

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ GENETİK ANABİLİM
DALINDA 2017-2020 YILLARI ARASINDA TÜM EKZOM DİZİLEME
(WES) ANALİZİ YAPILMIŞ EPİLEPSİ VE/VEYA NÖBETSİZ EEG
ANOMALİSİ BULUNAN HASTALARIN RETROSPEKTİF ANALİZİ**

**UZMANLIK TEZİ
MUSTAFA HAKAN DEMİRBAŞ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. E. FERDA PERÇİN**

**ANKARA
EKİM 2021**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, uzmanlık tez çalışmamda büyük katkı ve desteği olan, kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Ferda Perçin'e, yine tez izlemimde yer alan ve zaman ayırıp yapıcı eleştirilerde bulunan kıymetli hocalarım Prof. Dr. Nurten Akarsu ve Prof. Dr. Ebru Arhan'a, minnet ve şükran borçluyum.

Uzmanlık eğitimime değerli katkı ve desteklerinden ötürü, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nın değerli hocaları; Prof.Dr. Mehmet Ali Ergün, Prof. Dr. Meral Yirmibeş Karaoğuz, Doç. Dr. Esra Tuğ ve Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm Kayhan'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kıymetli araştırma görevlisi mesai arkadaşlarım Dr. Ayşe, Dr. Elvin, Dr. Özge, Dr. Ezgi, Dr. Burçe, Dr. Lale, Dr. Yusuf, Dr. Tilbe, Dr. Esra ve Dr. Ekin'e; birlikte çalışma fırsatı bulduğum, Gazi Tıbbi Genetik mezunları; Uzm. Dr. Aysel Tekmenuray, Uzm. Dr. Serdar Mermer ve Uzm. Dr. Abdullah Sezer'e; uzmanlık tezime yapmış olduğu katkılardan dolayı değerli büyüğüm Prof. Dr. Müjgan Sönmez ve eski Gazi Genetik mezunu Uzm. Dr. Büşranur Çavdarlı'ya ve zor zamanlarımda her daim yanımda olan aileme teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Arş. Gör. Dr. Mustafa Hakan Demirbaş

İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar	v
Genlerin Açık İsimleri	ix
Tablolar Dizini	xvii
Şekiller Dizini	xviii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epilepsi Tanım ve Sıklığı	3
2.2. Epilepsi Sınıflaması	4
2.3. Epilepsi Etiyolojisi	6
2.3.1. Yapısal Etiyoloji	6
2.3.2. Genetik Etiyoloji	7
2.3.3. Enfeksiyöz Etiyoloji	7
2.3.4. Metabolik Etiyoloji	8
2.3.5. İmmün Etiyoloji	8
2.3.6. Bilinmeyen Etiyoloji	8
2.4. Epilepsinin Genetik Temelleri	9
2.4.1. Epilepsi ve Beyin Kanalopatileri	9
2.4.2. Epilepsi Etiyolojisinde Rol Oynayan Genetik Mekanizmalar	11
2.5. Epilepsi Türlerinin Genetik Etiyolojileri	12
2.5.1. Genetik Jeneralize Epilepsi	13
2.5.2. Fokal Epilepsi	17
2.5.3. Gelişimsel ve Epileptik Ensefalopatiler	19

2.5.3.1. Dravet sendromu	23
2.5.3.2. Ohtahara sendromu	24
2.5.3.3. Göç eden fokal nöbetlerle beraber infantil epilepsi	24
2.5.3.4. West sendromu	25
2.5.3.5. Lennox–Gastaut sendromu	25
2.5.4. Kromozomal, Genomik ve Sendromik Bozukluklar	25
2.5.5. Febril Nöbetler	27
2.6. Epilepsinin Genetik Etiyolojisini Aydınlatmada Kullanılan Tanısal Yöntemler	29
2.7. Epilepside Genetik Tanının Hasta Yönetimine Katkısı	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Hasta Bilgileri	33
3.1.1 Hasta Seçimi	33
3.1.2. Hastalara Ait Klinik Verilerin Eldesi ve İşlenmesi	34
3.2. Moleküler Genetik Tetkikler ve Verilerin Analizi	35
4. BULGULAR	36
4.1. Genel hasta bilgileri	36
4.2. Hastaların Fenotipik Olarak Gruplandırılması	36
4.3. WES analiz sonuçları	55
4.3.1. Genel Tanısal Verim ve Varyantların Aile Çalışmasının Sonuçları	55
4.3.2. Epilepsi İçin Moleküler Tanı Alan Hastalar	57
4.3.2.1. Fenotipten Genotipe: Çalışma Özelinde Oluşturulmuş Hasta Gruplarının Sonuçları	65

4.3.2.2. Genotipten Fenotipe: Moleküler Tanı Sonrası Özel Hasta Grupları	67
4.3.2.2.1. Metabolik etiyolojili epilepsi hastaları	67
4.3.2.2.2. Beyin kanalopatisi hastaları	67
4.3.2.2.3. Gelişimsel ve epileptik ensefalopati hastaları	67
4.3.3. Epilepsi İçin Moleküler Tanı Almayan Hastalar	70
5.TARTIŞMA	79
6. SONUÇLAR	115
7. KAYNAKLAR	117
8. ÖZET	129
9. SUMMARY	131
10. ÖZGEÇMİŞ	133
11. EKLER	136
11.1. EK-1: Çalışmanın Etik Onayı	136
11.2. EK-2: Veri Toplama Formu	138
11.3. EK-3: Moleküler Genetik Tetkikler ve Verilerin Analizi	140
11.3.1. Moleküler Genetik Tetkikler İçin Kullanılacak DNA'nın İzolasyonu	140
11.3.2. WES analizi	140
11.3.2.1. WES Verilerin Oluşturulması	140
11.3.2.2. WES Verilerinin Analizi	141
11.3.2.2.1. Microsoft Excell 2016 Yazılımı ile Analiz	141
11.3.2.2.2. Ingenuity® Variant Analysis™ Yazılımı ile Analiz	143
11.3.2.2.3.VarAFT Yazılımı ile Analiz	143

11.3.2.3. WES Analiz Verilerinin Konfirmasyonu ve Klinik	
Önemi Belirsiz Varyantların Aile Çalışması	144
11.4. EK-4: Hastalara göre DNA İzolasyonu, WES Laboratuvar Çalışması	
ve Analiz Yöntemi	145
11.5. EK-5: Aile çalışması Yapılan Hastalar, Varyantlar ve Çalışma	
Öncesi ve Sonrası Patojenite Yorumları	148
11.6. EK-6: Çalışmada Yer Alan Genlerdeki Varyantlar İçin Kullanılan	
Referans Transkriptler	154

KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklamalar
ASD	Atriyal septal defekt
ANNA-1	Antinöral nükleer antikor 1
BEN	Benign varyant
CC	Korpus kallozum
CLN3	Nöronal seroid lipofusinoz 3
CLN8	Nöronal seroid lipofusinoz 8
CMV	Sitomegalovirüs
CNV	Kopya sayısı değişikliği
DEHB	Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu
DEE2	Gelişimsel ve epileptik ensefalopati-2
DEE37	Gelişimsel ve epileptik ensefalopati-37
DEE94	Gelişimsel ve epileptik ensefalopati-94
DOA	Dominant optik atrofi
DOA+	Dominant optik atrofi artı
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
EE	Epileptik ensefalopati
EEG	Elektroensefalografi
EGI	The Epilepsy Genetics Initiative
ER	Endoplazmik retikulum

ERK	Ekstraselüler sinyal regüle kinaz
ESES	Yavaş dalga uykusunda elektriksel status epileptikus
FISH	Floresan in situ hibridizasyon
GABA	Gama aminobütirik asit
GAD65	Glutamik asit dekarboksilaz 65-kilodalton izoformu
GATOR1	Gap Activity TOWard Rags 1
GEE	Gelişimsel ve epileptik ensefalopati
GEFS+	Genetik epilepsi ile birlikte febril nöbetler +
GGE	Gelişme geriliği ve epilepsi
GJE	Genetik jeneralize epilepsi
GKD	Gelişimsel kalça displazisi
GÖR	Gastroözefageal reflü
GPI	Glikozilfosfatidilinozitol
GWAS	Genom boyu ilişkilendirme çalışması
HEM	Hemizigot varyant
HET	Heterozigot varyant
HIV	İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
HPMRS2	Hiperfosfatazya mental retardasyon sendromu-2
HOM	Homozigot varyant
HUN	Hidroüreteronefroz
ILAE	Uluslararası epilepsi ile savaş derneği
İTİK	İleti tipi işitme kaybı
IVS	İnterventriküler septum

JME	Jüvenil miyoklonik epilepsi
KCNQ2-BFNE	KCNQ2 ile ilişkili benign ailesel neonatal epilepsi
KCNQ2-NEE	KCNQ2 ile ilişkili neonatal epileptik ensefalopati
Ma	Paraneoplastik Ma antijen
MAPK	Mitojenle aktive protein kinaz
MAT	Maternal kalıtılan varyant
MELAS	Mitokondriyal miyopati, ensefalopati, laktik asidozis ve inme benzeri ataklar
MERRF	Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers - Miyoklonik Epilepsi, Ragged-Red Fibers
MLPA	Multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
M/U	Mevcut veya ulaşılabilir değil
NCL	Nöronal seroid lipofusinoz
NEDDFL	Dimorfik yüz ve distal ekstremitte anomalileri ile birlikte nörogelişimsel hastalık
NFLE	Noktürnal frontal lob epilepsisi
NMD	Nonsense aracılı mRNA yıkımı
NMDA	N-metil-D-aspartik asit
mTOR:	Mechanistic target of rapamycin - Mekanistik rapamisin hedefi
OBEN	Olası benign varyant
OPAT	Olası patojen varyant

PAT	Patojen varyant
PE	Fosfatidiletanolamin
PT	Paternal kalıtılan varyant
PDA	Patent duktus arteriyozus
PVL	Periventriküler lökomalazi
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism- Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
SGA	Gebelik haftasına göre küçük
SNİK	Sensörinöral tip işitme kaybı
SUDEP	Sudden unexpected death in epilepsy-Epilepside ani beklenmedik ölüm
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ÜSYE	Üst solunum yolu enfeksiyonu
VUR	Vezikoüreteral reflü
VUS	Variant of uncertain significance – Klinik önemi belirsiz varyant
WES	Whole-Exome Sequencing - Tüm ekzom dizileme
WT	Wild type - yabanıl tip

GENLERİN AÇIK İSİMLERİ

Bu çalışmada adı geçen genlerin açık isimleri aşağıda sunulmuştur.

Genler	Açık isimleri
<i>ADGRV1</i>	Adhesion G Protein-Coupled Receptor V1
<i>AGA</i>	Aspartylglucosaminidase
<i>AKT3</i>	AKT Serine/Threonine Kinase 3
<i>ALDH18A1</i>	Aldehyde Dehydrogenase 18 Family Member A1
<i>ALDH7A1</i>	Aldehyde Dehydrogenase 7 Family Member A1
<i>ALG13</i>	ALG13 UDP-N-Acetylglucosaminyltransferase Subunit
<i>AP4E1</i>	Adaptor Related Protein Complex 4 Subunit Epsilon 1
<i>ARSA</i>	Arylsulfatase A
<i>ARX</i>	Aristaless Related Homeobox
<i>ASPA:</i>	Aspartoacylase
<i>ASXL2</i>	ASXL Transcriptional Regulator 2
<i>ATRX</i>	ATRX Chromatin Remodeler
<i>AUTS2</i>	Activator Of Transcription And Developmental Regulator AUTS2
<i>BAZ2B</i>	Bromodomain Adjacent To Zinc Finger Domain 2B
<i>BRAF</i>	B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase
<i>BRPF1</i>	Bromodomain And PHD Finger Containing 1
<i>BTB</i>	Biotinidase
<i>CACNA1A</i>	Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 A

<i>CACNA1H</i>	Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 H
<i>CADM2</i>	Cell Adhesion Molecule 2
<i>CASK</i>	Calcium/Calmodulin Dependent Serine Protein Kinase
<i>CASR</i>	Calcium Sensing Receptor
<i>CBL</i>	Cbl Proto-Oncogene
<i>CDKL5</i>	Cyclin Dependent Kinase Like 5
<i>CENPF</i>	Centromere Protein F
<i>CHD2</i>	Chromodomain Helicase DNA Binding Protein 2
<i>CHD8</i>	Chromodomain Helicase DNA Binding Protein 8
<i>CHRNA1</i>	Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 1 Subunit
<i>CHRNA4</i>	Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 4 Subunit
<i>CHRNA7</i>	Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 7 Subunit
<i>CIC</i>	Capicua Transcriptional Repressor
<i>CLN3</i>	CLN3 Lysosomal/Endosomal Transmembrane Protein, Battenin
<i>CLN8</i>	CLN8 Transmembrane ER And ERGIC Protein
<i>CLTC</i>	Clathrin Heavy Chain
<i>COL18A1</i>	Collagen Type XVIII Alpha 1 Chain
<i>COL4A1</i>	Collagen Type IV Alpha 1 Chain
<i>CREBBP</i>	CREB Binding Protein
<i>CSTB</i>	Cystatin B
<i>CUL4B</i>	Cullin 4B
<i>CUX1</i>	Cut Like Homeobox 1

<i>DEAF1</i>	DEAF1 Transcription Factor
<i>DEPDC5</i>	DEP Domain Containing 5, GATOR1 Subcomplex Subunit
<i>DHPS</i>	Deoxyhypusine Synthase
<i>DHX30</i>	DExH-Box Helicase 30
<i>DKC1</i>	Dyskerin Pseudouridine Synthase 1
<i>DNAH9</i>	Dynein Axonemal Heavy Chain 9
<i>DNM1</i>	Dynamin 1
<i>DNMT3A</i>	DNA Methyltransferase 3 Alpha
<i>DYRK1A</i>	Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation Regulated Kinase 1A
<i>EIF2B5</i>	Eukaryotic Translation Initiation Factor 2B Subunit Epsilon
<i>FBXO11</i>	F-Box Protein 11
<i>FH</i>	Fumarate Hydratase
<i>FMR1</i>	FMRP Translational Regulator 1
<i>FRRS1L</i>	Ferric Chelate Reductase 1 Like
<i>GABRA1</i>	Gamma-Aminobutyric Acid Type A Receptor Subunit Alpha1
<i>GABRB3</i>	Gamma-Aminobutyric Acid Type A Receptor Subunit Beta3
<i>GABRD</i>	Gamma-Aminobutyric Acid Type A Receptor Subunit Delta
<i>GABRG2</i>	Gamma-Aminobutyric Acid Type A Receptor Subunit Gamma2
<i>GPAA1</i>	Glycosylphosphatidylinositol Anchor Attachment 1

<i>GRIN1</i>	Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 1
<i>GRIN2B</i>	Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2B
<i>GRIN2D</i>	Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2D
<i>HCN1</i>	Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 1
<i>HECW2</i>	HECT, C2 And WW Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 2
<i>HNRNPU</i>	Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein U
<i>IFIH1</i>	Interferon Induced With Helicase C Domain 1
<i>JAM2</i>	Junctional Adhesion Molecule 2
<i>KCNA2</i>	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 2
<i>KCNB1</i>	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily B Member 1
<i>KCNQ2</i>	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 2
<i>KCNQ3</i>	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 3
<i>KCNT1</i>	Potassium Sodium-Activated Channel Subfamily T Member 1
<i>KDM6B</i>	Lysine Demethylase 6B
<i>KIF5A</i>	Kinesin Family Member 5A
<i>KIF7</i>	Kinesin Family Member 7
<i>KMT2C</i>	Lysine Methyltransferase 2C
<i>KMT5B</i>	Lysine Methyltransferase 5B
<i>LGI</i>	Leucine Rich Repeat LGI Family Member 2
<i>MACF1</i>	Microtubule Actin Crosslinking Factor 1

<i>MCCC2</i>	Methylcrotonyl-CoA Carboxylase Subunit 2
<i>MEF2C</i>	Myocyte Enhancer Factor 2C
<i>MSX2</i>	Msh Homeobox 2
<i>MTOR</i>	Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase
<i>NBEA</i>	Neurobeachin
<i>NCAPD2</i>	Non-SMC Condensin I Complex Subunit D2
<i>NPRL2</i>	NPR2 Like, GATOR1 Complex Subunit
<i>NPRL3</i>	NPR3 Like, GATOR1 Complex Subunit
<i>NSD1</i>	Nuclear Receptor Binding SET Domain Protein 1
<i>OPA1</i>	OPA1 Mitochondrial Dynamin Like GTPase
<i>PCDH19</i>	Protocadherin 19
<i>PHACTR1</i>	Phosphatase And Actin Regulator 1
<i>PHF8</i>	PHD Finger Protein 8
<i>PHGDH</i>	Phosphoglycerate Dehydrogenase
<i>PIEZO2</i>	Piezo Type Mechanosensitive Ion Channel Component 2
<i>PIGO</i>	Phosphatidylinositol Glycan Anchor Biosynthesis Class O
<i>PIK3CA</i>	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
<i>PLP1</i>	Proteolipid Protein 1
<i>PMP22</i>	Peripheral Myelin Protein 22
<i>PPP2R5D</i>	Protein Phosphatase 2 Regulatory Subunit B'Delta
<i>PROSC</i>	Pyridoxal Phosphate Binding Protein
<i>PRRT2</i>	Proline Rich Transmembrane Protein 2

<i>PTEN</i>	Phosphatase And Tensin Homolog
<i>PTPN11</i>	Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 11
<i>PTRH2</i>	Peptidyl-TRNA Hydrolase 2
<i>QARS1</i>	Glutaminy-TRNA Synthetase 1
<i>RAB3GAP1</i>	RAB3 GTPase Activating Protein Catalytic Subunit 1
<i>RAI1</i>	Retinoic Acid Induced 1
<i>RELN</i>	Reelin
<i>RORA</i>	RAR Related Orphan Receptor A
<i>SCN1A</i>	Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 1
<i>SCN1B</i>	Sodium Voltage-Gated Channel Beta Subunit 1
<i>SCN2A</i>	Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 2
<i>SCN3A</i>	Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 3
<i>SCN8A</i>	Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 8
<i>SCN9A</i>	Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 9
<i>SETBP1</i>	SET Binding Protein 1
<i>SETD2</i>	SET Domain Containing 2, Histone Lysine Methyltransferase
<i>SETD5</i>	SET Domain Containing 5
<i>SHANK3</i>	SH3 And Multiple Ankyrin Repeat Domains 3
<i>SLC2A1</i>	Solute Carrier Family 2 Member 1
<i>SMARCA2</i>	SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily A, Member 2

<i>SMARCC2</i>	SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin Subfamily C Member 2
<i>SOX5</i>	SRY-Box Transcription Factor 5
<i>SPTAN1</i>	Spectrin Alpha, Non-Erythrocytic 1
<i>STAG2</i>	Stromal Antigen 2
<i>STX1B</i>	Syntaxin 1B
<i>STXBP1</i>	Syntaxin Binding Protein 1
<i>SZT2</i>	SZT2 Subunit Of KICSTOR Complex
<i>TAF1</i>	TATA-Box Binding Protein Associated Factor 1
<i>TBC1D24</i>	TBC1 Domain Family Member 24
<i>TBR1</i>	T-Box Brain Transcription Factor 1
<i>TCF20</i>	Transcription Factor 20
<i>TNK2</i>	Tyrosine Kinase Non Receptor 2
<i>TRIO</i>	Trio Rho Guanine Nucleotide Exchange Factor
<i>TRRAP</i>	Transformation/Transcription Domain Associated Protein
<i>TSC1</i>	TSC Complex Subunit 1
<i>TSC2</i>	TSC Complex Subunit 2
<i>TTC1</i>	Tetratricopeptide Repeat Domain 1
<i>TUBA1A</i>	Tubulin Alpha 1a
<i>TYR</i>	Tyrosinase
<i>UBE3A</i>	Ubiquitin Protein Ligase E3A
<i>UFM1</i>	Ubiquitin Fold Modifier 1
<i>UNC80</i>	Unc-80 Homolog, NALCN Channel Complex Subunit

VRK1

VRK Serine/Threonine Kinase 1

ZEB2

Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 2



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Genetik epilepsilerin hedefli farmakolojik tedavileri	32
Tablo 2. Hastalara ait özet klinik bilgiler	38
Tablo 3. Aile çalışması sonrası sınıflaması değişen varyant sayıları	56
Tablo 4. WES ile epilepsi için moleküler tanı alan hasta tablosu	58
Tablo 5. Moleküler tanı, tanının kalıtım modeli ve ebeveyn akrabalık durumuna göre hasta sayıları	65
Tablo 6. Metabolik kaynaklı epilepsi hastaların EEG ve nörogörüntüleme bulguları ile moleküler tanıları	68
Tablo 7. Kanalopatili hastaların EEG, nörogörüntüleme ve moleküler bulguları	69
Tablo 8. WES analizi ile epilepsi moleküler tanısı almayan hastaların moleküler bulguları ile segregasyon analizi yapılan varyantların öncesi ve sonrası patojenite yorumları	71
Tablo 9. Resesif hastalıklar için heterozigot bir patojen/olası patojen varyantı olan hastalar	77
Tablo 10. Epilepsi fenotipi dışında moleküler tanı alan hastaların tanıları	78
Tablo 11. Klinikle ilişkili olası patojene yakın VUS varyantı bulunan Hastalar	78
Tablo 12. Metabolik hastalık tanısı alan hastaların başvuru öncesi aldıkları tedaviler ve moleküler tanı sonucuna göre uygulanabilecek tedavi seçenekleri	88
Tablo 13. Kanal mutasyonlarının yer aldığı proteinler	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 2017 ILAE Epilepsi Sınıflaması	6
Şekil 2. Fenotipik alt gruplarda yer alan hasta oranları	37
Şekil 3. Hasta gruplarına göre tanı sayı ve oranları	66
Şekil 4. Çalışma grubundaki genel ebeveyn akrabalık oranları	82
Şekil 5. Moleküler tanıların kalıtım modeli oranları	82
Şekil 6. Ebeveyn akrabalığı durumunda kalıtım modeli oranları	82
Şekil 7. Otozomal resesif hastalık tanısı alanların ebeveyn akrabalığı oranları	82
Şekil 8. Nörogörüntüleme anomalisi varlığı durumunda tanısallık verim oranları	84

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi, beyin hücrelerinde ortaya çıkan anormal elektriksel aktiviteye bağlı epileptik nöbetlerle karakterize kronik nörolojik bir hastalıktır. Sıklık ve etiyoloji bakımından coğrafi olarak farklılık göstermekle beraber dünya nüfusunun %0.4 ile %1’inde aktif epilepsi olduğu tahmin edilmektedir (1). Epilepsi, primer bir nörolojik hastalık şeklinde bulunabileceği gibi; entelektüel yetersizlik, otizm, metabolik hastalıklar veya genetik bir sendrom ile ilişkili komorbid bir durum olarak da ortaya çıkabilmektedir (2).

Günümüzde yeni nesil dizileme yöntemlerinin gelişmesi ve yaygınlaşmasının sağladığı bilgi birikimi sayesinde eskiden “idiyopatik” olarak değerlendirilen epilepsilerin büyük bir çoğunluğunu; tek gen hastalıkları, modifiye edici veya yatkınlık alelleri, karmaşık kalıtmımlı epilepsiler gibi genetik faktörlerin oluşturduğu keşfedilmiştir (3).

Günümüzde birçoğu oldukça az sayıda hastada tanımlanmış yüzlerce epilepsi ilişkili gen bulunmaktadır. Bu nedenle epilepsi ilişkili genlerin fenotipik çeşitliliği hakkındaki bilgiler hala sınırlıdır. Yeni tanımlanan hastalarla beraber bu konudaki bilgi birikimi artacağı gibi ek fenotipik bulguların saptanması da mümkün olabilecektir.

Birçok epilepsi tipinde, aynı genetik değişikliklere sahip hastalarda bile fenotipik prezentasyon oldukça farklı olabilmektedir. Ayrıca Dravet sendromunda olduğu gibi farklı genetik etiyolojileri olan hastalar, benzer klinik tablolara sahip olabilmektedirler. Dravet sendromunda çoğu hastada *SCN1A*’da mutasyon bulunurken, *PCDH19*, *CHD2*, *SCN8A* veya nadir durumlarda *GABRA1* ve *STXBP1*

mutasyonları olan hastalarda da benzer fenotipler görülebilmektedir (4). Yani epilepsi hem genetik hem de fenotipik heterojenite göstermektedir. Epilepsinin eşlik ettiği hastalıklarda her zaman yeni sendromlar, yeni genler ya da aynı gende farklı varyasyonlar saptanabilmektedir ki bunların hastanın kliniği ile ilişkilendirilerek gerçekten aralarında anlamlı bir ilişki olup olmadığının her zaman yeniden değerlendirilmesi (genotip–fenotip ilişkisi) gerekmektedir.

Günümüzde birçok genetik hastalığın tanısında rutin kullanılan tüm ekzom dizileme - whole exome sequencing (WES) epilepsi gibi genetik heterojenite gösteren klinikler için kuvvetli bir tanı aracıdır. Hastaların %30-50 kadarında moleküler tanı konulmakla beraber birçok hastada da “klinik önemi belirsiz” varyantlar saptanmaktadır (5). Bu varyantların aile çalışmaları klinik sınıflamayı değiştirebilmektedir. Yıllar içinde artan literatür bilgileri sayesinde bu varyantların sınıflamaları güncellenebilmektedir.

Epilepsinin genetik etiyolojisinin ortaya konması; prognoz, tekrarlama riski, olası tedavi seçenekleri için bilgiler sağlamaktadır. Ek olarak tekrarlama riski yüksek olan ailelere prenatal/preimplantasyon genetik tarama seçeneği sunarak sağlıklı çocuk sahibi olma şansını artırmaktadır.

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda 2017-2020 yılları arasında WES analizi yapılmış; epilepsili veya epilepsi ilişkili olabilecek bir klinik olan entelektüel yetersizlikle beraber nöbetsiz EEG anomalili hastaların analiz sonuçlarının genotip-fenotip korelasyonu ve fenotipik çeşitliliğin araştırılması, klinik önemi belirsiz varyantların tekrar yorumlanması ve moleküler tanının hasta yönetimine katkısının ortaya konması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi Tanım ve Sıklığı

Epilepsi, beyin hücrelerindeki anormal elektriksel deşarjlar sonucu ortaya çıkan tekrarlayan nöbetlerle karakterize kronik nörolojik bir hastalıktır. Nöbetler; vücudun bir kısmını veya tamamını ilgilendiren, bazen bilinç kaybı ve otonom disfonksiyonun eşlik edebildiği, kısa, motor ve motor olmayan bulgular ile karakterizedir.

Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği'ne (The International League Against Epilepsy - ILAE) göre epilepsi tanısı klinik olarak;

1. 24 saatten uzun süren aralıkla meydana gelen en az 2 tetiklenmemiş nöbet,
2. Bir tetiklenmemiş nöbet ile birlikte gelecekte nöbet riskini artıran faktörlerin varlığı veya
3. Bir epilepsi sendromunun varlığı

durumunda konulmaktadır (6).

Epilepsi prevalansı yaş ve coğrafyaya göre büyük değişiklikler göstermektedir. Epilepsi 0-20 yaş aralığındaki dünya nüfusunun %1'ini etkilerken, 75 yaşına kadar bu oran %3'e çıkmaktadır. Dünya sağlık örgütüne (DSÖ) göre dünya genelinde epilepsiden etkilenen 50 milyon kişinin yaklaşık %80'i az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde yaşamaktadır ve bunların dörtte üçü uygun bir tedavi alamamaktadır (1). Ülkemizde epilepsi sıklığı hakkında net bir veri bulunmamasına karşın Türkiye Nöroloji Derneğine göre bu sayının 750 bin civarında olduğu tahmin edilmektedir (7). Gelişmiş ülkelerdeki yeni vakalar süt

çocuğu ve ileri yaş grubunda daha sıkken, az gelişmiş ülkelerde büyük çocuklarda ve genç erişkinlerde daha sıktır (8). Bu durum nedeniyle epilepsi, gelişmiş ve az gelişmiş ülkeler arasında farklı bir hastalık yüküne sahiptir ve etiyolojileri arasında farklılıkların olması muhtemeldir.

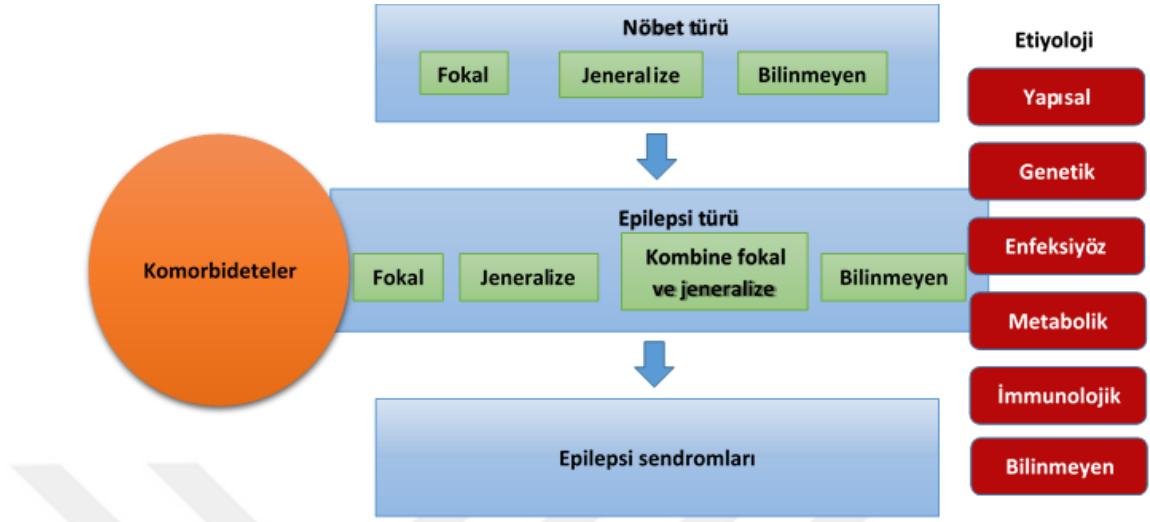
Ülkemizde çocukluk yaş grubunda güncel bir çalışma bulunmamakla beraber 1996 yılında yapılan bir çalışmada 0-16 yaş grubunda epilepsi prevalansı %0,8 olarak bulunmuştur ve bu çalışmada sosyoekonomik durum ile epilepsi gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (9).

2.2. Epilepsi Sınıflaması

Nöbet sınıflaması yüzyıllardır yapılmakla beraber, ilk modern epilepsi sınıflandırması Gastaut tarafından 1964’de önerilmiş ve 1970 yılında uluslararası kullanıma girmiştir (10, 11). Bu sınıflandırmaya kadar nöbet türü ve epilepsi türü arasındaki ayrım sıklıkla yapılmamaktaydı. Video elektroensefalografinin (Video EEG) yaygın klinik kullanımının sağladığı veriler sayesinde bu sınıflandırma ilk olarak 1981 yılında ILAE tarafınca güncellenmiştir. Bu nöbet sınıflandırmasında, günümüze kadar kullanılmakta olan “basit parsiyel”, “kompleks parsiyel”, “jeneralize” ve “sınıflandırılmayan” terimleri kullanılmıştır (12). Daha sonra yıllar içinde kısmi olarak güncellenen epilepsi sınıflaması 2017 yılında günümüzde kullanılan şeklini almıştır (13).

ILAE tarafında 2017 yılında 3 basamaklı şekilde yeniden revize edilen epilepsi sınıflamasında “parsiyel nöbet” yerine “fokal nöbet” kullanımı gibi terminoloji değişiklikleri de yapılmıştır. ILAE 2017 epilepsi sınıflaması Şekil 1’de

şematize edilmiştir (14). Bu sınıflamaya göre ilk basamakta nöbet tipi yer almaktadır. Nöbet tipleri genel olarak fokal nöbetler (bir hemisferde sınırlı nöronal ağlardan kaynaklı), jeneralize nöbetler (bir noktada ortaya çıkıp hızlıca bilateral nöronal ağlara yayılan) ve bilinmeyen kaynaklı (fokal veya jeneralize nöbet ayrımı için yeterli bilgi bulunmayan) şeklinde sınıflandırılmıştır. Sınıflandırmanın ikinci basamağında epilepsi türü yer almaktadır. Epilepsi türleri; fokal epilepsi, jeneralize epilepsi, kombine fokal ve jeneralize epilepsi ve bilinmeyen epilepsi olmak üzere dört ana grupta toplanmaktadır. Epilepsi kriterlerini karşılamayan hastalar için (örneğin yalnızca tek nöbet geçirmiş hasta) nöbet sınıflandırması yapıldıktan sonra ikinci basamağa geçilmemekte, sınıflandırma sonlandırılmaktadır. Üçüncü basamakta ise, spesifik bir sendrom tanısı konulabildiği durumlarda epilepsi sendromunun tanımlanması yer almaktadır. Epileptik sendromlar; nöbet tipleri, EEG bulguları, görüntüleme bulguları, yaşa bağlı özellikler gibi birlikte bulunan bulgu kümelerini ifade etmektedir. Revize edilmiş bu sınıflandırmada, hasta yönetimi açısından, her üç basamakta da; yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik, immünolojik ve bilinmeyen kategorilerindeki etiyolojileri belirlemenin önemi vurgulanmaktadır. Yeni sınıflandırma, aynı zamanda komorbiditelerin tanımlanmasına da vurgu yapmaktadır. Çünkü epilepsi hastalarında, epilepsinin bir sonucu olarak kabul edilen nöro-davranışsal ve nöropsikiyatrik semptomlar bir arada bulunabilmektedir (2, 13).



Şekil 1. 2017 ILAE Epilepsi Sınıflaması (14).

2.3. Epilepsi Etiyolojisi

Epilepsi vakalarının yaklaşık %20-30 kadarı tümör, kafa travması ve inme gibi kazanılmış durumlardan kaynaklanırken, vakaların %70-80 kadarının bir veya daha fazla genetik faktörden kaynaklandığı düşünülmektedir (15). ILAE, hasta yönetimi için etiyojilerine göre epilepside 6 kategori tanımlamıştır (13). Bu kategoriler; yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik, immün ve bilinmeyendir (Şekil 1). Bunlar kategorilerin birbirine üstünlüğü yoktur ve sıklıkla aynı anda birden fazlası etmen olabilmektedir. Etiyolojik kategoriler aşağıdaki gibidir:

2.3.1. Yapısal Etiyoloji:

Yapısal etioloji, nörogörüntüleme hastanın klinik bulguları ve EEG'si ile uyumlu nöbete yol açan bulguların varlığı olarak tanımlanabilmektedir. Hastanın nöbet semiyolojisi ve EEG bulgularıyla uyumlu olmayan nörogörüntüleme

anomalisi muhtemelen hastanın epilepsisi ile ilişkisizdir ve etiyolojik faktör olarak kabul edilmemektedir (14).

2.3.2. Genetik Etiyoloji:

Genetik etiyoloji, genel itibariyle hastada epilepsiye yol açan bir gende patojen varyant veya kopya sayısı değişikliği (Copy number variation - CNV) bulunduğu durumlar olarak tanımlanabilmektedir. Bunlar haricinde, epilepsiye yol açan alternatif genetik mekanizmalar da bulunmaktadır ve bu mekanizmalar daha sonra açıklanacaktır. İlişkili bir aile öyküsü ve tipik özelliklerin (EEG, nöbet semiyolojisi gibi) bulunması da genetik etiyoloji kategorisi için yeterli bulgulardır. Genetik bir varyantın epilepsi nedeni olduğunu belirlemek her zaman kolay değildir. Birçok hastada klinik önemi belirsiz varyantlar saptanmaktadır. Genetik bir epilepsiye neden olan varyantlar sıklıkla *de novo* olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle birçok hastada epilepsiye neden olan genetik bir neden bulunmasına rağmen ailede epilepsi öyküsü bulunmamaktadır (14, 15).

2.3.3. Enfeksiyöz Etiyoloji:

Enfeksiyöz etiyoloji, enfeksiyon nedeniyle ortaya çıkan epilepsi tanımlamaktadır. Akut enfeksiyon nedeniyle gelişen nöbetler (meningoensefalit gibi) tetiklenmiş kabul edildiği için epilepsi olarak değerlendirilmemektedir. Enfeksiyöz etiyolojilere örnek olarak nörosistiserkozis, HIV, CMV enfeksiyonları ve serebral toksoplazmozis verilebilir. Bunların çoğu yapısal etiyoloji olarak da değerlendirilebilmektedir. Tedavi seçenekleri bulunduğu için, bu olguları

enfeksiyöz olarak sınıflandırmak yapısal olarak sınıflandırmaya göre öncelikli olarak tercih edilmektedir (14, 16).

2.3.4. Metabolik Etiyoloji:

Metabolik etiyoloji, epilepsi sebebinin metabolik bir anormalliğe bağlı olduğu epilepsileri ifade etmektedir. Geçici metabolik dengesizlikler sebebiyle akut semptomatik nöbetleri olan hastalar (elektrolit dengesizlikleri gibi), nöbetleri tetiklenmiş olduğundan epilepsili olarak değerlendirilmemektedir. Metabolik epilepsilerin çoğu genetik etiyolojilere sahip olmakla beraber, edinsel de olabilmektedir. Pridoksin bağımlı nöbetler ve serebral folat eksikliği metabolik epilepsilere örnek olarak verilebilmektedir (14, 17).

2.3.5. İmmün Etiyoloji:

Bir otoimmün hastalığın yeni başlangıçlı epilepsiye yol açtığı durumlar için geçerlidir. Antikor aracılı limbik ensefalit, sebebi bilinmeyen epilepsilerde giderek artan şekilde tespit edilmektedir. Otoimmün ensefalit ve epilepsi hem nöronal hücre içi antikorlar (GAD65, ANNA-1 ve Ma) hem de nöronal hücre yüzey antikorları ile ilişkilendirilmiştir (14, 18).

2.3.6. Bilinmeyen Etiyoloji:

Epilepsi etiyolojisinin belli olmadığı durumlarda kullanılmaktadır (14).

2.4. Epilepsinin Genetik Temelleri

Epilepsinin genetik bir temeli olduğu yıllarca varsayılmıştır, ancak genetik bir bileşenin ilk kanıtları, etkilenen bireylerin akrabalarında epilepsi riskinin arttığını bildiren 1980'li yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarca ortaya çıkarılmıştır (19, 20). İkizler üzerinde yapılan araştırmalar, monozigotik ikizlerin hem jeneralize epilepsi hem de fokal epilepsi için dizigotik ikizlere göre daha yüksek bir konkordans oranına sahip olduğunu göstermiş ve epilepsinin genetik bir temeli olduğu hipotezini desteklemiştir (21, 22). Bin dokuz yüz doksanlı yıllarda çok sayıda ailenin bağlantı analizi ve gen haritalama ile birlikte değerlendirildiği insan genetiği yaklaşımları ile nikotinik asetilkolin reseptörünün bir alt birimini kodlayan *CHRNA4* mutasyonlarının otozomal dominant uyku ilişkili hipermotor epilepsiye neden olduğunun keşfi daha sonra birçok gen keşfini de beraberinde getirmiştir (2, 23). Benign ailesel neonatal nöbetlerde *KCNQ2* ve Dravet sendromunda *SCN1A* gibi iyon kanallarını kodlayan genlerdeki mutasyonlar, iyon kanal disfonksiyonu veya disregülasyonunun epilepsi sendromlarının altında yatan ortak bir mekanizma olduğunu varsayan "kanalopati" hipotezine yol açmıştır (2, 24, 25). Kromozomal mikroyarray ve yeni nesil dizileme dahil olmak üzere genomik teknolojilerin ortaya çıkışı, epilepsilerin genetik yapısının anlaşılmasını ve yeni gen keşiflerini hızlandırmıştır (26).

2.4.1. Epilepsi ve Beyin Kanalopatileri

Kanalopati terimi, iyon kanallarının genetik veya kazanılmış işlev bozukluğu ile tanımlanabilen geniş bir hastalık yelpazesini kapsamaktadır. İyon

kanalları, hücre zarlarının lipid çift tabakası boyunca yer alan, elektrokimyasal gradiyentlerine göre iyonların içeri veya dışarı akışını sağlayan gözenekler (por) oluşturan proteinlerdir. Kanalların geçirgenliği; açık, inaktif kapalı ve dinlenmede kapalı olmak üzere farklı kanal kapısı durumları tarafından kontrol edilmektedir. Geçirgenlik, transmembran elektrik potansiyeli (voltaj kapılı kanallar), spesifik hücre dışı ligand molekülleri (ligand kapılı kanallar) veya hücre içi ikinci haberciler, ışık, sıcaklık ve mekanik uyaranlar gibi farklı mekanizmalar tarafından kontrol edilmektedir. İyon pompaları ise istirahat membran potansiyelini korumak üzere iyon gradiyentine karşı aktif transport yoluyla çalışmaktadır. Birçok iyon kanalı por oluşturan bir alt birim ve yardımcı düzenleyici birimler ile heteromerik bir yapıdan oluşmaktadır. İyon pompaları da katalitik bir ana alt birimin yanı sıra yardımcı ve düzenleyici alt birimlere sahip benzer heteromerik proteinlerdir (27).

Genetik kanalopatiler, iyon kanallarının ve iyon pompalarının ökaryotik hücrelerde; dinlenme potansiyeli, sinyal iletimi, hücre boyutu, büyüme, hareketlilik ve apoptozu düzenleme rolleriyle ilişkili olarak çeşitli sistemik bozukluklarda tanımlanmıştır. İyon kanallarının sıklıkla bir doku seçiciliği vardır. Bu nedenle genetik kanalopati bulgularının çoğu, iyon kanalının esas ifade edildiği doku ile sınırlıdır. İyon kanallarının birçoğu esas olarak beyin dokusunda ifadenmektedir. Bu kanallardaki işlev bozuklukları; aksiyon potansiyeli üretimini, baskılanmasını ve yayılmasını etkileyebilmekle nöronlar için zararlı sonuçlar doğurabilmektedir. Membran uyarılabilirliğinin geçici veya tekrarlayan bozukluğu, özellikle nöbetler olmak üzere paroksizmal semptomlara yol açabilmektedir, ancak iyon kanallarının farklı yaşlarda farklı ekspresyonu nedeniyle semptomların ortaya çıkış zamanları

değişkenlik göstermektedir. *CHRNA4*'ün ailesel epilepsiye neden olduğunun bulunmasını takip eden süreçte ailesel ve sporadik epilepsi de dahil olmak üzere birçok nörolojik bozukluk iyon kanalları ile ilişkilendirilmiştir (27).

Yeni nesil dizilemenin (Next generation sequencing-NGS) geniş ölçekli uygulanması ile; tek bir iyon kanalı geni ile ilişkili çeşitli sendromlar tanımlanabilmiştir. Yine ilk olarak iyi huylu fenotiplerle ilişkilendirilen iyon kanalı genlerinin de şiddetli epileptik ensefalopatilerde rol oynayabildiği gösterilmiştir. Bu durum, genotip-fenotip korelasyonunun zorlayıcı olmasına neden olmaktadır. (27).

2.4.2. Epilepsi Etiyolojisinde Rol Oynayan Genetik Mekanizmalar

Epilepsiye neden olabilecek birden fazla genetik mekanizma tanımlanmıştır;

1. Fokal epilepsi etiyolojisindeki nikotinik asetil kolin reseptörü alfa alt birim 4'ü kodlayan *CHRNA4* genindeki tek bir yanlış anlamlı (missense) varyantın örnek verilebileceği tek gen hastalıkları,
2. 15q13.3 veya 15q11.2 mikrodelsiyonları gibi kopya sayısı varyantları,
3. *CTSB* geni promotorundaki 12 nükleotidlik tekrar artışına bağlı ortaya çıkan Unverricht-Lundborg tipi miyoklonik epilepside (progresif miyoklonik epilepsi 1A) olduğu gibi tekrar dizi artışları ve
4. Angelman sendromu gibi epilepsinin hastalığın fenotipik spektrumunun bir parçası olduğu ve etiyolojisinde farklı genetik değişikliklerin görülebildiği

sendromik genetik hastalıklar da epilepsi genetik mekanizmalarında rol almaktadır (2).

Angelman sendromuna maternal kalıtılan *UBE3A* geninin yetersiz ekspresyonuna sebep olan genetik mekanizmalar neden olmaktadır. Bunlardan en sık görüleni 15. kromozomun maternal kopyasındaki q11.2-q13 bölgesinin delesyonu iken, 15. kromozomun paternal uniparental dizomisi, *UBE3A* mutasyonları ve imprinting merkez mutasyonları diğer genetik sebeplerindendir (28).

Yukarda tarif edilen genetik epilepsi mekanizmalarına ek olarak hastalığın ortaya çıkabilmesi için birden fazla alelin gerektiği oligogenik ve poligenik-multifaktöriyel epilepsi modelleri de mevcuttur. Bu modellerde; ayrı ayrı hastalık oluşturmamakla beraber, birlikte bulunduklarında hastalık risk artışına sebep olan modifiye edici genler bulunmaktadır. Modifiye edici genlerdeki varyantların yüksek alel frekansına sahip olması muhtemel olduğundan bunların analiz esnasında filtrelenerek gözden kaçması olasıdır (2).

2.5. Epilepsi Türlerinin Genetik Etiyolojileri

Epilepsi, primer bir nörolojik hastalık şeklinde bulunabileceği gibi; entelektüel yetersizlik, otizm, metabolik hastalıklar veya genetik bir sendromla ilişkili komorbid bir durum olarak da ortaya çıkabilir. Genetik zeminde primer epilepsiler; genetik jeneralize epilepsi (GJE), fokal epilepsi ve epileptik ensefalopatiler (EE) şeklinde üç ana grup şeklinde sınıflandırılabilir. Her bir sınıf içinde spesifik nöbet tipleri, EEG paternleri, başlangıç yaşı ve hastalığın

progresyonu gibi faktörler ile karakterize birkaç spesifik epilepsi sendromu tanımlanmıştır (26).

Tipik olarak 6 ay ile 5 yaş arasında çocuklarda görülen ve ateşle ilişkili ortaya çıkan nöbetlerle karakterize olan febril nöbetler ise genellikle iyi prognozlu olduklarından, hasta ve hekimler tarafınca sosyal olarak epilepsi tanısı ile damgalanmaktan kaçınıldığından epilepsiden ayrı olarak değerlendirilmiştir. Fakat genetik alanında artan bilgi birikimi sayesinde epilepsi ve febril nöbetler arasında yakın ilişki olabileceği ortaya konmuştur (2).

Genetik jeneralize epilepsi, fokal epilepsi, gelişimsel ve epileptik ensefalopati, kromozomal, sendromik ve genomik bozukluklarda görülen epilepsiler ve febril nöbetlerin genetik etiyolojilerine ait örnekler aşağıda alt başlıklar halinde açıklanmıştır.

2.5.1. Genetik Jeneralize Epilepsi

Genetik jeneralize epilepsi tüm epilepsi vakalarının yaklaşık %15-20'sini kapsamaktadır. Tipik olarak; normal zeka, EEG'de >2.5Hz diken dalga deşarjları, normal nörogörüntüleme ve absans, miyoklonik, jeneralize tonik-klonik nöbetlerle karakterizedir (2). Genetik jeneralize epilepsi, idiyopatik jeneralize epilepsi olarak bilinmekteyken, bu gruba genetik katkının önemli ölçüde olduğunun anlaşılması üzerine yeni ILAE sınıflamasında “idiyopatik” terimi “genetik” terimi ile değiştirilmiştir (14). Bununla birlikte idiyopatik jeneralize epilepsi terimi; çocukluk çağı absans epilepsi, juvenil absans epilepsi, juvenil miyoklonik epilepsi ve

jeneralize tonik-klonik nöbetler olmak üzere dört spesifik sendrom için hala kullanılmaktadır (14).

Popülasyon temelli ailesel agregasyon çalışmalarında, GJE'li probandların birinci derece akrabaları arasında epilepsi gelişme riskinin genel popülasyona göre 6 kata kadar arttığı görülmüştür (2, 29). GJE'li kardeş öyküsü olanların epilepsi geliştirme riski %8 olarak gözlenirken, birçok GJE'li hastada da belirgin aile öyküsü bulunmamaktadır (29). Ancak GJE'li birden fazla üyesi olan ailelerin varlığı da uzun süredir bilinmektedir (2). Birkaç ikiz çalışmasında monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre GJE için önemli ölçüde daha yüksek konkordans görülmüştür (21, 22).

Otozomal resesif Mendeliyen kalıtım modelinde kardeşler arasında rekürrens riskinin %25 veya dominant kalıtım modelinde %50 olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bu durum GJE'nin poligenik bir kalıtım modeli taşıdığını düşündürmektedir. Ancak zaman içinde *GABRG2* ve *GABRA1* gibi GABA reseptör alt birimlerini kodlayan genlerde patojen varyant taşıyan ailelerin bulunmasıyla da GJE'nin Mendeliyen kalıtım gösteren nadir monogenik sebepleri olabileceği de ortaya konulmuştur (2).

Son zamanlarda GJE'ye nadir varyantların katkısını araştıran WES tabanlı vaka-kontrol çalışmaları, GJE'lerdeki nadir varyantların etiyolojideki rolüne ışık tutmuştur. Karmaşık epilepsilerin genetik temellerini tanımlamayı ve karakterize etmeyi amaçlayan uluslararası, çok merkezli bir çalışma olarak 2011 yılında başlayan Epi4K konsorsiyumu ile epilepsi gelişimini ve tedaviye yanıtı etkileyen genleri belirlemeye yönelik bir proje olan The Epilepsy Phenome/Genome projesi

grubu tarafından gerçekleştirilen ortak çalışmada, ailesinde epilepsi öyküsü olan GJE'li 640 kişide, epileptik ensefalopati genleri dahil olmak üzere bilinen dominant epilepsi genlerinde oldukça nadir zararlı varyantlar bulunmuş olmakla beraber hiçbir gen tek başına istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır (29). Bu GJE kohortunda EE genlerinde nadir zararlı varyantların saptanması, GJE ile EE'ler geleneksel olarak ayrı grup hastalık olarak değerlendirildiğinden, beklenmedik bir gelişme olmuştur. Bu görüşün modifikasyona ihtiyacı olduğu, genellikle *de novo* olarak epileptik ensefalopatilere yol açan genlerin, GJE'ler de dahil olmak üzere daha hafif epilepsili ailelerde segrege olabildiğini gösteren aile çalışmaları ile de ortaya konulmuştur (30, 31).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda CNV'lerin de, GJE'ler de dahil olmak üzere epilepsiler için risk faktörü olabileceği ortaya konulmuştur (3). Rekürren 15q13.3, 15q11.2 ve 16q13.11 delesyonları bunlar içinde en sık olanları olup, GJE'li hastaların en az %3'ünün bu delesyonlardan birini taşıdığı görülmüştür (32). 15q13.3 mikrolelesyonu $\alpha 7$ nikotinik reseptör geni (*CHRNA7*) de dahil olmak üzere 7 gen içermekte olup GJE için en büyük riski taşımaktadır (odds oranı: 68,2) (33). Bu üç rekürren mikrolelesyon ayrıca entelektüel yetersizlik, otizm spektrum bozukluğu ve şizofreni gibi başka gelişimsel hastalıklar için de risk taşımaktadır (32). Bu delesyonları taşıyanların çoklu tanımlar alması olasıdır ve bir vaka-kontrol çalışmasında; GJE benzeri fenotipi ve eşlik eden entelektüel yetersizlikli bireyler arasında bu üç delesyonun sıklığının, tek başına GJE'li bireylerin üç katından fazla olduğu bulunmuştur (32).

