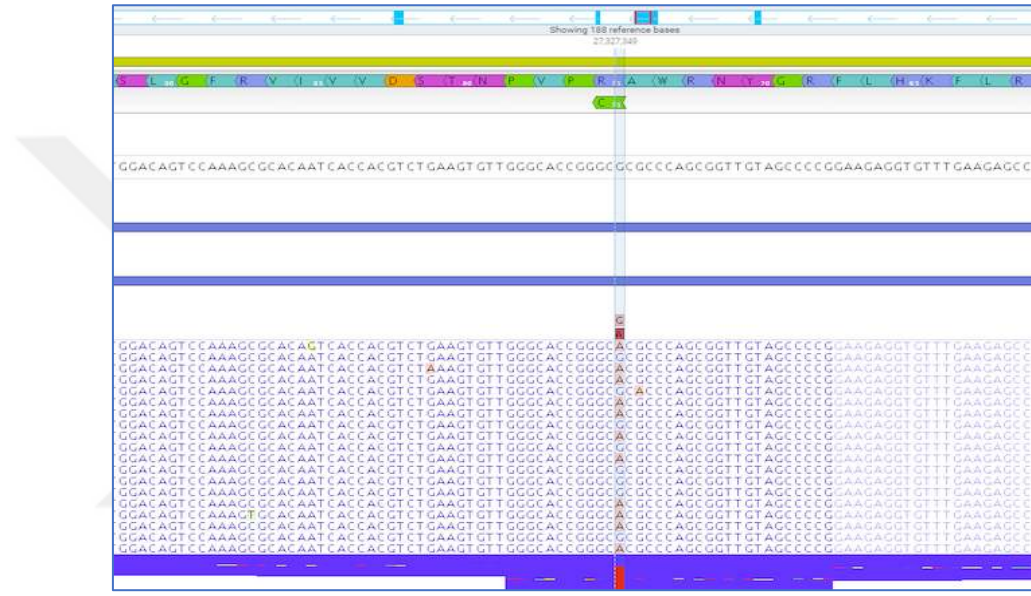
| Olgu | Gen           | Varyant                 | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|---------------|-------------------------|-------------------|---------------------|
| 45   | <i>CHRNA2</i> | c.223C>T, p.R75C<br>HET | 5                 | NM_000742.4         |

Tablo 4.35 *CHRNA2* geniyle ilişkili fenotipler

| Gen           | Hastalık<br>(OMIM numarası)                      | Kalıtım<br>modeli |
|---------------|--------------------------------------------------|-------------------|
| <i>CHRNA2</i> | Nokturnal frontal lob epilepsisi tip 4 (#610353) | OD                |

Olgu 45’de *CHRNA2* geninde saptanan heterozigot varyant (c.223C>T, p.R75C) (Tablo 4.34, Şekil 4.43), ACMG kriterlerine göre benign olarak sınıflandırılmakla birlikte dbSNP veri tabanında rs770949841 numarası ile bildirilmiştir. Ayrıca ‘gnomAD

Exomes' popülasyon veri tabanına göre 5 kişide ( $f=0.0000199$ ) heterozigot olarak saptanmıştır. Aile çalışması sonucu bu varyantın maternal kalıtmı olduğu tespit edilmiştir. Buna göre olgunun nöbetlerinin başlangıç yaşı (3 yaş), uykudan sıçrama şeklinde uyanması, nöromotor gelişim geriliğinin olmaması ve parental kalıtım (inkomplet penetrans) görülebilmesi 'Nokturnal frontal lob epilepsisi tip 4' kliniği ile uyumluyken, EEG'de frontal lob yerine hemisfer arka bölgelerden kaynaklı epileptik anormali saptanması olgunun bu klinik tablo ile uyumlu olmadığını düşündürmektedir (Tablo 4.35).



Şekil 4.43 Olgu 45'de CHRNA2 geninde saptanan c.223C>T, p.R75C heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.16 Olgu 47, Olgu 58, Olgu 80 ve Olgu 90

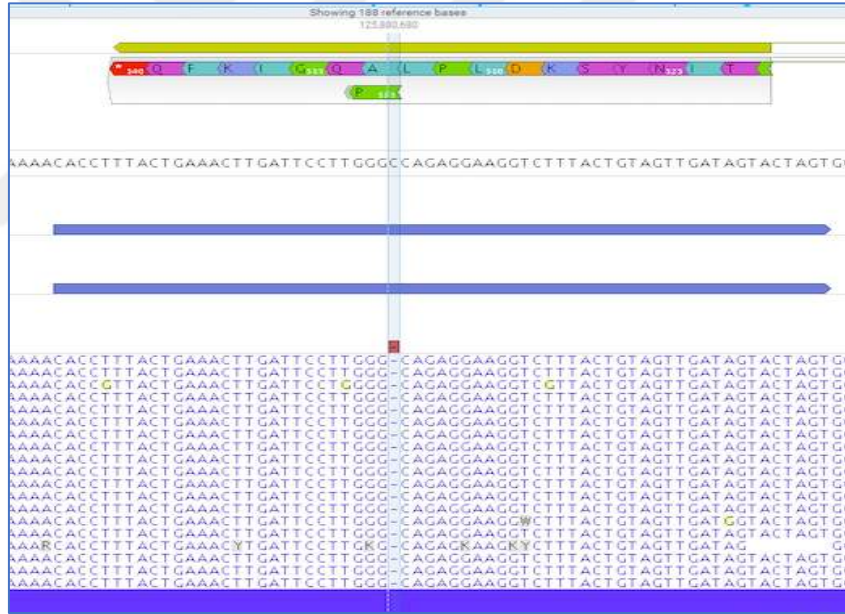
Tablo 4.36 ALDH7A1 geninde saptanan varyantlar ve özellikleri

| Olgu | Gen     | Varyant                   | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|---------|---------------------------|-------------------|---------------------|
| 47   | ALDH7A1 | c.1597delG, p.A533fs* HOM | 1                 | NM_001182.5         |
| 80   |         | c.1597delG, p.A533fs* HOM | 1                 |                     |
| 90   |         | c.1597delG, p.A533fs* HOM | 1                 |                     |
| 58   |         | c.328C>T, p.R110* HOM     | 1                 |                     |

Tablo 4.37 ALDH7A1 geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen     | Hastalık<br>(OMIM numarası)           | Kalıtım<br>modeli |
|---------|---------------------------------------|-------------------|
| ALDH7A1 | Piridoksin bağımlı epilepsi (#266100) | OR                |

Olgu 47, olgu 80 ve olgu 90’da *ALDH7A1* geninde saptanan homozigot varyant (c.1597delG, p.A533fs\*) (Tablo 4.36, Şekil 4.44), popülasyon veri tabanında saptanmamakla birlikte ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. HGMD (CD061355) ve dbSNP veri tabanında (rs387906574) tanımlanmış olup Clinvar da muhtemel patojenik/ patojenik (Clinvar ID:17999) olarak belirtilmiştir. Aile çalışması sonucu bu varyantın paternal ve maternal kalıtmalı olduğu tespit edilmiştir. Buna göre olguların nöbetlerinin piridoksin tedavisine yanıtı olması ‘Piridoksin bağımlı epilepsi (#266100)’ klinik tablo ile uyumlu olduğunu düşündürmektedir (Tablo 4.37).



Şekil 4.44 ALDH7A1 geninde saptanan c.1597delG, p.A533fs\* homozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 58’de *ALDH7A1* geninde saptanan homozigot varyant (c.328C>T, p.R110\*) (Tablo 4.36, Şekil 4.45), genin 4.ekzonunda yer almakta olup erken terminasyon kodonuna neden olan anlamsız bir mutasyondur. GnomAD popülasyon veri tabanında tanımlanmamış olup Clinvar da patojenik (Clinvar ID:17995) olarak bildirilmiştir. ACMG kriterlerine göre patojenik olarak yorumlanmakla birlikte literatürde piridoksin bağımlı epilepsi ile ilişkilendirilmiştir (Tablo 4.37).<sup>124</sup>



Şekil 4.45 ALDH7A1 geninde saptanan c.328C>T, p.R110\* homozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.17 Olgu 50

Tablo 4.38 Olgu 50'de KCTD7 geninde saptanan varyantlar ve özellikleri

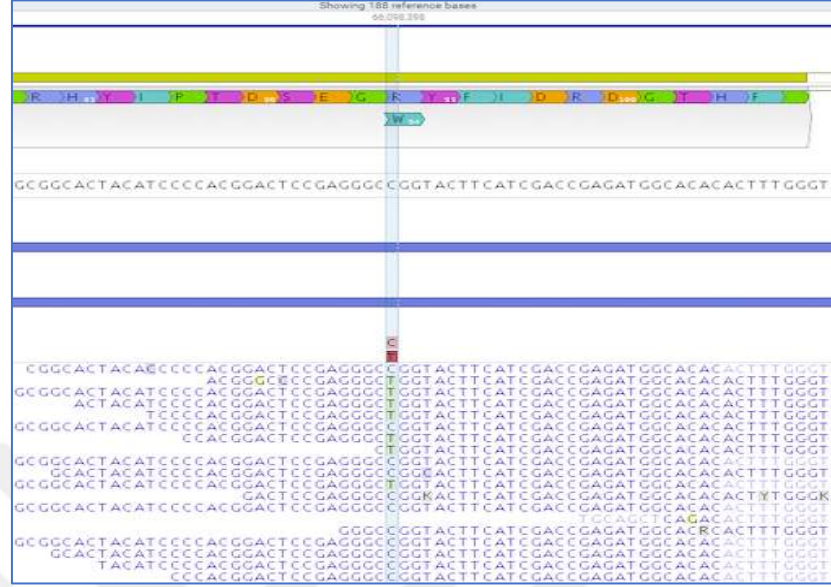
| Olgu | Gen   | Varyant               | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|-------|-----------------------|-------------------|---------------------|
| 50   | KCTD7 | c.280C>T, p.R94W HET  | 1                 | NM_153033.5         |
| 50   |       | c.719A>T, p.D240V HET | 3                 |                     |

Tablo 4.39 KCTD7 geniyle ilişkili hastalıklar

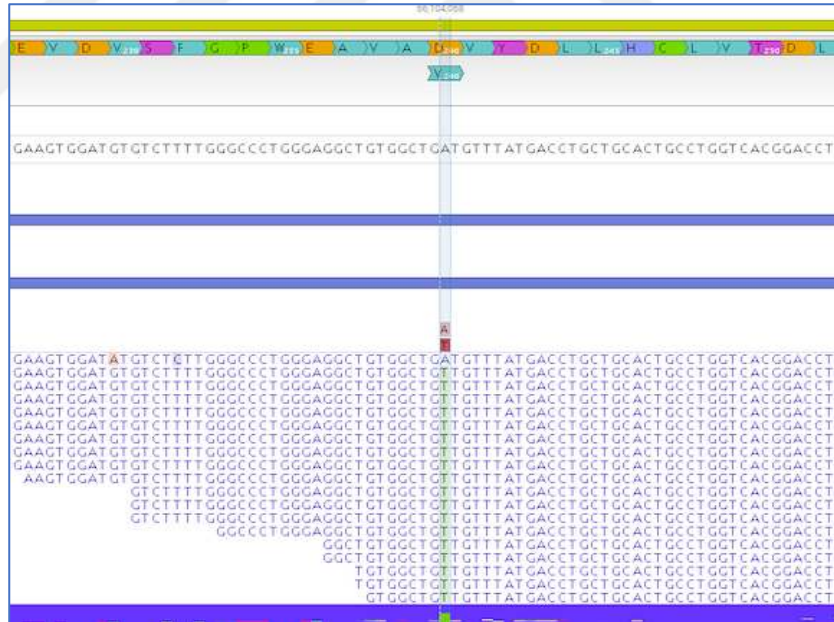
| Gen   | Hastalık<br>(OMIM numarası)                                                                 | Kalıtım<br>modeli |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| KCTD7 | İntraselüler inklüzyon içeren veya içermeyen, progresif miyoklonik epilepsi tip 3 (#611725) | OR                |

Olgu 50'de KCTD7 geninde saptanan c.280C>T, p.R94W heterozigot varyantı (Tablo 4.38, Şekil 4.46) genin 2.ekzonunda lokalize olup ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Clinvar veri tabanında VUS/muhtemel patojenik olarak tanımlanmış ve literatürde progresif miyoklonik epilepsiyle nöromotor gelişme geriliği olan bir çocukta homozigot varyant olarak rapor edilmiştir.<sup>125</sup> KCTD7 geninde saptanan diğer heterozigot varyant (c.719A>T, p.D240V) (Tablo 4.38, Şekil 4.47) ise popülasyon verilerinde tespit edilmemiş olup ACMG kriterlerine göre VUS olarak tanımlanmıştır. Ayrıca Mutation Taster, Provean ve SIFT veri tabanlarında hastalık nedeni olarak belirtilmiştir. Aile çalışması yapıldıktan sonra bu iki heterozigot varyantın bileşik heterozigot olduğu saptanmıştır. Tablo 4.5'de özetlenen klinik tablo göz önüne

alındığında olgunun kliniğinin ‘İntraselüler inklüzyon içeren veya içermeyen, progresif miyoklonik epilepsi tip 3 (#611725)’ ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.39).



Şekil 4.46 KCTD7 geninde saptanan c.280C>T, p.R94W heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü



Şekil 4.47 KCTD7 geninde saptanan c.719A>T, p.D240V heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.18 Olgu 59 ve Olgu 105

Tablo 4.40 Olgu 59 ve olgu 105'de saptanan varyantlar

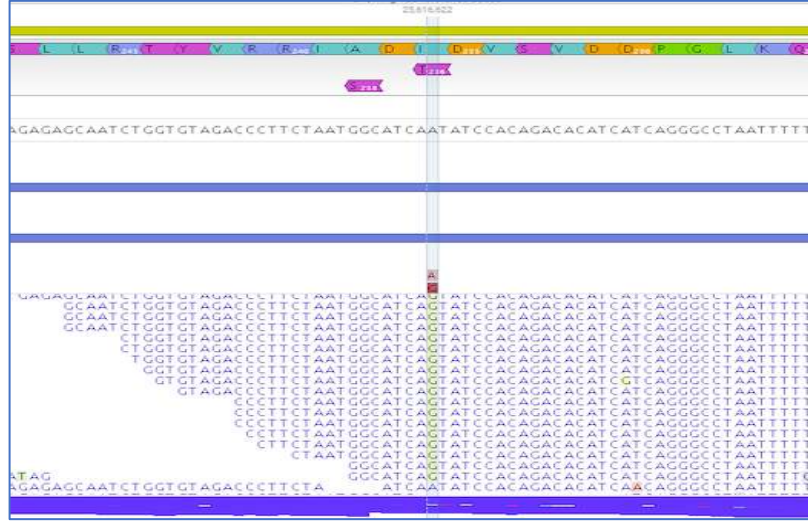
| Olgu | Gen   | Varyant                                 | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|-------|-----------------------------------------|-------------------|---------------------|
| 59   | UBE3A | c.707T>C,<br>p.I236T HET                | 3                 | NM_130839.5         |
| 59   | CDKL5 | c.3083C>T,<br>p.T1028M HEM              | 4                 | NM_003159.2         |
| 105  | CDKL5 | c.1415_1416delC<br>A, p.T472fs*6<br>HEM | 2                 | NM_003159.2         |

Tablo 4.41 UBE3A ve CDKL5 geniyle ilişkili hastalıklar

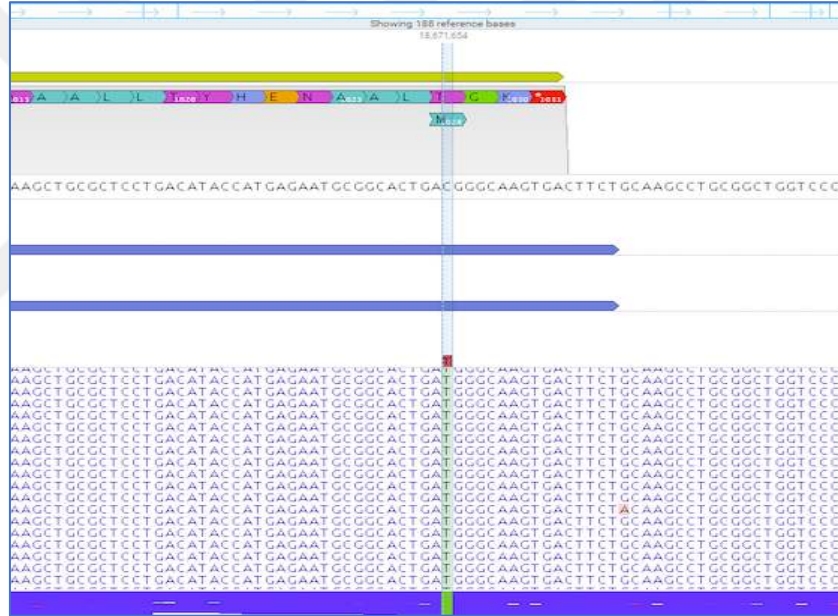
| Gen   | Hastalık<br>(OMIM numarası)                       | Kalıtım<br>modeli |
|-------|---------------------------------------------------|-------------------|
| UBE3A | Angelman sendromu (#105830)                       | OD                |
| CDKL5 | Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 2 (#300672) | XLD               |

Olgu 59'de *UBE3A* geninde saptanan c.707T>C, p.I236T heterozigot varyant (Tablo 4.40, Şekil 4.48) GnomAD popülasyon veri tabanında saptanmamış olup ACMG kriterlerine göre VUS olarak sınıflanmasının yanısıra Mutation Taster, MutPred, Provean ve SIFT veritabanlarında patojenik/hastalık nedeni olarak yorumlanmıştır.

Olgu 59'da *CDKL5* geninde tespit edilen hemizigot varyant (c.3083C>T, p.T1028M) (Tablo 4.40, Şekil 4.49) 'GnomAD Exomes' popülasyon veri tabanına göre 1 erkekte (frekans (f)=0.0000151) hemizigot olarak ve 3 kadında (f=0.0000259) heterozigot olarak saptanmıştır. Bu varyant ACMG kriterlerine göre muhtemel benign olarak yorumlanmakla birlikte Mutation Taster veritabanında polimorfizm olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.48 Olgu 59' da UBE3A geninde saptanan c.707T>C, p.I236T heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü



Şekil 4.49 Olgu 59' da CDKL5 geninde saptanan c.3083C>T, p.T1028M hemizigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

Olgu 105'de *CDKL5* geninde saptanan c.1415\_1416delCA, p.T472fs\*6 hemizigot varyantı (Şekil 4.50) gende çerçeve kayması mutasyona neden olup ACMG kriterlerine göre muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca Mutation Taster veri tabanında hastalık nedeni olarak tanımlanmıştır. Böylece Tablo 4.5'de özetlenen epilepsi kliniği, nöromotor gelişim geriliği ve stereotipik hareketleri göz önüne alındığında olgunun kliniğinin 'Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 2 (#300672)' ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.41).