Son zamanlarda yaygın varyantların epilepsi riskine katkılarını değerlendiren Genom boyu ilişkilendirme (Genome wide association – GWAS) çalışmaları yapılmaktadır. Avrupa kökenli GJE'li 3.020 vakayı ve 3.954 kontrolü içeren iki aşamalı bir GWAS'da, 2p16.1 ve 17q21.32'de ortak risk alelleri önerilmiş ve *SCN1A* lokusunda GJE ile ilişki açısından kuvvetli kanıtlar bildirilmiştir (34). Yine juvenil miyoklonik epilepsi (JME) için 1q43 ve absans epilepsi için 2q22.3'te kuvvetli ilişkiler bildirilmiştir (34). ILAE 2011'de, epilepside GWAS'lara meta-analitik yaklaşımlar uygulamak için Kompleks Epilepsiler Konsorsiyumu'nu (Consortium on Complex Epilepsies) başlatmıştır. İlk meta-analizde (2014); 8696 vaka ve 26157 kontrolü içeren GJE'li alt grupta 2p16.1'de *VRK2* veya *FANCL*'yi vurgulayan bir ilişki bulunmuştur (35). Genişletilmiş ikinci bir meta-analizde (2018); toplam 15212 vaka ve 29977 kontrolü içeren GJE'li alt grupta 7'si yeni olan toplam 11 lokusta genom boyu anlamlı ilişkiler bulunmuştur (36). İlgili genler, iyon kanalı alt birimleri, transkripsiyon faktörleri ve bir B6 vitamini metabolizması enzimini içermektedir. Özellikle, bu lokuslardaki en kuvvetli aday genlerden birkaçı, antiepileptik ilaçların bilinen hedefleriyle veya aday monogenik epilepsi genleriyle örtüşmektedir (36). Son olarak, GJE'lerdeki sendromlar arasından, yeni bir lokusta juvenil miyoklonik epilepsi için ve daha önce jeneralize epilepsi ile ilişkilendirilmiş iki lokusta çocukluk çağı absans epilepsi için anlamlı ilişkiler bulunmuştur (34).

2.5.2. Fokal Epilepsi

Tüm epilepsilerin %60'ını oluşturan fokal epilepsiler, geleneksel olarak genetik olmayan bozukluklar olarak kabul edilmekteydi. Bu algı santral sinir sistemi hasarından (Ör: kafa travması, inme, beyin enfeksiyonu veya tümör) sonra gelişen nöbetlerin fokal olması gözleminde kaynaklanmaktaydı. Bununla birlikte zaman içinde fokal epilepsilere önemli genetik katkıların olabileceğine dair bilgiler artmıştır (2).

Popülasyon temelli epidemiyolojik çalışmalar, fokal epilepsili probandların birinci derece akrabaları arasında nöbet veya epilepsi riskinin genel popülasyonun iki ila üç katı olduğunu göstermiştir (37). Ailesel risk altta yatan etiyolojiye göre değişmektedir. Bilinmeyen veya prenatal/gelişimsel nedenli fokal epilepsili probandların birinci derece yakınlarında risk artmış olmakla beraber postnatal nedenli fokal epilepsili probandların birinci derece yakınlarında risk artışı bulunmamıştır (38). Yine de bu ikinci grupta genetik etkiler rol oynayabilmektedir. Danimarka'da popülasyona dayalı 1,6 milyondan fazla insanı içeren bir çalışma, ailede pozitif bir epilepsi öyküsünün şiddetli bir kafa travması sonrasında epilepsi geliştirme riskinin 10 kattan fazla artırmış olduğunu göstermiştir (39). Ayrıca birinci derece yakınlarında fokal epilepsi bulunanlar fokal epilepsi geliştirmeye yatkın olsa da, fokal epilepsi geliştirme riski, akrabalarında fokal veya jeneralize epilepsiden herhangi biri bulunan bireylerdekine benzer şekilde saptanmıştır. Bu, bu iki durumun ortak genetik etiyolojileri paylaşabileceğini göstermektedir (38).

Birkaç ikiz çalışmasında; fokal epilepsi için, monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre daha yüksek konkordans bulmuştur. Konkordans, altta yatan etiyojiye ve epilepsi sendromuna göre değişmektedir (2, 21, 22).

Birkaç ailesel fokal epilepsi sendromu tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları; otozomal dominant uyku ilişkili hipermotor epilepsi, ailesel mesial temporal lob epilepsi, otozomal dominant işitsel özellikli epilepsi ve değişken odaklı ailesel fokal epilepsidir (2).

Keşfedilen ilk epilepsi geni fokal epilepsi için olmuştur. Nöronal nikotinik asetilkolin reseptörü $\alpha 4$ alt birimini kodlayan *CHRNA4* genindeki yanlış anlamalı bir varyantın, 1990'ların ortasında geniş Avustralyalı bir pedigree otozomal dominant uyku ile ilişkili hipermotor epilepsiye neden olduğu bulunmuştur. Bu keşif Mendeliyen epilepsilerde yeni gen keşiflerinin önünü açmıştır. Takip eden yıllarda voltaj kapılı potasyum kanal genleri *KCNQ2* ve *KCNQ3*, voltaj kapılı sodyum kanal $\alpha 2$ altbirimini kodlayan *SCN2A* gibi iyon kanal genleri ve nöronal salgı proteini kodlayan *LGI* geni fokal epilepsi ile ilişkilendirilmiştir (2).

NGS teknolojilerinin gelişmesi ve yaygınlaşması fokal epilepside yeni genler bulunmasını hızlandırmıştır. mTOR sinyal yolağının negatif bir modölatörü olan GATOR1 kompleksinin alt birimlerini kodlayan genlerin (*DEPDC5*, *NPRL2* ve *NPRL3*) bu epilepsi grubunda önemli bir role sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Germline patojenik *DEPDC5* varyantları; değişken odaklı ailesel fokal epilepsi ve lezyonel olmayan fokal epilepsili aileler ile birlikte, daha nadir olarak da otozomal dominant uyku ilişkili hipermotor epilepsi, kendini sınırlayan sentrotemporal dikenli epilepsi ve kortikal malformasyonlarla beraber fokal epilepsi vakalarında

tespit edilmiştir. *NPRL2* ve *NPRL3* genlerindeki patojenik varyantlar, beyin malformasyonları olan veya olmayan ailesel ve sporadik fokal epilepsilerde tanımlanmıştır (2).

Germline varyantlara ek olarak, son araştırmalar beyinle sınırlı somatik varyantların fokal epilepsilerin etiyolojisine katkıda bulunduğunu göstermiştir (40). mTOR yolağındaki genlerin (ör: *TSC1*, *TSC2*, *MTOR*, *PIK3CA*, *AKT3* ve *DEPDC5*) somatik mutasyonlarının fokal epilepsi ile birlikte Tuberoskleroz kompleksi, fokal kortikal displazi ve hemimegalensefali gibi değişik kortikal gelişim malformasyonlarına yol açabileceği gösterilmiştir (2, 40). Bazı vakalarda mTOR yolağının negatif modülatörlerindeki germline ve somatik mutasyonların birlikte ortaya çıkması (iki vuruşlu genetik model), kortikal gelişim malformasyonlarına yol açabilmektedir. Sonic hedgehog yolağındaki hipotalamik hamartoma ve mitojen aktive protein kinaz (MAPK)/ekstraselüler sinyal regüle kinaz (ERK) yolağı (Sturge-Weber sendromu) gibi diğer yolaklardaki genlerdeki somatik varyantlar da beyin lezyonları ilişkili fokal epilepsiye yol açabilmektedir (2).

2.5.3. Gelişimsel ve Epileptik Ensefalopatiler

Süt çocuğu ve büyük çocuklarda epilepsinin gelişimsel anormallikler ve entelektüel yetersizlik ile birlikte bulunabileceği uzun zamandır bilinmekle birlikte spesifik bir teşhis nadir olarak yapılmakta ve teşhis genellikle “entelektüel yetersizlik ve epilepsi” şeklinde konulmaktaydı. Etiyoloji sıklıkla pre- veya perinatal faktörlerle, bazen de aşılama gibi durumlarla ilişkilendirilmekteydi. Fakat

günümüzde genetik ve nörobiyoloji alanında artan araştırma ve bilgi birikimi sayesinde bu bozuklukların bir çoğunun altında genetik bir etiyolojinin olduğu anlaşılmış, bu gibi hastalara konulan spesifik teşhislerle hastaların tedavi sürecini ve hastalara sağlanan danışmanlığı olumlu yönde etkilemiştir (2).

"Epileptik ensefalopati" terimi; epileptik aktivitenin, tek başına altta yatan patolojiden (örneğin kortikal malformasyon) beklenebilecek olanın üzerinde ve ötesinde, ciddi bilişsel ve davranışsal bozukluklara katkıda bulunduğu durum şeklinde tanımlanabilmektedir (41). Bu bozukluklar tüm epilepsilerde, her yaşta ve değişik şiddette görülebilmekte, global veya izole bozuklular zamanla daha da kötüleşebilmektedir (14).

Epileptik ensefalopatilere; heterojen bir genetik etiyoloji yanında, hipoksik iskemik ensefalopati, perinatal inme gibi edinilmiş durumlar da sebep olabilmektedir. Ayrıca genetik etiyolojisi olabilen edinilmiş bir kortikal malformasyon da (tuberoskleroz kompleksinde görülebildiği gibi) epileptik ensefalopatiye yol açabilmektedir (14).

Epileptik ensefalopatilerde; sık epileptiform aktivite, gelişimi engelleyerek bilişsel yavaşlamaya ve sıklıkla gerilemeye neden olmakta ve bazen psikiyatrik ve davranışsal sonuçlarla ilişkilendirilmektedir. Epileptiform aktivite, normal gelişime veya önceden var olan gelişimsel gecikmeye sahip bir bireyde gerilemeye neden olmakta, bu durum daha sonra gelişimsel duraklama veya gerileme şeklinde ortaya çıkmaktadır. Kavramın önemli bir bileşeni, epileptiform aktivitenin iyileştirilmesinin, bozukluğun gelişimsel sonuçlarını iyileştirme potansiyeline

sahip olabileceğidir. Bu, klinik açıdan kritik bir konudur ve genellikle ailelerin ve klinisyenlerin gözlemlerine yansımaktadır (14).

Epileptik ensefalopatiye sebep olan genetik bozuklukların birçoğunda, epileptik aktivitenin gelişim üzerindeki etkisine ek olarak, doğrudan genetik mutasyonun etkisinden kaynaklanan gelişimsel sonuçlar da gözlenmiştir. Bu gözlemler şu şekildedir:

- 1) Önceden var olan ve nöbet başlangıcıyla veya uzun süreli nöbetlerle, duraksama veya gerileme ile komplike olan bir gelişimsel gecikme bulunabilir.
- 2) Normal gelişimin arka planında gelişimsel yavaşlama meydana gelebilir ve bu yavaşlama, EEG'de sık epileptik aktivitenin varlığından önce ortaya çıkar. Dravet sendromu bunun için iyi bir örnektir. Dravet sendromunda EEG'de epileptiform aktivitenin belirginleşmediği 1-2 yaş arasında bile gelişimsel yavaşlama ve gerilik mevcuttur. Bu, epileptik bir bileşene ek olarak, gelişimsel bir bileşen olduğunu ve her ikisinin de vakaların >% 80'inde bulunan altta yatan sodyum kanalı alt birim geni (*SCN1A*) mutasyonuna ikincil olarak ortaya çıktığını göstermektedir.
- 3) *KCNQ2* veya *STXBP1* ensefalopatisinde olduğu gibi EEG'de epileptik anomali ve epileptik nöbetler erkenden düzelse bile, bazı hastalarda gelişimsel gerilik kalıcı olabilir.

Hem epileptik hem de gelişimsel ensefalopatilerin, klinik bulgulara beraber katkıda bulunabileceğinin gözlemlenmesi ile 2017 ILAE epilepsi sınıflandırmasında terminolojinin uygun olduğu durumlarda "gelişimsel"

kelimesini içerecek şekilde genişletilmesi önerilmiştir. Gelişimsel ve epileptik ensefalopatilerde çoğu zaman, bir hastanın klinik bulgularına katkıda bulunan epileptik veya gelişimsel bileşenin hangisinin daha önemli olduğunu saptamak mümkün olmamaktadır (14).

Gelişimsel ve epileptik ensefalopatilerin her biri oldukça nadir olmakla beraber, hepsi toplamda 2000 canlı doğumda bir görülmektedir. Ağır etkilenim nedeniyle, epilepsi hastalık yükünün önemli bir bölümünü oluşturmakta ve hastalar ile ailelerin yaşam kalitelerini bozmaktadır (2, 42).

GEE grubu, birkaç iyi tanımlanmış elektroklinik sendrom içermektedir. Bu sendromlar klinik olarak tanınabilmekte ve yaş bağımlı bir patern göstermektedir. Dravet sendromu bunların en iyi bilineni olup bu grubun prototipini oluşturmaktadır. Diğer elektroklinik sendromların genotip fenotip ilişkisi Dravet sendromundaki kadar net olmamakla beraber bazı genler etiyolojide öne çıkmaktadır fakat birçok GEE bu klinik sendromlar içinde sınıflandırılmamaktadır. Kliniklerdeki bu heterojenitenin nedenlerinden biri; gelişen beynin, etiyolojik faktörlere yaşa bağlı olarak farklı tepkiler vermesi olabilir. Dravet sendromunda olduğu gibi, GEE’li çocukların bir kısmı klinik olarak tanı alıp, tek gen analizine yönelenebilirken, birçoğu spesifik bir klinik göstermemekte, bu nedenle bu hastaların genetik tanısında geniş paneller veya genom çapı dizileme yöntemleri kullanılmaktadır. Bu varyantların birçoğu *de novo* özellik gösterdiğinden anne-baba-çocuk (trio) çalışmak tanısal açıdan daha ideal olmaktadır. Fakat aminoasidopatiler ve yenidoğanın metabolik hastalıkları gibi

otozomal resesif kalıtmılı hastalıkların da GEE'ye neden olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (2).

GEE'de görülebilen major elektroklinik sendromlar şunlardır (2):

2.5.3.1. Dravet sendromu

Dravet sendromu; erken nörolojik gelişimi normal olan çocuklarda, genellikle postnatal 6 aylıkken ateşin eşlik ettiği nöbetlerle başlangıç göstermektedir. Klasik olarak ateşle birlikte hemiklonik nöbetler görülürken ilk nöbet oldukça uzun hatta status şeklinde görülebilmektedir. Nöbetler hayatın ilk yılında epizodik olarak devam edip; ikinci yılda gelişimsel yavaşlama belirgin hale gelebilir ve miyoklonik nöbetler, tonik-klonik nöbetler ve fokal nöbetler gibi diğerk nöbet türleri ortaya çıkabilmektedir. Ateşe duyarlılık devam etmekte ve çoğu hastada nöbetler yaşam boyunca dirençli şekilde devam edebilmektedir. İlk iki yaşta EEG normal çıkabilirken, multifokal anomaliler sonradan görülebilmektedir. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), bazı durumlarda atrofi ve nadiren hipokampal hasar dışında normal olmaktadır. Dravet sendromlu çocukların beşte biri, 20'li yaş dolayında epilepside ani beklenmedik ölüm (Sudden Unexpected Death in Epilepsy - SUDEP) nedeniyle kaybedilmektedir. Entelektüel gerilik genellikle orta-ağır olmakta, hastalar nadiren bağımsız yaşayabilmektedir.

Dravet sendromunun genetik sebebi 2001 yılında *SCN1A* geninde *de novo* patojen varyantların bulunmasıyla keşfedilmiş ve sonraki gözlemlerle bu durum desteklenmiştir. Dravet sendromu kliniği olan hastaların yaklaşık %90'ında patojenik *SCN1A* varyantları saptanmaktadır. Bu varyantların yarısı proteinde

erken sonlanmaya yol açarken kalan yarısı da kırılma (splice) bölgesi veya yanlış anlamlı (missense) varyantlardır. Birkaç hastada *SCN1A* genini içeren geniş delesyonlar bulunmuşken, son zamanlarda tipik Dravet sendromlu hastalarda nonsense aracılı mRNA yıkımı'nı (nonsense mediated mRNA decay - NMD) tetikleyen “zehirli ekzonlar” (poison exons) tanımlanmıştır. *PCDH19*, *GABRA1*, *GABRG2*, *HCN1*, ve *KCNA2* genlerindeki nadir patojen varyantlar da Dravet spektrumu içinde değerlendirilen kliniklere neden olabilmektedir. Yine az sayıda hastada *SCN1B* geninde tanımlanan bialelik mutasyonlar da Dravet sendromunun nadir sebepleri arasında yer almaktadır.

2.5.3.2. Ohtahara sendromu

Ohtahara sendromu yaşamın ilk haftasında başlayan ciddi tonik nöbetler ve EEG’de karakteristik burst supresyon paterni ile tanınmaktadır. Bu sendrom, erken başlangıçlı infantil ensefalopati olarak da bilinmektedir. İnfantlar ağır şekilde etkilenir. Sendromun etiyolojisi heterojen olmakla beraber genetik olarak en sık *STXBP1*, *KCNQ2*, ve *SCN2A* genleri sorumlu tutulmaktadır.

2.5.3.3. Göç eden fokal nöbetlerle beraber infantil epilepsi

Bu epilepsi türünde süt çocukları yaşamın ilk ayında beyinin çeşitli bölgelerinden köken alan ve tek bir nöbette bir noktadan başka bir noktaya yayılan fokal nöbetler geçirir. *KCNT1* ve *SCN2A* bu klinik ile en sık ilişkilendirilmiş genler olmakla beraber vakaların yalnızca küçük bir kısmını açıklayan çok sayıda farklı gen tanımlanmıştır.

2.5.3.4. West sendromu

West sendromu, entelektüel gerilik ve EEG’de hipsaritmi paterni ile karakterize, 3-9 ay arasında infantil spazmlarla kendini gösteren elektroklinik bir sendromdur. Etiyolojisinde hem edinsel hem de genetik olmak üzere birçok sebep bulunabilmektedir. Bu etiyolojik sebeplerden sık görülenlerden biri epileptik sendromlar açısından oldukça çeşitli bulgular gösterebilen Tüberoskleroz kompleksidir. Son zamanlarda *ARX*, *CDKL5*, *SPTAN1* ve *STXBP1* genlerindeki mutasyonlar West sendromu ile ilişkilendirilmiştir.

2.5.3.5. Lennox–Gastaut sendromu

Lennox–Gastaut sendromu, vakaların üçte birinde West sendromu sonrasında gelişebilen ve 2 yaşından sonra ortaya çıkan, nisbeten yaygın ensefalopatilerden biridir. EEG’de yavaş diken dalga deşarjları ile ilişkili tonik ve atonik nöbetlerle karakterizedir. Edinsel lezyonlara da bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Tipik olarak, fokal anomaliler de dâhil, jeneralize ensefalopati olarak kabul edilmiştir. Genetik sebepleri arasında bilinenler *ALG13*, *CACNA1A*, *CDKL5*, *CHD2*, *DNM1*, *GABRB3*, *HNPRNU*, *SCN2A*, *SCN8A*, ve *STXBP1* genleridir.

2.5.4. Kromozomal, Genomik ve Sendromik Bozukluklar

“Nöbet” terimi OMIM veri tabanında yüzlerce gen ile ilişkilendirilmiştir. Bu genlerden, *CREBBP* ve *UBE3A* örneğinde olduğu gibi bazılarındaki patojen varyantlar nöbetlerin fenotipik spektrumun bir parçası olduğu iyi tanımlanmış

multisistemik genetik sendromlarla ilişkilendirilmişken, bazıları da *SCN1A* örneğinde olduğu gibi epilepsinin asıl fenotipi oluşturduğu epileptik ensefalopatiler ile ilişkilendirilmiştir. *TBC1D24* geninin örnek olarak verilebileceği bazı durumlarda ise bir gen için her iki durum da söz konusu olabilmektedir. *TBC1D24* genindeki bazı patojen varyantlar; sağırlık, onikodistrofi, osteodistrofi ve entelektüel yetersizlik ile karakterize genetik bir sendrom olan DOORS Sendromu ile ilişkilendirilmiştir ve nöbetler bu sendromda sık görülmeyen bir özelliktir. Bu gendeki başka patojenik varyantlar ise primer bir epilepsi sendromu olan “Göç eden fokal nöbetlerle beraber infantil epilepsi” fenotipine neden olmaktadır. Genin farklı bölümlerindeki patojenik varyantların bu farklı kliniklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir (2).

Ring Kromozom 20 Sendromu, tipik olarak 10-20 dakika süren (uzamış fokal bozulmuş farkındalık nöbetleri) gündüz sık görülen konfüzyon epizodları ve yüksek voltajlı ritmik yavaş aktiviteden oluşan karakteristik bir iktal EEG paterni görülen, nöbet paterni tek tip olan nadir bir epilepsi ilişkili genetik sendrom olmakla beraber, bir çok genetik sendromda nöbet tipleri kendi içinde farklılık göstermekte ve genotip-fenotip ilişkisi kurmak oldukça zor olmaktadır. Bununla birlikte, epilepsi veya nöbetleri içeren bozukluklara tanısal yaklaşımda, klinik genetikçiler ve epileptologlar arasında bir farklılık da vardır. Epileptolog; nöbet tipleri, EEG paternleri, başlangıç yaşı ve benzerlerinin bir araya gelmesiyle karakterize edilen epilepsi sendromlarını tanımaktadır. Bu sendromlar genellikle genetik kökenlidir ve moleküler temel genellikle heterojen olsa da, tedavi ve prognozu belirlemede ve danışmanlık sunmada önemli bir değere sahiptir. Buna karşılık, klinik genetikçi;

nöbetlerin, genellikle bir genomik bozukluk tarafından desteklenen, çoklu sistem anormalliğinin bir parçası olduğu düşünülen sendromik epilepsileri tanımlayabilir ve burada epileptoloji genellikle oldukça değişkenlik göstermektedir (2).

2.5.5. Febril Nöbetler

Febril nöbetler; 5 yaş altı çocukların yaklaşık %3'ünü etkileyen, çocuklukta en sık görülen nörolojik durumdur. Küçük çocuklarda (tipik olarak 6 ay ile 5 yaş arasında) merkezi sinir sistemi enfeksiyonu ile ilişkili olmayan ateş sebebiyle oluşan nöbetlerle karakterizedir. Febril nöbetler genellikle iyi prognozlu olduğundan ve aileler ile hekimler tarafından epilepsi tanısıyla damgalanmaktan kaçınıldığından epilepsiden (takrarlayan afebril nöbetler) ayrı kabul edilmekteydi. Genetik gelişmeler sayesinde febril nöbetler ve epilepsi arasında yakın ve karmaşık ilişki ortaya konulmuştur (2).

Febril nöbetlerin üçte ikisinde tek bir atak görülürken, üçte birinde nüksler görülebilmektedir (2). Uzun süreli bir çalışmada febril nöbetleri olan çocukların %7'sinin tekrarlayan afebril nöbetler veya epilepsi geliştirdiği saptanmıştır (43).

Bazı çocukluk çağı epilepsi sendromlarında ilk nöbet febril nöbet olabilmektedir. Bu sendromlar, kendini sınırlayan sentrotemporal dikenli epilepsi ve bazı GJE'lerdir. Yeni oluşan epileptik sürecin sağladığı aşırı uyarılmanın, ateş uyarısıyla nöbetle sonuçlandığı varsayılmaktadır. Dravet sendromunda olduğu gibi, bazı epileptik ensefalopatilerde ilk nöbet ateşe bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir (2).

Febril nöbetler artı (febril seizures plus - FS+) gerçek febril nöbetler ve epilepsi arasındaki örtüşmenin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. FS+, 5 yaştan sonra ateşli nöbetlerin devam etmesi veya başka nöbet türlerinin gelişmesi durumudur. FS + 'da nöbetler genellikle erken ergenlik döneminde sona ermektedir. Genetik epilepsi ile birlikte febril nöbetler + (GEFS+)'lı aile bireylerinde hastalar febril nöbetler, FS+ veya FS+ ile birlikte fokal veya jeneralize nöbetler veya nadiren epileptik ensefalopati geliştirebilmektedir (2, 44).

Febril nöbetlerin, monozygotik ikizlerde yüksek konkordansa (0.6) sahip olması ve rekürrens risk oranının 4 olması belirgin bir genetik bileşeni olduğunu göstermektedir (2, 45). Febril nöbetleri olan otozomal dominant kalıtım gösteren ailelerin de olduğu bilinmektedir. Segregasyon analizleri ile, çoğunluğu kompleks ve poligenik etiyoloji ile birlikte bazıları da otozomal dominant kalıtımı düşündüren kalıtım modelleri önerilmektedir (2).

GEFS + için, birçok otozomal dominant aile tanımlanmış ve bunların yaklaşık % 30'unda sorumlu bir gen bulunurken, bazı GEFS+ pedigrilerin kompleks kalıtımla daha uyumlu olduğu saptanmıştır. GEFS+'lı ailelerde tanımlanan genlerden bazıları *SCN1A*, *SCN1B*, *GABRG2* ve *STX1B*'dir. Bu genleri taşıyan aileler hafif uçta febril nöbetler, ağır uçta Dravet sendromu gibi çeşitli heterojen klinikler gösterebilmektedir ve bu durum prognostik danışmanlık zorluklarına sebep olmaktadır (2).

2.6. Epilepsinin Genetik Etiyolojisini Aydınlatmada Kullanılan Tanısal Yöntemler

Nöbetlerin temel tanısı sıklıkla klinik öykü ile konulabilmektedir. Epilepsi tipini, epilepsi sendromunu ve fokal nöbetlerin başlangıç yerini belirlemek için genellikle EEG, görüntüleme ve laboratuvar çalışmaları gerekmele birlikte, hastanın ataklarının nöbet olup olmadığı temel sorusunun cevabı genellikle dikkatli bir klinik öykü ile konulabilmektedir (46).

Epilepsi vakalarının klinik özellikleri belirli genetik etiyolojiyi düşündürerek genetik test stratejisini belirleyebilmektedir. Ancak birçok vakada klinik özellikler tek bir geni veya bir gen setini sınırlandıracak ipuçları vermemektedir (47). Bu gibi vakalarda öncelikli olarak kromozomal mikroarray (CMA), kliniği açıklayabilecek bir patoloji saptanmaması halinde de epilepsi paneli ve tüm egzom dizileme (WES) gibi yeni nesil dizileme yöntemleri basamaklı olarak kullanılabilmektedir. Bu üç tetkik içinde CMA'nın epilepsi genetiğinde tanısal verimi %6-%12 ile en düşük iken epilepsi panellerinde bu oran %18-29 ve WES'de ise %33-57 aralığındadır (5). Ek olarak tüm genom dizileme (WGS) gibi genom boyu dizileme yöntemleri araştırma amacının yanı sıra epilepsi gibi yüksek genetik heterojenite gösteren hastalıkların genetik tanısında yavaş yavaş rutin kullanıma girmeye başlamaktadır.