Şekil 4.50 Olgu 105'de CDKL5 geninde saptanan c.1415\_1416delCA hemizigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.19 Olgu 61

Tablo 4.42 Olgu 61'de saptanan SCN8A varyantı ve özellikleri

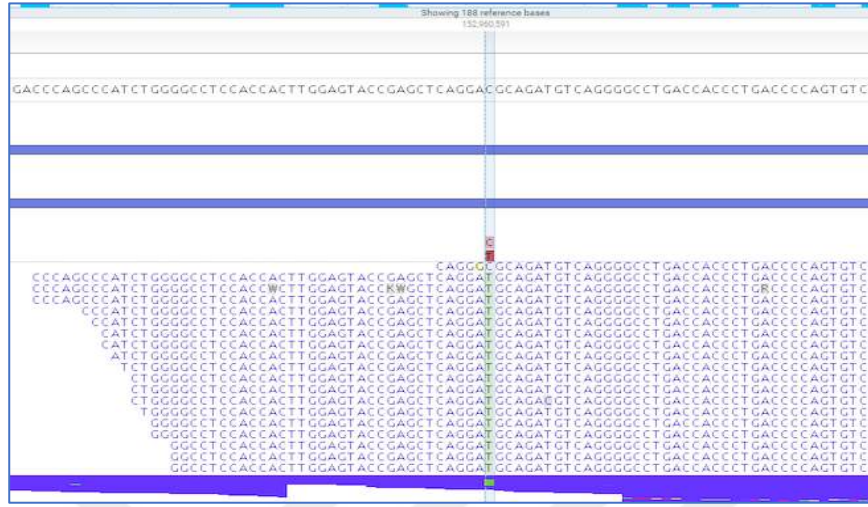
| Olgu | Gen   | Varyant            | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|-------|--------------------|-------------------|---------------------|
| 61   | SCN8A | c.3491-4C>T<br>HET | 4                 | NM_001177984.2      |

Tablo 4.43 SCN8A geni ile ilişkili hastalıklar

| Gen   | Hastalık<br>(OMIM numarası)                                            | Kalıtım<br>modeli |
|-------|------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| SCN8A | -Familiyal miyoklonus tip 2 (#618364)                                  | OD                |
|       | -Serebellar ataksiyi içeren veya içermeyen kognitif bozukluk (#614306) | OD                |
|       | -Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 13 (#614558)                    | OD                |
|       | -Benign familiyal infantil nöbetler tip 5 (#617080)                    | OD                |

Olgu 61'de SCN8A geninde saptanan c.3491-4C>T heterozigot varyantı (Tablo 4.42, Şekil 4.51) genin 18.intronunda lokalize olup ACMG kriterlerine göre muhtemel benign olarak sınıflandırılmıştır. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş bir varyant olmakla birlikte olgudaki epilepsi kliniği göz önüne alındığında 'Gelişimsel

epileptik ensefalopati tip 13 (#614558)' ile uyumlu olmadığı düşünülmektedir (Tablo 4.43).



Şekil 4.51 SCN8A geninde c.3491-4C>T heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.20 Olgu 63

Tablo 4.44 Olgu 63'de SPTAN1 geninde saptanan varyantlar ve özellikleri

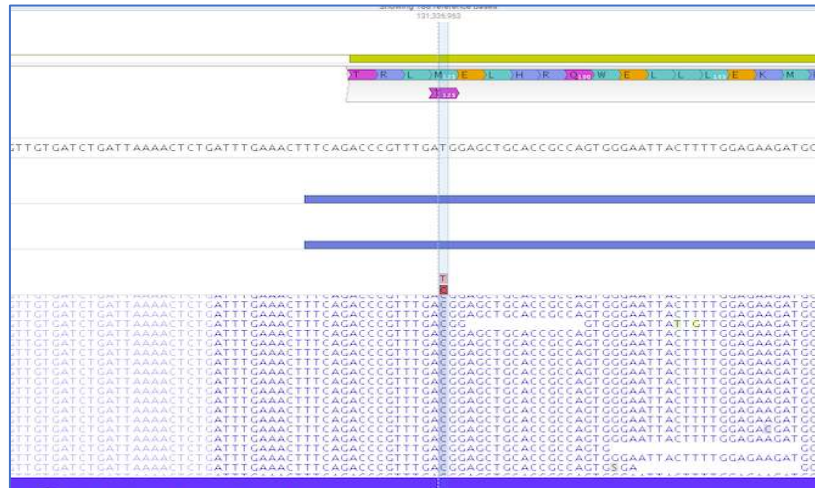
| Olgu | Gen    | Varyant                 | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|--------|-------------------------|-------------------|---------------------|
| 63   | SPTAN1 | c.3641G>A, p.R1214H HET | 4                 | NM_001130438.3      |
| 63   |        | c.374T>C, p.M125T HET   | 4                 |                     |

Tablo 4.45 SPTAN1 geni ile ilişkili hastalık özellikleri

| Gen    | Hastalık<br>(OMIM numarası)             | Kalıtım<br>modeli |
|--------|-----------------------------------------|-------------------|
| SPTAN1 | Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 5 | OD                |

Olgu 63'de SPTAN1 geninde c.3641G>A, p.R1214H ve c.374T>C, p.M125T olmak üzere 2 heterozigot varyant (Tablo 4.44) tespit edilmiştir. c.3641G>A heterozigot varyantı (Şekil 4.52) genin 29. ekzonunda lokalize olup Clinvar veritabanında (Clinvar ID: 810435) klinik önemi belirsiz ve ACMG kriterlerine göre muhtemel benign olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca popülasyon veri tabanına göre (gnomAD Exomes) 4 kişide heterozigot (f=0.000016) olarak saptanmıştır.

Olgu 63’de *SPTAN1* geninde saptanan diğer heterozigot varyant (c.374T>C, p.M125T) (Şekil 4.53) genin 4.ekzonunda bulunmakla birlikte proteinin spectrin 1 tekrar bölgesini etkilemektedir. Provean ve SIFT veri tabanında benign olarak bildirilmekle birlikte ACMG kriterlerine göre Muhtemel benign olarak yorumlanmıştır. Yapılan aile segregasyon çalışmasında c.3641G>A, p.R1214H varyantının paternal ve c.374T>C, p.M125T varyantının maternal geçişli olduğu tespit edilmiştir. Buna göre hastanın kliniğinin otozomal kalıtmımlı ‘Gelişimsel epileptik ensefalopati tip 5’ ile uyumlu olmadığı düşünülmüştür (Tablo 4.45).



#### 4.2.21 Olgu 77

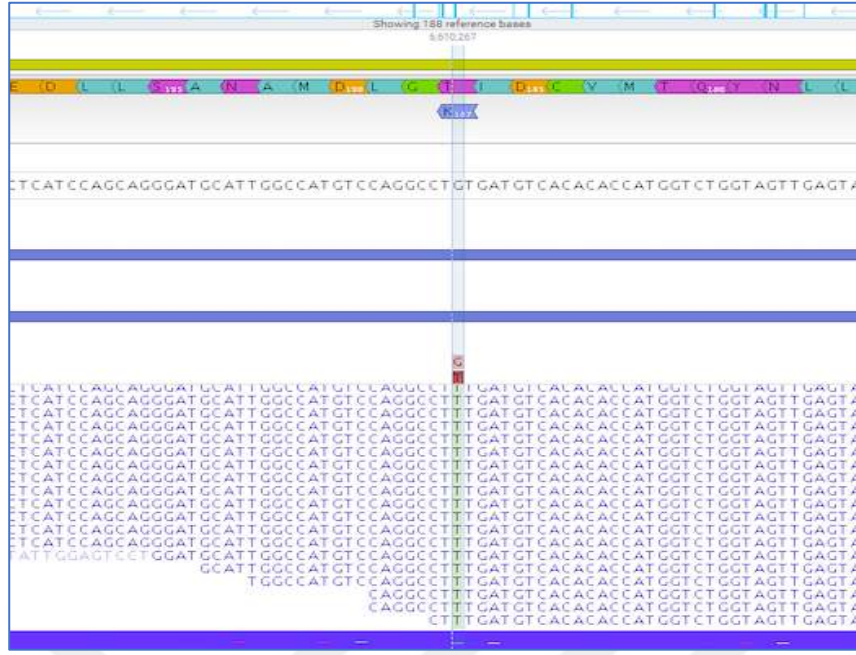
Tablo 4.46 Olgu 77'de GLDC geninde saptanan varyantlar ve özellikleri

| Olgu | Gen  | Varyant                | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|------|------------------------|-------------------|---------------------|
| 77   | GLDC | c.560C>A , p.T187K HET | 2                 | NM_000170.3         |
| 77   |      | c.2195A>T, p.N732I HET | 2                 |                     |

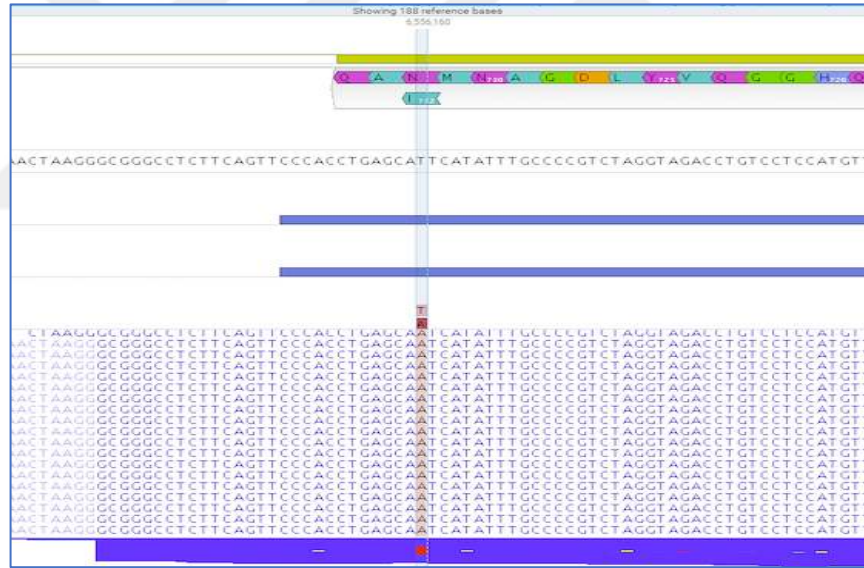
Tablo 4.47 GLDC geniyle ilişkili fenotipik özellikler

| Gen  | Hastalık (OMIM numarası)        | Kalıtım modeli |
|------|---------------------------------|----------------|
| GLDC | Glisin ensefalopatisi (#605899) | OR             |

Olgu 77'de GLDC geninde saptanan c.560C>A, p.T187K heterozigot varyantı (Tablo 4.46, Şekil 4.54) genin 4.ekzonunda lokalize olup ACMG kriterlerine göre muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmıştır. dbSNP veri tabanında rs386833582 numarasıyla kayıtlı olmakla birlikte literatürde glisin ensefalopatili bir hastada homozigot varyant olarak rapor edilmiştir.<sup>126</sup> GLDC geninde saptanan diğer heterozigot varyant (c.2195A>T, p.N732I) (Şekil 4.55) ise ACMG kriterlerine göre muhtemel patojenik olarak tanımlanmış olup popülasyon verilerinde tespit edilmemiştir. Ayrıca Provean, Mutation Taster ve SIFT veri tabanlarında patojenik olarak belirtilmiştir. Yapılan aile segregasyon çalışmasında c.560C>A, p.T187K varyantının paternal ve c.2195A>T, p.N732I varyantının maternal geçişli olduğu tespit edilerek bileşik heterozigot olduğu saptanmıştır. Tablo 4.5'de özetlenen klinik tablo göz önüne alındığında olgunun kliniğinin 'Glisin ensefalopatisi (#605899)' ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.47).



Şekil 4.54 GLDC geninde saptanan c.560C>A, p.T187K heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü



Şekil 4.55 GLDC geninde saptanan c.2195A>T, p.N732I heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.22 Olgu 79

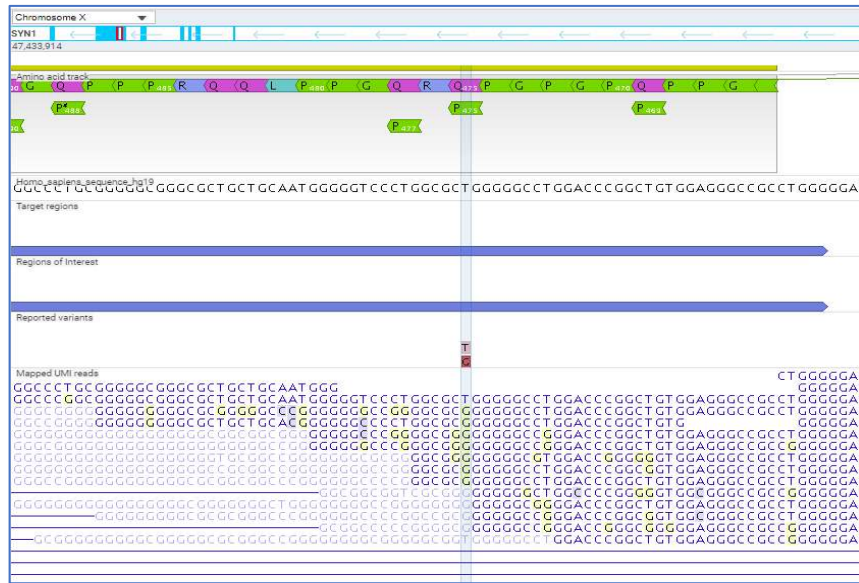
Tablo 4.48 Olgu 79'da saptanan *SYN1* varyantının özellikleri

| Olgu | Gen         | Varyant                   | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|-------------|---------------------------|-------------------|---------------------|
| 79   | <i>SYN1</i> | c.1424A>C,<br>p.Q475P HEM | 4                 | NM_133499.2         |

Tablo 4.49 *SYN1* geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen         | Hastalık (OMIM numarası)                                                                                                                         | Kalıtım modeli |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <i>SYN1</i> | -X'e bağlı entelektüel gelişim bozukluğu tip 50 (#300115)<br>-Değişken öğrenme güçlüğü ve davranış bozuklukları ile X'e bağlı epilepsi (#300491) | XL<br>XLR, XLD |

Olgu 79'da *SYN1* geninin 12.ekzonunda tespit edilen hemizigot varyant (c.1424A>C, p.Q475P) (Tablo 4.48, Şekil 4.56) ACMG kriterlerine göre Muhtemel benign olarak yorumlanmıştır. Bu varyant Mutation Taster veri tabanında hastalık nedeni olarak tanımlanmış olup Provean ve SIFT veri tabanında benign olarak sınıflandırılmıştır. *SYN1* geni patojenik varyantları entellektüel gelişim bozukluğu, değişken öğrenme güçlüğü, davranış bozuklukları ve epilepsi ile ilişkilendirilmiştir (Tablo 4.49).



Şekil 4.56 *SYN1* geninde saptanan c.1424A>C, p.Q475P hemizigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.23 Olgu 91

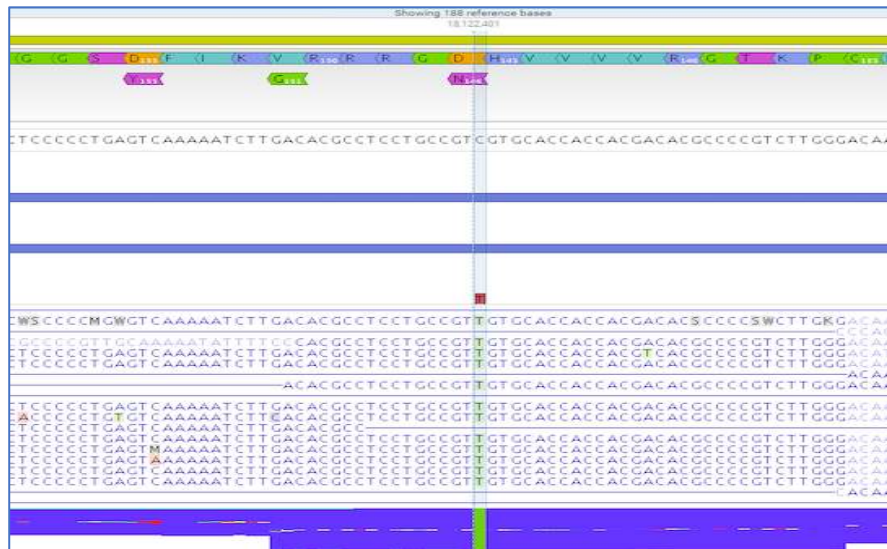
Tablo 4.50 Olgu 91'de *NHLRC1* geninde saptanan varyant ve özellikleri

| Olgu | Gen           | Varyant                  | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|---------------|--------------------------|-------------------|---------------------|
| 91   | <i>NHLRC1</i> | c.436G>A,<br>p.D146N HOM | 1                 | NM_198586.3         |

Tablo 4.51 *NHLRC1* geniyle ilişkili hastalık fenotipi

| Gen           | Hastalık (OMIM numarası)                                   | Kalıtım modeli |
|---------------|------------------------------------------------------------|----------------|
| <i>NHLRC1</i> | Progresif miyoklonik epilepsi tip 2B (Lafora)<br>(#254780) | OR             |

Olgu 91'da *NHLRC1* geninde saptanan homozigot varyant (c.436G>A, p.D146N) (Tablo 4.50, Şekil 4.57), popülasyon veri tabanında saptanmamakla birlikte ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Literatürde çeşitli çalışmalarda Lafora hastalığına neden olan tekrarlayan mutasyon olarak bildirilmiştir.<sup>127–130</sup> Bu varyantı taşıyan hastaların daha hafif seyirli ve geç başlangıçlı olduğu rapor edilmiştir.<sup>129</sup> Aile çalışması sonucu anne ve babanın bu varyant açısından heterozigot taşıyıcı olduğu tespit edilmiştir. Buna göre olgudaki miyoklonik nöbet kliniği göz önüne alındığında 'Progresif miyoklonik epilepsi tip 2B (Lafora) (#254780)' ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.51).



Şekil 4.57 *NHLRC1* geninde saptanan c.436G>A, p.D146N homozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.24 Olgu 92

Tablo 4.52 Olgu 92’de *KCNMA1* geninde saptanan varyant ve özellikleri

| Olgu | Gen           | Varyant                   | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|---------------|---------------------------|-------------------|---------------------|
| 92   | <i>KCNMA1</i> | c.2303A>C,<br>p.E768A HET | 3                 | NM_001014797.3      |

Tablo 4.53 *KCNMA1* geniyle ilişkili hastalıklar

| Gen           | Hastalık (OMIM numarası)                                                                           | Kalıtım modeli |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <i>KCNMA1</i> | -Liang-Wang syndrome (OMIM #618729)                                                                | OD             |
|               | -Jeneralize epilepsinin eşlik edebildiği paroksizmal nonkineziyenik diskinezi tip 3 (OMIM #609446) | OD             |
|               | -İdiyopatik jeneralize epilepsiye yatkınlık tip 16 (#618596)                                       | OD             |
|               | -Serebellar atrofi, gelişme geriliği ve nöbetler (#617643)                                         | OR             |

Olgu 92’de *KCNMA1* geninde saptanan c.2303A>C, p.E768A heterozigot varyantı (Tablo 4.52) gende yanlış anlamlı mutasyona neden olup ACMG kriterlerine göre VUS olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca Mutation Taster veri tabanında hastalık nedeni olarak tanımlanmakla birlikte Provean ve SIFT veri tabanında benign olarak yorumlanmıştır. Böylece Tablo 4.5’de özetlenen epilepsi kliniği göz önüne alındığında klinik tablonun ‘Jeneralize epilepsinin eşlik edebildiği paroksizmal nonkineziyenik diskinezi tip 3 (OMIM #609446)’ veya ‘İdiyopatik jeneralize epilepsiye yatkınlık tip 16 (#618596)’ ile uyumlu olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.53).