2.7. Epilepside Genetik Tanının Hasta Yönetimine Katkısı

Epilepsinin genetik tanısının konması hastaya ve ailelere; prognoz, rekürrens riski, olası tedavi seçenekleri gibi danışmanlık bilgileri sunulmasını sağlayacaktır.

Genetik test, bir kişinin epilepsisinin nedenini belirlemeye yardımcı olabilmekte, doğru bir tanı ile birlikte mümkün olan en uygun tedavi seçeneğine ulaşmayı sağlayabilmektedir. Bazı durumlarda, belirli ilaçlar ile genetik epilepsi bozuklukları arasında bilinen bağlantılar olduğundan, genetik bir teşhis, antiepileptik ilaçların seçimine rehberlik edebilmektedir. Örneğin, bazı ilaçların genetik tanıli kişilerde nöbetleri kontrol etmede daha etkili olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Ayrıca bazı ilaçların iyi sonuç vermeyebileceğine veya diğer genetik epilepsi türlerine sahip kişilerde olumsuz yan etkilere neden olabileceğine dair kanıtlar da mevcuttur (48).

Bazı durumlarda, genetik tanı, uzun vadeli sonuçlar hakkında bilgi edinmeye de yardımcı olabilmektedir. Örneğin, bazı genetik epilepsiler için nöbetlerin belirli bir yaşta durması beklenebilir, bu da doktorunun antiepileptik ilaçları durdurmanın güvenli olduğuna karar verebileceği anlamına gelmektedir. Genetik testlerin sonuçları, aile üyelerini kendi epilepsi risklerinin yanı sıra epilepsili çocuk sahibi olma olasılıkları konusunda da daha iyi bilgilendirmeye yardımcı olabilmektedir. Genetik tanı, tanıya özgü araştırma çalışmalarına katılmaya da yardımcı olabilmektedir. Teşhis almak, bir bireyin veya ailenin genellikle "teşhis macerası" olarak adlandırılan cevap arayışına son vermesine yardımcı olabilmektedir (48).

Epilepsinin farmakolojik tedavisinde geleneksel yaklaşım, nöbet etiyojisindeki biyolojik süreç hakkındaki sınırlı bilgiyi göz önünde de bulundurarak işe yarayan bir ilaç bulunana kadar mevcut antiepileptiklerin kanıta dayalı şekilde kullanımı olmuştur. Fakat geçtiğimiz yıllarda yeni antiepileptikler piyasaya sürülmesine karşın direçli epilepsi vakalarının oranı azalmamıştır (49). Bu antiepileptik ilaçların geliştirilmesine yönelik yeni bir yaklaşımın gerekliliğini göstermektedir. Epilepsinin genetik etiyojisinin ve ardından nöbetlerin patogenezinin belirlenmesi altta yatan mekanizmaya yönelik hedefli bir tedavi seçeneği sunabilmektedir. Bazı genetik epilepsilerin günümüzdeki hedefli farmakolojik tedavisi Tablo 1’de yer almaktadır (50).

Bu retrospektif arşiv çalışmasında; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda 2017-2020 yılları arasında WES analizi yapılmış epilepsili veya nöbetsiz EEG anomalili hastaların alt fenotiplere göre tanı alma oranları, patojen varyant saptanan genlerin yeni literatür verileriyle karşılaştırılması, genotip-fenotip ilişkisi ve fenotipik çeşitliliğin araştırılması, yeni (novel) mutasyonu bulunan hastaların fenotiplerinin ayrıntılı olarak tarif edilmesi, “klinik önemi belirsiz” olarak değerlendirilen varyantların güncel literatür bilgisi ile yeniden yorumlanması ve genetik tanının hasta yönetimine katkısının tartışılması amaçlanmıştır.

Tablo 1. Genetik epilepsilerin hedefli farmakolojik tedavileri

	Hastalık/OMIM numarası	Gen/genler	Tedavi
Rutin tedaviler	Pridoksin bağımlı epilepsi (# 266100, # 617290)	<i>ALDH7A1, PROSC</i>	Pridoksin (Vitamin B6)
	Unverricht-Lundborg hastalığı (# 254800)	<i>CSTB</i>	Sodyum kanal blokörlerinden kaçınma, GABAerjik ajanlar
	<i>POLG</i> ilişkili epilepsi (# 203700)	<i>POLG</i>	Valproat'dan kaçınma
	Pridoksal 5'-fosfat bağımlı epilepsi (# 610090)	<i>PNPO</i>	Pridoksal 5'-fosfat
	Dravet sendromu, <i>SCN1A</i> ilişkili epilepsi (# 607208, # 604403)	<i>SCN1A</i>	Sodyum kanal blokörlerinden kaçınma
	<i>SCN2A</i> ilişkili epilepsi (# 613721)	<i>SCN2A</i>	Fenitoin
	<i>SCN8A</i> ilişkili epilepsi (# 614558)	<i>SCN8A</i>	Fenitoin
	GLUT1 eksikliği (#606777, # 612126)	<i>SLC2A1</i>	Ketojenik diyet
Uygulanabilir tedaviler	<i>GRIN2A</i> ilişkili epilepsi (# 245570)	<i>GRIN2A</i>	Memantin
	<i>KCNQ2</i> ilişkili epilepsi (# 613720, # 121200)	<i>KCNQ2</i>	Retigabin (ezogabin)
	<i>KCNT1</i> ilişkili epilepsi (# 614959, # 615005)	<i>KCNT1</i>	Kinidin

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Bilgileri

3.1.1 Hasta Seçimi

Çalışmanın hasta evrenini; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalının 2017-2020 yılları arası WES analizi sonuçlarını kapsayan arşivindeki hastaların bir bölümü oluşturmaktadır. Tüm arşivin içinden; ILAE'nin 2017 yılında revize ettiği epilepsi kriterlerine göre epilepsi tanısı alan hastalar ve entelektüel yetersizlik ile birlikte nöbetsiz EEG anomalisi bulunan hastalar seçilmiştir. Hastaların tamamı genetik test planından önce dismorfik muayene ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda spesifik bir ön tanıya gidilebilen hastalar için sorumlu mekanizmaya yönelik genetik inceleme uygulanmıştır. Ön tanıda yer alan hastalıkların genetik heterojenite göstermesi, ayırıcı tanıya giren hastalıkların bulunması veya dual fenotip düşünülmesi durumlarında hastalara WES analizi uygulanmıştır. Epilepsi ve/veya entelektüel yetersizlik endikasyonu ile başvuran bütün hastalar WES analizine tabi tutulmadan önce array CGH ile değerlendirilmiş olup, array analizinde klinikle uyumlu patojen veya olası patojen kopya sayısı değişikliği saptanmayan hastalara ileri moleküler inceleme amacıyla WES analizi yapılmıştır. Bu grup içinden de, **başvurusu 0-18 yaş aralığında olan hastalar filtrelenerek araştırmanın hasta grubu oluşturulmuştur**. Filtreleme sonucu oluşan hasta grubu 41'i 2017-2018 yıllarında, 61'i 2019 yılında olmak üzere toplam 102 hastadan oluşmaktadır.

3.1.2. Hastalara Ait Klinik Verilerin Eldesi ve İşlenmesi

Hastalara ait klinik veriler Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda arşivlenmiş olan muayene ve dosya bilgileri taranarak elde edilmiştir.

2017-2020 yılları arasında WES analizi yapılan tüm hastaların dosya bilgileri **EK-2**'de yer alan veri toplama formundaki bilgileri içerecek şekilde taranarak epilepsi ve/veya EEG anomalisi gösteren tüm hastalar **Microsoft Excell 2016** yazılımında satırlar halinde sıralanmıştır. Klinik verilerin analizi aşağıda tarif edilen yöntemle yapılmıştır;

- Hastalara WES laboratuvar çalışması başlangıç sırasına göre kodlar verilmiş,
- Çalışmaya dahil edilen hastaların dosya bilgileri taranarak bulgular, etkilenen sistemler alt başlığı altında özetlenmiş,
- Hastaların moleküler bulguları ve ACMG 2015 kriterlerine göre patojenite yorumları (51),
- Sekonder moleküler bulgular,
- Ebeveyn akrabalık durumu,
- Ebeveyn genotipi,
- Etkilenen başka aile bireyi varlığı ve varsa genotipi,
- Hastaların beyin MRG (nörogörüntüleme) ve EEG bulguları,
- Varsa diğer görüntüleme bulguları,

Microsoft excell tablosuna sütunlar halinde işlenmiştir.

Hastalar ilk olarak epilepsili veya nöbetsiz EEG anomalisinin eşlik ettiği entelektüel yetersizlik olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Epilepsi grubundaki hastalar **etkilenen iki veya üzeri nörolojik harici sistem varlığına göre** “primer epilepsi” veya “çoklu sistem bulgulu (multisitemik)” şeklinde ikiye ayrılmıştır. Primer epilepsi grubundaki hastalar da **epilepsi türü ve gelişme geriliği eşlik edip etmemesine göre** “jeneralize”, “fokal” veya “gelişme geriliği ve epilepsi” şeklinde ayrı ayrı alt gruplara ayrılmış ve moleküler bulgular açısından yorumlanmıştır. Baş-boyun dismorfik bulguları ile büyüme bulguları (boy kısalığı, aşırı büyüme vb.) da sistemik bulgular içinde değerlendirilmiştir. Klinodaktili, sandal gap gibi minör ekstremitte bulguları ise iskelet sistemi bulgusu dışında tutulmuştur. Hastalara ait WES raporlarındaki VUS varyantların tez çalışması kapsamında özel anlamı olanların haricindekiler yüksek veri miktarı sebebiyle paylaşılmamıştır.

Hastaların ilk başvurularında ailelerden, hastara ait verilerin kimlik bilgileri saklı olmak koşuluyla eğitim/araştırma amaçlı kullanılabileceğine dair yazılı bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’na 22.05.2020 tarih ve 349 sayılı kararınca onaylanmıştır (EK-1).

3.2. Moleküler Genetik Tetkikler ve Verilerin Analizi

WES laboratuvar çalışması için kullanılan DNA’nın izolasyonu, WES laboratuvar çalışması ve WES verilerinin analiz yöntemi EK-3 ve EK-4’de yer almaktadır.

4. BULGULAR

4.1. Genel Hasta Bilgileri

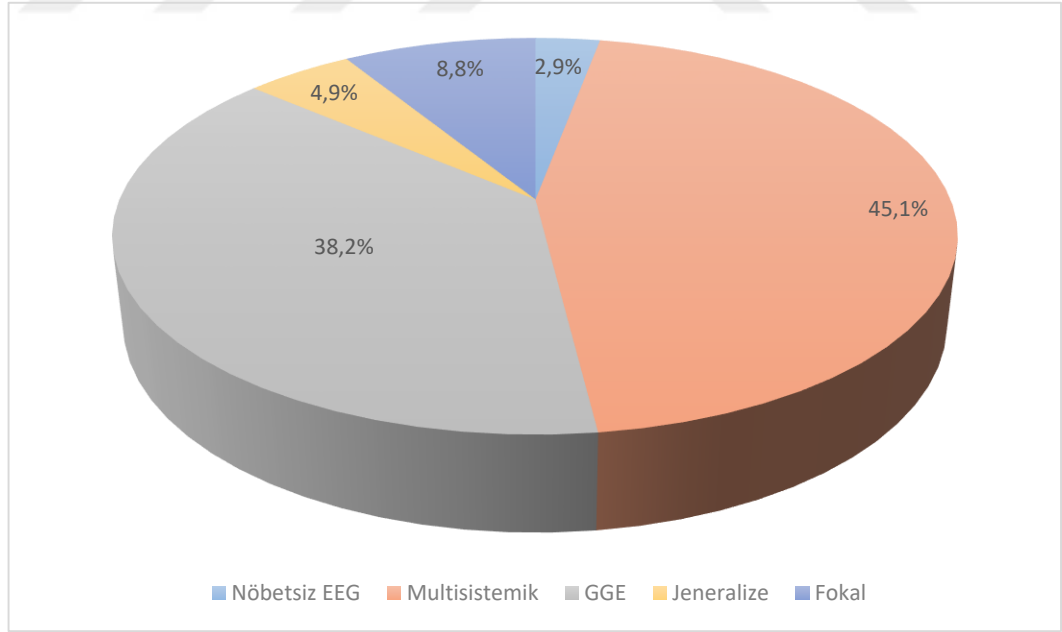
Çalışmanın evrenini oluşturan toplam 102 hastanın Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalına ilk başvuru yaş ortalaması en küçüğü sıfır günlük ve en büyüğü 17 yıl 9 aylık olmak üzere yaklaşık 6 yıldır (71 ay). Hastaların 51'i erkek, 51'i kadındır. Hastaların 38'inin ebeveynleri arasında bilinen bir akrabalık varken bir hastanın ebeveynlerinin akraba olup olmadığı bilinmemekte, kalan 63 hastanın ise ebeveynleri arasında bilinen bir akrabalık bulunmamaktadır. Hastalardan 28'inin benzer şekilde etkilenmiş en az bir akraba öyküsü bulunmaktadır. Hastalara ait klinik bilgiler Tablo 2'de özetlenmiştir.

4.2. Hastaların Fenotipik Olarak Gruplandırılması

Araştırma sonucunda 3 hasta nöbetsiz EEG anomalisinin eşlik ettiği entelektüel yetersizlik, kalan 99 hasta epilepsili olarak saptanmıştır. Çalışmadaki epilepsili hastalar 3 veya üzeri sistem bulgusu olup olmamasına göre gruplandırılmış ve gruplandırma sonucunda 46 hasta multisistemik, 53 hasta primer epilepsi olarak değerlendirilmiştir.

Multisistemik grubunda yer alan 46 hastanın 39'unun nörogörüntülemesi mevcut olup 19'unda yapısal beyin anomali olduğu gözlenmekle beraber kalan 7'sine nörogörüntüleme uygulanmamış veya görüntülemeler ulaşılabilir olmamıştır (ince korpus kallozum, araknoid kist ve pineal kist bulguları değerlendirme dışı tutulmuştur).

Primer epilepsi grubundaki 53 hasta, epilepsi türü ve eşlik eden gelişimsel gerilik, duraklama veya gerileme gibi bulguların olup olmamasına göre gelişme geriliği ve epilepsi (GGE), jeneralize epilepsi, fokal epilepsi veya sınıflandırılmayan olmak üzere 4 alt grup açısından incelenmiştir. İnceleme sonucu 39 hasta GGE, 5 hasta jeneralize epilepsi ve 9 hasta fokal epilepsi olarak değerlendirilmiştir. Otuz dokuz GGE hastasının 35'inin nörogörüntülemesi tetkiki ulaşılabilir olup 15'inde yapısal beyin anomalisi olduğu gözlenmiştir. GGE dışı primer epilepsi hastalarının 5'inin beyin görüntülemeleri mevcut olup bunlardan ikisinde anomali saptanmıştır. Fenotipik alt gruplarda yer alan hasta oranları Şekil 2'de üç boyutlu pasta grafiği halinde sunulmuştur.



Şekil 2. Fenotipik alt gruplarda yer alan hasta oranları

Tablo 2. Hastalara ait özet klinik bilgiler

Hasta	Yaş/Cinsiyet	Klinik ve dismorfik bulguları	Grup	EEG	Nörogörüntüleme
P1	20 ay/E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, spastisite, büyüme geriliği, mikrobrakisefali, mikroftalmi, mikrokornea, eklem kontraktürleri, mikropenis, kriptorşidizm	Multisistemik	Fokal	Serebral atrofi, ince CC, optik sinirde incelme
P2	8 ay/K	Hipotoni, entelektüel yetersizlik, boy kısalığı, skolyoz	Multisistemik	Multifokal	Myelinizasyon gecikmesi, serebral atrofi, serebellar atrofi, beyin sapında atrofi
P3	7 yaş/K	Hipotoni, entelektüel yetersizlik, epilepsi, mikrosefali, klinodaktili, GKD, unilateral ekinovarus deformitesi, lenfödem,	Multisistemik	Normal	İnce CC
P4	8 yaş/E	Epilepsi, Otoimmün ensefalit	Primer (fokal)	Normal	Heat stroke ile uyumlu
P5	3.5 yaş/K	Hipotoni, entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, konuşma gecikmesi, ateşe duyarlı nöbetler	Primer (GGE)	Normal	Serebral atrofi

P6	1.5 yaş/E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, afebril nöbetler, makrozomi, mikrosefali, derin filtrum, ince üst dudak, retrognati, prominent kulaklar, bilateral ekinovarus, gövde ve kollarda hipopigmente yamalar, yutma bozukluğu	Multisistemik	M/U	Serebral atrofi
P7	7.5 ay/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, makrozomi, mikrosefali, turribrakisefali, derin filtrum, ince üst dudak, sivri çene, overfolded heliks, trifalangeal başparmak, 5.el parmak tırnak hipoplazisi, umbilikal herni, HUN, sık ÜSYE öyküsü	Multisistemik	Şüpheli fokal	Normal
P8	3.5 ay/ E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, boy kısalığı, mikrosefali, seyrek kaşlar, ödematöz göz kapağı, hipertelorizm, gaga burun, anteverte burun delikleri, ince dudaklar, kubbe damak, belirgin çene, belirgin antiheliks, sol elde 3-4 sindaktili, geniş el başparmakları kriptorşidizm	Multisistemik	Normal	Normal
P9	7.5 yaş/ E	Hafif entelektüel yetersizlik, epilepsi, duygudurum değişiklikleri, obezite, rod-kon distrofisi, görme kaybı	Multisistemik	Miyoklonik karakterde jeneralize	Normal
P10	11.5 yaş/E	Motor gerilik, hafif mental gerilik, konuşma gecikmesi, DEHB, epilepsi, boy kısalığı, makrosefali, ptozis, dar palpebral aralık, karışık dişler	Multisistemik	Normal	M/U
P11	4 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, otizm, epilepsi, konuşma yokluğu, belirgin alın, upslanted palpebral fissürler, yüksek dereceli miyopi, klinodaktili	Multisistemik	M/U	CC hipogenezi, periventriküler nonspesifik T2 hiperintensitesi

P12	0 gün/E	Hipotoni, epilepsi, blefarofimozis, hipertelorizm, ankiloglossi, sol el 3-4 skutanöz sindaktili, üst üste binen ayak parmakları	Primer (GGE)	Fokal	Normal
P13	12.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, epilepsi, mikrosefali,	Primer (fokal)	Fokal başlangıçlı jeneralize	M/U
P14	5.5 yaş/K	Motor gerilik, konuşma gecikmesi, mikrosefali, strabismus	Primer (GGE)	Serebral disfonksiyon, epileptiform anomali	Triventriküler hidrocefali, pakigiri?
P15	7 yaş/E	Ağır entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, büyüme geriliği, dar alın, hipotelorizm, sağ ezotropeya, makroti, düşük ense saç çizgisi, konstipasyon, osteopeni	Multisistemik	Lennox-Gestaut sendromu ile uyumlu	Beyin sapı hipoplazi, kısmi atrofi
P16	6 yaş/E	Atipik otizm, konuşma gecikmesi, epilepsi, uzun yapı, rölatif mikrosefali, kaşlar düz ve medialden dik çıkışlı, kısa dişler, diastema, , anteverte heliks, GÖR, sık ÜSYE, eklem laksitesi	Multisistemik	M/U	CC spleniumunda hipoplazi
P17	13.5 yaş/E	Motor gerilik, orta derecede entelektüel yetersizlik, epilepsi, mikrosefali, görme kaybı, opere PDA	Primer (GGE)	Normal	Temporalde heterotopi, kolposefali, bazal gangliyalarda atrofi, serebellar atrofi

P18	14.5 yaş/E	Entelektüel yetersizlik, epilepsi, yay şeklinde lateralde seyrek kaşlar, yüksek burun köprüsü, kolumella ala nazilerin altında, uzun filtrum, ince üst dudak, yüksek damak, hafif kamptodaktili, belirgin fingerpads, geniş ayak başparmakları, skolyoz	Multisistemik	Sol hemisfer frontotemporoparietal başlangıslı fokal	Normal
P19	1.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, mikrosefali, amarozis, dirençli epilepsi, SGA doğum, hirsutism, bitemporal darlık, sinofris, uzun kirpikler, uzun filtrum, mikrognati	Multisistemik	Hipsaritmi	Serebral atrofi, ince CC, paryetal serebral beyaz cevher hacminde azalma
P20	2.5 yaş/E	Hipotoni, entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, self mutilasyon, okülökutanöz albinizm, hipermetropi, astigmatizm, retinal atrofi, inguinal herni	Multisistemik	Aktif fokal bulgulu jeneralize	Frontotemporal atrofi
P21	3.5 yaş/K	Epilepsi, ince motor gerilik	Primer (fokal)	Fokal	M/U
P22	8.5 ay/K	Gelişme geriliği, epilepsi, postnatal progresif mikrosefali, belirgin metopik çıkıntı, epikantus, telekantus, basık burun kökü	Primer (GGE)	Multifokal	M/U
P23	8.5 ay/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, mikrosefali, işitme kaybı, laringomalazi,	Primer (GGE)	Hipsaritmi	Ventriküller geniş, beyaz cevher hacmi az

P24	4 ay/K	Hipotoni, entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, dirençli epilepsi, uyku bozukluğu, bacaklarda istemsiz hareketler, uzun kirpikler, epikantus, uzun filtrum, ince üst dudak, ağız köşeleri aşağı dönük, mikrognați, prominent kulaklar	Primer (GGE)	Hemisfer asimetrisi, serebral disfonksiyon	Normal
P25	9 yaş/ E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, derin yerleşimli gözler, düşük ense saç çizgisi	Primer (GGE)	Aktif epileptiform anomali	Diffüz serebellar kortikal atrofi, pontin hipoplazi-atrofi, yaygın kortikal gelişimsel anomali
P26	7.5 yaş/ E	Motor gerilik, konuşma gecikmesi, epilepsi, biküspit aorta	Primer (GGE)	M/U	M/U
P27	20 ay/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, SGA doğum, mikrosefali, hidrosefali, görme kaybı,	Primer (GGE)	Yüksek amplitüdlü keskin yavaş dalga aktivitesi	Serebellar ve beyin sapı hipoplazi, serebral atrofi
P28	11 ay/E	Gelişimsel regresyon, epilepsi, mikrosefali	Primer (GGE)	Fokal interiktal ve iktal	Canavan hastalığı ile uyumlu
P29	4 yaş/ E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, SNİK, polinöropati, mikrobrakisefali, dar alın, kısa filtrum, el bileklerinde kontraktürler, inguinal herni, hipotiroidi	Multisistemik	Jeneralize	Normal

P30	4.5 yaş/ E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, spastisite, mikrosefali, üçgen yüz, yay şeklinde kaşlar, epikantus, uplift lobül	Multisistemik	Epileptik aktivite (hipsaritmiden çıkış veya hipsaritmiye giriş olabilir)	Hipomyelinizasyonla giden nörodejeneratif hastalık düşündürmüştür (Pelizaeus-Merzbacher?)
P31	3.5 yaş/ E	Otistik bulgular, epilepsi, konuşma gecikmesi, konstipasyon	Primer (fokal)	Sentrotemporal bölge kaynaklı Fokal	M/U
P32	6 yaş/ K	SNİK, epilepsi, konuşma regresyonu, obezite	Primer (GGE)	Fokal	Normal
P33	5.5 ay/E	Hipotoni, epilepsi, mikrosefali	Primer (GGE)	Multifokal	Serebral ve serebellar atrofi, ince CC
P34	9.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, boy kısalığı, upslanted palpebral fissürler, burun köprüsü yüksek, kolumella ala nazilerin altındageriye düşük kulaklar, belirgin parmak pedleri	Multisistemik	Fotosensitif jeneralize	Normal
P35	16.5 yaş/E	Gelişimsel regresyon, epilepsi, görme kaybı,	Primer (GGE)	Fokal	NCL'yi destekleyen bulgular
P36	3 yaş/K	Motor gerilik, konuşma gecikmesi, ateşe duyarlı nöbetler	Primer (GGE)	Fokal	Normal

P37	10 yaş/E	Sınırdaki entelektüel kapasite, epilepsi, bilateral orta derece İTİK, boy kısalığı, alopesi universalis, strabismus, antevert nares, silik filtrum, makrostomi, prominent kulaklar, displastik kulaklar, pektus ekskavatum, tırnaklarda pitting	Multisistemik	Fokal	Hipokampus ve mezial temporal lobda atrofi
P38	6 ay/K	Gelişimsel regresyon, epilepsi, boy kısalığı, mikrosefali, karniyosinostoz, sinofris, dar kubbe damak, prominent kulaklar, konstipasyon	Multisistemik	Fokal	M/U
P39	5.5 yaş/K	Epilepsi	Primer (fokal)	Fokal	Periventriküler ve kaudat nükleus ve putamende kalsifikasyon
P40	9 yaş /E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, skolyoz, pes valgus	Primer (GGE)	Normal	Normal
P41	8.5 yaş/ K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, mikrosefali, işitme kaybı, yay şeklinde kaşlar, uzun kirpikler, downslanted palpebral fissüreler, yutma güçlüğü, kabızlık	Multisistemik	Fokal	Serebellar hipoplazi
P42	3.5 yaş/E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, büyüme geriliği, ptozis, ödematöz göz kapakları, miyopi, geniş burun tabanı, sivri çene, düşük kulaklar, inguinal herni, GÖR	Multisistemik	Fokal (ESES ile uyumlu)	Optik sinir, serebral ve serebellar atrofi, pontin hipoplazi, CC hipoplazi

P43	11 yaş/ E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, obezite, brakisefali, widow's peak, sinofris, derin yerleşimli orbita, kalın kaşlar, upslanted palpebral fissürler, kolumella ala nazilerin altında, üst dudak ince, fuziform parmaklar, sandal gap, VUR	Multisistemik	Fokal başlangıçlı jeneralize	Normal
P44	21.5 ay/E	Epileptik ensefalopati	Primer (GGE)	Jeneralize	Normal
P45	4 yaş/E	Epilepsi	Primer (jeneralize)	Jeneralize keskin-yavaş dalga	M/U
P46	1 ay/E	Gelişme geriliği, epilepsi	Primer (GGE)	hipsaritmi	Normal
P47	4 yaş/E	Hipotoni, epilepsi, mikrosefali, belirgin metopik çıkıntı, dar alın, yay şeklinde kaşlar, uzun kirpikler, yüksek burun kökü	Primer (GGE)	Sekonder jeneralize multiFokal	Frontalde lizensefali, agiri ve polimikrogiri ile uyumlu nöronal migrasyon anomalileri
P48	13 yaş/E	Hafif entelektüel yetersizlik, motor gecikme, epilepsi, konuşma gecikmesi, geniş yataklı, seyrek ve medialde dik çıkışlı kaşlar, upslanted palpebral fissürler, geniş burun köprüsü, kolumella ala nasilerin aşağısında, ince üst dudak, bilateral inverted nipple, artmış lomber lordoz, sandal gap, GÖR	Multisistemik	Jeneralize	Normal