#### 4.2.25 Olgu 99

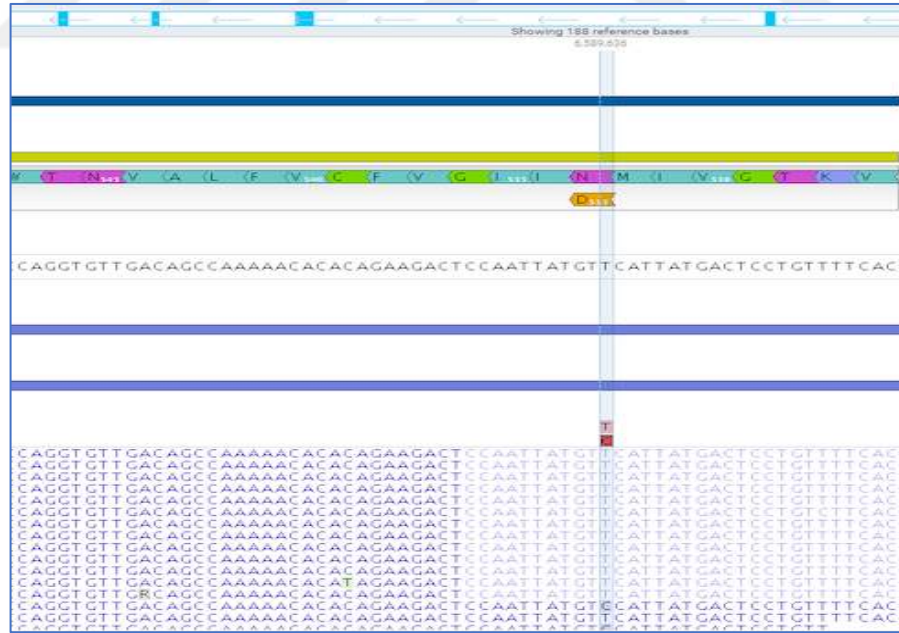
Tablo 4.54 Olgu 99’da *SLC13A5* geninde saptanan varyantların özellikleri

| Olgu | Gen            | Varyant               | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|----------------|-----------------------|-------------------|---------------------|
| 99   | <i>SLC13A5</i> | c.997C>T, p.R333* HET | 1                 | NM_177550.5         |
| 99   |                | c.1597A>G, p.N533D    | 3                 |                     |

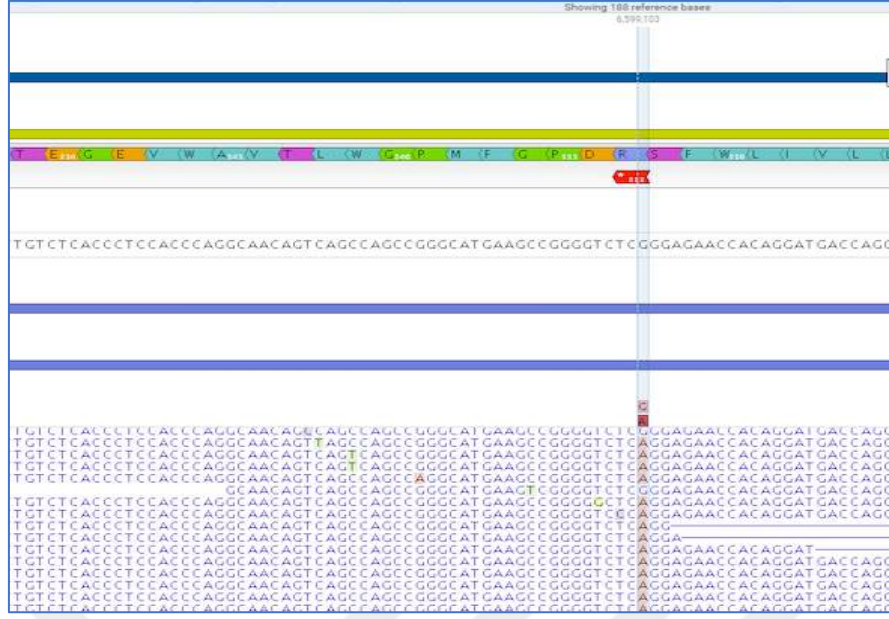
Tablo 4.55 SLC13A5 geniyle ilişkili hastalık fenotipi

| Gen     | Hastalık (OMIM numarası)                                                       | Kalıtım modeli |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| SLC13A5 | Amelogenesis imperfecta ile gelişimsel epileptik ensefalopati tip 25 (#615905) | OR             |

Olgu 99’da SLC13A5 geninde saptanan c.997C>T, p.R333\* heterozigot varyantı (Tablo 4.54, Şekil 4.58) genin 7.ekzonunda lokalize olup ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Literatürde çeşitli yayınlarda erken başlangıçlı ensefalopati ile ilişkilendirilmiştir. SLC13A5 geninde saptanan diğer heterozigot varyant (c.1597A>G, p.N533D) (Şekil 4.59) ise genin 12. ekzonunda bulunmakla birlikte proteinin helikal transmembran bölgesini etkilemektedir. Bu varyant ACMG kriterlerine göre VUS olarak tanımlanmış olup Mutation Taster, Provean ve SIFT veri tabanlarında patojenik olarak yorumlanmıştır. Aile çalışması yapıldıktan sonra bu iki heterozigot varyantın bileşik heterozigot olduğu saptanmıştır. Tablo 4.5’de özetlenen klinik tablo göz önüne alındığında olgunun kliniğinin ‘Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati tip 25’ ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.55).



Şekil 4.58 SLC13A5 geninde saptanan c.997C>T, p.R333\* heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü



Şekil 4.59 SLC13A5 geninde saptanan c.1597A>G, p.N533D heterozigot varyantın BAM verisindeki görüntüsü

#### 4.2.26 Olgu 101

Tablo 4.56 Olgu 101'de DEPDC5 geninde saptanan varyant ve özellikleri

| Olgu | Gen    | Varyant                 | Patojenite sınıfı | Transkript numarası |
|------|--------|-------------------------|-------------------|---------------------|
| 101  | DEPDC5 | c.257A>C,<br>p.Y86S HET | 4                 | NM_001136029.3      |

Tablo 4.57 DEPDC5 geniyle ilişkili hastalık fenotipi

| Gen    | Hastalık (OMIM numarası)                          | Kalıtım modeli |
|--------|---------------------------------------------------|----------------|
| DEPDC5 | Değişken odaklı familial fokal epilepsi (#604364) | OD             |

Olgu 101'de DEPDC5 geninde saptanan heterozigot varyant (c.257A>C, p.Y86S) (Tablo 4.56), Şekil 4.60), popülasyon veri tabanında bildirilmemekle birlikte ACMG kriterlerine göre Muhtemel benign olarak sınıflandırılmıştır. Buna göre olgunun Tablo 4.5'de özetlenen klinik tablosu göz önüne alındığında 'Değişken odaklı familial fokal epilepsi (#604364)' ile uyumlu olmadığı düşünülmektedir (Tablo 4.57).



## 5.TARTIŞMA

Epilepsi dünya çapında çocukları etkileyen yaygın bozukluklardan biridir. Epilepsi vakalarının %40-50'sinde altta yatan etiyoloji bilinmemekle birlikte, yapılan bir araştırmaya göre, erken başlangıçlı epilepsisi olan bireylerin ~%40'ında altta yatan genetik nedenin tespit edilebileceği belirtilmiştir.<sup>84</sup>

Pediyatrik epilepsiler, heterojenite gösteren geniş bir fenotipik spektruma sahiptir. Spesifik epilepsi fenotipi söz konusu olduğunda tek gen dizileme için Sanger yöntemi kullanılmakla birlikte genetik heterojenite gösteren durumlarda bu teknik pahalı ve uzun süreçli olabilmektedir. NGS tekniğinde ise birden fazla gen aynı anda doğru ve verimli bir şekilde analiz edilebildiğinden hastalıkla ilişkili varyantları saptamak daha mümkün olabilmektedir. Nedensel varyantların saptanması, sonraki gebeliklerde tekrar riskinin belirlenebilmesi ve hedefe yönelik tedavilerin verilmesi açısından önemlidir. Bu nedenle çalışmamızda 110 genden oluşan epilepsi NGS panelinin 107 epilepsili çocuk hastada prediktif değerini saptamayı amaçladık.

Retrospektif yapılan bu çalışmada, 21'i patojenik, 10'u muhtemel patojenik ve 13'ü VUS varyant olmak üzere 23 gende 44 varyant belirlendi. Varyantlar geniş bir fenotip aralığına sahip hastalarda saptandı (Tablo 4.5). Bu tez çalışmasında epilepsi panelinin ilk prediktif değeri literatürde bildirilen oranlarla uyumlu olarak %21,5, VUS varyantların yeniden analiz edilmesiyle (P, LP, VUS) prediktif değeri %28 olarak hesaplandı.<sup>46,131-133</sup> Çalışmamızda saptanan *GRIN2A*, *TSC2* ve *ALDH7A1* genleri yüksek tanı oranına sahip genlerdi. 110 gen içeren epilepsi panelindeki 78 gende nedensel varyant saptanmadı. 4 gende (*TSC2*, *TBC1D24*, *GRIN2A*, *ALDH7A1*) tekrarlayan patojenik/muhtemel patojenik varyantlar tespit edildi. P ve LP varyantların kodladığı proteinlerin fonksiyonel sınıflamasında ise en sık iyon kanalı kodlayan genlerde (%34) (*SCN1A*, *SCN2A*, *KCNQ2*, *KCTD7*, *GRIN2A*, *GABRA1*) saptandı.

Çalışmamızda Dravet sendromu ile ilişkili olarak *SCN1A* geninde 2 patojenik ve 1 VUS olmak üzere 3 varyant (c.4554dupA p.P1519fs\*18, c.4757G>A p.G1586E, c.3749C>T p.T1250M) saptandı. *SCN1A* nöronal voltaj kapılı sodyum kanalını (Nav1.1) kodlamakla birlikte bu gendeki varyantlar, erken başlangıçlı nöbet ve gelişme geriliğinin bir nedenidir. Çalışmamızda literatürde bildirilen *SCN1A* varyantlarıyla uyumlu olarak yaşamın ilk yılında başlayan nöbetler ve hastalarda ciddi gelişimsel gecikme bulunmaktaydı.<sup>134</sup> *SCN1A* fonksiyon kaybı mutasyonları inhibitör internöronlarda

sodyum kanalı fonksiyonunun eksikliğine yol açmakta olup bu hastalarda sodyum kanal blokörlerinin kullanılmasının klinik tabloyu kötüleştirdiği gösterilmiştir.<sup>135</sup>

Voltaj kapılı sodyum kanalı Nav1.2'yi kodlayan bir gen olan *SCN2A* ile ilişkili epilepsi fenotipi, kendini sınırlayan benign ailesel neonatal-infantil epilepsiden şiddetli Ohtahara sendromuna kadar uzanır. Daha önceki çalışmalarda, *SCN2A* geniyle ilişkili fonksiyonel çalışmalar yapılmış olup çocuklarda şiddetli erken başlangıçlı epilepsiler fonksiyon kazanımı mutasyonları ile ilişkilendirilmiştir.<sup>136,137</sup> Yapılan bir çalışmada sodyum kanal blokerlerinin kullanımının erken infantil epilepsili çocuklarda (<3 ay) klinik olarak anlamlı nöbet azalmasına neden olurken daha geç başlayan (≥3 ay) epilepsilerde nadiren etkili olup ve bazen nöbetin kötüleşmesine neden olduğu rapor edilmiştir. Erken dur kodonuna neden olan anlamsız mutasyonların geç başlangıçlı epilepsisi olan ve sodyum kanal blokerlerine yanıt vermeyen hastalarda görüldüğü bildirilmiştir.<sup>136</sup> Böylece *SCN2A* ile ilişkili epilepsili çocuklarda hastalık başlangıç yaşı, sodyum kanal blokerlerine yanıt ve mutasyonların fonksiyonel özellikleri arasında bir ilişki olduğu öne sürülmektedir. Çalışmamızda *SCN2A* geninde varyant (c.4141A>T (p.N1381Y)) saptanan olguda literatürde bildirilen erken başlangıçlı *SCN2A* varyantlarıyla uyumlu olarak yaşamın ilk ayların başlayan nöbetler ve hastalarda ciddi gelişimsel gecikme bulunmaktaydı. *SCN2A* genindeki varyant (c.1964C>G, p.S655C) ise literatürde bildirilmemekle birlikte saptanan hastanın nöbet kliniğinin ilişkilendirilebilmesi için fonksiyonel çalışma yapılması gerekmektedir.

*SCN8A* geni voltaj kapılı sodyum kanalını (Nav1.6) kodlamakla birlikte bu gendeki varyantlar gelişimsel gecikme ile özellikle yaşamın ilk yılında başlayan nöbetlerin bilinen nedeni olarak bildirilmiştir. *SCN8A* ile ilişkili epilepsi fenotipi, şiddetli erken infantil epileptik ensefalopatilerden benign ailesel infantil epilepsiye kadar uzanan bir spektrumla bağlantılıdır. *SCN8A* esas olarak eksitator nöronlarda eksprese edildiğinden bu gen ile ilgili epileptik fenotipler çoğunlukla fonksiyon kazanımı ile ilişkilidir.<sup>138</sup> *SCN8A* varyantı olan hastalarda sodyum kanal blokerleri ve okskarbazepin tedavisine iyi yanıt varken, levetirasetam tedavisine yanıtın iyi olmadığı bildirilmiştir.<sup>139</sup> Çalışmamızda *SCN8A* geninde varyant saptanan hastanın neonatal başlangıçlı nöbet kliniği ve gelişimsel geriliği uyumlu olmasına rağmen fonksiyonel çalışma yapılması gerekmektedir.

Voltaj kapılı potasyum kanalını kodlayan *KCNQ2* geni, neonatal başlangıçlı epileptik ensefalopatilerin yaklaşık %10'undan sorumludur.<sup>140</sup> Bildirilen fenotipler, benign ailesel neonetal nöbetlerden progresif ilaca dirençli epileptik ensefalopatiye kadar

farklılık göstermekle birlikte genellikle ciddi gelişimsel gecikme ile ilişkilidir.<sup>141</sup> Bu bozukluğun ayırt edici özelliği, yaşamın ilk haftalarında refrakter nöbetlerin başlaması ve nöromotor gelişim geriliğinin belirgin olmasıdır. Çalışmamızda neonatal başlangıçlı nöbet ve gelişim geriliği olan bir hastada *KCNQ2* geninde saptanan varyant (c.923C>T, p.P308L) daha önce epileptik ensefalopatisi olan 7 yaşında erkek bir hastada rapor edilmiştir.<sup>142</sup> Bu hastada valproik asit antiepileptik ilaç tedavisinden sonra nöbet sıklığı azalmış olup yapılan bir çalışmada *KCNQ2* varyantı taşıyan epilepsi hastalarının valproik asit, levetirasetam and topiramat tedavisinden fayda gördükleri belirtilmiştir.<sup>143</sup> Daha önce bildirilen genotip-fenotip çalışmalarında tanımlanan *KCNQ2*'deki erken dur kodonuna neden olan anlamsız varyantlar benign familyal neonatal nöbet ile ilişkiliyken, *KCNQ2*'nin yanlış anlamlı varyantlarının şiddetli, sporadik epileptik ensefalopati fenotipine neden olduğu gösterilmiştir.<sup>140,144</sup>

*KCNT1* geni nöron uyarılabilirliğini düzenlemede önemli bir rol oynayan sodyumla aktifleştirilmiş potasyum kanalı alt birimini kodlar. *KCNT1* genindeki patojenik varyantların çoğu fonksiyon kazanımı fenotipi ile sonuçlanmaktadır. *KCNT1* geni bozukluklarından otozomal dominant nokturnal frontal lob epilepsisi genellikle normal zekaya sahip bireylerde görülmekle birlikte ortalama başlangıç yaşı 9'dur.<sup>145</sup> İnfant dönem malign migratuvar fokal nöbetler ise şiddetli erken başlangıçlı epilepsi ile karakterize olup nöbetlerin başlangıç yaşı genellikle 6 aydan öncedir. Çalışmamızda hipotoni, nöromotor gelişim geriliği ve epilepsisi olan olguda saptanan klinik önemi belirsiz *KCNT1* varyantı (c.3451G>C, p.E1151Q) daha önce literatürde tanımlanmamış olup olgudaki epilepsi kliniği ile ilişkilendirebilmek için bu varyantın fonksiyonel çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca patojenik *KCNT1* varyantı saptanan hastalarda Quinidin tedavisinin hastalarda nöbet sıklığını azalttığı rapor edilmiştir.<sup>143,146</sup>

*KCNMA1* geni kalsiyumla aktive voltaja bağlı potasyum kanalının alfa alt birimini kodlamaktadır. Bu geninin dominant fonksiyon kazancı mutasyonları jeneralize epilepsi, paroksizmal diskinezi ve gelişim geriliği olan hastalarda tanımlanmakla birlikte fonksiyon kaybettirici heterozigot varyantlar hareket bozuklukları ve Liang-Wang sendromu ile ilişkilendirilmiştir.<sup>147</sup> Bu genin homozigot fonksiyon kaybı mutasyonlarının ise serebellar atrofi, gelişim geriliği ve nöbetlerle ilişki olduğu bildirilmiştir.<sup>148</sup> Çalışmamızda saptanan heterozigot *KCNMA1* varyantı (c.2303A>C, p.E768A) daha önce literatürde tanımlanmamış olup olguda görülen jeneralize epilepsi kliniği ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, bu varyantın fonksiyonel çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

*KCTD7* geni voltaj kapılı potasyum kanalında bulunan tetramerizasyon domaini içeren transmembran proteini kodlamaktadır. *KCTD7*'nin nörotransmitter glutamat oluşumu için gerekli olan glutamin taşınmasını düzenlemekle birlikte cullin-3'ü (CUL3) bağlayarak otofaji-lizozom yolunda rol oynadığı gösterilmiştir.<sup>149,150</sup> Bu gendeki homozigot veya bileşik heterozigot varyantlar miyoklonus, epilepsi ve nörolojik bozulma ile karakterize ilerleyici miyoklonik epilepsi ile ilişkilendirilmiştir.<sup>151</sup> Çalışmamızda dirençli miyoklonik nöbetler ve nöromotor gelişme geriliği olan olguda *KCTD7* geninde bileşik heterozigotluk saptanmıştır. p.R94W proteinin BTB domaininde yer almakla birlikte daha önce homozigot veya bileşik heterozigot olarak pregrosif miyoklonik epilepsi hastalarında bildirilmiştir.<sup>125,151</sup> c.719A>T (p.D240V) varyantı ise literatürde bildirilmemiş olup etkisinin klinik deneylerle doğrulanması gerekmektedir.

*CACNA1H* geni düşük eşikli kalsiyum kanalı olarak da bilinen T tipi kalsiyum kanalını (Cav3.2) kodlamakla birlikte genetik jeneralize epilepside diken dalga deşarjlarının oluşumundan sorumludur.<sup>152</sup> Çocukluk çağı absans epilepsisi olan 118 hastada *CACNA1H* geninde 12 yanlış anlamlı varyantı tanımlanmış olup fonksiyonel analizlerle bu varyantların kalsiyumun girişini arttırdığı saptanmıştır.<sup>153</sup> Çalışmamızda jeneralize epilepsili olgumuzda saptanan çerçeve içi delesyona neden olan varyant (c.3422\_3442delGGCGCTCCAGCTGGAGCAGCC) literatürde bildirilmemiştir.

*GRIN2A* geni glutamatla aktive olan NMDA reseptörü alfa alt birimini kodlar. *GRIN2A* ile ilişkili varyantlar atipik benign parsiyel epilepsiden otizm bozukluğu, mental retardasyon, dil bozukluğu ve fokal epilepsi fenotipi görülen Landau-Kleffner sendromuna kadar değişen spektrumda görülebilmektedir.<sup>154,155</sup> Çalışmamızda *GRIN2A* geninde fokal epilepsi, nöromotor gelişme geriliği ve konuşma geriliği olgularda reseptörün glutamat bağlayıcı bölgesini etkileyen c.2190C>G, p.Y730\* varyantı tespit edilmiştir. *GRIN2A* fonksiyon kazanımı mutasyonları olan dirençli epilepsisi olan hastalarda NMDA blokeri (memantin) kullanımının nöbet sıklığını azalttığı gösterilmiştir.<sup>156</sup> Bununla birlikte, bu hastalarda memantin etkinliğinin klinik deneylerle doğrulanması gerekmektedir.

*CHRNA2* geni nöronal asetilkolin nikotinik reseptör subunit alfa 2'yi kodlamakla birlikte bu gendeki fonksiyon kaybı mutasyonlarının benign familial infantil nöbet ve nokturnal frontal lob epilepsisine neden olduğu gösterilmiştir.<sup>157</sup> Nokturnal frontal lob epilepsisinde klinik özellikler, tekrarlayan uyanma, gece gezintisi, kabusların eşlik ettiği kalıplaşmış kısa (5 saniyeden 5 dakikaya kadar) gece motor nöbetleridir. Yapılan bir çalışmada nokturnal lob epilepsili hastalarda eksik penetrans saptandığı bildirilmiştir.<sup>158</sup>

Çalışmamızda uykudan sıçrama şeklinde uyanma ve nöbetleri olan nörogelişimi normal bir olguda maternal kalıtmalı (c.223C>T, p.R75C) varyant saptanmıştır. Bu varyant literatürde bildirilmemekle birlikte etkisinin anlaşılabilmesi için fonksiyonel çalışmalar yapılması gerekmektedir.

*GABRA1* geni GABA reseptör subünit alfa-1'i kodlamakla birlikte beyin çoğu bölgesi eksprese edilmektedir.<sup>159</sup> Bu gendeki varyantlar özellikle juvenil miyoklonik epilepsisi ve çocukluk absans epilepsisi olmak üzere jeneralize epilepsisi olan hastalarda tanımlanmıştır.<sup>160,161</sup> Yakın zamanda yapılan çalışmalarda ise Dravet Sendromu ve erken başlangıçlı epileptik ensefalopatilerin yanı sıra yanı sıra nöromotor gelişim geriliği, davranış sorunları ve otistik özellikler ile ilişkilendirilmiştir.<sup>162,163</sup> Fonksiyonel çalışmalarda, bu gendeki varyantların GABA-A reseptörleri aracılı nöronal inhibisyonu bozarak epilepsi patogeneze katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Çalışmamızda *GABRA1* geninde varyant saptanan (c.961T>C, p.Y321H) olgunun dirençli jeneralize epilepsi, nöromotor gelişim geriliği ve otizm kliniği literatürde bildirilen diğer *GABRA1* ilişkili epilepsi tablolarıyla uyumlu olarak saptanmıştır.

*PCDH19* geni kalsiyum bağımlı hücre adezyon proteini Protocadherin-19'u kodlamakla birlikte bu genin varyantları Dravet sendromuna benzeyen infantil epileptik ensefalopatiden otizm ve mental retardasyonun eşlik ettiği epilepsiye kadar geniş bir klinik spektrumda görülebilmektedir.<sup>164-166</sup> *PCDH19* ile ilişkili epilepside primer olarak dişiler etkilenmiş olup erkekler genellikle etkilenmeyen taşıyıcılardır ancak somatik mozaiklik durumunda klinik fenotip ortaya çıktığı rapor edilmiştir.<sup>119,167</sup> Yapılan bir çalışmada *PCDH19* mutasyonlarının GABA-reseptör modülatörlerinden biri olan nörosteroid allopregnanolon eksikliğine neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda 1 kız ve 1 erkek olguda *PCDH19* geninde varyant saptanmıştır. Erkek olguda hemizigot varyant (c.1529C>A, p.P510H) saptanmakla birlikte somatik mozaiklik araştırılmamıştır. c.1178C>T, p.P393L varyantı saptanan kız hastanın kliniği ise literatürde bildirilen *PCDH19* ilişkili epilepsiler ile uyumlu olarak tespit edilmiştir.

*CDKL5* geni MECP2 fosforilasyonunda görev alan siklin bağımlı kinaz benzeri 5 proteinini kodlamakla beraber bu gendeki varyantlar epileptik ensefalopati ve Rett sendromu benzeri gelişimsel gecikmeye neden olmaktadır.<sup>168</sup> Bu çalışmada hemizigot *CDKL5* gen varyantı (c.1415\_1416delCA, p.T472fs\*6) belirlenmiştir. c.1415\_1416delCA (p.T472fs\*6) varyantı olan 7 yaş erkek hastada 3 aylıkken başlayan dirençli epileptik nöbetler, şiddetli nöromotor gelişim geriliği ve stereotipik hareketler bulunmaktadır. *CDKL5* genindeki varyantların çoğu kız cinsiyette saptanmış olup

nadiren erkek hastalar da bildirilmiştir. <sup>143,169-171</sup> *CDKL5* mutasyonu olan hastalarda temel semptomlar epilepsi, şiddetli psikomotor gelişim geriliği, mental retardasyon ve hipotoni olarak tanımlanmış olup olgumuzun kliniği ile uyumludur. Hastalarda başlangıçta fokal nöbetler ve tonik nöbetler görülürken hastalığı ilerleyen dönemlerinde epileptik spazmlar sık görülen nöbet türüdür. Erkek olgularda daha şiddetli zihinsel ve motor gerilik tanımlanmıştır. Yapılan bir çalışmada *CDKL5* varyantı saptanan 3 erkek olguda konuşma geriliği ve nöromotor gelişim geriliği saptanmıştır.<sup>143</sup>

*MECP2* geni metillenmiş DNA'ya bağlanan metil-CpG bağlayıcı protein 2'yi kodlamakla beraber bu gendeki varyantlar Rett sendromu, X'e bağı entelektüel bozukluk ve neonatal epileptik ensefalopatiye neden olmaktadır. Bu çalışmada mikrosefali, stereotipik hareketler ve 18. aydan sonra kazanılmış becerilerin kaybı olan olguda *MECP2* geninde patojenik varyant (c.916C>T, p.R306C) saptanmıştır. *MECP2* genindeki varyantların çoğu dişilerde saptanmış olup nadiren erkek hastalar da bildirilmiştir.<sup>172</sup> Rett sendromlu bireylerde, yaşamlarının ilk 6 ila 18 ayı boyunca görünüşte normal bir gelişim sonrası kazanılmış becerilerin kaybı, stereotipik hareketler, nöbet ve nöromotor gelişim geriliği tanımlanmış olup hastamızın klinik tablosu ile uyumludur.<sup>108,110</sup> Erkek olgular daha ciddi neonatal ensefalopati veya entelektüel yetersizlik ile karakterizedir.<sup>172</sup>

*PRRT2* geni sinaptik iletimde rol oynayan prolinden zengin transmembran protein 2 yi kodlamakla beraber bu gendeki varyantlar benign infantil epilepsi, paroksizmal kinesijenik epilepsi ve hemiplejik migren ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada 2 olguda heterozigot *PRRT2* gen varyantı (c.621dupA, p.S208fs\*17 ve c.649dupC, p.R217fs\*8) tanımlanmıştır. p.S208fs\*17 varyantının proteinin heliks-loop-heliks alanını etkileyerek *PRRT2*'nin, nörotransmitter salınımı için gerekli bir SNARE proteini olan STX1B'ye bağlanmasının bozulduğu bildirilmiştir.<sup>120</sup> Bu varyantın çocukluk döneminde epilepsi kliniği olan babadan paternal kalıtılmış olması literatürde bildirilen diğer kalıtılan *PRRT2* varyantlarıyla uyumludur.<sup>117</sup> *PRRT2* genindeki diğer varyant (c.649dupC, p.R217fs\*8) literatürde paroksizmal koreatetozun eşlik ettiği familial infantil nöbetler, epizodik diskinezi, jeneralize tonik klonik nöbetler, febril konvülsiyon ve hemiplejik migreni içeren bir fenotipik spektrumla ilişkilendirilmiştir.<sup>121-123</sup>

*TSC1* ve *TSC2* genleri genleri sırasıyla hamartin ve tüberin proteinlerini kodlamakla birlikte bu tüberoskleroz kompleksi, mTOR sinyali yolağını negatif düzenleyerek hücre büyümesi ve proliferasyonunda görev almaktadır. Bu çalışmada tüberoskleroz kliniği ile uyumlu olarak 1 olguda *TSC1* ve 7 olguda *TSC2* geninde varyant saptanmıştır. Tüberoskleroz klinik olarak nöbet, fasiyal anjiyofibrom, hipomelanotik

maküller, shagreen patch, retina hamartomları, renal anjiyomiyolipom, subependimal nodüller veya dev hücreli astrositom veya kardiyak rabdomyom ile ortaya çıkabilen nörokutanöz sendromlardan biridir.<sup>173</sup> Bu hastalarda nöbetlerin erken kontrol altına alınmasının epileptik ensefalopatiji önlediği öne sürülmüştür.<sup>174</sup> Tuberosklerozlu hastalarda yapılan retrospektif bir çalışmada infantil spazmların %73'ünün vigabatrin ile kontrol altına aldığı rapor edilmiş olup ayrıca bazı hastaların epilepsi cerrahisinden fayda gördüğü belirtilmiştir.<sup>175,176</sup> Ayrıca subependimal dev hücreli astrositomlarda erken dönemde mTOR inhibitörleri kullanılmasının bazı hastalarda cerrahi ihtiyacını azalttığı bildirilmiştir.<sup>177</sup>

*ALDH7A1* geni lizin katabolizmasında görev alan alfa aminoadipik semialdehit dehidrogenezi kodlamakla birlikte bu gendeki biallelik varyantlar neonatal veya infantil başlangıçlı nöbetler ile karakterize piridoksin bağımlı epilepsiye neden olmaktadır.<sup>178,179</sup> Etkilenen bireylerde yüksek alfa aminoadipik semialdehit seviyelerin hücre içi aktif B6 vitamin kofaktörü piridoksal-5-fosfatın azalmasına neden olarak glutamik asit ve GABA arasında dengesizliğe neden olmaktadır.<sup>180</sup> Etkilenen bireylerde ömür boyu piridoksin takviyesiyle genellikle nöbet kontrolü sağlanmaktadır.<sup>181</sup> Bu çalışmada 4 olguda *ALDH7A1* geninde homozigot patojenik varyantlar saptanmakla birlikte literatürle uyumlu olarak piridoksin tedavisiyle tam nöbet kontrolü sağlanmıştır.

Literatürde 3 ile 580 arası genden oluşan epilepsi panellerinin pozitif tanı sonuçlarının %0,8 ile %48 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Tablo 5.1). Bildirilen çalışmalarda en küçük hasta grubu 19 kişiye en geniş hasta grubu 8565 birey olarak rapor edilmiştir.<sup>117,182</sup> Çalışmalar arasında bu tanı oranlarının farklı olmasının nedeni seçilen epilepsi gruplarının ve NGS gen panellerinin heterojen olmasıdır. Bu çalışmalarda NGS panelleri erken başlangıçlı epileptik ensefalopatili hastalarda daha yüksek tanı değeri gösterirken fokal epilepsili hastalarda %0,8 ve %4 ile daha düşük tanı değerine sahiptir.<sup>46,133,183-185</sup> Yapılan iki çalışmada diğer çalışmalara görece daha az hasta (19 ve 33) dahil edilmesi bu çalışmalarındaki yüksek NGS paneli tanı değerlerinin (%47 ve %48) nedeni olabilir.<sup>6,142</sup> Çalışmamızda saptanan epilepsi panelinin tanı değeri %28 diğer hedeflenen NGS panelleri ile ilgili yayınlanmış çalışmalara benzerdi.

Epilepsi ve nörogelişimsel hastalığı olan 8565 olgunun 70 gen içeren NGS paneli ile değerlendirildiği bir çalışmada *SCN1A* ve *KCNQ2* genleri en sık olmak üzere 22 genin yüksek tanısal değeri olduğu tespit edilirken, 16 gende pozitif bulgu saptanmamıştır. 14 farklı gende (en yaygın olarak *MECP2*, *KCNQ2*, *SCN1A*, *SCN2A*, *STXBPI* ve *PRRT2*'de) tekrarlayan P/LP varyantları gözlenmiştir. *CDKL5*, *STXBPI*, *SCN8A*, *GABRA1* ve

*FOXG1* genlerinde saptanan tüm varyantlar de novo iken, *PRRT2*'deki varyantların çoğunun (%85,7) kalıtsal olduğu gösterilmiştir.<sup>117</sup> Çalışmamızda 1 olguda *PRRT2* varyantı parental kalıtsal olarak saptanmakla birlikte bu çalışma ile uyumludur.

Butler ve ark. (2017) tarafından 339 epilepsi hastasında yapılan çalışmada 110 gen içeren epilepsi panelinin tanı koyma oranı %18 iken potansiyel olarak nedensel varyantların 21 kişide (%6) saptandığını bildirmiştir.<sup>186</sup> Hoelz ve ark.(2020) %40'ında epileptik ensefalopati, %33'ünde fokal epilepsi ve %18'inde jeneralize epilepsi olan 91 epilepsi hastasını, 5 ila 434 gen arasında değişen büyüklüklerde epilepsi panelleri ile retrospektif olarak değerlendirerek, hastaların %18'inde (16 hastada) ACMG kriterlerine göre 'patojenik' ve 'muhtemel patojenik' varyantlar saptandığını rapor etmişlerdir.<sup>187</sup>

Zhang ve ark. tarafından 253 epilepsili çinli çocukta 300 gen içeren hedefli NGS paneli kullanılarak yapılan bir çalışmada tüm yaş gruplarında tanı oranı %18 iken 3 aydan erken başlangıçlı epilepsilerde tanı oranı %26 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada literatürle uygun olarak en sık saptanan gen *SCN1A* (%17) olarak rapor edilmiştir.<sup>183</sup> Mercimek-Mahmutoğlu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada epilepsi, global gelişimsel gecikmesi ve bilişsel işlev bozukluğu hastalarda epilepsi panelinin tanı değerini %12,7 saptanırken diğer çalışmalarla uyumlu olarak en sık saptanan gen *SCN1A* olarak bildirilmiştir.<sup>46</sup> Gökben ve ark erken başlangıçlı epileptik ensefalopatili 30 hastadan oluşan bir hasta grubunda hedeflenen NGS analizini kullanılarak 12 nedensel varyant tanımlanmış olup NGS panelinin prediktif değeri %40 olarak tespit edilmiştir.<sup>133</sup>

Zhang Q ve ark. erken başlangıçlı epileptik ensefalopatisi olan 175 Çinli hastada 56 de novo heterozigot varyant tanımlamakla birlikte diğer çalışmalardan farklı olarak en sık saptanan gen *CDKL5* (%13,1) olarak belirtilmiştir.<sup>143</sup> Bu çalışmada *KCNQ2* gen varyantı olan hastaların valproik asit tedavisinden fayda gördüğü belirtilmekle birlikte çalışmamızda *KCNQ2* gen varyantı tespit edilen hastamızın valproik tedavisine yanıtı olması ile uyumluydu.

Dirençli epilepsilerin NGS panelleriyle araştırıldığı çalışmalarda panelin tanı değeri %14 ile %32,6 arasında tanımlanmıştır.<sup>188-190</sup> Parrini ve ark. tarafından yapılan çalışmada 100 gen içeren hedefli NGS panellerinin, pediatrik ilaca dirençli epilepsilerde en uygun maliyetli tanı seçeneği olduğu öne sürülmüştür.<sup>189</sup> Son zamanlarda yapılan bir çalışmada (2022) hedeflenmiş gen paneliyle 175 hastadan 30'unda (%17,14) patojenik varyant tespit edildiği bildirilmiştir. Ardından diğer varyantlarla klinik genotip-fenotip korelasyonu ve ebeveyn DNA analiziyle segregasyon yapılmasıyla birlikte 16 (%9,14) epilepsi hastasının daha genetik tanısının doğrulandığı bildirilmiştir. Böylece bu

çalışmada NGS epilepsi gen panelinin sonuçlarını değerlendirirken genotip-fenotip korelasyonu ve multidisipliner bir yaklaşım önerilmiştir.<sup>131</sup>

Çalışmamızda olguların %64,5’unda varyant (P, LP, VUS) tespit edilmemiştir. Bu hastaların epilepsi fenotipinden genetik dışı nedenler ya da genetik nedenler arasında NGS gen paneli dışındaki genlerin, epigenetik-damgalama (imprint) bozukluklarının veya mikrolelesyon mikroduplikasyonların varlığının neden olduğu düşünülmektedir.

Birçok epilepsi için, spesifik genetik etiyolojinin saptanması prognoz hakkında bilgi sağlamakla birlikte, tedavi ve yönetimle ilgili kararları etkilemektedir. Erken moleküler tanı hastalığın tekrar riski açısından genetik danışmalık verilmesine, bazı genler için gene özgü tedavilerin uygulanmasına, olguların gen spesifik tedavi denemelerine katılmasına ve hasta destek gruplarıyla etkileşim kurmasına olanak sağlayabilir.