P49	19 ay/ E	Mental ve motor retardasyon, epilepsi, mikrosefali, görme kaybı, miyopi, epikantus, derin yerleşimli gözler, dolgun dudaklar, üst dudak M şeklinde, fuziform parmaklar	Multisistemik	M/U	Polimikrogiri, serebellum ve beyin sapında atrofi
P51	3.5 yaş/ K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, konuşma gecikmesi, orta yüz hipoplazisi, derin yerleşimli gözler, burun kökü basık, kısa filtrum, irregüler yerleşimli dişler, rikets	Multisistemik	Hızlı dalga yavaş diken	Normal
P52	8 yaş/E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, spastisite, kontraktürler, proptozis, sinofris, nistagmus, katarakt, yaygın çürükler, postaksiyel polidaktili	Multisistemik	Hipsaritmi	Serebral atrofi, serebellum hipoplazisi
P53	7 yaş/ E	Entelektüel yetersizlik, epilepsi, fetal makrozomi, aşırı büyüme, dar alın, ince üst dudak, yüksek damak, sivri çene, prominent kulaklar	Multisistemik	Fokal	Normal
P54	7 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, epilepsi, fetal makrozomi, sinofris, sivri çene, yüksek damak, geriye düşük kulaklar, klinodaktili, pes planus, pectus ekskavatum, PDA, ASD	Multisistemik	Fokal	Normal
P55	15.5 yaş/K	Epilepsi, uyku bozukluğu, düz kaşlar, burun kanatları hipoplastik, dar kolumella, dolgun dudaklar, vücutta yaygın lentijinöz lezyonlar, cafe au lait lekeleri	Multisistemik	NFLE ile uyumlu	Normal
P56	8 yaş/K	Hafif entelektüel yetersizlik, epilepsi	Primer (GGE)	Miyoklonik karakterli jeneralize	Normal

P57	8 yaş/E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, konuşma gecikmesi, kalın kaşlar, sinofris, uzun kripikler, kısa filtrum, prominent kulaklar, sol kulakta katlantı, prognatizm, pes planus	Primer (GGE)	Fokal	M/U
P58	4.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, epilepsi, mikrobrakisefali, ince üst dudak, prognati	Primer (GGE)	Fokal	Normal
P59	17.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gecikme, epilepsi, katatoni, tikler, uyku bozukluğu, mikrosefali, alt dudak kalın ve evert, trident posterior saç çizgisi	Multisistemik	Normal	Normal
P60	15.5 yaş/E	Dirençli epilepsi, otizm	Primer (fokal)	Multifokal	M/U
P61	12.5 yaş/E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, konuşma yokluğu, boy kısalığı, mikrosefali, sinofris, yay şeklinde kaşlar, kaş yatağı geniş medialde dik çıkışlı, hipertelorizm, burun kökü belirgin, kısa filtrum, hipoplastik kulak lobülleri, trident posterior saç çizgisi, aksesuar meme başı, umblikal herni, pes planus	Multisistemik	Normal	M/U
P62	17.5 yaş/K	Epilepsi	Primer (fokal)	Fokal	M/U
P63	7.5 yaş/E	Ağır entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, mikrosefali, bitemporal darlık, uzun kirpikler, kısa karga burun, hirsutizm, laks el bilek ve dirsek eklemleri	Multisistemik	Epileptik aktivite ile uyumlu EEG (ESES)	PVL, serebellar hipoplazi

P64	2.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, gelişimsel regresyon, koreatoik hareketler, epilepsi, büyüme geriliği, mikrobrakisefali, derin yerleşimli gözler, yüksek damak, drooling	Multisistemik	Sentrottemporal fokal epileptik bozukluk	Posterior fossa elemanlarında atrofiye sekonder bulgular
P65	15 ay/ K	Hipotoni, motor gerilik, epilepsi, SNİK, hipermetropi, strabismus, GÖR	Multisistemik	M/U	3. ventrikül geniş, lateral ventriküllerde asimetri
P66	4 yaş/E	Konuşma geriliği, dirençli epilepsi, mikrosefali	Primer (GGE)	M/U	Normal
P67	6.5 yaş/K	Nörogelişimsel gerilik ve regresyon, epilepsi, SGA doğum, mikrosefali, büyüme geriliği	Primer (GGE)	M/U	İnce CC, NCL telkin eden bulgular
P69	8 yaş/E	Gelişme geriliği, hiperaktivite bozukluğu, epilepsi, makrosefali, kriptorşidizm, inguinal herni, kolonik anslar karın ve diafram arasında yer değiştirmiş (Chilaiditis Sendromu), belirgin alın, frontal upsweep, hipertelorizm, downslanted palpebral fissürler, belirgin burun, irregüler yerleşimli dişler, kısa boyun	Multisistemik	Normal	Araknoid kist
P70	8 ay/E	Epilepsi, belirgin alın, hipertelorizm, upslanted palpebral fissürler, dolgun yanaklar, derin filtrum, mikrognați, çenede transvers çizgi, uplift kulak lobülü	Primer (fokal)	Şüpheli Fokal anomali	M/U

P71	6 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, spastisite, epilepsi, mikrobrakisefali, nistagmus, uzun kirpikler, açık ağız, kubbe damak, diş eti hipertrofisi, overlapping toes	Primer (GGE)	Fokal	Ekstraserebral subaraknoid mesafede belirginleşme, 3 ve her iki lateral ventrikülde dilatasyon
P72	5 yaş/K	Epilepsi, spastisite, sterotipi, mikrosefali	Primer (GGE)	Keskin diken dalgalar	Diffüz hipomyelinizasyon ve ince CC
P73	12 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, spastisite, epilepsi, dil gelişim bozukluğu, boy kısalığı, obezite, konstipasyon	Multisistemik	Diken dalga aktiviteleri	PVL, CC ince, miyelinizasyon gecikmesi
P74	4 yaş/K	Konuşma geriliği, epilepsi, mikrosefali, trigonosefali, metopik ve sagittal sinostoz, seyrek kaşlar, ödematöz göz kapakları, geniş burun tabanı, büyük ağız, dişlerde yaygın çürükler, ayrık meme başları	Multisistemik	Fokal	Normal
P75	8 yaş/K	Hafif entelektüel yetersizlik, epilepsi, boy kısalığı	Primer (GGE)	Sekonder jeneralize fokal	Empty sella
P76	13.5 yaş/K	Hafif entelektüel yetersizlik, epilepsi, prenatal başlangıçlı aşırı büyüme, üçgen yüz, geniş alın, belirgin burun kemeri, üstte premolar eksik, belirgin çene, büyük el ve ayaklar, distal eklem laksitesi, skolyoz, ASD	Multisistemik	Serebral disfonksiyon	Normal

P77	9 yaş/ E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, hareket bozukluğu, mikrosefali, büyüme geriliği	Primer (GGE)	Fokal	Araknoid kist
P78	6. 5 yaş/E	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, konuşma gecikmesi, ateşe duyarlı nöbetler, otizm, prenatal başlangıçlı mikrosefali, SGA doğum	Primer (GGE)	Miyoklonik jeneralize	Normal
P79	9.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, boy kısalığı, obezite, belirgin supraorbital çıkıntı, hipertelorizm, badem şeklinde gözler, upslanted palpebral fissürler, ezotropi, geniş burun kemeri, maksiller hipoplazi, üst dudak M şeklinde, uplift kulak lobülü	Multisistemik	M/U	Normal
P80	19 ay/K	Motor gecikme, epilepsi, brakisefali, uzun kirpikler, strabismus, klinodaktili, nefrolitiazis,	Multisistemik	M/U	Normal
P81	484 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, dirençli epilepsi, obezite, bitemporal darlık, dolgun yanaklar, kalın kulak lobülleri, kısa boyun, işitme kaybı,	Multisistemik	Burst supresyon, modifiye hipsiaritmi	Yaygın serebral atrofi
P82	5 ay/K	Epilepsi, sol göz kapağı altında hemanjioma, ensede hemanjioma, ağız çevresinde egzama, sağ temporoparyetalde 2x2 cm boyutlarında egzofitik benekli lezyon	Primer (GGE)	M/U	Normal
P83	10.5 yaş/E	Epilepsi	Primer (fokal)	Fokal	Sol frontal fokal kortikal displazi

P84	4.5 yaş/E	Gelişimsel regresyon, epilepsi	Primer (GGE)	Fokal	Normal
P85	3 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, otistik davranışlar, epilepsi, konuşma gecikmesi, strabismus, brakisefali, düz oksiput, glabellada ve ensede düzensiz sınırlı hemanjiom, sinofris, silik filtrum, ince üst dudak, yüksek damak, çenede transvers çizgi, pektus ekskavatum, kabızlık	Multisistemik	M/U	M/U
P86	13.5 yaş/E	Epilepsi, ince vücut yapısı, uzun yüz, kalın kaşlar, sinofris, yüksek burun köprüsü, prominent geriye düşük kulaklar, inguinal herni, diyafam hernisi	Multisistemik	M/U	M/U
P87	14 gün/E	Epilepsi	Primer (GGE)	Serebral dismatürite	Normal
P89	3 yaş/E	Motor gerilik, epilepsi, konuşma gecikmesi, upslanted palpebral fissürler, diastema, prominent kulaklar	Primer (GGE)	Jeneralize	Serebellum hipoplazisi
P90	11.5 yaş/E	Epilepsi, ataksi, konuşma gecikmesi	Primer (jeneralize)	Jeneralize epileptik bozukluk JME ile uyumlu	Normal
P91	4 yaş/K	Gelişimsel yavaşlama/regresyon, otistik bulgular, epilepsi	Primer (GGE)	Fokal	Normal

P92	5.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gecikme, epilepsi, boy kısalığı, mikrosefali, kalın kaşlar, hipertelorizm, proptozis, geniş palpebral aralık, downslanted palpebral fissürler, uzun filtrum, ince üst dudak, trident posterior saç çizgisi, yele boyun, cubitus valgus, mitral yetmezlik	Multisistemik	M/U	Normal
P93	5 ay/K	Epileptik ensefalopati, aksesuar dalak	Primer (GGE)	Fokal	Normal
P94	12 yaş/K	Epilepsi, gelişme geriliği	Primer (GGE)	Fokal	Normal
P95	12 ay/K	Gelişme geriliği, epilepsi, spastisite, bitemporal darlık, ptozis, strabismus, göz altı çizgilenmeler, yassı burun köprüsü, açık ağız, dil dışarda drooling, belirgin darwin çentiği, kısa boyun, fuziform parmaklar, başparmaklar proksimal yerleşimli ve addukte, mongol lekesi	Primer (GGE)	Hipsaritmi	M/U
P96	20 ay/K	GEFS+	Primer (jeneralize)	Jeneralize	Normal
P97	14 ay/E	Gelişme geriliği, epilepsi	Primer (GGE)	Hipsaritmi	M/U
P98	5.5 yaş/E	Epilepsi	Primer (jeneralize)	Jeneralize	M/U

P99	23 ay/E	Epilepsi, hiperfosfatazya	Primer (jeneralize)	Jeneralize	M/U
P100	4 yaş/K	Gelişimsel gerilik ve regresyon, epilepsi	Primer (GGE)	Keskin dalga diken	M/U
P101	6.5 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, epilepsi, boy kısalığı, kıvrıkcık seyrek saçlar, alın geniş, bitemporal darlık, seyrek kaşlar, hipertelorizm, sivri çene, pes valgus, pes planus, ayakta brakidaktili, 2. ve 5. ayak parmakları laterale deviye, IVS'de hipertrofi, nefrolitiazis,	Multisistemik	Yavaş dalgalı paroksizmal	Normal
P102	2 yaş/K	Hipotoni, entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, epilepsi, konjenital başlangıçlı boy kısalığı, mikrosefali, kontraktürler, badem göz, upslanted palpebral fissürler, ezotropi, geniş burun tabanı, büyük ağız, diastema, hipoplastik heliks, pektus ekskavatum, skolyoz, pes ekinovarus, dev konjenital nevüs	Multisistemik	Jeneralize	M/U
P103	9 yaş/E	Hafif entelektüel yetersizlik, EEG anomalisi, konuşma gecikmesi, kısa filtrum, yüksek damak, belirgin kulaklar, sandal gap	Nöbetsiz EEG	Fokal	Normal
P104	2 yaş/K	Entelektüel yetersizlik, motor gelişim geriliği, konuşma gecikmesi, mikrosefali, derin yerleşimli gözler, yüksek damak, brakidaktili, fuziform parmaklar, konstipasyon	Nöbetsiz EEG	Fokal	Serebral atrofi, ventriküller geniş, Corpus callosum ince bulunmuş.

P105	7.5 yaş/K	Hafif entelektüel yetersizlik, DEHB, EEG anomalisi, boy kısalığı, mikrosefali, hipertelorizm, lateral kantuslar evert, openbite, yüksek damak, kısa boyun, fuziform parmaklar, belirgin parmak pedleri, efüzyonlu otit,	Nöbetsiz EEG	Jeneralize paroksizmal	M/U
------	-----------	---	--------------	------------------------	-----

(ASD: atriyal septal defekt, CC:korpus kallozum, DEHB: dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, GKD: Gelişimsel kalça displazisi, ESES: Yavaş uykuda elektriksel status epileptikus, GGE: Gelişme geriliği ve epilepsi, GÖR: gastroözefageal reflü, HUN: hidroüreteronefroz, IVS: interventriküler septum, JME: juvenil miyoklonik epilepsi, M/U: mevcut veya ulaşılabılır değil, NCL: nöronal seroid lipofusinoz, NFLE: noktürnal frontal lob epilepsisi, PDA: patent duktus arteriyozus, PVL: periventriküler lökomalazi, SGA: gebelik haftasına göre küçük, SNİK: sensörinöral işitme kaybı, ÜSYE: üst solunum yolu enfeksiyonu)

4.3.WES Analiz Sonuçları

4.3.1. Genel Tanısal Verim ve Varyantların Aile Çalışmasının Sonuçları

Hastaların ilk analizinde 40 hastada patojen/olası patojen varyant saptanmış olup ilk analizin tanısal verimi yaklaşık %39 olarak bulunmuştur. Dört hastada ise klinikle oldukça uyumlu olası patojene yakın VUS varyantlar bulunmuştur.

Analiz sonrası önceliklendirilen, 59 hastada toplam 91 varyantın aile segregasyon çalışması yapılmıştır. Aile çalışması planı;

1. Tanısı konan hastalarda prenatal tanı için ebeveyn taşıyıcılığı araştırmak
2. Klinik önemi belirsiz varyantlar için *de novo* verisi veya etkilenmiş aile bireylerinde ko-segregasyon durumunu araştırmak

Amaçlarıyla, iki farklı durum göz önünde bulundurularak yapılmıştır.

Prenatal tanı amacıyla 18 varyantın, patojenite araştırılması için 73 varyantın aile çalışması yapılmıştır. Çalışması sonucunda patojenite sınıflaması değişmesi muhtemel 73 varyanttan, 10 hastada daha önce olası patojen olarak değerlendirilen 5 varyant patojen, 6 VUS varyant olası patojen, 2 VUS varyant patojen olarak yorumlanmıştır. İlk analizde moleküler tanı alan P7'nin ebeveyn çalışmasıyla 1 VUS varyantı olası patojen, 1 VUS varyantı patojen, 1 olası patojen varyantı patojen olarak değerlendirilmiştir.

Aile çalışması ile 5 hasta daha epilepsi için moleküler tanı almış olup özet olarak aile çalışması ek %5'lik bir tanısal verim sağlamıştır. Aile çalışması yapılmış diğer varyantlardan 14 VUS varyant olası benign, 1 VUS varyant benign olarak yorumlanırken, 45 VUS ve 1 olası patojen varyantın patojenite sınıflaması değişmemiştir (Tablo 3). P20'nin epilepsi fenotipini açıklamayan iki olası patojen

varyantından biri aile çalışması ile patojen olarak yorumlanmıştır. Aile çalışması yapılan varyantlar EK-5’de yer almaktadır. WES analizinde VUS varyant saptanıp ebeveyn çalışması planlanan yedi hastanın (P66, P77, P82, P84, P89, P92, P99) ebeveyn çalışması sosyal/teknik problemlerden ötürü (DNA yokluğu, pandemi süreci, hastanın takibi bırakması vb.) yapılamamıştır.

Tablo 3. Aile çalışması sonrası sınıflaması değişen varyant sayıları

Aile çalışması öncesi yorum	Aile çalışması sonrası yorum	Varyant sayısı	Oran
OPAT	PAT	5	~%7
OPAT	OPAT	1	~%1.3
VUS	OPAT	6	~%8
VUS	PAT	1	~%1.3
VUS	OBEN	14	~%19
VUS	BEN	1	~%1.3
VUS	VUS	45	~%61
Toplam		73	%100

(OPAT: olası patojen, PAT: patojen, VUS: klinik önemi belirsiz, OBEN: olası benign, BEN: benign)

WES ile epilepsi moleküler tanısı almayan 39 hastada toplam 82 VUS varyantı ilk rapor tarihinden en az 6 ay sonra güncel literatür verileri ile tekrar değerlendirilmiş olup ebeveyn çalışması ile patojenite yorumu olası benigne değişen VUS varyantların tekrar değerlendirmesi yapılmamıştır. İlk analizinde *CHD2*’deki c.1719G>A (p.Thr573=) varyantı VUS olarak yorumlanan P34’ün bu varyantı, güncel literatür bilgisiyle tekrar yorumlandığında olası patojen olarak değerlendirilmiş olup, kalan 81 VUS varyantın patojenite sınıflaması değişmemiştir. P51’in *KDM6B*’de saptanan heterozigot c.1416_1417delCT (p.Cys473fs) varyantı ilk analizde, olası patojen olarak yorumlanmış iken bu

varyant güncel literatür bilgisiyle tekrar yorumlandığında, patojen olarak değerlendirilmiştir.

4.3.2. Epilepsi İçin Moleküler Tanı Alan Hastalar

Tüm ek analizler sonucu 46 hasta epilepsi fenotipini açıklayan en az bir moleküler tanı almış olup, hastalarda olası patojen/patojen olarak değerlendirilen toplam 48 farklı varyanttan 30'u ClinVar veri tabanında bildirilmemiştir. Ayrıntılı literatür taraması yapılan bu 30 varyanttan 4'ünün daha önce hasta bireylerde bildirilmiş olduğu saptanmıştır. Bu varyantlardan birini taşıyan bir hasta (P1) daha önce birimimizce literatüre kazandırılmıştır (52). WES ile epilepsi için moleküler tanı alan hastalar moleküler bulgularıyla Tablo 4'de gösterilmiştir. Tablo 4 ve diğer tablolarda belirtilen genlerdeki varyantlar için kullanılan RefSeq referans transkriptler EK-6'da mevcuttur.

Tablo 4. WES ile epilepsi için moleküler tanı alan hasta tablosu

Hasta	Proband Genotip	Varyant segregasyon	Yorum	Moleküler analiz sonucu tanı/MIM numarası	Kalıtım Modeli	Novel
P1	RAB3GAP1 c.665delC (p.Pro222fs) HOM	PT (HET)	PAT	Warburg micro syndrome 1/ #600118	OR	H
P6	VRK1 c.1072C>T (p.Arg358Ter) HOM	MAT/PT	PAT	Pontocerebellar hypoplasia type 1A/ #607596	OR	H
P7	1)PIGO c.1944C>G (p.Cys648Trp) HET 2)PIGO c.2708_2710del (p.Phe903del)HET 3)GRIN2B c.1852G>A (p.Val618Ile) HET	1)MAT 2) <i>de novo</i> 3) <i>de novo</i>	1)OPAT 2)PAT 3)OPAT	1)Hyperphosphatasia with mental retardation syndrome 2/ #614749 2)Mental retardation, autosomal dominant 6/#613970	1)OR 2)OD	1)E 2)E 3)E
P8	CREBBP c.4268dupC (p.Pro1424fs) HET	<i>de novo</i>	PAT	Rubinstein-Taybi syndrome 1/ #180849	OD	E
P9	CLN3 c.849G>A (p.Trp283Ter) HOM	MAT/PT, etkilelen kardeş HOM	PAT	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 3/ #204200	OR	E
P11	MEF2C c.158delA (p.Lys53Sfs) HET	<i>de novo</i>	PAT	Mental retardation, stereotypic movements, epilepsy, and/or cerebral malformations/ #613443	OD	E

P14	TUBA1Ac.160A>G (p.Ser54Gly) HET	(-)	OPAT	Lissencephaly 3/ #611603	OD	E
P15	HECW2 c.4484G>A (p.Arg1495Lys) HET	<i>de novo</i>	OPAT	Neurodevelopmental disorder with hypotonia, seizures, and absent language/ #617268	OD	H
P16	PHF8 c.206+2T>C (p.?) HEM	MAT	OPAT	Mental retardation syndrome, X-linked, Siderius type/ #300263	XLR	E
P17	CLN8 c.202G>C (p.Ala68Pro) HOM	MAT/PT	OPAT	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 8/ #600143	OR	E
P23	UFM1 c.-155_-153delTCA HOM	MAT/PT	PAT	Leukodystrophy, hypomyelinating, 14/ #617899	OR	H
P24	GRIN1 c.1823G>T (p.Trp608Leu) HET	<i>de novo</i>	OPAT	Neurodevelopmental disorder with or without hyperkinetic movements and seizures, autosomal dominant/ #614254	OD	E
P27	COL4A1 c.3610G>A (p.Gly1204Arg) HET	<i>de novo</i>	OPAT	Brain small vessel disease with or without ocular anomalies/ #175780	OD	E
P28	EIF2B5 c.584G>A (p.Arg195His) HOM	MAT/PT	OPAT	Leukoencephalopathy with vanishing white matter/ #603896	OR	H

P29	PTRH2 c.269_270del (p.Ala90fs) HOM	MAT/PT, etkilelen kardeş HOM	PAT	Infantile-onset multisystem neurologic, endocrine, and pancreatic disease/ #616263	OR	H
P30	PLP1 c.641C>A (p.Ala214Asp) HEM	MAT	OPAT	Pelizaeus-Merzbacher disease/ #312080	XLR	E
P34	CHD2 c.1719G>A (p.Thr573=) HET	(-)	OPAT	Develomental and epileptic encephalopathy 94 # 615369	OD	H
P35	CLN3 c.551G>A (p.Trp184Ter) HOM	MAT/PT	PAT	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 3/ #204200	OR	E
P36	SCN1A c.2988_2989insTGC (p.Asn1007_Glu1008insCys) HET	<i>de novo</i>	OPAT	Dravet syndrome/ #607208	OD	E
P39	JAM2 c.698-2A>G (p.?) HOM	MAT/PT	PAT	Basal ganglia calcification, idiopathic, 8, autosomal recessive/ #618824	OR	E
P40	QARS1 c.1758+1G>T (p.?) HOM	MAT/PT	PAT	Microcephaly, progressive, seizures, and cerebral and cerebellar atrophy/ #615760	OR	E
P41	CASK c.1648G>T (p.Glu550Ter) HET	<i>de novo</i>	PAT	Mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia/ #300749	XLD	E

P42	CUL4B c.1927C>T (p.Gln643Ter) HEM	MAT	OPAT	Mental retardation, X-linked, syndromic 15 (Cabezas type)/ #300354	XLR	E
P46	SCN2A c.1242C>G (p.Phe414Leu) HET	<i>de novo</i>	PAT	Developmental and epileptic encephalopathy 11/ #613721	OD	H
P48	FBXO11 c.389_390delTT (p.Phe130TrpfsTer22) HET	(-)	OPAT	Intellectual developmental disorder with dysmorphic facies and behavioral abnormalities/ #618089	OD	E
P49	FH c.1127A>C (p.Gln376Pro) HOM	MAT/PT	PAT	Fumarase deficiency/ #606812	OR	H
P51	KDM6B c.1416_1417delCT (p.Cys473fs) HET	MAT	PAT	Neurodevelopmental disorder with coarse facies and mild distal skeletal abnormalities/ #618505	OD	H
P53	DNMT3A c.2407A>G (p.Arg803Gly) HET	<i>de novo</i>	OPAT	Tatton-Brown-Rahman syndrome/ #615879	OD	E
P54	DNMT3A c.2407A>G (p.Arg803Gly) HET	<i>de novo</i>	OPAT	Tatton-Brown-Rahman syndrome/ #615879	OD	E
P56	EFHC1 c.1005_1008delCACT (p.Thr336SerfsTer33) HET	MAT	OPAT	Myoclonic epilepsy, juvenile, susceptibility to, 1/ #254770	OD	E

P57	ZEB2 c.3211_3219del TCGCAGCAC (p.Ser1071_His1073del) HET	<i>de novo</i>	OPAT	Mowat-Wilson syndrome/ #235730	OD	E
P60	SCN1A c.3733C>T (p.Arg1245Ter) HET	<i>de novo</i>	PAT	Dravet syndrome/ #607208	OD	H
P61	TRIO c.7425delC (p.Ser2476fs) HET	(-)	OPAT	Intellectual developmental disorder, autosomal dominant 44, with microcephaly/ #617061	OD	E
P62	DEPDC5 c.2293C>T (p.Arg765Ter) HET	(-)	PAT	Epilepsy, familial focal, with variable foci 1/ #604364	OD	H
P67	FOLR1 c.610C>T (p.Arg204Ter) HOM	(-)	PAT	Neurodegeneration due to cerebral folate transport deficiency/ #613068	OR	H
P71	KCNQ2 c.793G>A (p.Ala265Thr) HET	<i>de novo</i>	PAT	Developmental and epileptic encephalopathy 7/ #613720	OD	H
P75	SCN8A c.2464G>A (p.Gly822Arg) HET	<i>de novo</i>	OPAT	Cognitive impairment with or without cerebellar ataxia # 614306	OD	H
P76	NSD1 c.4681C>T (p.Gln1561Ter) HET	(-)	PAT	Sotos syndrome 1/ #117550	OD	H
P78	DYRK1A c.328-1G>T (p.?) HET	(-)	OPAT	Mental retardation, autosomal dominant 7/ #614104	OD	H

P83	NPRL3 c.1542-2A>G (p.?) HET	(-)	OPAT	Epilepsy, familial focal, with variable foci 3/ #617118	OD	H
P87	HLCS c.64C>T (p.Gln22Ter) HOM	MAT/PT	PAT	Holocarboxylase synthetase deficiency/ #253270	OR	E
P93	CDKL5 c.856_866delTACTTGACAGA (p.Tyr286ThrfsTer36) HET	(-)	OPAT	Developmental and epileptic encephalopathy 2/ #300672	XLD	H
P94	ALDH7A1 c.1271C>A (p.Ala424Glu) HOM	MAT/PT, 3 sağlıklı kardeşten 2'si WT biri HET	OPAT	Epilepsy, pyridoxine-dependent/ #266100	OR	E
P97	BTD c.476G>A (p.Arg159His) HET BTD c.1336G>C (p.Asp446His) HET	PT MAT	1)PAT 2)PAT	Biotinidase deficiency/ #253260	OR	H
P101	BRAF c.770A>G (p.Gln257Arg) HET	<i>de novo</i>	PAT	Cardiofaciocutaneous syndrome/ #115150	OD	H
P102	PHGDH c.781G>A (p.Val261Met) HOM	MAT/PT	OPAT	Phosphoglycerate dehydrogenase deficiency/ #601815	OR	H

(MAT: maternal, PT: paternal, HOM: homozigot, HET: heterozigot, HEM: hemizigot, OPAT: olası patojen, PAT: patojen (-):ebeveyn çalışması yapılmamış varyant, WT: wild type, OR: otozomal resesif, OD: otozomal dominant, XLR: X'e bağlı resesif, XLD: X'e bağlı dominant, E: evet, H: hayır)

Ebeveynleri arasında akrabalık olduğu bilinen 38 hastanın (P6, P9, P12, P13, P17, P18, P19, P20, P27, P28, P29, P37, P39, P40, P43, P49, P52, P56, P59, P61, P63, P67, P75, P76, P79, P80, P84, P85, P86, P87, P91, P92, P95, P97, P99, P100, P104, P105) 16'sı moleküler tanı almış olup tanısal verim yaklaşık %42 olarak bulunmuştur. Bu hastalardan 10'u resesif kalıtmıli hastalıklar için homozigot patojen/olası patojen varyant taşıırken bir hastada (P97) resesif bir hastalık için birleşik heterozigot iki varyant, kalan 5 hastada ise dominant kalıtmıli hastalıklar için heterozigot varyantlar saptanmıştır (Tablo 5).