Pediyatrik epilepsi hastalarında, teşhis için NGS epilepsi panelleri kullanılması aynı zamanda hastaların tedavi seçeneklerini de etkilemektedir. Örneğin; *ALH7A1* homozigot mutasyonu için pridoksin, *KCNT1* mutasyonu için Quinidin, *GRIN2A/ GRIN2B* fonksiyon kazancı mutasyonu için memantin, *PCDH19* mutasyonu için klobazam ve bromid, *PRRT2* için karbamazepin, *KCNQ2* mutasyonu için retigabin ve valproik asit, *GLUT1* eksikliğinde ketojenik diyet gibi tedaviler önerilmektedir.<sup>181,191–195</sup> *TSC1* ve *TSC2* ile ilgili bozukluklar için de vigabatrin, mTOR inhibitörleri veya rezektif epilepsi cerrahisi düşünülebilir.<sup>196</sup>

Alta yatan genetik nedenin bilinmesi, *SCN1A* gibi sodyum kanalı fonksiyon kaybettirici mutasyonlarla ilişkili epilepsilerde sodyum kanal blokerleri gibi semptomları arttıran maddelerden kaçınmaya yardımcı olabilir.<sup>135</sup> Ayrıca bazı antiepileptik ilaçlar, bazı genetik epilepsi sendromlarında diğerlerinden daha etkili görünmektedir. Yapılan çalışmalarda, sodyum kanalı blokerlerinin, *KCNQ2* ve *PRRT2* genleri ile ilişkili nöbetlerde daha etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>140,191,192</sup> Bazı antiepileptik ilaçlar ise, *KCNMA1* ile ilişkili epilepsilerde etosüksimid, *PCDH19* ilişkili epilepsilerde karbamazepin kullanılması gibi nöbet aktivitesini kötüleştirir ve hatta *POLG1* ilişkili epilepsi hastalarında valproik asidin kullanılması gibi ölümcül karaciğer yetmezliğine yol açabilir.<sup>193,197,198</sup>

Sonuç olarak, epilepsi hastalarında hedefli gen paneli yaklaşımı WES analizine alternatif kullanılabilir. Çünkü WES analizi ile karşılaştırıldığında epilepsi panelinde fenotipik olarak ilgili genlerin dahil edilmesi tesadüfî saptanan bulguları azaltmaktadır. Ayrıca, hedeflenmiş gen yaklaşımı sınırlı sayıda genin, daha düşük maliyetlerle daha yüksek sıralama okuma derinliği ile daha iyi analiz kalitesine sahip olmasına olanak tanır.

NGS panellerinin dezavantajı ise panellerin önceden tanımlanmış sayıda gene sahip olması ve epilepsi ile ilişkili olabilecek herhangi bir yeni gen keşfine imkan tanımamasıdır.



Tablo 5.1 Literatürde bildirilen epilepsi ile ilişkili hedefli gen panelleri

| Fenotip                                        | Hasta sayısı | Paneldeki gen sayısı | Tanı oranı | Referans                                    |
|------------------------------------------------|--------------|----------------------|------------|---------------------------------------------|
| Epilepsi                                       | 33           | 265                  | %48        | Lemke vd.,2012 <sup>6</sup>                 |
| Epileptik ensefalopati                         | 500          | 65                   | %10        | Carvill vd., 2013 <sup>199</sup>            |
| Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati       | 53           | 30                   | %20,7      | Kodera vd., 2013 <sup>200</sup>             |
| Epilepsi                                       | 19           | 67                   | %47        | Della Mina vd., 2014 <sup>142</sup>         |
| Epilepsi                                       | 28           | 38 ve 53             | %21,4      | Wang vd., 2014 <sup>201</sup>               |
| Epileptik ensefalopati                         | 110          | 38-327               | %12,7      | Mercimek-Mahmutoğlu vd., 2015 <sup>46</sup> |
| Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati       | 50           | 137                  | %22        | Allen vd., 2016 <sup>132</sup>              |
| Erken başlangıçlı epilepsi ve gelişme geriliği | 400          | 46                   | %18        | Trump vd., 2016 <sup>202</sup>              |
| Epilepsi ve gelişme geriliği                   | 253          | 300                  | %18        | Zhang vd., 2015 <sup>183</sup>              |
| Fokal epilepsi                                 | 251          | 11                   | %0,8       | Hildebrand vd., 2016 <sup>185</sup>         |
| Epilepsi                                       | 216          | 46                   | %23        | Møller vd., 2016 <sup>154</sup>             |
| Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati       | 175          | 17                   | %32        | Zhang vd., 2017 <sup>143</sup>              |
| İlaça dirençli epilepsi (0-5 yaş)              | 349          | 30 ve 95             | %20,3      | Parrini vd., 2017 <sup>189</sup>            |
| Epilepsi ve entelektüel yetersizlik (<5 yaş)   | 360          | 26                   | %9         | De Kovel vd., 2016 <sup>203</sup>           |
| Dirençli epilepsi                              | 49           | B                    | %14        | Segal vd., 2016 <sup>188</sup>              |
| Epileptik ensefalopati                         | 68           | 308                  | %19        | Arafat vd., 2017 <sup>204</sup>             |
| Erken başlangıçlı epilepsi                     | 114          | B                    | %27,2      | Berg vd., 2017 <sup>84</sup>                |
| Epilepsi ve gelişim geriliği                   | 87           | 83 ve 106 gen        | %19,5      | Ortega-Moreno vd., 2017 <sup>205</sup>      |

|                                          |      |                     |        |                                     |
|------------------------------------------|------|---------------------|--------|-------------------------------------|
| Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati | 30   | 16                  | %30    | Gökben vd., 2017 <sup>133</sup>     |
| Erken başlangıçlı epilepsi               | 74   | 172                 | %37,8  | Rim vd., 2018 <sup>206</sup>        |
| Epilepsi                                 | 339  | 110                 | %18    | Butler vd., 2017 <sup>186</sup>     |
| İlaça dirençli epilepsi                  | 141  | 308 ve 540          | %32,6  | Peng vd., 2019 <sup>190</sup>       |
| Gelişimsel epileptik ensefalopati        | 278  | 172                 | %37,1  | Ko vd., 2018 <sup>184</sup>         |
| Epilepsi                                 | 96   | 46, 76, 85, 102     | %20    | Oates vd., 2018 <sup>207</sup>      |
| Epilepsi ve nörogelişimsel hastalık      | 8565 | 70                  | %15,4  | Lindy vd., 2018 <sup>117</sup>      |
| Çocukluk çağı epilepsisi                 | 163  | 3 ile 666 gen arası | %19    | Costain vd., 2019 <sup>208</sup>    |
| Epilepsi                                 | 91   | 5-434               | %18    | Hoelz vd., 2020 <sup>187</sup>      |
| Epilepsi (18-80 yaş)                     | 200  | 45-580 gen          | %23    | Johannesen vd., 2020 <sup>209</sup> |
| Epilepsi (2-5 yaş)                       | 211  | 194 ve 283          | %5,2   | Gall vd., 2021 <sup>210</sup>       |
| Epilepsi                                 | 175  | 270                 | %26,28 | Horák vd 2022 <sup>131</sup>        |

**Kısaltmalar:** B: bilinmiyor

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Epilepsi çocukluk döneminde sık görülen bir hastalık grubudur. Etiyolojide yapısal, metabolik, enfeksiyöz ve immün nedenler yer almakla birlikte genetik nedenler giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Hastalarda spesifik genetik etiyolojinin belirlenmesi kişiselleştirilmiş tedavi ve yönetim seçeneklerinin önünü açmakla birlikte hastalığın prognozu ve tekrar riski açısından yol gösterici olmaktadır. Böylece ailelere prenatal ve preimplantasyon genetik tanı seçeneği ile birlikte genetik danışmanlık verilebilmektedir.

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik polikliniğine rutin tanı testi amacıyla başvurup Epilepsi NGS paneli çalışılmış 107 epilepsili çocuk hastanın klinik, demografik ve laboratuvar bulgularıyla hedefli NGS verilerinin retrospektif olarak incelendiği çalışmamızda; 20 patojenik, 5 muhtemel patojenik ve 49 klinik önemi bilinmeyen olmak üzere 74 varyant tespit edilmiştir. VUS varyantlar yeniden analiz edildikten sonra 15'i benign, 15'i muhtemel benign, 5'i muhtemel patojenik, 1'i patojenik olmak üzere 36 varyantın patojenite sınıflandırması tekrar belirlenmiştir. Böylece toplamda 31 patojenik-muhtemel patojenik (P, LP) ve 13 VUS varyant saptanmıştır.

Çalışmamızda 110 epilepsi ile ilişkili gen içeren NGS panelinin prediktif değeri ilk değerlendirmede patojenik ve muhtemel patojenik varyantlar için %21,4 ve VUS varyantların eklenmesiyle %28 olarak hesaplanmış olup bu oranlar literatürde epilepsi paneli çalışılmış araştırmalar ile uyumlu olarak saptanmıştır. Çalışmamızda %30 oranında saptanan VUS varyantların önemini belirlemek için fonksiyonel çalışmalar yapılması önerilmektedir. Böylece NGS panelinde saptanan varyantlar daha kolay değerlendirilerek daha yüksek tanısal değer elde edilebilir. Ayrıca varyantların patojenitesi güncel literatür bilgisiyle değişebildiğinden NGS sonuçlarının belirli aralıklarla tekrar analiz edilmesi gerekmektedir.

Epilepsi klinik ve genetik heterojenite gösteren bir hastalık grubu olduğundan spesifik bir sendrom düşünülmeyen hastaların öncelikle hedefli NGS panelleri ile taranması ve mutasyon bulunamayan olgularda ise kromozomal mikroarray, WGS veya WES analizi gibi genetik tanı testlerinin çalışılması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Beghi E, Hesdorffer D. Prevalence of epilepsy-an unknown quantity. *Epilepsia*. 2014;55(7):963-7.
2. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, Engel J Jr, Forsgren L, French JA, Glynn M, Hesdorffer DC, Lee BI, Mathern GW, Moshé SL, Perucca E, Scheffer IE, Tomson T, Watanabe M, Wiebe S. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-482.
3. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Zuberi SM. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):522-530.
4. Myers KA, Johnstone DL, Dymment DA. Epilepsy genetics: Current knowledge, applications, and future directions. *Clinical Genetics*. 2019;95(1):95-111.
5. Wang J, Lin ZJ, Liu L, Xu HQ, Shi YW, Yi YH, He N, Liao WP. Epilepsy-associated genes. *Seizure*. 2017;44:11-20.
6. Lemke JR, Riesch E, Scheurenbrand T, Schubach M, Wilhelm C, Steiner I, Hansen J, Courage C, Gallati S, Bürki S, Strozzi S, Simonetti BG, Grunt S, Steinlin M, Alber M, Wolff M, Klopstock T, Prott EC, Lorenz R, Spaich C, Rona S, Lakshminarasimhan M, Kröll J, Dorn T, Krämer G, Synofzik M, Becker F, Weber YG, Lerche H, Böhm D, Biskup S. Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia*. 2012;53(8):1387-1398.
7. Bromfield EB, Cavazos JE, Sirven JI, editors. An introduction to epilepsy [Internet]. West Hartford (CT): American Epilepsy Society; 2006.
8. Ngugi AK, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: A meta-analytic approach. *Epilepsia*. 2010;51(5):883-890.
9. Ngugi AK, Kariuki SM, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Neurology*. 2011;77(10):1005-1012.
10. Nsengiyumva G, Druet-Cabanac M, Ramanankandrasana B, Bouteille B, Nsizabira L, Preux PM. Cysticercosis as a major risk factor for epilepsy in Burundi, East Africa. *Epilepsia*. 2003;44(7):950-955.

11. Preux PM, Druet-Cabanac M. Epidemiology and aetiology of epilepsy in sub-Saharan Africa. *Lancet Neurology*. 2005;4(1):21-31.
12. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J, Pringsheim T, Lorenzetti DL, Jetté N. Prevalence and incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*. January 2017; 88(3): 296-303. Published online 2016.
13. Velioglu SK, Bakirdemir M, Can G, Topbas M. Prevalence of epilepsy in northeast Turkey. *Epileptic Disorders*. 2010;12(1):22-37.
14. Calışır N, Bora I, Irgil E, Boz M. Prevalence of epilepsy in Bursa city center, an urban area of Turkey. *Epilepsia*. 2006;47(10):1691-1699.
15. Serdaroğlu A, Ozkan S, Aydın K, Gücüyener K, Tezcan S, Aycan S. Prevalence of epilepsy in Turkish children between the ages of 0 and 16 years. *Journal of Child Neurology*. 2004;19(4):271-274.
16. Beghi E. The Epidemiology of epilepsy. *Neuroepidemiology*. 2020;54(2):185-191. doi:10.1159/000503831
17. Gastaut, H; Caveness WF, Landolt W, Lorentz de Haas AM, McNaughton FL, Magnus O, Merlis JK, Pond DA, Radermecker J, Storm van Leeuwen WA. Proposed international classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1964;5(4):297-306.
18. Gastaut H. Clinical and electroencephalographical classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1969;10:Suppl:2-13.
19. Penry K. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1981;22(4):489-501.
20. League I, Epilepsy A. proposal for classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*. 1985;26(3):268-278.
21. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy 1989. proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Wiley Online Library. *Epilepsia*. 1989;30(4):389-399.
22. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshé SL, Nordli D, Plouin P, Scheffer IE. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ilae commission on classification and terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. 2010;51(4):676-685.

23. Berg AT, Scheffer IE. New concepts in classification of the epilepsies: Entering the 21st century. *Epilepsia*. 2011;52(6):1058-1062.
24. Fisher RS, Cross JH, D'Souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Schulze-Bonhage A, Somerville E, Sperling M, Yacubian EM, Zuberi SM. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*. 2017;58(4):531-542.
25. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, Hirsch E, Jain S, Mathern GW, Moshé SL, Nordli DR, Perucca E, Tomson T, Wiebe S, Zhang YH, Zuberi SM. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ilae commission for classification and terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):512-521.
26. Falco-Walter JJ, Scheffer IE, Fisher RS. The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Research*. 2018;139(July 2017):73-9.
27. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J Jr. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005 Apr;46(4):470-2.
28. Wirrell EC, Nabbout R, Scheffer IE, Alsaadi T, Bogacz A, French JA, Hirsch E, Jain S, Kaneko S, Riney K, Samia P, Snead OC, Somerville E, Specchio N, Trinka E, Zuberi SM, Balestrini S, Wiebe S, Cross JH, Tinuper P. Methodology for Classification and Definition of Epilepsy Syndromes: Report of the ILAE Task Force on Nosology and Definitions. *Epilepsia*. 2021;in Press.
29. Pressler RM, Cilio MR, Mizrahi EM, Moshé SL, Nunes ML, Plouin P, Vanhatalo S, Yozawitz E, de Vries LS, Puthenveetil Vinayan K, Triki CC, Wilmschurst JM, Yamamoto H, Zuberi SM. The ILAE classification of seizures and the epilepsies: Modification for seizures in the neonate. Position paper by the ilae task force on neonatal seizures. *Epilepsia*. 2021;62(3):615-628.
30. Stafstrom CE CL. Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5.
31. Ellis CA, Petrovski S, Berkovic SF. Epilepsy genetics: clinical impacts and biological insights. *The Lancet Neurology*. 2020;19(1):93-100.
32. Sarlo GL, Holton KF. Brain concentrations of glutamate and GABA in human epilepsy: A review. *Seizure*. 2021;91(January):213-227.

33. Hanada T. Ionotropic glutamate receptors in epilepsy: A review focusing on ampa and nmda receptors. *Biomolecules*. 2020;10(3).
34. Barker-Haliski M, Steve White H. Glutamatergic mechanisms associated with seizures and epilepsy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2015;5(8):1-15. d
35. Yalcin G, Yalcin A. Excitotoxicity as a molecular mechanism in epilepsy. *Geriatric Medicine and Care*. 2018;2(1):1-3.
36. Treiman DM. GABAergic mechanisms in epilepsy. *Epilepsia*. 2001;42(SUPPL. 3):8-12.
37. Yeni SN, Gürses C. Epilepsi Çalışma Grubu Tanı ve Tedavi Rehberi. *Türk Nöroloji Derneği* 2015.
38. Hur YJ. Guideline for advanced neuroimaging in pediatric epilepsy. *Korean Journal of Pediatrics*. 2020;63(3):100-101.
39. Bernasconi A, Cendes F, Theodore WH, Gill RS, Koepp MJ, Hogan RE, Jackson GD, Federico P, Labate A, Vaudano AE, Blümcke I, Ryvlin P, Bernasconi N. Recommendations for the use of structural magnetic resonance imaging in the care of patients with epilepsy: A consensus report from the International League Against Epilepsy Neuroimaging Task Force. *Epilepsia*. 2019;60(6):1054-1068.
40. Samia P, Odero N, Njoroge M, Ochieng S, Mavuti J, Waa S, Gwer S. Magnetic resonance imaging findings in childhood epilepsy at a tertiary hospital in Kenya. *Frontiers in Neurology*. 2021;12.
41. Whelan CD, Altmann A, Botía JA, Jahanshad N, Hibar DP, Absil J, Alhusaini S, Alvim MKM, Auvinen P, Bartolini E, Berge FPG, Bernardes T, Blackmon K, Braga B, Caligiuri ME, Calvo A, Carr SJ, Chen J, Chen S, Cherubini A, David P, Domin M, Foley S, França W, Haaker G, Isaev D, Keller SS, Kotikalapudi R, Kowalczyk MA, Kuzniecky R, Langner S, Lenge M, Leyden KM, Liu M, Loi RQ, Martin P, Mascalchi M, Morita ME, Pariente JC, Rodríguez-Cruces R, Rummel C, Saavalainen T, Semmelroch MK, Severino M, Thomas RH, Tondelli M, Tortora D, Vaudano AE, Vivash L, von Podewils F, Wagner J, Weber B, Yao Y, Yasuda CL, Zhang G, Bargalló N, Bender B, Bernasconi N, Bernasconi A, Bernhardt BC, Blümcke I, Carlson C, Cavalleri GL, Cendes F, Concha L, Delanty N, Depondt C, Devinsky O, Doherty CP, Focke NK, Gambardella A, Guerrini R, Hamandi K, Jackson GD, Kälviäinen R, Kochunov P, Kwan P, Labate A, McDonald CR, Meletti S, O'Brien TJ, Ourselin S, Richardson MP, Striano P, Thesen T, Wiest R,

- Zhang J, Vezzani A, Ryten M, Thompson PM, Sisodiya SM. Structural brain abnormalities in the common epilepsies assessed in a worldwide ENIGMA study. *Brain*. 2018;141(2):391-408.
42. Maganti RK, Rutecki P. EEG and epilepsy monitoring. *Continuum (Minneapolis)*. 2013 Jun;19(3 Epilepsy):598-622.
  43. Noachtar S, Rémi J. The role of EEG in epilepsy: A critical review. *Epilepsy and Behavior*. 2009;15(1):22-33.
  44. Ritter DM, Holland K. Genetic testing in epilepsy. *Seminars in Neurology*. 2020;40(6):730-738.
  45. Mullen SA, Carvill GL, Bellows S, Bayly MA, Trucks H, Lal D, Sander T, Berkovic SF, Dibbens LM, Scheffer IE, Mefford HC. Copy number variants are frequent in genetic generalized epilepsy with intellectual disability. *Neurology*. 2013;81(17):1507-1514.
  46. Mercimek-Mahmutoglu S, Patel J, Cordeiro D, Hewson S, Callen D, Donner EJ, Hahn CD, Kannu P, Kobayashi J, Minassian BA, Moharir M, Siriwardena K, Weiss SK, Weksberg R, Snead OC 3rd. Diagnostic yield of genetic testing in epileptic encephalopathy in childhood. *Epilepsia*. 2015;56(5):707-716.
  47. Mefford HC, Muhle H, Ostertag P, von Spiczak S, Buysse K, Baker C, Franke A, Malafosse A, Genton P, Thomas P, Gurnett CA, Schreiber S, Bassuk AG, Guipponi M, Stephani U, Helbig I, Eichler EE. Genome-wide copy number variation in epilepsy: novel susceptibility loci in idiopathic generalized and focal epilepsies. *PLoS Genet*. 2010;6(5).
  48. Olson H, Shen Y, Avallone J, Sheidley BR, Pinsky R, Bergin AM, Berry GT, Duffy FH, Eksioglu Y, Harris DJ, Hisama FM, Ho E, Irons M, Jacobsen CM, James P, Kothare S, Khwaja O, Lipton J, Loddenkemper T, Markowitz J, Maski K, Megerian JT, Neilan E, Raffalli PC, Robbins M, Roberts A, Roe E, Rollins C, Sahin M, Sarco D, Schonwald A, Smith SE, Soul J, Stoler JM, Takeoka M, Tan WH, Torres AR, Tsai P, Urion DK, Weissman L, Wolff R, Wu BL, Miller DT, Poduri A. Copy number variation plays an important role in clinical epilepsy. *Annals of Neurology*. 2014;75(6):943-958.
  49. Stark Z, Schofield D, Alam K, et al. Prospective comparison of the cost-effectiveness of clinical whole-exome sequencing with that of usual care overwhelmingly supports early use and reimbursement. *Genetics in Medicine*. 2017;19(8):867-874.

50. Stark Z, Schofield D, Alam K, Wilson W, Mupfeki N, Macciocca I, Shrestha R, White SM, Gaff C. Integrating exome sequencing into a diagnostic pathway for epileptic encephalopathy: Evidence of clinical utility and cost effectiveness. *Molecular Genetics and Genomic Medicine*. 2018;6(2):186-199.
51. Boon P, de Cock E, Mertens A, Trinka E. Neurostimulation for drug-resistant epilepsy: A systematic review of clinical evidence for efficacy, safety, contraindications and predictors for response. *Current Opinion in Neurology*. 2018;31(2):198-210.
52. Sondhi V, Agarwala A, Pandey RM, Chakrabarty B, Jauhari P, Lodha R, Toteja GS, Sharma S, Paul VK, Kossoff E, Gulati S. Efficacy of ketogenic diet, modified atkins diet, and low glycemic index therapy diet among children with drug-resistant epilepsy: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatrics*. 2020;174(10):944-951.
53. Moavero R, Pisani LR, Pisani F, Curatolo P. Safety and tolerability profile of new antiepileptic drug treatment in children with epilepsy. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2018;17(10):1015-1028.
54. Morris GL, Gloss D, Buchhalter J, Mack KJ, Nickels K, Harden C. Evidence-based guideline update: Vagus nerve stimulation for the treatment of epilepsy. *Epilepsy Currents*. 2013;13(6):297-303.
55. Krumholz A, Wiebe S, Gronseth GS, Gloss DS, Sanchez AM, Kabir AA, Liferidge AT, Martello JP, Kanner AM, Shinnar S, Hopp JL FJA. Evidence-based guideline: management of an unprovoked first seizure in adults: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society. *Neurology*. 2015;85(17):1525.
56. Liu G, Slater N PA. Epilepsy: treatment options. *Physician, Am Fam*. 2017;96(2):87-96.
57. Boon P, Ferrao Santos S, Jansen AC, Lagae L, Legros B, Weckhuysen S. Recommendations for the treatment of epilepsy in adult and pediatric patients in Belgium: 2020 update. *Acta Neurologica Belgica*. 2021;121(1):241-257.
58. Téllez-Zenteno JF, Hernández-Ronquillo L, Buckley S, Zahagun R, Rizvi S. A validation of the new definition of drug-resistant epilepsy by the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(6):829-834.
59. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, Moshé SL, Perucca E, Wiebe S, French J. Definition of drug resistant epilepsy:

- Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010;51(6):1069-1077.
60. Dalic L, Cook MJ. Managing drug-resistant epilepsy : challenges and solutions. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. Published online 2016:2605-2616.
  61. Nevitt SJ, Sudell M, Weston J, Tudur Smith C, Marson AG. Antiepileptic drug monotherapy for epilepsy: A network meta-analysis of individual participant data. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017;2017(6).
  62. Tomson T, Battino D, Bromley R, Kochen S, Meador K, Pennell P, Thomas SV. Management of epilepsy in pregnancy: a report from the International League Against Epilepsy task force on women and pregnancy. *Epileptic Disorders*. 2019;21(6):497-517.
  63. Bjellvi J, Olsson I, Malmgren K, Wilbe Ramsay K. Epilepsy duration and seizure outcome in epilepsy surgery: A systematic review and meta-Analysis. *Neurology*. 2019;93(2):159-166.
  64. Chan AY, Rolston JD, Lee B, Vadera S, Englot DJ. Rates and predictors of seizure outcome after corpus callosotomy for drug-resistant epilepsy: a meta-analysis. *Journal of Neurosurgery*. 2019;130(4):1193-1202.
  65. Englot DJ, Chang EF, Auguste KI. Vagus nerve stimulation for epilepsy: A meta-analysis of efficacy and predictors of response - A review. *Journal of Neurosurgery*. 2011;115(6):1248-1255.
  66. Lim MJR, Fong KY, Zheng Y, Chua CYK, Miny S, Lin JB, Nga VDW, Ong HT, Rathakrishnan R, Yeo TT. Vagus nerve stimulation for treatment of drug-resistant epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Neurosurg Rev*. 2022 Feb 26.
  67. Kossoff EH, Zupec-Kania BA, Auvin S, Ballaban-Gil KR, Christina Bergqvist AG, Blackford R, Buchhalter JR, Caraballo RH, Cross JH, Dahlin MG, Donner EJ, Guzel O, Jehle RS, Klepper J, Kang HC, Lambrechts DA, Liu YMC, Nathan JK, Nordli DR Jr, Pfeifer HH, Rho WE. Optimal clinical management of children receiving dietary therapies for epilepsy: Updated recommendations of the International Ketogenic Diet Study Group. *Epilepsia Open*. 3(2):175-192.
  68. Neal EG, Chaffe H, Schwartz RH, Lawson MS, Edwards N, Fitzsimmons G, Whitney A, Cross JH. The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. *The Lancet Neurology*. 2008;7(6):500-6.

69. Ko A, Jung DE, Kim SH, Kang HC, Lee JS, Lee ST, Choi JR, Kim HD. The Efficacy of Ketogenic Diet for Specific Genetic Mutation in Developmental and Epileptic Encephalopathy. 2018;9(July):1-9.
70. Arsov T, Mullen SA, Rogers S, Phillips AM, Lawrence KM, Damiano JA, Goldberg-Stern H, Afawi Z, Kivity S, Trager C, Petrou S, Berkovic SF, Scheffer IE. Glucose transporter 1 deficiency in the idiopathic generalized epilepsies. *Annals of Neurology*. 2012;72(5):807-815.
71. Klepper J, Leiendecker B. GLUT1 deficiency syndrome-2007 update. *Developmental Medicine and Child Neurology*. 2007;49(9):707-716.
72. Sofou K, Dahlin M, Hallböök T, Lindefeldt M, Viggedal G, Darin N. Ketogenic diet in pyruvate dehydrogenase complex deficiency: short- and long-term outcomes. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2017;40(2):237-245.
73. Armeno M, Caraballo R. The evolving indications of KD therapy. *Epilepsy Research*. 2020;163(April):106340.
74. Kim JA, Yoon JR, Lee EJ, Lee JS, Kim JT, Kim HD, Kang HC. Efficacy of the classic ketogenic and the modified Atkins diets in refractory childhood epilepsy. *Epilepsia*. 2016;57(1):51-8.
75. Vetkas A, Fomenko A, Germann J, Sarica C, Iorio-Morin C, Samuel N, Yamamoto K, Milano V, Cheyuo C, Zemmar A, Elias G, Boutet A, Loh A, Santyr B, Gwun D, Tasserie J, Kalia SK LAM. Deep brain stimulation targets in epilepsy: Systematic review and meta-analysis of anterior and centromedian thalamic nuclei and hippocampus. *Epilepsia*. 2022;63(3):513-524.
76. Bouwens van der Vlis TAM, Schijns OEMG, Schaper FLWVJ, Hoogland G, Kubben P, Wagner L, Rouhl R, Temel Y, Ackermans L. Deep brain stimulation of the anterior nucleus of the thalamus for drug-resistant epilepsy. *Neurosurg Rev*. 2019 Jun;42(2):287-296.
77. Lai YC, Muscal E, Wells E, Shukla N, Eschbach K, Hyeong Lee K, Kaliakatsos M, Desai N, Wickström R, Viri M, Freri E, Granata T, Nangia S, Dilella R, Brunklaus A, Wainwright MS, Gorman MP, Stredny CM, Asiri A, Hundallah K, Doja A, Payne E, Wirrell E, Koh S, Carpenter JL, Riviello J. Anakinra usage in febrile infection related epilepsy syndrome: an international cohort. *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2020;7(12):2467-2474.
78. Perucca P, Perucca E. Identifying mutations in epilepsy genes: Impact on treatment selection. *Epilepsy Research*. 2019;152(January):18-30.

79. Sanders SJ, Campbell AJ, Cottrell JR, Moller RS, Wagner FF, Auldridge AL, Bernier RA, Catterall WA, Chung WK, Empfield JR, George AL Jr, Hipp JF, Khwaja O, Kiskinis E, Lal D, Malhotra D, Millichap JJ, Otis TS, Petrou S, Pitt G, Schust LF, Taylor CM, Tjernagel J, Spiro JE, Bender KJ. Progress in Understanding and treating SCN2A-mediated disorders. *Trends in Neurosciences*. 2018;41(7):442-456.
80. Lapalme-Remis S, Cascino GD. Imaging for adults with seizures and epilepsy. *Continuum (Minneap Minn)*. 2016 Oct;22(5, Neuroimaging):1451-1479.
81. Garcia HH, Del Brutto OH. Infection and inflammation. *Handb Clin Neurol* 2012;108:601-20.
82. Vezzani A, Fujinami RS, White HS, Preux PM, Blümcke I, Sander JW, Löscher W. Infections, inflammation and epilepsy. *Acta Neuropathologica*. 2016;131(2):211-234.
83. Singhi P. Infectious causes of seizures and epilepsy in the developing world. *Developmental Medicine and Child Neurology*. 2011;53(7):600-609.
84. Berg AT, Coryell J, Saneto RP, Grinspan ZM, Alexander JJ, Kekis M, Sullivan JE, Wirrell EC, Shellhaas RA, Mytinger JR, Gaillard WD, Kossoff EH, Valencia I, Knupp KG, Wusthoff C, Keator C, Dobyns WB, Ryan N, Loddenkemper T, Chu CJ, Novotny EJ Jr, Koh S. Early-life epilepsies and the emerging role of genetic testing. *JAMA Pediatrics*. 2017;171(9):863-871.
85. Correll CM. Antibodies in epilepsy. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2013;13(5).
86. Husari KS, Dubey D. Autoimmune epilepsy. *Neurotherapeutics*. 2019;16(3):685-702.
87. Poduri A, Sheidley BR, Shostak S, Ottman R. Genetic testing in the epilepsies-developments and dilemmas. *Nature Reviews Neurology*. 2014;10(5):293-9.
88. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977 Dec;74(12):5463-7.
89. Thermes C. Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genet*. 2014;30(9):418-426.
90. Luthra R, Chen H, Roy-Chowdhuri S, Singh RR. Next-generation sequencing in clinical molecular diagnostics of cancer: advantages and challenges. *Cancers (Basel)*. 2015;7(4):2023-2036.

91. Pittman A, Hardy J. Genetic analysis in neurology: The next 10 years. *JAMA Neurology*. 2013;70(6):696-702.
92. Samorodnitsky E, Jewell BM, Hagopian R, Miya J, Wing MR, Lyon E, Damodaran S, Bhatt D, Reeser JW, Datta J, Roychowdhury S. Evaluation of hybridization capture versus amplicon-based methods for whole-exome sequencing. *Human Mutation*. 2015;36(9):903-914.
93. Dunn P, Albury CL, Maksemous N, Benton MC, Sutherland HG, Smith RA, Haupt LM, Griffiths LR. Next generation sequencing methods for diagnosis of epilepsy syndromes. *Frontiers in Genetics*. 2018 Feb 7;9:20
94. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*. 2015;17(5):405-424.
95. Holm IA, Yu TW, Joffe S. From Sequence Data to Returnable Results: Ethical Issues in Variant Calling and Interpretation. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2017;21(3):178-183.
96. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*. 2016;17(6):333-351.
97. Yang Y, Muzny DM, Xia F, Niu Z, Person R, Ding Y, Ward P, Braxton A, Wang M, Buhay C, Veeraraghavan N, Hawes A, Chiang T, Leduc M, Beuten J, Zhang J, He W, Scull J, Willis A, Landsverk M, Craig WJ, Bekheirnia MR, Stray-Pedersen A, Liu P, Wen S, Alcaraz W, Cui H, Walkiewicz M, Reid J, Bainbridge M, Patel A, Boerwinkle E, Beaudet AL, Lupski JR, Plon SE, Gibbs RA, Eng CM. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2014;312(18):1870-9.
98. Valencia CA, Husami A, Holle J, Johnson JA, Qian Y, Mathur A, Wei C, Indugula SR, Zou F, Meng H, Wang L, Li X, Fisher R, Tan T, Hogart Begtrup A, Collins K, Wusik KA, Neilson D, Burrow T, Schorry E, Hopkin R, Keddache M, Harley JB, Kaufman KM, Zhang K. Clinical impact and cost-effectiveness of whole exome sequencing as a diagnostic tool: a pediatric center's experience. *Front Pediatr*. 2015 Aug 3;3:67.

99. Chambers C, Jansen LA, Dhamija R. Review of commercially available epilepsy genetic panels. *Journal of Genetic Counseling*. 2016;25(2):213-217.
100. Balestrini S, Sisodiya SM. Audit of use of stiripentol in adults with Dravet syndrome. *Acta Neurologica Scandinavica*. 2017;135(1):73-79.
101. Cetica V, Chiari S, Mei D, Parrini E, Grisotto L, Marini C, Pucatti D, Ferrari A, Sicca F, Specchio N, Trivisano M, Battaglia D, Contaldo I, Zamponi N, Petrelli C, Granata T, Ragona F, Avanzini G, Guerrini R. Clinical and genetic factors predicting Dravet syndrome in infants with SCN1A mutations. *Neurology*. 2017 Mar 14;88(11):1037-1044.
102. Catarino CB, Liu JY, Liagkouras I, Gibbons VS, Labrum RW, Ellis R, Woodward C, Davis MB, Smith SJ, Cross JH, Appleton RE, Yendle SC, McMahon JM, Bellows ST, Jacques TS, Zuberi SM, Koepp MJ, Martinian L, Scheffer IE, Thom M, Sisodiya SM. Dravet syndrome as epileptic encephalopathy: evidence from long-term course and neuropathology. *Brain*. 2011 Oct;134(Pt 10):2982-3010.
103. Fang ZX, Hong SQ, Li TS, Wang J, Xie LL, Han W, Jiang L. Genetic and phenotypic characteristics of SCN1A-related epilepsy in Chinese children. *Neuroreport*. 2019 Jun 12;30(9):671-680.
104. Huang W, Liu M, Yan SF, Yan N. Structure-based assessment of disease-related mutations in human voltage-gated sodium channels. *Protein and Cell*. 2017;8(6):401-438.
105. Depienne C, Trouillard O, Saint-Martin C, Gourfinkel-An I, Bouteiller D, Carpentier W, Keren B, Abert B, Gautier A, Baulac S, Arzimanoglou A, Cazeneuve C, Nabbout R, LeGuern E. Spectrum of SCN1A gene mutations associated with Dravet syndrome: analysis of 333 patients. *J Med Genet*. 2009 Mar;46(3):183-91.
106. Sun H, Zhang Y, Liu X, Ma X, Yang Z, Qin J, Jiang Y, Qi Y, Wu X. Analysis of SCN1A mutation and parental origin in patients with Dravet syndrome. *J Hum Genet*. 2010 Jul;55(7):421-7.
107. Zuberi SM, Brunklaus A, Birch R, Reavey E, Duncan J, Forbes GH. Genotype-phenotype associations in SCN1A-related epilepsies. *Neurology*. 2011 Feb 15;76(7):594-600
108. Laccone F, Huppke P, Hanefeld F, Meins M. Mutation spectrum in patients with Rett syndrome in the German population: Evidence of hot spot regions. *Hum Mutat*. 2001 Mar;17(3):183-90.

109. Buyse IM, Fang P, Hoon KT, Amir RE, Zoghbi HY, Roa BB. Diagnostic testing for Rett syndrome by DHPLC and direct sequencing analysis of the MECP2 gene: identification of several novel mutations and polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 2000 Dec;67(6):1428-36.
110. Heilstedt HA, Shahbazian MD, Lee B. Infantile hypotonia as a presentation of Rett syndrome. *American Journal of Medical Genetics.* 2002;111(3):238-242.
111. Ali M, Girimaji SC, Markandaya M, Shukla AK, Sacchidanand S, Kumar A. Mutation and polymorphism analysis of TSC1 and TSC2 genes in Indian patients with tuberous sclerosis complex. *Acta Neurologica Scandinavica.* 2005;111(1):54-63.
112. Au KS, Williams AT, Roach ES, Batchelor L, Sparagana SP, Delgado MR, Wheless JW, Baumgartner JE, Roa BB, Wilson CM, Smith-Knuppel TK, Cheung MY, Whittemore VH, King TM, Northrup H. Genotype/phenotype correlation in 325 individuals referred for a diagnosis of tuberous sclerosis complex in the United States. *Genet Med.* 2007 Feb;9(2):88-100.
113. Zheng LY, Lee YW, Han Y, Tang LL, Cheng YY, Dou JF, Zhou FS, Zheng XD, Wang HY, Wang PG, Gao M. Novel mutations in Chinese Han patients with tuberous sclerosis complex: case series and review of the published work. *Journal of Dermatology.* 2018;45(7):867-870.
114. Hoogeveen-Westerveld M, Wentink M, van den Heuvel D, Mozaffari M, Ekong R, Povey S, den Dunnen JT, Metcalfe K, Vallee S, Krueger S, Bergoffen J, Shashi V, Elmslie F, Kwiatkowski D, Sampson J, Vidales C, Dzarir J, Garcia-Planells J, Dies K, Maat-Kievit A, van den Ouweland A, Halley D, Nellist M. Functional assessment of variants in the TSC1 and TSC2 genes identified in individuals with Tuberous Sclerosis Complex. *Human Mutation.* 2011;32(4):424-35.
115. Ekong R, Nellist M, Hoogeveen-Westerveld M, Wentink M, Panzer J, Sparagana S, Emmett W, Dawson NL, Malinge MC, Nabbout R, Carbonara C, Barberis M, Padovan S, Futema M, Plagnol V, Humphries SE, Migone N, Povey S. Variants within TSC2 exons 25 and 31 are very unlikely to cause clinically diagnosable tuberous sclerosis. *Human Mutation.* 2016;37(4):364-70.
116. Niemi AK, Northrup H, Hudgins L, Bernstein JA. Horseshoe kidney and a rare TSC2 variant in two unrelated individuals with tuberous sclerosis complex. *American Journal of Medical Genetics, Part A.* 2011;155(10):2534-2537.