Resesif kalıtmıli hastalıklar için toplam 17 hasta moleküler tanı almıştır (Tablo 5). Bu hastalardan 11'inin ebeveynleri arasında akrabalık bulunurken 5 hastanın (P1, P23, P35, P94 ve P102) ebeveynleri arasında bilinen bir akrabalık olmamasına karşın hastalarda homozigot varyant saptanmıştır. P23'ün ebeveynlerinin aynı ilçe merkezinden, P35 ve P94'ün ebeveynlerinin aynı köylü, P102'nin ebeveynlerinin ise yakın köylü olduğu öğrenilmiştir. Bu dört hastanın ebeveynlerinde heterozigot taşıyıcılık saptanırken, P1'in sadece babasında heterozigot taşıyıcılık saptanmış olup bu duruma ikinci kromozomun uniparental dizomisinin sebep olduğu anlaşılmıştır (52). Ebeveynleri arasında bilinen bir akrabalık olmayan bir hastada (P7) ise, resesif kalıtmıli bir hastalık için birleşik heterozigot konumda iki varyantın yanı sıra dominant kalıtmıli bir hastalık için de heterozigot bir varyant saptanmış olup hasta hem resesif hem dominant kalıtmıli birer hastalık için moleküler tanı almıştır.

Otozomal dominant kalıtmıli hastalıklar için 26 hasta tanı almış olup bunlardan 5'inin ebeveynleri arasında akrabalık öyküsü mevcuttur. Ebeveynleri

akraba olmayan iki erkek hasta (P30, P42) X'e bağılı resesif, 2 kadın hasta (P41, P93) X'e bağılı dominant kalıtmılı hastalıklar için moleküler tanı almıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Moleküler tanı, tanının kalıtım modeli ve ebeveyn akrabalık durumuna göre hasta sayıları

	OR	OD	XLR	XLD	Tanı almayan	Toplam*
Akrabalık Yok	6	21	2	2	33	64*
Akrabalık Var	11	5	0	0	22	38
Akrabalık Bilinmiyor	0	0	0	0	1	1
Toplam*	17	26	2	2	56	103*

OD: Otozomal dominant, OR: Otozomal resesif, XLR: X'e bağılı resesif, XLD: X'e bağılı dominant.

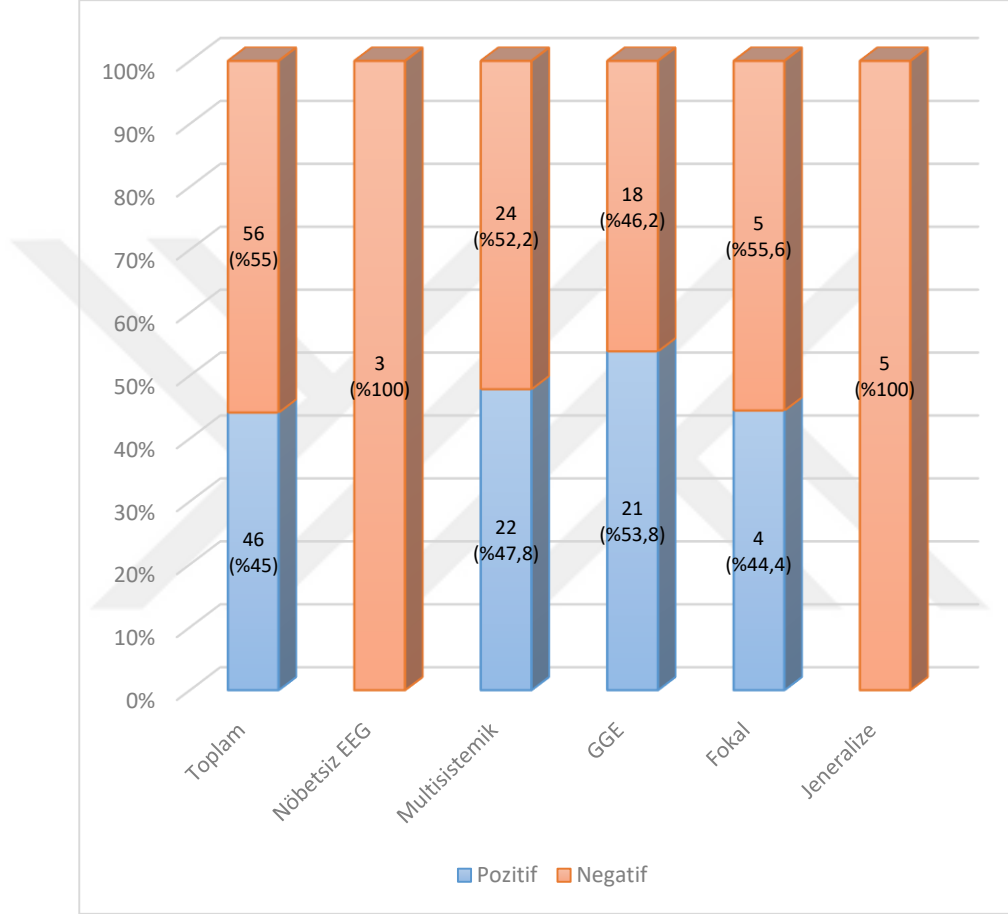
*Ebeveyn akrabalığı olmayan bir hasta, hem dominant hem de resesif kalıtmılı birer hastalık için tanı almıştır.

4.3.2.1. Fenotipten Genotipe: Çalışma Özelinde Oluşturulmuş Hasta Gruplarının Sonuçları

Hastalardan üçü (P103, P104 ve P105) nöbetsiz EEG anomalili hastalar grubunda yer almaktadır. Bunlardan P104'ün WES analizi normal olarak saptanırken kalan ikisinde VUS varyantlar bulunmuştur.

Epilepsili hastalardan multisistemik grubunda yer alan 46 hastanın 21'i epilepsi için moleküler tanı almış olup tanısal verim bu grupta %47,8 iken, primer epilepsi grubundaki 53 hastadan 25'i moleküler tanı almıştır ve tanısal verim bu grupta yaklaşık %47,1 olarak saptanmıştır. Primer epilepsi alt gruplarından GGE grubunun tanısal verimi %53,8, fokal epilepsi grubu tanısal verimi %44,4 olarak

saptanırken, 5 hastalık jeneralize epilepsi grubunda moleküler tanı alan olmamıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Hasta gruplarına göre tanı sayı ve oranları

4.3.2.2. Genotipten Fenotipe: Moleküler Tanı Sonrası Özel Hasta Grupları

4.3.2.2.1. Metabolik etiyolojili epilepsi hastaları

Ebeveynleri akraba olan 6 hasta (P9, P17, P49, P67, P87 ve P97) ile P35 ve P102'nin metabolik kaynaklı epilepsiye neden olan genlerde homozigot patojen/olası patojen varyant taşıdığı saptanmış olup, bunlardan P9, P17 ve P35 birikimle giden Nöronal Seroid Lipofusinoz moleküler tanısı almıştır. Metabolik epilepsili hastaların, EEG ve nörogörüntüleme bulguları ile moleküler tanıları Tablo 6'da gösterilmiştir.

4.3.2.2.2. Beyin kanalopatisi hastaları

Yedi hastada (P7, P24, P36, P46, P60, P71 ve P75) beyin kanalopatisi genlerinde patojen/olası patojen mutasyon saptanmıştır. Kanalopatili hastaların EEG, nörogörüntüleme ve moleküler bulguları sırasıyla Tablo 7'de gösterilmiştir.

4.3.2.2.3. Gelişimsel ve epileptik ensefalopati hastaları

Altı hasta (P34, P36, P46, P60, P71, P93) OMIM veri tabanında, gelişimsel ve epileptik ensefalopati tipleri olarak tanımlanmış klinikler için moleküler tanı almıştır. Bu hastalardan P34; Gelişimsel ve Epileptik Ensefalopati-94 (DEE94), P93; Gelişimsel ve Epileptik Ensefalopati-2 (DEE2) tanısı almıştır. Kalan dört hasta (P36, P46, P60 ve P71) beyin kanalopatisi olarak da değerlendirilebilen tanılar almıştır (Tablo 7).

Tablo 6. Metabolik kaynaklı epilepsi hastaların EEG ve nörogörüntüleme bulgular ile moleküler tanıları

Hasta	Yaş/Cinsiyet	EEG	Nörogörüntüleme	Moleküler Tanı/OMIM numarası	Sorumlu Gen	Kalıtım modeli
P9	7.5 yaş/ E	Miyoklonik karakterde jeneralize	Normal	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 3/ #204200	<i>CLN3</i>	OR
P17	13.5 yaş/E	Normal	temporalde heterotopi, kolposefali, bazal ganglialarda atrofi, serebellar atrofi	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 8/ #600143	<i>CLN8</i>	OR
P35	16.5 yaş/E	Fokal	NCL'yi destekleyen bulgular	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 3/ #204200	<i>CLN3</i>	OR
P49	19 ay/ E	M/D	Polimikrogiri, serebellum ve beyin sapında atrofi	Fumarase deficiency/ #606812	<i>FH</i>	OR
P67	6.5 yaş/K	M/D	İnce CC, NCL telkin eden bulgular	Neurodegeneration due to cerebral folate transport deficiency/ #613068	<i>FOLR1</i>	OR
P87	14 gün/E	Serebral dismatürite	Normal	Holocarboxylase synthetase deficiency/#253270	<i>HLCS</i>	OR
P97	14 ay/E	Hipsaritmi	M/D	Biotinidase deficiency/ #253260	<i>BTD</i>	OR
P102	2 yaş/K	jeneralize	M/D	Phosphoglycerate dehydrogenase deficiency/ #601815	<i>PHGDH</i>	OR

(M/U:mevcut veya ulaşılabilir değil, CC: korpus kallozum, NCL: nöronal seroid lipofusinoz, E: Erkek, K: Kadın)

Tablo 7. Kanalopatili hastaların EEG, nörogörüntüleme ve moleküler bulguları

Hasta	Yaş/Cinsiyet	EEG	Nörogörüntüleme	Moleküler tanı	Sorumlu Gen	Kalıtım modeli
P7	7.5 ay/K	Şüpheli fokal epileptik bozukluk	Normal	Mental retardation, autosomal dominant 6/ #613970	<i>GRIN2B</i>	OD
P24	8.5 ay/K	Hemisfer asimetrisi ve serebral disfonksiyon	Normal	Neurodevelopmental disorder with or without hyperkinetic movements and seizures, autosomal dominant/ #614254	<i>GRIN1</i>	OD
P36	3 yaş/K	Fokal epileptik bozuk	Özelliksiz	Dravet syndrome/ #607208	<i>SCN1A</i>	OD
P46	1 ay/E	Hipsiaritmi ile uyumlu	Normal	Developmental and epileptic encephalopathy 11/ #613721	<i>SCN2A</i>	OD
P60	15.5 yaş/E	Serebral disfonksiyon yanında multifokal epileptik bozukluk	M/D	Dravet syndrome/ #607208	<i>SCN1A</i>	OD
P71	6 yaş/K	Hafif derece fokal epileptik bozukluk (Sentrotemporal bölgede keskin dalga deşarjları)	Ekstraserebral subaraknoid mesafede belirginleşme, 3 ve her iki lateral ventrikülde dilatasyon	Developmental and epileptic encephalopathy 7/ #613720	<i>KCNQ2</i>	OD
P75	8 yaş/K	Fokal epileptik bozukluk yanında sekonder jeneralizasyon gösteren epileptik bozukluk	Empty sella	Cognitive impairment with or without cerebellar ataxia / #614306	<i>SCN8A</i>	OD

(M/U:mevcut veya ulaşılabilir değil, E:Erkek, K:Kadın, OR: otozomal resesif, OD: otozomal dominant)

4.3.3. Epilepsi İçin Moleküler Tanı Almayan Hastalar

Elli altı hastanın WES analizinde epilepsi ile ilişkili ve kalıtım modeli ile uyumlu patojen/olası patojen varyant saptanmamış olup hastaların moleküler bulguları ile aile çalışması öncesi ve sonrası patojenite yorumları Tablo 8’de yer almaktadır. Bu hastalardan 14’ünün WES analizi normal olarak raporlanmıştır. Bu hastalardan beşinin (P22, P58, P63, P81, P84) resesif kalıtmı hastalıklar için yalnızca bir heterozigot patojen veya olası patojen varyant taşıdığı tespit edilmiştir. Hastaların varyantları ve ilişkili olduğu klinikler Tablo 9’da gösterilmiştir.

Ebeveynleri akraba olan P63 ve P85’de sırasıyla *TTC1* c.784T>G (p.Phe262Val) ve *CADM2* c.1276C>T (p.Gln426Ter) varyantları homozigot olarak saptanmıştır.

P99’da raporlama tarihinde her ikisi de henüz epilepsi ile ilişkilendirilmemiş biri resesif, diğeri dominant kalıtmı iki hastalığa sebep olan varyantlardan resesif olan için homozigot patojen, dominant için heterozigot olası patojen olarak değerlendirilen toplam iki varyant saptanmıştır. P99’un aldığı moleküler tanı Tablo 10’da yer almaktadır.

Tablo 8. WES analizi ile epilepsi moleküler tanısı almayan hastaların moleküler bulguları ile segregasyon analizi yapılan varyantların öncesi ve sonrası patojenite yorumları

Hasta	Proband Genotip	Segregasyon öncesi yorum	Varyant segregasyon	Segregasyon sonrası yorum
P2	1) AP4E1 c.685T>C (p.Tyr229His) 2) AP4E1 c.1910C>T (p.Ala637Val) HET	1)VUS 2)VUS	1)MAT 2)PT	1)VUS 2)VUS
P3	Normal	Normal		
P4	Normal	Normal		
P5	Normal	Normal		
P10	1)CHD8 c.6746C>T (p.Thr2249Ile) HET 2)PTEN c.386G>C (p.Ser129Thr) HET	1)VUS 2)VUS	1)MAT 2)PT	1)VUS 2)VUS
P12	1)DNAH9 c.4549C>T (p.Arg1517Ter) HOM	1)E-PAT	1)MAT/PT	1)E-PAT
P13	1)NCAPD2 c.181G>T (p.Asp61Tyr) HOM	1)E-VUS	1)MAT/PT, sağlıklı 2 kardeş HET	1)VUS
P18	1)FMR1 c.1777A>G (p.Lys593Glu) HEM	1)VUS	(-)	
P19	1)ALG13 c.1762-8dupT (p.?) HET	1)VUS	1)PT	1)OBEN
P20	1)TYR c.98A>C (p.Lys33Thr) HET 2)TYR c.1037-7T>A (p.?) HET	1)E-OPAT 2)E-OPAT	1)MAT 2)PT	1)E-OPAT 2)E-PAT
P21	1)COL4A1 c.1552C>T (p.Pro518Ser) HET 2)CASR c.2551T>A (p.Cys851Ser) HET 3)CHRNA4 c.1591T>C (p.Cys531Arg) HET 4)SCN9A c.5164C>T (p.Pro1722Ser) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS 4)VUS	1)PT 2)PT 3)(-) 4)(-)	1)VUS 2)VUS
P22	1)CACNA1H c.1235A>T (p.Asn412Ile) HET	1)VUS	(-)	
P25	1)SCN9A c.2617G>A (p.Gly884Ser) HET 2)KIF1A c.2720_2722delGGG (p.Gly907del) HET	1)VUS 2)VUS	(-)	

P26	1)COL4A1 c.1580A>G (p.Lys527Arg) HET 2) HCN1 c.128C>A (p.Pro43Gln) HET 3) SETBP1 c.946G>A (p.Asp316Asn) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS	1)PT 2)MAT 3)MAT	1)VUS 2)OBEN 3)OBEN
P31	1)AUTS2 c.742+9delC (p.?) HET 2)CLTC c.4945G>A (p.Val1649Ile) HET 3)RHOTB2 c.510C>T (p.Ile170=) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS	1)PT 2)PT 3)(-)	1)OBEN 2)OBEN
P32	Normal	Normal		
P33	1)KCNQ2 c.2029C>T (p.Arg677Trp) HET	1)VUS	1)MAT	1)VUS
P34	1)CHD2 c.1719G>A (p.Thr573=) HET	1)VUS	(-)	
P37	Normal	Normal		
P38	Normal	Normal		
P43	Normal	Normal		
P44	1)NBEA c.6807-8A>C (p.?) HET 2)PHACTR1 c.71C>G (p.Ala24Gly) HET	1)VUS 2)VUS	1)PT 2)MAT	1)OBEN 2)OBEN
P45	Normal	Normal	(-)	
P47	1)GRIN2D c.1380C>A (p.Val460=) HET 2)ATRX c.1331G>A (p.Arg444Gln) HEM	1)VUS 2)VUS	1)MAT 2)(-)	1)OBEN
P52	Normal	Normal	(-)	
P55	1)PTPN11 c.1492C>T (p.Arg498Trp) HET	1)E- PAT	(-)	
P58	1)ALDH18A1 c.1411G>A (p.Val471Ile) HET 2)ALDH18A1 c.786G>T (p.Leu262Phe) HET 3)GABRD c.181+10G>A HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS	1)MAT 2)PT 3)(-)	1)VUS 2)VUS

P59	1)BRPF1 c.2712C>A (p.Asn904Lys) HET 2)CHD2 c.1052+7T>A (p.?) HET 3)CUX1 c.1853A>G (p.Gln618Arg) HET 4)KMT2C c.4165G>A (p.Asp1389Asn) HET 5)STAG2 c.1861G>C (p.Glu621Gln) HET 6)TAF1 NM_004606.4 c.181-10C>T (p.?) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS 4)VUS 5)VUS 6)VUS	(-)	
P63	1)TTC1 c.784T>G (p.Phe262Val) HOM 2)CENPF c.9187C>T (p.Arg3063Ter) HET 3)GABBR2 c.859C>T (p.Pro287Ser) HET 4)TCF20 c.2929G>T (p.Asp977Tyr)	1)VUS 2)VUS 3)VUS 4)VUS	(-)	
P64	Normal	Normal		
P65	1)OPA1 c.2815C>T (p.Gln939Ter) HET 2)CHRNA1 c.318G>T (p.Val106Val) HET	1)E-PAT 2)VUS	1)PT 2)PT	1)OPAT 2)VUS
P66	1)CACNA1A c.2407C>A (p.Arg803Ser) HET	1)VUS	(-)	
P69	1)SETD2 c.4142T>C (p.Leu1381Ser) HET 2)TBR1 c.592G>C (p.Gly198Arg) HET 3)TRRAP c.3800T>C (p.Leu1267Ser) 4)PIEZO2 c.3469C>T (p.Arg1157Cys) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS 4)VUS	(-)	
P70	Normal	Normal	(-)	
P72	1)SMARCC2 c.3367_3369del (p.Pro1123del) HET 2)SMARCA2 c.1173+7C>G (p.?) HET 3)KIF5A c.118G>A (p.Val40Ile) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS	(-)	
P73	1)CUX2 c.3881C>T (p.Ala1294Val) HET 2)KIF5A c.118G>A (p.Val40Ile) HET 3)SHANK3 c.3394G>A (p.Val1132Ile)	1)VUS 2)VUS 3)VUS	(-)	
P74	1)MSX2 c.121A>C (p.Lys41Gln) HET 2)SOX5 c.2140G>A (p.Gly714Ser) HET	1)VUS 2)VUS	1)MAT 2)PT	1)VUS 2)OBEN

P77	1)DKC1 c.1043C>T (p.Ala348Val) HEM 2)DEAF1 c.1534A>G (p.Met512Val) HET 3)CACNA1A c.4867-11C>G (p.?) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS	(-)	(-)
P79	1)PIGO c.1357G>C (p.Gly453Arg) HOM 2)RAI1 c.1615C>A (p.Pro539Thr) HET 3)BRPF1 c.2926C>A (p.Pro976Thr) HET 4)CIC c.1097G>A (p.Gly366Glu) HET	1)VUS/OPAT 2)VUS 3)VUS 4)VUS	1)MAT/PT 2)(-) 3)(-) 4)(-)	1)VUS/OPAT
P80	1)GPAA1 c.947C>T (p.Ala316Val) HOM	1)VUS/OPAT	1)MAT/PT	1)VUS/OPAT
P81	1)STXBP1 c.1624C>T (p.Leu542Phe) HET 2)MECP2 c.1288A>G (p.Met430Val) HET 3)ASPA c.237-1_237insA (p.Lys80GlnfsTer10) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS	1)PT 2)PT 3)(-)	1)VUS 2)VUS
P82	1)KCNT1 c.3025G>A (p.Ala1009Thr) HET	1)VUS	(-)	(-)
P84	1)GABRD c.554-8delT (p.?) HET 2)NBEA c.2845-7T>C (p.?) HET 3)SETD2 c.7121A>T (p.Asn2374Ile) HET 4)TRRAP c.1846C>T (p.Arg616Cys) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS 4)VUS	(-)	(-)
P85	1)CADM2 c.1276C>T (p.Gln426Ter) HOM 2)BAZ2B c.754T>A (p.Ser252Thr) HET 3)UBE3A c.294A>T (p.Lys98Asn) HET 4)CACNA1A c.6229G>A (p.Asp2077Asn) HET 5)SCN3A c.3601A>T (p.Ser1201Cys) HET 6)PRRT2 c.1013-5C>G (p.?)	1)VUS 2)VUS 3)VUS 4)VUS 5)VUS 6)VUS	(-)	(-)
P86	1)CACNA1H c.3178G>A (p.Val1060Met) HET	1)VUS	(-)	

P89	1)KCNT1 c.3571G>A (p.Glu1191Lys) HET 2)KIF7 c.3096T>A (p.Ser1032Arg) HET 3)KIF7 c.2929C>T (p.Arg977Trp) HET 4)MACF1 c.11618C>G (p.Ala3873Gly) HET 5)SETBP1 c.3755G>T (p.Ser1252Ile) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS 4)VUS 5)VUS	(-)	
P90	1)SCN3A c.1411G>A (p.Asp471Asn) HET 2)TCF20 c.1360A>G (p.Ser454Gly) HET 3)RORA c.787G>A (p.Glu263Lys)	1)VUS 2)VUS 3)VUS	1)PT 2)PT 3) PT	1)VUS 2)VUS 3)BEN
P91	1)DHPS c.3G>A (p.1Met?) HOM	1)VUS	(-)	
P92	1)PPP1CB c.146C>G (p.Pro49Arg) HET 2)SZT2 c.4453G>A (p.Asp1485Asn) HET 3)SZT2 c.8768C>T (p.Thr2923Ile) HET	1)E-PAT 2)VUS 3)VUS	(-)	
P95	Normal	Normal		
P96	Normal	Normal		
P98	1)ADGRV1 c.7915G>C (p.Gly2639Arg) HET 2)ASXL2 c.1729G>T (p.Ala577Ser) HET 3)COL18A1 c.1233C>A (p.Phe411Leu) HET 4)COL18A1 c.1792T>C (p.Phe598Leu) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS 4)VUS	(-)	
P99	1)CYP7B1 c.1250G>A (p.Arg417His) HOM 2)BPTF c.7214C>A (p.Ser2405Ter) HET 3)KCNQ2 c.1991C>T (p.Pro664Leu) HET	1)E- PAT 2)E-OPAT 3)VUS	(-)	
P100	1)FRRS1L c.524G>A (p.Ser175Asn) HOM	1)VUS	2 sağlıklı kardeş HET, etkilenen kardeş HOM	1)VUS/OPAT
P103	1)CACNA1H c.1985A>G (p.His662Arg) HET 2)RELN c.8809G>A (p.Ala2937Thr) HET 3)SETD5 c.2026G>A (p.Gly676Arg) HET	1)VUS 2)VUS 3)VUS	1)PT 2)PT 3)MAT	1)VUS 2)OBEN 3)OBEN

P104	Normal	Normal	(-)	(-)
P105	1)AGA c.617C>T (p.Thr206Ile) Hom	1)VUS/OPAT	1)MAT-PT	1)VUS/OPAT

(MAT: maternal, PT: paternal, HOM: Homozigot, HET: Heterozigot, HEM: Hemizigot, E (-) PAT: epilepsi fenotipini açıklamayan patojen varyant E (-) OPAT: epilepsi fenotipini açıklamayan olası patojen varyant, VUS: klinik önemi belirsiz varyant, VUS/OPAT: klinikle uyumlu olası patojene yakın klinik önemi belirsiz varyant BEN: benign varyant, OBEN: olası benign varyant, (-): ebeveyn çalışması yapılmamış varyant)

Altı hastada (P12, P20, P55, P65, P92 ve P99) hastaların epilepsi fenotipi dışındaki diğer klinik bulguları ile ilişkili olabilecek patojen/olası patojen varyantlar saptanmıştır. Epilepsi fenotipi dışında moleküler tanı alan hastaların tanıları Tablo 10’da mevcuttur. Bir hastada (P13) ise epilepsi fenotipini açıklamayan fakat hastadaki primer mikrosefali kliniği ile ilişkili olabilecek *NCAPD2* c.181G>T (p.Asp61Tyr) varyantı homozigot olarak saptanmış ve VUS olarak yorumlanmıştır. WES analizi negatif hastalardan P79, P80, P100 ve P105’de klinik bulgulardan sorumlu olabilecek olası patojene yakın VUS varyant saptanmıştır (Tablo 11).