117. Lindy AS, Stosser MB, Butler E, Downtain-Pickersgill C, Shanmugham A, Retterer K, Brandt T, Richard G, McKnight DA. Diagnostic outcomes for genetic testing of 70 genes in 8565 patients with epilepsy and neurodevelopmental disorders. *Epilepsia*. 2018;59(5):1062-1071.
118. Kolc KL, Møller RS, Sadleir LG, Scheffer IE, Kumar R, Gecz J. PCDH19 pathogenic variants in males: Expanding the phenotypic spectrum. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol 1298. Springer; 2020:177-87.
119. Liu A, Yang X, Yang X, Wu Q, Zhang J, Sun D, Yang Z, Jiang Y, Wu X, Wei L, Zhang Y. Mosaicism and incomplete penetrance of PCDH19 mutations. *Journal of Medical Genetics*. 2019;56(2):81-8.
120. Ma H, Feng S, Deng X, Wang L, Zeng S, Wang C, Ma X, Sun H, Chen R, Du S, Mao J, Zhang X, Ma C, Jiang H, Zhang L, Tang B, Liu JY. A PRRT2 variant in a Chinese family with paroxysmal kinesigenic dyskinesia and benign familial infantile seizures results in loss of interaction with STX1B. *Epilepsia*. 2018;59(8):1621-1630.
121. Heron SE, Grinton BE, Kivity S, Afawi Z, Zuberi SM, Hughes JN, Pridmore C, Hodgson BL, Iona X, Sadleir LG, Pelekanos J, Herlenius E, Goldberg-Stern H, Bassan H, Haan E, Korczyn AD, Gardner AE, Corbett MA, Géczy J, Thomas PQ, Mulley JC, Berkovic SF, Scheffer IE, Dibbens LM. PRRT2 mutations cause benign familial infantile epilepsy and infantile convulsions with choreoathetosis syndrome. *American Journal of Human Genetics*. 2012;90(1):152-60.
122. Marini C, Conti V, Mei D, Battaglia D, Lettori D, Losito E, Bruccini G, Tortorella G, Guerrini R. PRRT2 mutations in familial infantile seizures, paroxysmal dyskinesia, and hemiplegic migraine. *Neurology*. 2012 Nov 20;79(21):2109-14.
123. Méneret A, Grabli D, Depienne C, Gaudebout C, Picard F, Dürr A, Lagroua I, Bouteiller D, Mignot C, Doummar D, Anheim M, Tranchant C, Burbaud P, Jedynek CP, Gras D, Steschenko D, Devos D, Billette de Villemeur T, Vidailhet M, Brice A, Roze E. PRRT2 mutations: a major cause of paroxysmal kinesigenic dyskinesia in the European population. *Neurology*. 2012 Jul 10;79(2):170-4.
124. Cirillo M, Venkatesan C, Millichap JJ, Stack CV, Nordli DR Jr. Case Report: Intravenous and Oral Pyridoxine Trial for Diagnosis of Pyridoxine-Dependent Epilepsy. *Pediatrics*. 2015 Jul;136(1):e257-61.
125. Krabichler B, Rostasy K, Baumann M, Karall D, Scholl-Bürgi S, Schwarzer C, Gautsch K, Spreiz A, Kotzot D, Zschocke J, Fauth C, Haberlandt E. Novel

- mutation in potassium channel related gene KCTD7 and progressive myoclonic epilepsy. *Annals of Human Genetics*. 2012;76(4):326-31.
126. Conter C, Rolland MO, Cheillan D, Bonnet V, Maire I, Froissart R. Genetic heterogeneity of the GLDC gene in 28 unrelated patients with glycine encephalopathy. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2006;29(1):135-42.
  127. Franceschetti S, Gambardella A, Canafoglia L, Striano P, Lohi H, Gennaro E, Ianzano L, Veggiotti P, Sofia V, Biondi R, Striano S, Gellera C, Annesi G, Madia F, Civitelli D, Rocca FE, Quattrone A, Avanzini G, Minassian B, Zara F. Clinical and genetic findings in 26 Italian patients with Lafora disease. *Epilepsia*. 2006 Mar;47(3):640-3.
  128. Salar S, Yeni N, Gündüz A, Güler A, Gökçay A, Velioğlu S, Gündoğdu A, Hande Çağlayan S. Four novel and two recurrent NHLRC1 (EPM2B) and EPM2A gene mutations leading to Lafora disease in six Turkish families. *Epilepsy Research*. 2012;98(2-3):273-6.
  129. Lanoiselée HM, Genton P, Lesca G, Brault F, de Toffol B. Are c.436G>A mutations less severe forms of Lafora disease? A case report. *Epilepsy and Behavior Case Reports*. 2014;2(1):19-21.
  130. Ferlazzo E, Canafoglia L, Michelucci R, Gambardella A, Gennaro E, Pasini E, Riguzzi P, Plasmati R, Volpi L, Labate A, Gasparini S, Villani F, Casazza M, Viri M, Zara F, Minassian BA, Turnbull J, Serratosa JM, Guerrero-López R, Franceschetti S, Aguglia U. Mild Lafora disease: clinical, neurophysiologic, and genetic findings. *Epilepsia*. 2014;55(12):e129-e133.
  131. Horák O, Burešová M, Kolář S, Španělová K, Jeřábková B, Gaillyová R, Česká K, Réblová K, Šoukalová J, Zídková J, Fajkusová L, Ošlejšková H, Rektor I, Danhofer P. Next-generation sequencing in children with epilepsy: The importance of precise genotype-phenotype correlation. *Epilepsy Behav*. 2022 Mar;128:108564.
  132. Allen NM, Conroy J, Shahwan A, Lynch B, Correa RG, Pena SD, McCreary D, Magalhães TR, Ennis S, Lynch SA, King MD. Unexplained early onset epileptic encephalopathy: Exome screening and phenotype expansion. *Epilepsia*. 2016;57(1):e12-e17.
  133. Gokben S, Onay H, Yilmaz S, Atik T, Serdaroglu G, Tekin H, Ozkinay F. Targeted next generation sequencing: the diagnostic value in early-onset epileptic encephalopathy. *Acta Neurologica Belgica*. 2017;117(1):131-8.

134. Xu X, Zhang Y, Sun H, Liu X, Yang X, Xiong H, Jiang Y, Bao X, Wang S, Yang Z, Wu Y, Qin J, Lin Q, Wu X. Early clinical features and diagnosis of Dravet syndrome in 138 Chinese patients with SCN1A mutations. *Brain and Development*. 2014;36(8):676-81.
135. Wirrell EC, Laux L, Donner E, Jette N, Knupp K, Meskis MA, Miller I, Sullivan J, Welborn M, Berg AT. Optimizing the Diagnosis and Management of Dravet Syndrome: Recommendations From a North American Consensus Panel. *Pediatric Neurology*. 2017;68:18-34.e3.
136. Wolff M, Johannesen KM, Hedrich UBS, Masnada S, Rubboli G, Gardella E, Lesca G, Ville D, Milh M, Villard L, Afenjar A, Chantot-Bastaraud S, Mignot C, Lardennois C, Nava C, Schwarz N, Gérard M, Perrin L, Doummar D, Auvin S, Miranda MJ, Hempel M, Brilstra E, Knoers N, Verbeek N, van Kempen M, Braun KP, Mancini G, Biskup S, Hörtnagel K, Döcker M, Bast T, Loddenkemper T, Wong-Kissel L, Baumeister FM, Fazeli W, Striano P, Dilella R, Fontana E, Zara F, Kurlmann G, Klepper J, Thoene JG, Arndt DH, Deconinck N, Schmitt-Mechelke T, Maier O, Muhle H, Wical B, Finetti C, Brückner R, Pietz J, Golla G, Jillella D, Linnet KM, Charles P, Moog U, Öglane-Shlik E, Mantovani JF, Park K, Deprez M, Lederer D, Mary S, Scalais E, Selim L, Van Coster R, Lagae L, Nikanorova M, Hjalgrim H, Korenke GC, Trivisano M, Specchio N, Ceulemans B, Dorn T, Helbig KL, Hardies K, Stamberger H, de Jonghe P, Weckhuysen S, Lemke JR, Krägeloh-Mann I, Helbig I, Kluger G, Lerche H, Møller RS. Genetic and phenotypic heterogeneity suggest therapeutic implications in SCN2A-related disorders. *Brain*. 2017;140(5):1316-1336.
137. Ogiwara I, Ito K, Sawaishi Y, Osaka H, Mazaki E, Inoue I, Montal M, Hashikawa T, Shike T, Fujiwara T, Inoue Y, Kaneda M, Yamakawa K. De novo mutations of voltage-gated sodium channel alphaII gene SCN2A in intractable epilepsies. *Neurology*. 2009 Sep 29;73(13):1046-53.
138. Solé L, Wagnon JL, Tamkun MM. Functional analysis of three Nav1.6 mutations causing early infantile epileptic encephalopathy. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2020;1866(12).
139. Wagnon JL, Meisler MH. Recurrent and non-recurrent mutations of SCN8A in epileptic encephalopathy. *Frontiers in Neurology*. 2015 May 15;6:104.
140. Weckhuysen S, Ivanovic V, Hendrickx R, Van Coster R, Hjalgrim H, Møller RS, Grønborg S, Schoonjans AS, Ceulemans B, Heavin SB, Eltze C, Horvath R, Casara

- G, Pisano T, Giordano L, Rostasy K, Haberlandt E, Albrecht B, Bevot A, Benkel I, Syrbe S, Sheidley B, Guerrini R, Poduri A, Lemke JR, Mandelstam S, Scheffer I, Angriman M, Striano P, Marini C, Suls A, De Jonghe P; KCNQ2 Study Group. Extending the KCNQ2 encephalopathy spectrum: clinical and neuroimaging findings in 17 patients. *Neurology*. 2013 Nov 5;81(19):1697-703.
141. Miceli F, Soldovieri MV, Ambrosino P, Barrese V, Migliore M, Cilio MR, Taglialatela M. Genotype-phenotype correlations in neonatal epilepsies caused by mutations in the voltage sensor of K(v)7.2 potassium channel subunits. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013 Mar 12;110(11):4386-91.
  142. Della Mina E, Ciccone R, Brustia F, Bayindir B, Limongelli I, Vetro A, Iascone M, Pezzoli L, Bellazzi R, Perotti G, De Giorgis V, Lunghi S, Coppola G, Orcesi S, Merli P, Savasta S, Veggiotti P, Zuffardi O. Improving molecular diagnosis in epilepsy by a dedicated high-throughput sequencing platform. *European Journal of Human Genetics*. 2015;23(3):354-62.
  143. Zhang Q, Li J, Zhao Y, Bao X, Wei L, Wang J. Gene mutation analysis of 175 Chinese patients with early-onset epileptic encephalopathy. *Clinical Genetics*. 2017;91(5):717-24.
  144. Mina E della, Ciccone R, Brustia F, Bayindir B, Limongelli I, Vetro A, Iascone M, Pezzoli L, Bellazzi R, Perotti G, De Giorgis V, Lunghi S, Coppola G. Improving molecular diagnosis in epilepsy by a dedicated high-throughput sequencing platform. *European Journal of Human Genetics*. 2015;23(3):354-362.
  145. Møller RS, Heron SE, Larsen LH, Lim CX, Ricos MG, Bayly MA, van Kempen MJ, Klinkenberg S, Andrews I, Kelley K, Ronen GM, Callen D, McMahon JM, Yendle SC, Carvill GL, Mefford HC, Nabbout R, Poduri A, Striano P, Baglietto MG, Zara F, Smith NJ, Pridmore C, Gardella E, Nikanorova M, Dahl HA, Gellert P, Scheffer IE, Gunning B, Kragh-Olsen B, Dibbens LM. Mutations in KCNT1 cause a spectrum of focal epilepsies. *Epilepsia*. 2015 Sep;56(9):e114-20.
  146. Mikati MA, Jiang YH, Carboni M, Shashi V, Petrovski S, Spillmann R, Milligan CJ, Li M, Grefe A, McConkie A, Berkovic S, Scheffer I, Mullen S, Bonner M, Petrou S, Goldstein D. Quinidine in the treatment of KCNT1-positive epilepsies. *Ann Neurol*. 2015 Dec;78(6):995-9.
  147. Liang L, Liu H, Bartholdi D, van Haeringen A, Fernandez-Jaén A, Peeters EEA, Xiong H, Bai X, Xu C, Ke T, Wang QK. Identification and functional analysis of

- two new de novo KCNMA1 variants associated with Liang-Wang syndrome. *Acta Physiol (Oxf)*. 2022;13(e13800.).
148. Tabarki B, AlMajhad N, AlHashem A, Shaheen R, Alkuraya FS. Homozygous KCNMA1 mutation as a cause of cerebellar atrophy, developmental delay and seizures. *Human Genetics*. 2016;135(11):1295-8.
  149. Moen MN, Fjær R, Hamdani EH, Laerdahl JK, Menchini RJ, Vigeland MD, Sheng Y, Undlien DE, Hassel B, Salih MA, El Khashab HY, Selmer KK, Chaudhry FA. Pathogenic variants in KCTD7 perturb neuronal K<sup>+</sup> fluxes and glutamine transport. *Brain*. 2016;139(12):3109-3120.
  150. Metz KA, Teng X, Coppens I, Lamb HM, Wagner BE, Rosenfeld JA, Chen X, Zhang Y, Kim HJ, Meadow ME, Wang TS, Haberlandt ED, Anderson GW, Leshinsky-Silver E, Bi W, Markello TC, Pratt M, Makhseed N, Garnica A, Danylchuk NR, Burrow TA, Jayakar P, McKnight D, Agadi S, Gbedawo H, Stanley C, Alber M, Prehl I, Peariso K, Ong MT, Mordekar SR, Parker MJ, Crooks D, Agrawal PB, Berry GT, Loddenkemper T, Yang Y, Maegawa GHB, Aouacheria A, Markle JG, Wohlschlegel JA, Hartman AL, Hardwick JM. KCTD7 deficiency defines a distinct neurodegenerative disorder with a conserved autophagy-lysosome defect.. *Annals of Neurology*. 2018;84(5):766-780.
  151. Burke EA, Sturgeon M, Zastrow DB, Fernandez L, Prybol C, Marwaha S, Frothingham EP, Ward PA, Eng CM, Fresard L, Montgomery SB, Enns GM, Fisher PG, Wolfe LA, Harding B, Carrington B, Bishop K, Sood R, Huang Y, Elkahoul A, Toro C, Bassuk AG, Wheeler MT, Markello TC, Gahl WA, Malicdan MCV. Compound heterozygous KCTD7 variants in progressive myoclonus epilepsy. *Journal of Neurogenetics*. 2021;35(2):74-83.
  152. Huguenard JR. Low-threshold calcium currents in central nervous system neurons. *Annu Rev Physiol*. 1996;58:329-48.
  153. Khosravani H, Altier C, Simms B, Hamming KS, Snutch TP, Mezeyova J, McRory JE, Zamponi GW. Gating effects of mutations in the Cav3.2 T-type calcium channel associated with childhood absence epilepsy. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(11):9681-4.
  154. Møller RS, Larsen LH, Johannesen KM, Talvik I, Talvik T, Vaher U, Miranda MJ, Farooq M, Nielsen JE, Svendsen LL, Kjelgaard DB, Linnet KM, Hao Q, Uldall P, Frangu M, Tommerup N, Baig SM, Abdullah U, Born AP, Gellert P, Nikanorova M, Olofsson K, Jepsen B, Marjanovic D, Al-Zehhawi LI, Peñalva SJ, Krag-Olsen

- B, Brusgaard K, Hjalgrim H, Rubboli G, Pal DK, Dahl HA. Gene panel testing in epileptic encephalopathies and familial epilepsies. *Molecular Syndromology*. 2016;7(4):210-9.
155. Lemke JR, Riesch E, Scheurenbrand T, Schubach M, Wilhelm C, Steiner I, Hansen J, Courage C, Gallati S, Bürki S, Strozzi S, Simonetti BG, Grunt S, Steinlin M, Alber M, Wolff M, Klopstock T, Prott EC, Lorenz R, Spaich C, Rona S, Lakshminarasimhan M, Kröll J, Dorn T, Krämer G, Synofzik M, Becker F, Weber YG, Lerche H, Böhm D, Biskup S. Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia*. 2012;53(8):1387-1398.
  156. Pierson TM, Yuan H, Marsh ED, Fuentes-Fajardo K, Adams DR, Markello T, Golas G, Simeonov DR, Holloman C, Tankovic A, Karamchandani MM, Schreiber JM, Mullikin JC; PhD for the NISC Comparative Sequencing Program, Tifft CJ, Toro C, Boerkoel CF, Traynelis SF, Gahl WA. GRIN2A mutation and early-onset epileptic encephalopathy: personalized therapy with memantine. *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2014;1(3):190-8.
  157. Conti V, Aracri P, Chiti L, Brusco S, Mari F, Marini C, Albanese M, Marchi A, Liguori C, Placidi F, Romigi A, Becchetti A, Guerrini R. Nocturnal frontal lobe epilepsy with paroxysmal arousals due to CHRNA2 loss of function. *Neurology*. 2015 Apr 14;84(15):1520-8.
  158. Aridon P, Marini C, Di Resta C, Brilli E, De Fusco M, Politi F, Parrini E, Manfredi I, Pisano T, Pruna D, Curia G, Cianchetti C, Pasqualetti M, Becchetti A, Guerrini R, Casari G. Increased sensitivity of the neuronal nicotinic receptor alpha 2 subunit causes familial epilepsy with nocturnal wandering and ictal fear. *American Journal of Human Genetics*. 2006;79(2):342-350.
  159. Shen D, Hernandez CC, Shen W, Hu N, Poduri A, Shiedley B, Rotenberg A, Datta AN, Leiz S, Patzer S, Boor R, Ramsey K, Goldberg E, Helbig I, Ortiz-Gonzalez XR, Lemke JR, Marsh ED, Macdonald RL. De novo GABRG2 mutations associated with epileptic encephalopathies. *Brain*. 2017;140(1):49-67.
  160. Maljevic S, Krampfl K, Cobilanschi J, Tilgen N, Beyer S, Weber YG, Schlesinger F, Ursu D, Melzer W, Cossette P, Bufler J, Lerche H, Heils A. A mutation in the GABA(A) receptor alpha(1)-subunit is associated with absence epilepsy. *Annals of Neurology*. 2006;59(6):983-7.
  161. Lachance-Touchette P, Brown P, Meloche C, Kinirons P, Lapointe L, Lacasse H, Lortie A, Carmant L, Bedford F, Bowie D, Cossette P. Novel  $\alpha 1$  and  $\gamma 2$  GABAA

- receptor subunit mutations in families with idiopathic generalized epilepsy. *European Journal of Neuroscience*. 2011;34(2):237-49.
162. Carvill GL, Weckhuysen S, McMahon JM, Hartmann C, Møller RS, Hjalgrim H, Cook J, Geraghty E, O'Roak BJ, Petrou S, Clarke A, Gill D, Sadleir LG, Muhle H, von Spiczak S, Nikanorova M, Hodgson BL, Gazina EV, Suls A, Shendure J, Dibbens LM, De Jonghe P, Helbig I, Berkovic SF, Scheffer IE, Mefford HC. GABRA1 and STXBP1: novel genetic causes of Dravet syndrome. *Neurology*. 2014;82(14):1245-53.
  163. Johannesen K, Marini C, Pfeffer S, Møller RS, Dorn T, Niturad CE, Gardella E, Weber Y, Søndergård M, Hjalgrim H, Nikanorova M, Becker F, Larsen LH, Dahl HA, Maier O, Mei D, Biskup S, Klein KM, Reif PS, Rosenow F, Elias AF, Hudson C, Helbig KL, Schubert-Bast S, Scordo MR, Craiu D, Djémié T, Hoffman-Zacharska D, Caglayan H, Helbig I, Serratosa J, Striano P, De Jonghe P, Weckhuysen S, Suls A, Muru K, Talvik I, Talvik T, Muhle H, Borggraefe I, Rost I, Guerrini R, Lerche H, Lemke JR, Rubboli G, Maljevic S. Phenotypic spectrum of GABRA1: From generalized epilepsies to severe epileptic encephalopathies. *Neurology*. 2016;87(11):1140-51.
  164. Cappelletti S, Specchio N, Moavero R, Terracciano A, Trivisano M, Pontrelli G, Gentile S, Vigeveno F, Cusmai R. Cognitive development in females with PCDH19 gene-related epilepsy. *Epilepsy and Behavior*. 2015;42:36-40.
  165. Kolc KL, Sadleir LG, Scheffer IE, Ivancevic A, Roberts R, Pham DH, Gecz J. A systematic review and meta-analysis of 271 PCDH19-variant individuals identifies psychiatric comorbidities, and association of seizure onset and disease severity. *Molecular Psychiatry*. 2019;24(2):241-51.
  166. Niazi R, Fanning EA, Depienne C, Sarmady M, Abou Tayoun AN. A mutation update for the PCDH19 gene causing early-onset epilepsy in females with an unusual expression pattern. *Human Mutation*. 2019;40(3):243-57.
  167. Thiffault I, Farrow E, Smith L, Lowry J, Zellmer L, Black B, Abdelmoity A, Miller N, Soden S, Saunders C. PCDH19-related epileptic encephalopathy in a male mosaic for a truncating variant. *American Journal of Medical Genetics, Part A*. 2016;170(6):1585-9.
  168. Tao J, Van Esch H, Hagedorn-Greiwe M, Hoffmann K, Moser B, Raynaud M, Sperner J, Fryns JP, Schwinger E, Gécz J, Ropers HH, Kalscheuer VM. Mutations in the X-linked cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5/STK9) gene are

- associated with severe neurodevelopmental retardation. *Am J Hum Genet.* 2004 Dec;75(6):1149-54.
169. Arafat A, Jing P, Ma Y, Pu M, Nan G, Fang H, Chen C, Fei Y. Unexplained Early Infantile Epileptic Encephalopathy in Han Chinese Children: Next-Generation Sequencing and Phenotype Enriching. *Scientific Reports.* 2017;7: 46227.
  170. Kalscheuer VM, Tao J, Donnelly A, Hollway G, Schwinger E, Kübart S, Menzel C, Hoeltzenbein M, Tommerup N, Eyre H, Harbord M, Haan E, Sutherland GR, Ropers HH, Géczy J. Disruption of the serine/threonine kinase 9 gene causes severe X-linked infantile spasms and mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2003 Jun;72(6):1401-11.
  171. Fehr S, Wilson M, Downs J, Williams S, Murgia A, Sartori S, Vecchi M, Ho G, Polli R, Psoni S, Bao X, de Klerk N, Leonard H, Christodoulou J. The CDKL5 disorder is an independent clinical entity associated with early-onset encephalopathy.. *European Journal of Human Genetics.* 2013;21(3):266-73.
  172. Inuzuka LM, Guerra-Peixe M, Macedo-Souza LI, Pedreira CC, Gurgel-Giannetti J, Monteiro FP, Ramos L, Costa LA, Crippa ACS, Lourenco CM, Pachito DV, Sukys-Claudino L, Gaspar LS, Antoniuk SA, Dutra LPS, Diniz SSL, Pires RB, Garzon E, Kok F. MECP2-related conditions in males: A systematic literature review and 8 additional cases. *European Journal of Paediatric Neurology.* 2021;34:7-13.
  173. Devlin LA, Sheperd CH, Crawford H, Morrison PJ. Tuberous sclerosis complex: Clinical features, diagnosis, and prevalence within Northern Ireland. *Developmental Medicine and Child Neurology.* 2006;48(6):495-9.
  174. Bombardieri R, Pinci M, Moavero R, Cerminara C, Curatolo P. Early control of seizures improves long-term outcome in children with tuberous sclerosis complex. *European Journal of Paediatric Neurology.* 2010;14(2):146-149.
  175. Camposano SE, Major P, Halpern E, Thiele EA. Vigabatrin in the treatment of childhood epilepsy: A retrospective chart review of efficacy and safety profile. *Epilepsia.* 2008;49(7):1186-91.
  176. Jarrar RG, Buchhalter JR, Raffel C. Long-term outcome of epilepsy surgery in patients with tuberous sclerosis. *Neurology.* 2004 Feb 10;62(3):479-81.
  177. Krueger DA, Care MM, Holland K, Agricola K, Tudor C, Mangeshkar P, Wilson KA, Byars A, Sahmoud T, Franz DN. Everolimus for subependymal giant-cell astrocytomas in tuberous sclerosis. *N Engl J Med.* 2010 Nov 4;363(19):1801-11.

178. Mills PB, Struys E, Jakobs C, Plecko B, Baxter P, Baumgartner M, Willemsen MA, Omran H, Tacke U, Uhlenberg B, Weschke B, Clayton PT. Mutations in antiquitin in individuals with pyridoxine-dependent seizures. *Nature Medicine*. 2006 Mar;12(3):307-9.
179. Hoffmann GF, Schmitt B, Windfuhr M, Wagner N, Strehl H, Bageci S, Franz AR, Mills PB, Clayton PT, Baumgartner MR, Steinmann B, Bast T, Wolf NI, Zschocke J. Pyridoxal 5'-phosphate may be curative in early-onset epileptic encephalopathy. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2007;30(1):96-9.
180. Plecko B. Pyridoxine and pyridoxalphosphate-dependent epilepsies. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 113. Elsevier B.V.; 2013:1811-7.
181. Mastrangelo M, Cesario S. Update on the treatment of vitamin B6 dependent epilepsies. *Expert Review of Neurotherapeutics*. 2019;19(11):1135-47.
182. Della Mina E, Ciccone R, Brustia F, Bayindir B, Limongelli I, Vetro A, Iascone M, Pezzoli L, Bellazzi R, Perotti G, De Giorgis V, Lunghi S, Coppola G, Orcesi S, Merli P, Savasta S, Veggiotti P, Zuffardi O. Improving molecular diagnosis in epilepsy by a dedicated high-throughput sequencing platform. *European Journal of Human Genetics*. 2015;23(3):354-362.
183. Zhang Y, Kong W, Gao Y, Liu X, Gao K, Xie H, Wu Y, Zhang Y, Wang J, Gao F, Wu X, Jiang Y. Gene Mutation Analysis in 253 Chinese Children with Unexplained Epilepsy and Intellectual/Developmental Disabilities. *PLoS ONE*. 2015 Nov 6;10(11):e0141782.
184. Ko A, Youn SE, Kim SH, Lee JS, Kim S, Choi JR, Kim HD, Lee ST, Kang HC. Targeted gene panel and genotype-phenotype correlation in children with developmental and epileptic encephalopathy. *Epilepsy Research*. 2018;141:48-55.
185. Hildebrand MS, Myers CT, Carvill GL, Regan BM, Damiano JA, Mullen SA, Newton MR, Nair U, Gazina EV, Milligan CJ, Reid CA, Petrou S, Scheffer IE, Berkovic SF, Mefford HC. A targeted resequencing gene panel for focal epilepsy. *Neurology*. 2016;86(17):1605-12.
186. Butler KM, da Silva C, Alexander JJ, Hegde M, Escayg A. Diagnostic Yield From 339 Epilepsy Patients Screened on a Clinical Gene Panel. *Pediatric Neurology*. 2017;77:61-6.
187. Hoelz H, Herdl C, Gerstl L, Tacke M, Vill K, von Stuelpnagel C, Rost I, Hoertnagel K, Abicht A, Hollizeck S, Larsen LHG, Borggraefe I. Impact on Clinical Decision Making of Next-Generation Sequencing in Pediatric Epilepsy in

- a Tertiary Epilepsy Referral Center. *Clinical EEG and Neuroscience*. 2020;51(1):61-9.
188. Segal E, Pedro H, Valdez-Gonzalez K, Parisotto S, Gliksman F, Thompson S, Sabri J, Fertig E. Diagnostic Yield of Epilepsy Panels in Children With Medication-Refractory Epilepsy. *Pediatric Neurology*. 2016;64:66-71.
  189. Parrini E, Marini C, Mei D, Galuppi A, Cellini E, Pucatti D, Chiti L, Rutigliano D, Bianchini C, Virdò S, De Vita D, Bigoni S, Barba C, Mari F, Montomoli M, Pisano T, Rosati A; Clinical Study Group, Guerrini R. Diagnostic Targeted Resequencing in 349 Patients with Drug-Resistant Pediatric Epilepsies Identifies Causative Mutations in 30 Different Genes. *Human Mutation*. 2017;38(2):216-25.
  190. Peng J, Pang N, Wang Y, Wang XL, Chen J, Xiong J, Peng P, Zhu CH, Kessi MB, He F, Yin F. Next-generation sequencing improves treatment efficacy and reduces hospitalization in children with drug-resistant epilepsy. *CNS Neuroscience and Therapeutics*. 2019;25(1):14-20.
  191. Shi S, Li J, Sun F, Chen Y, Pang C, Geng Y, Qi J, Guo S, Wang X, Zhang H, Zhan Y, An H. Molecular Mechanisms and Structural Basis of Retigabine Analogues in Regulating KCNQ2 Channel. *Journal of Membrane Biology*. 2020;253(2):167-81.
  192. Huang XJ, Wang T, Wang JL, Liu XL, Che XQ, Li J, Mao X, Zhang M, Bi GH, Wu L, Zhang Y, Wang JY, Shen JY, Tang BS, Cao L, Chen SD. Paroxysmal kinesigenic dyskinesia: Clinical and genetic analyses of 110 patients. *Neurology*. 2015;85(18):1546-53.
  193. Lotte J, Bast T, Borusiak P, Coppola A, Cross JH, Dimova P, Fogarasi A, Graneß I, Guerrini R, Hjalgrim H, Keimer R, Korff CM, Kurlmann G, Leiz S, Linder-Lucht M, Loddenkemper T, Makowski C, Mühe C, Nicolai J, Nikanorova M, Pellacani S, Philip S, Ruf S, Sánchez Fernández I, Schlachter K, Striano P, Sukhudyana B, Valcheva D, Vermeulen RJ, Weisbrod T, Wilken B, Wolf P, Kluger G. Effectiveness of antiepileptic therapy in patients with PCDH19 mutations. *Seizure*. 2016;35:106-10.
  194. Mir A, Qahtani M, Bashir S. GRIN2A-Related Severe Epileptic Encephalopathy Treated with Memantine: An Example of Precision Medicine. *Journal of Pediatric Genetics*. 2020;09(04):252-7.
  195. Klepper J, Scheffer H, Leiendecker B, Gertsen E, Binder S, Leferink M, Hertzberg C, Näke A, Voit T, Willemsen MA. Seizure control and acceptance of the

- ketogenic diet in GLUT1 deficiency syndrome: a 2- to 5-year follow-up of 15 children enrolled prospectively. *Neuropediatrics*. 2005;36(5):302-8.
196. Schubert-Bast S, Rosenow F, Klein KM, Reif PS, Kieslich M, Strzelczyk A. The role of mTOR inhibitors in preventing epileptogenesis in patients with TSC: Current evidence and future perspectives. *Epilepsy and Behavior*. 2019;91:94-8.
  197. Li X, Poschmann S, Chen Q, Fazeli W, Oundjian NJ, Snoeijs-Schouwenaars FM, Fricke O, Kamsteeg EJ, Willemsen M, Wang QK. De novo BK channel variant causes epilepsy by affecting voltage gating but not Ca<sup>2+</sup> sensitivity. *European Journal of Human Genetics*. 2018;26(2):220-9.
  198. Hynynen J, Komulainen T, Tukiainen E, Nordin A, Arola J, Kälviäinen R, Jutila L, Røyttä M, Hinttala R, Majamaa K, Mäkisalo H, Uusimaa J. Acute liver failure after valproate exposure in patients with POLG1 mutations and the prognosis after liver transplantation. *Liver Transplantation*. 2014;20(11):1402-12.
  199. Carvill GL, Heavin SB, Yendle SC, McMahon JM, O'Roak BJ, Cook J, Khan A, Dorschner MO, Weaver M, Calvert S, Malone S, Wallace G, Stanley T, Bye AM, Bleasel A, Howell KB, Kivity S, Mackay MT, Rodriguez-Casero V, Webster R, Korczyn A, Afawi Z, Zelnick N, Lerman-Sagie T, Lev D, Møller RS, Gill D, Andrade DM, Freeman JL, Sadleir LG, Shendure J, Berkovic SF, Scheffer IE, Mefford HC. Targeted resequencing in epileptic encephalopathies identifies de novo mutations in CHD2 and SYNGAP1. *Nature Genetics*. 2013;45(7):825-30.
  200. Kodera H, Kato M, Nord AS, Walsh T, Lee M, Yamanaka G, Tohyama J, Nakamura K, Nakagawa E, Ikeda T, Ben-Zeev B, Lev D, Lerman-Sagie T, Straussberg R, Tanabe S, Ueda K, Amamoto M, Ohta S, Nonoda Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, King MC, Matsumoto N, Saitsu H. Targeted capture and sequencing for detection of mutations causing early onset epileptic encephalopathy. *Epilepsia*. 2013;54(7):1262-9.
  201. Wang J, Gotway G, Pascual JM, Park JY. Diagnostic yield of clinical next-generation sequencing panels for epilepsy. *JAMA Neurol*. 2014 May;71(5):650-1.
  202. Trump N, McTague A, Brittain H, Papandreou A, Meyer E, Ngoh A, Palmer R, Morrogh D, Boustred C, Hurst JA, Jenkins L, Kurian MA, Scott RH. Improving diagnosis and broadening the phenotypes in early-onset seizure and severe developmental delay disorders through gene panel analysis. *Journal of Medical Genetics*. 2016;53(5):310-7.

203. de Kovel CG, Brilstra EH, van Kempen MJ, Van't Slot R, Nijman IJ, Afawi Z, De Jonghe P, Djémié T, Guerrini R, Hardies K, Helbig I, Hendrickx R, Kanaan M, Kramer U, Lehesjoki AE, Lemke JR, Marini C, Mei D, Møller RS, Pendziwiat M, Stamberger H, Suls A, Weckhuysen S; EuroEPINOMICS RES Consortium, Koeleman BP. Targeted sequencing of 351 candidate genes for epileptic encephalopathy in a large cohort of patients. *Molecular Genetics and Genomic Medicine*. 2016;4(5):568-80.
204. Arafat A, Jing P, Ma Y, Pu M, Nan G, Fang H, Chen C, Fei Y. Unexplained early infantile epileptic encephalopathy in Han Chinese children: next-generation sequencing and phenotype enriching. *Scientific Reports*. 2017;7.
205. Ortega-Moreno L, Giráldez BG, Soto-Insuga V, Losada-Del Pozo R, Rodrigo-Moreno M, Alarcón-Morcillo C, Sánchez-Martín G, Díaz-Gómez E, Guerrero-López R, Serratosa JM; Grupo Español de Genética de las Epilepsias de la Infancia (GEGEI). Molecular diagnosis of patients with epilepsy and developmental delay using a customized panel of epilepsy genes. *PLoS ONE*. 2017;12(11).
206. Rim JH, Kim SH, Hwang IS, Kwon SS, Kim J, Kim HW, Cho MJ, Ko A, Youn SE, Kim J, Lee YM, Chung HJ, Lee JS, Kim HD, Choi JR, Lee ST, Kang HC. Efficient strategy for the molecular diagnosis of intractable early-onset epilepsy using targeted gene sequencing. *BMC Med Genomics*. 2018;11(1):6.
207. Oates S, Tang S, Rosch R, Lear R, Hughes EF, Williams RE, Larsen LHG, Hao Q, Dahl HA, Møller RS, Pal DK. Incorporating epilepsy genetics into clinical practice: a 360°evaluation. *NPJ Genom Med*. 2018 May 10;3:13.
208. Costain G, Cordeiro D, Matviychuk D, Mercimek-Andrews S. Clinical Application of Targeted Next-Generation Sequencing Panels and Whole Exome Sequencing in Childhood Epilepsy. *Neuroscience*. 2019;418:291-310.
209. Johannesen KM, Nikanorova N, Marjanovic D, Pavbro A, Larsen LHG, Rubboli G, Møller RS. Utility of genetic testing for therapeutic decision-making in adults with epilepsy. *Epilepsia*. 2020 Jun;61(6):1234-1239.
210. Gall K, Izzo E, Seppälä EH, Alakurtti K, Koskinen L, Saarinen I, Singh A, Myllykangas S, Koskenvuo J, Alastalo TP. Next-generation sequencing in childhood-onset epilepsies: Diagnostic yield and impact on neuronal ceroid lipofuscinosis type 2 (CLN2) disease diagnosis. *PLoS One*. 2021 Sep 1;16(9):e0255933.