Tablo 9. Resesif hastalıklar için heterozigot bir patojen/olası patojen varyantı olan hastalar

Hasta	Varyant	Yorum	Hastalık
P22	MCCC2 c.1015G>A (p.Val339Met)	PAT	3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase 2 deficiency # 210210
P58	ARSA c.869G>A (p.Arg290His)	PAT	Metachromatic leukodystrophy # 250100
P63	CENPF c.9187C>T (p.Arg3063Ter)	OPAT	Stromme syndrome # 243605
P81	ASPA c.237- 1_237insA (p.Lys80Glnfs)	OPAT	Canavan disease # 271900
P84	TNK2 c.2495_2496delTG (p.Val832fs)	OPAT	Severe autosomal recessive infantile onset epilepsy (53)

(PAT: patojen, OPAT: olası patojen)

Tablo 10. Epilepsi fenotipi dışında moleküler tanı alan hastaların tanıları

Hasta	Yaş/ Cinsiyet	Moleküler tanı	Sorumlu gen	Kalıtım modeli
P12	0 gün/E	Ciliary dyskinesia, primary, 40/ #618300	<i>DNAH9</i>	OR
P20	2.5 yaş/E	Albinism, oculocutaneous, type IB/ #606952	<i>TYR</i>	OR
P55	15.5 yaş/K	LEOPARD syndrome 1/ #151100	<i>PTPN11</i>	OD
P65	15 ay/ K	Optic atrophy plus syndrome/ #125250	<i>OPA1</i>	OD
P92	5.5 yaş/K	Noonan syndrome-like disorder with loose anagen hair 2/ #617506	<i>PPP1CB</i>	OD
P99	23 ay/E	Spastic paraplegia 5A, autosomal recessive/ #270800 ve Neurodevelopmental disorder with dysmorphic facies and distal limb anomalies/ #617755	<i>CYP7B1</i> <i>BPTF</i>	OR OD

(OR: Otozomal resesif, OD: Otozomal dominant)

Tablo 11. Klinikle ilişkili olası patojene yakın VUS varyantı bulunan hastalar

Hasta	Varyant	Hastalık	Kalıtım modeli
P79	PIGO c.1357G>C (p.Gly453Arg) HOM	Hyperphosphatasia with mental retardation syndrome 2, # 614749	OR
P80	GPAA1 c.947C>T (p.Ala316Val) HOM	Glycosylphosphatidylinositol biosynthesis defect 15, # 617810	OR
P100	FRRS1L c.524G>A (p.Ser175Asn) HOM	Developmental and epileptic encephalopathy 37, # 616981	OR
P105	AGA c.617C>T (p.Thr206Ile) HOM	Aspartylglucosaminuria, # 208400	OR

(OR: Otozomal resesif)

5.TARTIŞMA

Mevcut retrospektif arşiv çalışmasında; patojen CNV taşımadığı görüldükten sonra WES analizi yapılan; epilepsi ve/veya EEG anomali bulunan entelektüel yetersizlikli 102 hasta; demografik, klinik ve moleküler genetik bulgularıyla değerlendirilmiştir. Çalışma ülkemizde bu kapsamda yayınlanan en yüksek sayıda veriyi içermektedir. Çalışmada, bilinen gen mutasyonları ve gözlenen fenotiple uyumlu olup olmadığı değerlendirilirken, aynı zamanda klinik önemi belirsiz varyantların epilepsi etiyolojisindeki olası rolleri de tartışılmıştır.

Epilepsi fenotipi ile refere edilen hastaların büyük bir kısmı gelişme geriliği, entelektüel yetersizlik ve otizm gibi komorbiditeler taşımakta, birçoğu çoklu antiepileptik tedavi almakta ve bir kısmının nöbetleri dirençli olup bu hastaların epilepsisinin etiyolojisinde genetik faktörlerin olabileceği düşünülmektedir. Olası tedavi seçeneklerini ortaya koyma, prognoz hakkında fikir sahibi olma, aileye rekürrens riski ve prenatal tanı için bilgi sağlama açısından; WES çalışması için yukarıda açıklanan komorbiditesi olan hasta grubuna öncelik tanınmıştır. Bu gruptaki hastaların bir kısmı refere edilirken epilepsi sınıflamaları hakkında ayrıntılı bilgi elde edilemediğinden hastaların epilepsi türü ayrı olarak incelenememiş, hastalar gelişme geriliği ve epilepsi başlığı altında toplanmıştır. Dravet sendromu tanısı alan P36'da olduğu gibi, çalışmada yer alan hastaların bir kısmında epilepsi, altta yatan nörogelişimsel gerilik sürecinin önemli bir komponenti iken; Sotos sendromu tanısı alan P76 gibi bir grup hastada ise eşlik eden ikincil bir fenotip veya sendromun daha az görülen bir özelliği olarak bulunmaktaydı. Dravet Sendromu bir elektroklinik epilepsi sendromu iken, Sotos Sendromu bir aşırı büyüme sendromu

olup epileptik nöbetler hastaların dörtte birinde hayatlarının bir döneminde gelişebilmektedir (54).

Rekürren mikrolelesyonlardan 15q13.3, 15q11.2 ve 16q13.11’de de görülebildiği gibi; aynı genetik değişikliği taşıyan hastaların bazılarında epilepsi, bazılarında entelektüel yetersizlik ve otizm görülmesi aynı genetik etiyolojiye sahip nörogelişimsel anomalilerin farklı klinik yansımalarının olabileceğini, epilepsi ve bilişsel-nörogelişimsel anomalilerin en azından bazı durumlarda birbirleriyle oldukça ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Bu bulgular nedeniyle ILAE 2017 epilepsi kriterlerini karşılamasa bile; epilepsi ile ilişkili olabilecek nöbetsiz EEG anomalili entelektüel yetersizlikli hastalar da çalışmaya dâhil edilmiştir.

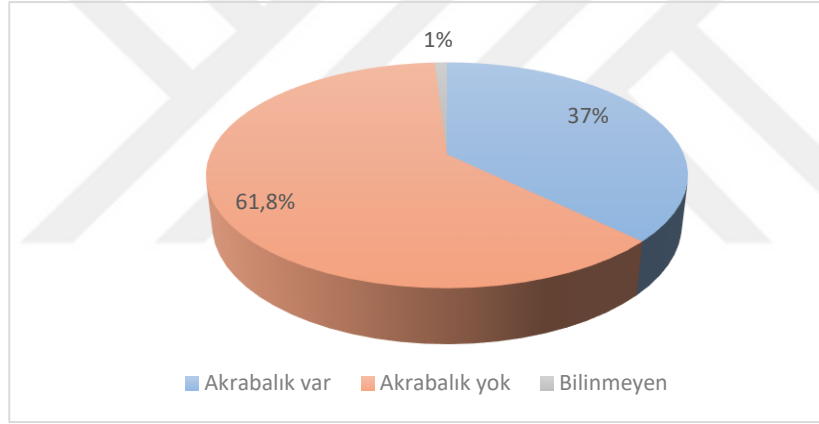
Çalışmada yer alan hastalar WES analizine fayda-maliyet oranları göz önünde bulundurularak dâhil edilmiştir. WES analiz planındaki bu yanlılıktan dolayı çalışma evrenini oluşturan hastalar için fenotipik olarak oluşturulan gruplardaki hasta oranlarının, epilepsili genel çocuk popülasyonunu yansıtmaması beklenmemektedir.

Çalışmanın hasta gruplarının klinik ve demografik bilgileri işlendikten sonra hastaların yaklaşık dörtte birinin etkilenmiş en az bir akraba öyküsünün bulunduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu tek başına epilepsi ilişkili hastalıkların kalıtılabilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

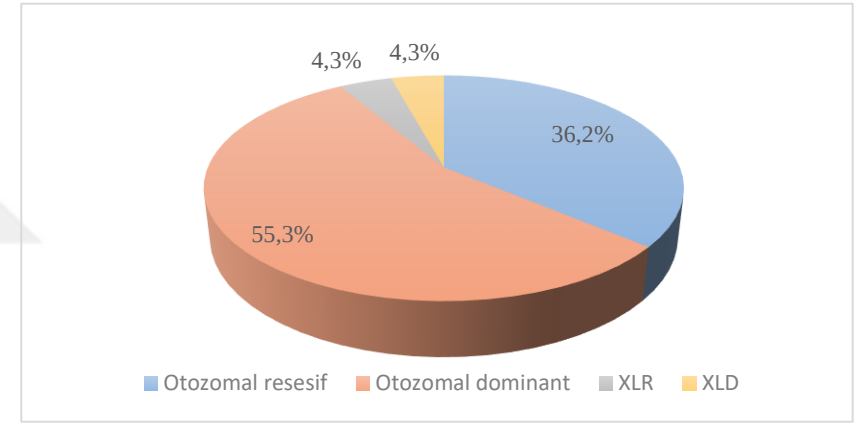
Çalışmada yer alan hastalar arasında ebeveyn akrabalığı oranı ~%37 olarak saptanmıştır (Şekil 4). Epilepsi moleküler tanısı konulan hastalıkların; yaklaşık %36,2’si otozomal resesif, %55,3’ü otozomal dominant, %4,3’ü X’e bağlı resesif ve %4,3’ü X’e bağlı dominant hastalıklar olmuştur. Hasta oranları Şekil 5’de grafik

halinde sunulmuştur. Çalışmada yer alan hastalar için WES analizinin genel tanısal verimi %45 olup ebeveynleri arasında akrabalık bulunanlarda tanısal verim yaklaşık %42'dir. Ebeveyn akrabalığı bulunan hastaların yaklaşık %68,8'i resesif kalıtmalı, %31,2'si dominant kalıtmalı hastalıklara sahiptir (Şekil 6). Otozomal resesif hastalıklar için tanı alanların ise %64,7'sinin ebeveynleri arasında akrabalık öyküsü bulunmaktadır (Şekil 7). Akriba evliliği öyküsünün resesif kalıtmalı hastalık riskini arttırdığı bilinmektedir ve bu durum, çalışma grubundaki hastalarda da gözlenmiştir. Ebeveyn akrabalığı resesif hastalıklar için ek bir risk oluşturmakla birlikte bu çalışmada ebeveyn akrabalığı bulunanların tanısal verimi (%42) genel tanısal verimden (%45) düşük saptanmıştır. Bu durum, WES analizinin ebeveynleri arasında akrabalık bulunan hastalar için tanı açısından yeterince ek katkı sağlamadığını göstermektedir. Resesif kalıtım modeliyle hastalık oluşturan epilepsi ilişkili bazı genlerin henüz keşfedilmemiş olması bu durumun nedenlerinden biri olabilir.

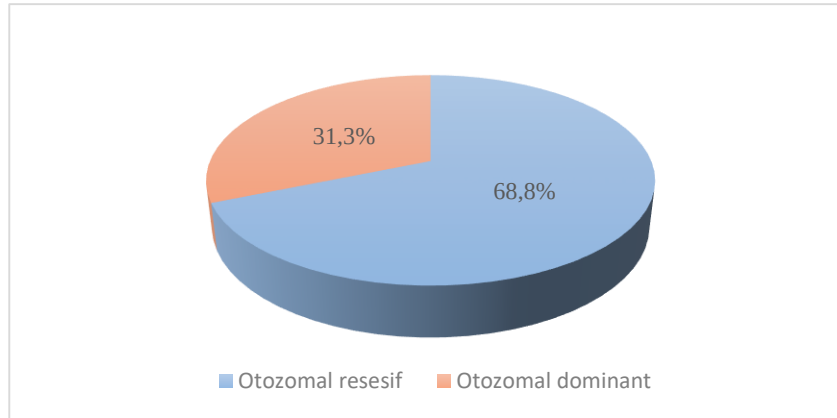
İlk analizde klinik önemi belirsiz olarak yorumlanan 67 varyantın, aile içi segregasyonu Sanger dizi analizi ile yapılmış olup segregasyon sonrası bu varyantlardan 6'sı olası patojen, 1'i patojen, 14'ü olası benign, 1'i benign olarak yorumlanmış, 45'inin ise patojenite sınıflaması değişmemiştir (Tablo 3). Patojenite sınıfı değişmeyen varyantların büyük kısmının, penetrans eksikliği bildirilmemiş kliniklerde sağlıklı ebeveynlerden kalıtıldığı görülmüş ve olası benign'e yakın VUS olarak değerlendirilmiştir.



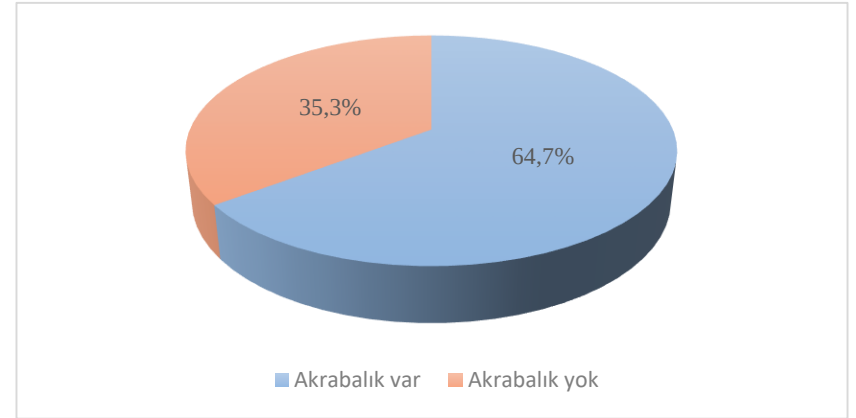
Şekil 4. Çalışma grubundaki genel ebeveyn akrabalık oranları



Şekil 5. Moleküler tanıların kalıtım modeli oranları

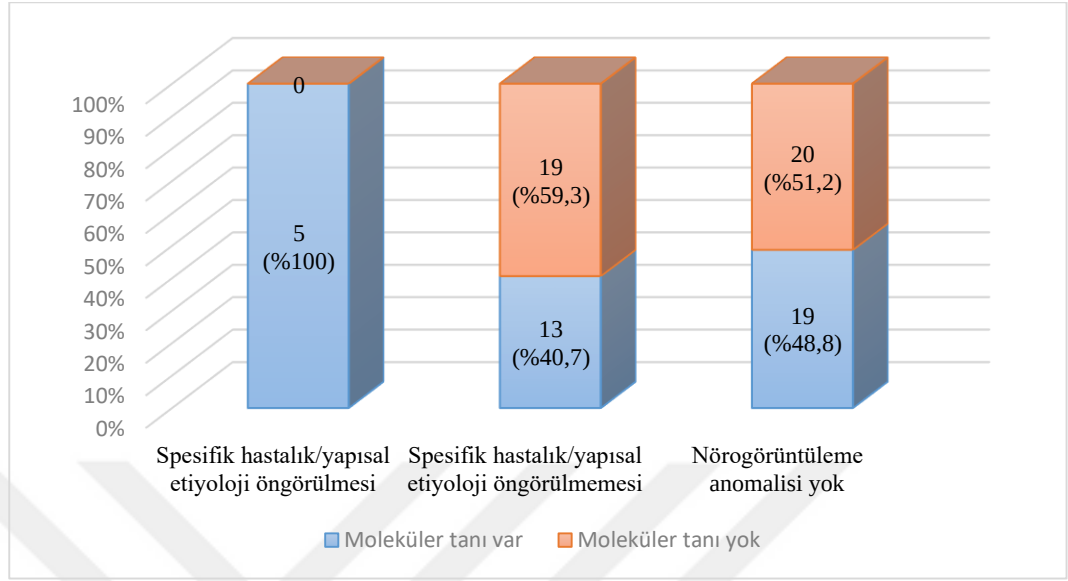


Şekil 6. Ebeveyn akrabalığı durumunda kalıtım modeli oranları



Şekil 7. OR hastalık tanısı alanların ebeveyn akrabalığı oranı

Çalışmadaki hastaların 80'inin nörogörüntüleme raporlarına ulaşılmış olup kalan 22 hastaya nörogörüntüleme uygulanmamış veya görüntülemeler ulaşılabilir olmamıştır. Ulaşılabilir bir nörogörüntüleme sonucu olan hastalardan ikisinde sadece araknoid kist, ikisinde de sadece ince korpus kallozum saptanmış olup bu hastalardan yalnızca ince korpus kallozumlu bir hasta moleküler tanı almıştır. Kalan 76 hastadan 37'sinde başka nörogörüntüleme anomalileri saptanmış olup bu hastalardan 18'i moleküler tanı alırken 39 hastanın nörogörüntülemesi normal olarak değerlendirilmiş ve bunlardan 19'u moleküler tanı almıştır. Nörogörüntüleme bulgusu olan hastalardan dördünde (P28, P30, P35, P67) nörogörüntüleme bulguları, spesifik bir genetik etiyolojili hastalık veya hastalık grubunu işaret ediyor olup, bu hastaların tamamı, ilgili hastalık veya benzer görüntüleme bulgusu veren hastalıklar için moleküler tanımlar almıştır (Tablo 2 ve Tablo 4). Yine bir hastanın (P83) nörogörüntülemesinde genetik etiyolojisi olduğu düşünülen, epileptojenik bir odak olabilecek frontal fokal kortikal displazi saptanmış olup, hastanın bulgusunun genetik etiyolojisini açıklayan *NPRL3*'de heterozigot c.1542-2A>G varyantı saptanmıştır (Tablo 4). Nörogörüntüleme anomalisi varlığı durumunda tanısal verim yüzdeleri Şekil-8 grafik halinde sunulmuştur. Bu verilere göre; nörogörüntülemede spesifik bir genetik hastalık/hastalık grubu veya genetik kökenli yapısal bir etiyolojinin ön görülmesinin tanısal verimi olumlu etkilediği görülürken, nörogörüntüleme anomalisi saptanıp, anomalinin spesifik bir genetik hastalığa işaret etmediği durumlarda ise hastaların daha düşük oranda moleküler tanı aldığı saptanmıştır.



Şekil 8. Nörogörüntüleme anomalisi varlığı durumunda tanısal verim yüzdeleri

Çalışmada yer alan hastaların bir kısmı daha önce de bir genetik hastalıklar tanı merkezine bir veya birden fazla kez yönlendirilmiş ve genetik tanı alamamıştır. Bu hastaların bir kısmı; fenotipleri ile uyumlu olabilecek hastalıkların genetik tanısı için defalarca araştırılmıştır. Söz konusu hastalardan biri olan P29’un ilk başvuru yaşı 4 olup, ilk başvurusunda henüz keşfedilmemiş bir hastalık olan “İnfanıl başlangıçlı multisistem nörolojik, endokrin ve pankreatik hastalık” (OMIM: # 616263) için moleküler tanı alma yaşı 15’dir. Hastaya tanı sürecinde kromozom analizi, subtelomerik FISH, MELAS ve MERRF açısından mitokondriyal DNA dizi analizi, nöropati açısından RFLP ile *PMP22* delesyon/duplikasyon analizi ve array CGH’in yanı sıra kas biyopsisi de yapılmıştır. Moleküler tanı hastayı 11 yıllık bir tanı macerasından kurtarmış ve benzer şekilde etkilenmiş kardeşinin de moleküler tanı almasını sağlamıştır. Bu açıdan incelendiğinde WES epilepsi gibi yüksek

genetik heterojenite gösteren hastalıklar için zaman ve maliyet açısından oldukça verimli bir tetkik olarak göze çarpmaktadır.

Çalışma kapsamındaki hastalardan üçü (P103, P104, P105) nöbetsiz EEG anomalisinin eşlik ettiği entelektüel yetersizlik grubunda yer almakta olup, bu grupta epilepsi ilişkili moleküler tanı alan olmamıştır (Tablo 2).

Kalan 99 hasta ILAE epilepsi tanımına göre epilepsi tanısı almış olup, epilepsi grubu altında incelenmiştir. Bu hastalardan bir kısmında yalnızca santral sinir sistemi ile sınırlı bir fenotip varken, bir kısmında ise başka sistemik bulgular da bulunmaktadır. Epilepsi grubundaki bu heterojenite nedeniyle hastalar üç veya daha fazla sistemi ilgilendiren bulgu bulundurup bulundurmamasına göre multisistemik ve primer epilepsi şeklinde iki alt grup halinde hasta oranı ve tanısallık verim açısından incelenmiştir. Büyüme (boy kısalığı, aşırı büyüme vb.) bulguları ve dismorfik özellikler de sistemik bulgulardan biri olarak değerlendirilmiştir.

Epilepsi grubundaki hastaların yaklaşık %45'i (46 hasta) multisistemik alt grubunda yer alıyor olup, bu hastalarda WES analizinin epilepsi için tanısallık verimi %47,8 olarak saptanmıştır (Şekil 3).

Kalan 53 hasta primer epilepsi grubu altında incelenmiştir. Bu hastaların 39'unda gelişimsel gecikme, duraklama veya gerileme bulgusu bulunmuş olup bu hastalar "gelişme geriliği ve epilepsi" başlığı altında değerlendirilmiştir. Kalan 14 hastanın nörogelişimsel bir fenotipi olmayıp 9'u fokal epilepsili, 5'i jeneralize epilepsili olarak saptanmıştır. GGE hastalarının %53,8'i, fokal epilepsi hastalarının %44,4'ü moleküler tanı alırken, jeneralize epilepsi hastalarının hiçbirine moleküler tanı konulamamıştır (Şekil 3). Sonuç olarak nöbetsiz EEG anomalili hastalar ile

jeneralize epilepsi hastaları tanı veriminin en düşük olduğu grup olarak bulunmuştur. Jeneralize epilepsi grubundaki bu verimsizliğe; hastalardaki epilepsi etiolojisinin oligogenik veya poligenik/multifaktöriyel nedenlerden kaynaklanması ve bunlara yol açan risk alellerinin yüksek alel frekansı nedeniyle WES analizinde filtrelenmesi neden olabilir. Ayrıca bu gruptaki vaka sayısının düşük olması sebebiyle doğru bir çıkarım yapmak için, yüksek sayıda vaka içeren başka çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Kompleks genomik yeniden düzenlemeler ve metilasyon bozuklukları gibi epigenetik değişikliklerde birden fazla genin ifade profili değişmekte ve genellikle tek gen hastalıklarına göre daha fazla klinik bulgu görülmektedir. Söz konusu genomik anomalilerin rutin WES analizinde tespiti mümkün değildir. Çalışma grubunda yer alan hastalardan; gelişme geriliği bulunan ve santral sinir sistemi sınırlı fenotipi olan GGE grubundaki hastaların tanısal verimi (%53,8), gelişme geriliğine ek olarak başka sistemik bulguları bulunan multisistemik hastalardan (%47,8) daha yüksek saptanmıştır. Bu durum, multisistemik grubundaki tanı alamamış hastaların genetik etiolojisinde kompleks genomik yeniden düzenlemeler veya epigenetik değişikliklerin daha fazla yer alma ihtimalini düşündürmektedir.

Multisistemik olarak değerlendirilen hastaların WES analizinde dört hastada (P20, P55, P65, P92) epilepsi fenotipi harici bulguları açıklayan varyantlar, bir hastada ise (P34) ise yalnızca epileptik/bilişsel fenotipi açıklayan bir varyant saptanmıştır (Tablo 2 ve Tablo 10). Hastaların konulan moleküler tanıları ile ilişkisi kurulamamış olan bulguları, birbirinden bağımsız genetik etiolojiler ile ilişkili

olabileceği gibi (dual fenotip?), hastalık ile ilişkilendirilememiş bulgunun yetersiz vaka sayısı nedeniyle henüz ilişkisi aydınlatılamamış da olabilir.

Epilepsi için moleküler tanı alan 46 hastadan 8'inin (P9, P17, P35, P49, P67, P87, P97, P102) epilepsi etiyolojisi hem genetik hem de metabolik olarak sınıflandırılabilir. Bu hastalardan P9 ve P35 tip 3 seroid lipofusinoz (CLN3), P17 tip 8 seroid lipofusinoz (CLN8), P49 fumaraz eksikliği, P67 serebral folat transport bozukluğu, P87 holokarboksilaz eksikliği, P97 biyotidinaz eksikliği ve P102 fosfoglisarat dehidrogenaz eksikliği tanısı almıştır (Tablo 6). CLN3 ve CLN8 için rutin spesifik bir tedavi bulunmamaktadır. Diğer metabolik hastalıklar için semptomların kontrol altına alınması, nöbet frekansının azaltılması için diyet ve farmakoterapi gibi tedavi seçenekleri mevcut olup, tedavi seçenekleri, hastaların başvuru öncesi aldıkları tedaviler ve tedaviye yanıtları Tablo 12'de gösterilmiştir. Moleküler tanı sonrası hastalarla yeterli iletişim sürdürülemediğinden tanı sonrası güncellenen tedaviler ve tedavilere yanıtları hakkında veri elde edilememiştir. Hastalarda saptanan bu metabolik hastalıkların tamamı resesif kalıtmımlı olup, ebeveyn taşıyıcılığı Sanger dizileme ile gösterilmiş ve yeni çocuk isteyen çiftler prenatal tanıya yönlendirilmiştir. Ek olarak fumaraz eksikliği taşıyıcılarının, leiomyomatozis ve böbrek kanseri riski artmış olduğundan P49'un taşıyıcı ebeveynleri tarama ve takip için ilgili birimlere yönlendirilmiştir (55).

Tablo 12. Metabolik hastalık tanısı alan hastaların başvuru öncesi aldıkları tedaviler ve moleküler tanı sonucuna göre uygulanabilecek tedaviler seçenekleri

Hasta	Hastalık	Hastanın başvuruda aldığı tedavi	Antiepileptik tedaviye yanıt	Tedavi seçeneği
P9	CLN3	Valproat	Dirençli nöbetler	(-)
P17	CLN8	Levetirasetam, Karbamazepin, D vitamini	Nöbet sıklığı tedavi ile azalmış	(-)
P35	CLN3	Valproat, Levetirasetam, Topiramat, Baklofen	Dirençli nöbetler	(-)
P49	Fumaraz eksikliği	Vigabatrin, Fenobarbital, Klobazam, Melatonin, Tetrakosaktid	Dirençli nöbetler	Ketojenik diyet (55)
P67	Serebral folat transport bozukluğu	Valproat, Topiramat	Dirençli nöbetler	Folinik asit (56)
P87	Holokarboksilaz eksikliği	Levetirasetam	Bilinmiyor	Biyotin (57)
P97	Biyotidinaz eksikliği	Tetrakosaktid, Biyotin	Nöbetler kontrol altında	Biyotin (57)
P102	Fosfogliserat dehidrogenaz eksikliği	Levetirasetam ve ismi öğrenilemeyen bir antiepileptik	Nöbetler kontrol altında	L-serin (58)

Altı hasta (P34, P36, P46, P60, P71, P93) OMIM veri tabanında gelişimsel ve epileptik ensefalopati tipleri şeklinde tanımlanmış klinikler için moleküler tanımlar almıştır (Tablo 4). Bunlardan dördü (P36, P46, P60, P71) beyin kanalopatisi mutasyonları taşımakta olup ayrıca tartışılacaktır.

Gelişimsel ve epileptik ensefalopati moleküler tanımlı hastalardan P34’de *CHD2*’de sessiz c.1719G>A (p.Thr573=) (rs1057519228) heterozigot varyantı saptanmıştır (Tablo 4). Saptanan c.1719G>A varyantı daha önce gelişimsel ve epileptik ensefalopati ile ilişkilendirilmiş olup in silico tahmin araçlarınca kırılma bölgesini değiştireceği tahmin edilmektedir. Varyant için ebeveyn çalışması

planlanmış fakat çalışma tamamlanamamıştır. *CHD2*, kromodomain DNA helikaz bağlayıcı protein 2'yi kodlamaktadır. *CHD2* ve bu protein ailesinin ek üyeleri, genomun üç boyutlu mimarisini ve gen ekspresyonunu kontrol eden kromatinin yeniden modellenmesinden sorumludur (59). *CHD2* patojenik varyantlarının büyük çoğunluğu ya proteinin trunkasyonundan ya da tüm genin silinmesiyle gen ekspresyonunun kaybına yol açmaktadır. Patojenik yanlış anlamlı varyantlar, fonksiyonel alanlarda kümelenmekte ve muhtemelen *CHD2*'nin DNA hedeflerine bağlanma ve/veya kromatini yeniden modelleme yeteneğini bozmaktadır. Bu gözlemler, *CHD2* ile ilişkili nörogelişimsel bozuklukların, *CHD2*'nin haploetersizliğinden kaynaklandığını göstermektedir (59). *CHD2* ile ilişkili nörogelişimsel bozukluklar (DEE94; OMIM: # 615369) erken başlangıçlı epileptik ensefalopati ile karakterizedir. Nöbet başlangıcı tipik olarak altı ay ile dört yaş arasındadır. Nöbet türleri tipik olarak; düşme atakları, miyoklonus ve EEG'de jeneralize sivri dalga ile ilişkili çoklu nöbet tiplerinin hızlı başlangıcı, atonik-miyoklonik-absans nöbetleri ve klinik fotosensitiviteyi içerir. Zihinsel yetersizlik ve/veya otizm spektrum bozuklukları yaygındır (59). P34; boy kısalığı, entelektüel yetersizlik, gözlerde istemesiz kayma ve EEG'de fotosensitif tipte jeneralize epileptik bozuk sebebiyle yönlendirilmiş olup; hastanın boy kısalığı hariç bulgularının *CHD2*'de saptanan varyant ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bugüne kadar *CHD2* patojen varyantı bildirilen hastalar beyine sınırlı bir fenotip taşımakta olup bu durum *CHD2*'nin beyine sınırlı bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Fakat *CHD2*'nin insan beynindeki işlevi henüz kesin olarak bilinmemektedir (59). Bu

bilgiler ışığında, P34'deki boy kısalığının saptanan *CHD2* varyantı ile ilişkisi olmadığı düşünülmüştür.

Epileptik ensefalopati ön tanısıyla postnatal 5. ayda yönlendirilen P93'ün WES analizinde *CDKL5*'de heterozigot, olası patojen olarak yorumlanan c.856_866delTACTTGACAGA (p.Tyr286ThrfsTer36) varyantı saptanmıştır (Tablo 4). Saptanan varyant literatürde veya sağlıklı toplum veri tabanlarında bildirilmemiş olup erken sonlanma kodonu yoluyla fonksiyon kaybına yol açması beklenmektedir. *CDKL5* tarafından kodlanan *CDKL5* proteini, esas olarak beyinde (serebral korteks, hipokampus, serebellum, striatum ve beyin sapı), testislerde ve timusta ifade edilen bir proteindir. *CDKL5* seviyeleri, embriyonik kortekste düşük olmakla birlikte perinatal ve postnatal gelişim evrelerinde serebral korteks ve hipokampusta yoğun bir şekilde artmaktadır. Bu ifade profili, proteinin nöronal olgunlaşmadaki rolüyle uyumludur (60). *CDKL5*'in dizi benzerlikleri esas alındığında, proteinin bir kinaz olduğu düşünülmektedir. *CDKL5*'in fosforilasyon hedefleri şu anda büyük ölçüde bilinmemektedir. Bununla birlikte, proteinin in vitro olarak otofosforile olabileceği ve klasik Rett Sendromu hastalarının % 90'ında mutasyona uğrayan metil-CpG bağlayıcı protein 2 (*MECP2*, OMIM: 300005) geninin ürününü fosforile ettiği gösterilmiştir. Bu durum bu iki protein arasında ortak bir sinyal yolu olabileceğini önermektedir (60). Patojenik *CDKL5* mutasyonları Gelişimsel ve epileptik ensefalopati-2 (DEE2; OMIM # 300672)'ye sebep olmaktadır. DEE2, yaşamın ilk aylarında başlayan nöbetler ve zihinsel gelişimde bozulma ve zayıf motor kontrol ile sonuçlanan ciddi global gelişimsel gecikme ile karakterize, X'e bağlı dominant kalıtmı şiddetli nörolojik bir

hastalıktır. Diğer özellikleri arasında konuşma yokluğu, dismorfik yüz özellikleri, uyku bozuklukları, gastrointestinal problemler ve stereotipik el hareketleri bulunmaktadır. Bu özellikleri sebebiyle Rett Sendromu ile örtüşme göstermekle beraber ayrı bir klinik olarak kabul edilmektedir (61). İlk nöbetini postnatal 27. günde miyoklonik tarzda geçiren P93'ün nöbetleri fenobarbital başlanınca karakter değiştirerek devam etmiş ve üçlü antiepileptik tedavi altında hasta günde 1-2 nöbet geçirmekteymiş. Hastaya çekilen EEG'lerde epileptik aktivite saptanmamış olup hastanın başvuru esnasındaki mevcut bulguları (Tablo 2) moleküler tanısını aldığı DEE2 klinik spektrumu ile uyumlu bulunmuştur.

Moleküler tanı konulan hastalardan yedisi (P7, P24, P36, P46, P60, P71, P75) “beyin kanalopatisi” olarak değerlendirilebilecek moleküler tanılar almıştır. Bu hastalardan P7'de *GRIN2B* ve birleşik heterozigot *PIGO* mutasyonları, P24'de *GRIN1*, P36 ve P60'da *SCN1A*, P46'da *SCN2A*, P71'de *KCNQ2* ve P75'de *SCN8A* mutasyonları saptanmıştır (Tablo 7). Hastalarda saptanan mutant genler tarafından kodlanan kanal protein alt birimleri Tablo 13'de özetlenmiştir.

Tablo 13. Kanal mutasyonlarının yer aldığı proteinler

Hasta	Mutasyonlu gen	Kodlanan protein
P7	<i>GRIN2B</i>	NMDA reseptörünün glutamat bağlayan NR2 alt birimlerinden NR2B
P24	<i>GRIN1</i>	NMDA reseptörünün glisin bağlayan NR1 alt birimini
P36, P60	<i>SCN1A</i>	Voltaj kapılı Nav1.1 sodyum kanalının por oluşturan alfa alt birimi
P46	<i>SCN2A</i>	Voltaj kapılı Nav1.2 sodyum kanalının por oluşturan alfa alt birimi
P71	<i>KCNQ2</i>	Voltaj kapılı potasyum kanalı Q alt üyesi 2
P75	<i>SCN8A</i>	Voltaj kapılı Nav1.6 sodyum kanalının por oluşturan alfa alt birimi

P7 ve P24’de glutamerjik sistemi etkileyen sırasıyla *GRIN2B* ve *GRIN1* mutasyonları saptanmıştır.

GRIN2B, ligand kapılı bir NMDA (N-metil-D-aspartik asit) reseptör alt birimi olan NR2’nin bir alt ünitesini kodlamaktadır. Ligand kapılı NMDA reseptörleri, iki glisin bağlayıcı NR1 alt biriminden ve iki glutamat bağlayıcı NR2 alt biriminden oluşan iyon kanallarıdır. NR2 alt birimlerini (*GRIN2A*, *GRIN2B*) etkileyen mutasyonlar, özellikle nörolojik gelişim üzerinde yıkıcı etkiye sahiptir (27). *GRIN2B*’de ki null mutasyonlar hafif-orta entelektüel yetersizliğe sebep olurken, fonksiyon kazandıran yanlış anlamlı mutasyonlar ağır entelektüel yetersizlik ve epileptik ensefalopatilere sebep olmaktadır (27, 62). P7’de saptanan

c.1852G>A(p.Val618Ile) mutasyon daha önce literatürde bildirilmemiş olmasına karşın 618. kodonu etkileyen Val618Gly varyantı ağır entelektüel yetersizlik, diskinetik hareket bozukluğu ve epilepsisi olan bir hastada tanımlanmış ve fonksiyonel çalışmalarla potansiyel fonksiyon kazandırıcı mutasyon olarak önerilmiştir (62). Hastamızda *GRIN2B* mutasyonunun yanı sıra birleşik heterozigot *PIGO* mutasyonları da saptanmıştır. Desteksiz oturması 10. ayda, yürümesi 18. ayda olan hastanın 4 yaş 3 aylıkken yapılan takibinde; 15 kelimesinin olduğu henüz cümle kuramadığı, yaşlıları ile iletişiminin iyi olduğu ve nöbetlerin fenobarbital ile kontrol altında olduğu öğrenilmiştir. Hastanın bulgularının *GRIN2B* Val618Gly varyantını taşıyan hasta kadar ağır olmamasına, hastadaki Val618Ile varyantının fonksiyon kazanımı yerine fonksiyon kaybına yol açıp *GRIN2B* ilişkili daha hafif entelektüel yetersizlik kliniği ile birlikte *PIGO* ilişkili “Mental retardasyon hiperfosfatazya-2” hastalığının ortak fenotipi olarak ortaya çıkmış olması da yol açmış olabilir. Bu durumun aydınlatılabilmesi için Val618Ile varyantı için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

GRIN1, yine bir NMDA reseptörü alt birimi olan, glisin bağlayan NR1'i kodlamaktadır. Bialelik fonksiyon kaybettiren *GRIN1* mutasyonları resesif kalıtmalı hiperkinetik hareketler ve nöbetlerin eşlik edebildiği nörogelişimsel hastalığa (OMIM # 617820), heterozigot mutasyonlar ise dominant kalıtmalı hiperkinetik hareketler ve nöbetlerin eşlik edebildiği nörogelişimsel hastalığa (OMIM # 614254) sebep olmaktadır (63). Her iki hastalığın da fenotipik özellikleri benzer olup ağır gelişme geriliği ve entelektüel yetersizlik, hipotoni, hiperkinetik hareket bozukluğu ve beyin anomalileri ile bazı hastalarda dirençli epilepsiyi kapsamaktadır (63).

P24'de *GRIN1*'de c.1823G>T (p.Trp608Leu) heterozigot varyantı *de novo* olarak saptanmış olup saptanan bu varyant daha önce literatürde veya sağlıklı toplum veri tabanlarında bildirilmemiştir. Hastada novel *GRIN1* varyantı saptanmış olup, hastanın klinik bulgularının tamamı (hipotoni, dirençli epilepsi, uyku bozukluğu, entelektüel yetersizlik, gelişme geriliği, bacaklarda istemsiz hareketler) dominant kalıtmı *GRIN1* ilişkili nörogelişimsel hastalık fenotipik spektrumu içinde yer almaktadır (63).

P36, P46, P60 ve P75'de voltaj kapılı sodyum kanallarının alt birimlerini kodlayan *SCN1A*, *SCN2A* ve *SCN8A* genlerinde mutasyonlar saptanmıştır (Tablo 13). Voltaj kapılı sodyum kanalları (Nav kanalları), büyük bir merkezi por oluşturan alfa alt birimi ve iki küçük yardımcı beta alt biriminden oluşan heteromerik proteinlerdir. Alfa alt birimler (Nav1.1-Nav1.9) 2. kromozom üzerinde bir gen kümesi tarafından kodlanmaktadır. Alfa alt birimler, her biri altı transmembran segmenti (S1-S6) içeren dört homolog domainden (I-IV) oluşmaktadır. Her domainin S5-S6 segmentleri por oluştururken, S4 segmenti voltaj sensörü görevi görmektedir (64).

SCN1A, beyindeki ekspresyonu postnatal 4-5. aylarda zirve yapan sodyum kanal alfa 1 alt birimini (Nav1.1) kodlamaktadır. *SCN1A* mutasyonları basit febril nöbetler ve GEFS+'dan Dravet sendromuna kadar değişen spektrumda nöbet etiyojisine neden olmaktadır. *SCN1A*'daki yanlış anlamlı mutasyonlar GEFS+ kliniğine yol açarken; *de novo* kırılma bölgesi, anlamsız mutasyonlar, çerçeve kayması mutasyonları ve intragenik delesyonlar gibi haplo yetersizliğe yol açan mutasyonlar ve por oluşumunu etkileyen yanlış anlamlı mutasyonlar Dravet

sendromuna sebep olmaktadır. *SCN1A*'nın fonksiyon kaybının nöronal uyarılmayı azaltacağı düşünüldüğünde, *SCN1A* ilişkili epilepsiye, piramidal hücrelerden ziyade inhibitör ara nöronlarda sodyum yoğunluğunun azalmasının neden olduğu düşünülmektedir. (27).

SCN1A, Epi4k çalışmasında epileptik ensefalopatilerde en sık mutasyonu olan gen olarak bulunmuş olup (65), bu araştırmada P36 ve P60 numaralı hastalarda *de novo SCN1A* varyantları saptanmıştır. P60'da saptanan *SCN1A* c.3700C>T (p.Arg1245Ter) varyantı (rs727504136) daha önce ClinVar veri tabanında Dravet sendromu ile ilişkilendirilmiş çoklu bildirimlere sahiptir (ClinVar erişim: VCV000167639.11). Febril nöbetlerle başlayan P60'ın kliniğine, Dravet sendromu spektrumunda görüldüğü gibi, daha sonra afebril miyoklonik ve atonik nöbetler gibi farklı nöbet türleri de eklenmiş olup, otizm spektrum bozukluğu tanısıyla takipli hastanın ilk nöbeti klasik Dravet sendromunda beklenenden biraz daha erken olarak postnatal 3. ayda ortaya çıkmıştır. P36'da saptanan *de novo SCN1A* c.2988_2989insTGC (p.Asn1007_Glu1008insCys) varyantı ise daha önce literatürde bildirilmemiş olup hastanın kliniği Dravet sendromu ile uyumlu bulunmuştur.

SCN2A, doğumda hipokampal ve uyarıcı kortikal nöronların aksonlarında yüksek düzeyde ifade edilen Nav1.2 kanalını kodlamaktadır. Kalıtılan *SCN2A* mutasyonları benign ailesel infantil nöbetler'e yol açarken, *de novo* mutasyonlar epileptik ensefalopatilere yol açmaktadır. *SCN2A* ilişkili nöbetler sıklıkla postnatal ilk haftada ortaya çıkmakla beraber, bilişsel gerileme ve otistik özelliklerin eşlik ettiği çocukluk çağı nöbetleri ile de klinik verebilmektedir. Fonksiyon kazandıran

mutasyonlar neonatal başlangıçlı nöbetlere sebep olup sodyum kanal blokörlerine iyi cevap verirken, fonksiyon kaybettiren mutasyonlar geç başlangıçlı ve sodyum kanal blokörlerine cevapsız olmaktadır. Postnatal 3. günde fokal nöbetleri başlayan ve 4'lü antiepileptik tedaviye rağmen nöbet sıklığı azalmayan, nörogörüntülemesi normal, EEG'de hipsaritmi paterni bulunan, çalışma sınıflandırmasında GGE grubunda yer alan P46'da (Tablo 2) SCN2A'da *de novo* c.1242C>G(p.Phe414Leu) varyantı saptanmış olup (Tablo 4), aynı varyant daha önce infantil başlangıçlı bir epileptik ensefalopati hastasında da *de novo* olarak bildirilmiştir (66).

SCN8A geninin ürünü Nav1.6, yenidoğan döneminde aksonlarda yüksek düzeyde ifade edilmekte ve zamanla Nav1.2 kanalının yerini almaktadır. SCN8A'nın heterozigot yanlış anlamlı mutasyonları, otozomal dominant ailesel benign infantil nöbetlerden (kalıtsal mutasyonlar) epileptik ensefalopatilere kadar değişen bir epilepsi spektrumu ile ilişkilendirilmiştir. Ailesel benign infantil nöbetleri olan hastaların, 2 yaşına kadar kendi kendini sınırlayan fokal ve jeneralize nöbetleri olmakta, daha sonra nöbetler düzelmekte ve nörolojik gelişim hemen hemen tüm vakalarda normal olmaktadır. Bu hastaların bazıları, daha sonra ergenlik döneminden itibaren paroksizmal diskinezi atakları geliştirebilmektedir. SCN8A ile ilişkili ensefalopatide ise global gelişimsel gerilik ve fokal, otonomik belirtilere sahip tonik, klonik, miyoklonik, absans ve epileptik spazmları içeren çoklu dirençli nöbet tipleri görülmektedir. Uyku bozuklukları ve hiper-uyarı durumuna bağlı sık irkilmeler de bildirilmiştir. Ayrıca tedavi edilebilir epilepsi ve hafif kognitif bozukluğu olan bir ara fenotip de tanımlanmıştır. Aynı mutasyona sahip farklı hastalar farklı klinik özellikler gösterebilmekte ve genotip-fenotip korelasyonu net

olarak yapılamamaktadır (27). SCN8A ilişkili, primer epilepsi fenotipinin yanı sıra bazı hastalarda epilepsinin de eşlik edebildiği entelektüel yetersizlik, otizm, hareket bozukluğu kliniği de tanımlanmıştır. Genotip-fenotip korelasyonu net olmamakla beraber fonksiyon kazandıran mutasyonlar epilepsi, fonksiyon kaybettiren mutasyonlar gelişme geriliği, entelektüel yetersizlik ve otizm ile ilişkilendirilmiştir (67).

SCN8A ilişkili epilepsiler otozomal dominant kalıtım modeli göstermesine karşın son zamanlarda resesif kalıtmı SCN8A ilişkili epileptik ensefalopati de tanımlanmıştır. Söz konusu hastalarda ileri düzeyde entelektüel yetersizlik, epilepsi, hipotoni, konstipasyon ve disfaji ortak bulgu olarak bildirilmiş olup bu hastaların nöbet başlangıç yaşları postnatal 0. gün ile 7. ay arasında değişmektedir. Hastaların heterozigot taşıyıcı ebeveynlerinde, hafif kognitif bozukluğun yanı sıra bazılarında epilepsi ile birlikte entelektüel yetersizliği olan akraba öyküsü olduğu bildirilmiştir (68). Sınır entelektüel kapasite, özgül öğrenme güçlüğü, hiperaktivite bozukluğu ve absans nöbetler sebebiyle incelenen P75'in bilinen etkilenmiş aile öyküsü bulunmamaktaydı. P75'in WES analizinde SCN8A'da olası patojen c.2464G>A (p.Gly822Arg) varyantı heterozigot olarak saptanmış olup hasta klinik bulguları ile değerlendirildiğinde varyant ilişkili hastalık SCN8A ilişkili nöbet spektrumunun ara fenotipine uymaktadır. Ebeveyn çalışması sonucu varyantın anneden kalıtıldığı görülmüştür. Ayrıntılı literatür taraması yapılan varyantın, daha önce resesif kalıtmı SCN8A ilişkili epileptik ensefalopati için, başka bir varyant ile birleşik heterozigot konumda olduğu, bu varyantı heterozigot taşıyan ebeveynde hafif kognitif bozukluğun bildirildiği görülmüştür (68). SCN8A ilişkili epileptik

ensefalopati için penetransın tam olduğu, diğer kliniklere sebep olan varyantları taşıyan sağlıklı bireyler bulunduğu için de eksik penetransın olabileceği ileri sürülmüştür (69). Saptanan Gly822Arg varyantının fonksiyonel çalışmalarla kanal fonksiyonunda tam bir kayba neden olabileceği gösterilmiştir (68). P75’de saptanan bu moleküler bulgu başka bir patojen alel ile birleşik heterozigot konumda epileptik ensefalopatiye yol açan SCN8A varyantlarının heterozigot taşıyıcılık durumunda daha hafif bir epilepsi kliniğine yol açabileceği ve epilepsi için eksik penetransa sahip olabileceği fikrini desteklemektedir.

P71’de KCNQ2’de *de novo* c.793G>A (p.Ala265Thr) (rs794727740) varyantı saptanmıştır. Saptanan c.793G>A varyantı; proteinin 5. ve 6. transmembran alanları arasındaki por oluşturan ilmekte yüksek oranda korunmuş bir pozisyonu değiştirmekte olup, ClinVar veri tabanında KCNQ2 ensefalopatisi ile ilişkili çoklu bildirimleri bulunmaktadır (ClinVar erişim: VCV000197891.9). KCNQ2 voltaj kapılı bir potasyum kanalı kodlamaktadır. Potasyum kanalları, por oluşturmak üzere bir araya gelen 4 alfa alt birim ve çeşitli yardımcı alt birimlerden oluşan transmembran proteinlerdir. Potasyum kanalları yapılarına ve kinetiğine göre voltaj kapılı (Kv) kanallar, kalsiyumla aktive olan potasyum kanalları, içe doğru doğrultucu (Kir) kanallar ve tandem gözenekli (K2P) kanallar olarak sınıflandırılmaktadır. Beyin potasyum kanalopatilerinin çoğu, voltaj kapılı potasyum kanallarındaki bozukluklardan kaynaklanmaktadır. Voltaj kapılı potasyum kanallarının her bir alfa alt birimi, altı transmembran segment içermekte, bu segmentlerin dördüncüsü (S4) voltaj sensörü görevi görmektedir. Bu kanallar nöronal depolarizasyona yanıt olarak açılmakta ve aksiyon potansiyelinin sıklığını

ve süresini modüle etmektedir (27). KCNQ2 ile ilişkili bozuklukların klinik özellikleri, hafif uçta KCNQ2 ile ilişkili benign ailesel neonatal epilepsiden (KCNQ2-BFNE) şiddetli uçta KCNQ2 ile ilişkili neonatal epileptik ensefalopatiye (KCNQ2-NEE) kadar değişmektedir (70). KCNQ2-BFNE, sağlıklı bebeklerde yaşamın ikinci ve sekizinci günleri arasında başlayan ve birinci ila altı-on ikinci ay arasında kendiliğinden kaybolan geniş bir nöbet tipi yelpazesi (tonik veya apneik ataklar, fokal klonik aktivite veya otonomik değişiklikler) ile karakterizedir. Motor aktivite bir vücut bölümüyle sınırlı, diğer vücut bölgelerine göç edebilen veya jeneralize olabilmektedir. Nöbetler genellikle kısa, bir ila iki dakika kadar sürmekte, nadiren status epileptikusa dönüşebilmektedir. BFNE'li bireylerin yaklaşık %10-15'i daha sonraki yaşamlarında epileptik nöbetler geliştirmektedir (70). KCNQ2-NEE ise yaşamın ilk haftasında başlayan, çoğunlukla tonik olan, ilişkili fokal motor ve otonomik özelliklerle birlikte çok sayıda günlük nöbetlerle karakterizedir. Nöbetler genellikle dokuz ay ile dört yaş arasında durulmaktadır. Başlangıçta EEG, burst-suppresyon paterni veya multifokal epileptiform aktivite göstermektedir. Erken beyin MRG'de, daha sonra çözülen, bazal gangliyonlarda ve talamusta hiperintensiteler görülebilmektedir. Hastalarda orta ila şiddetli gelişimsel bozukluk olmaktadır (70). P71, 6 yaşında ağır entelektüel ve motor gelişim geriliği ve epileptik ensefalopati nedeniyle tarafımıza yönlendirilmiş olup, nistagmus, alt ekstremitelerde spastisite ve diş eti hipertrofisi mevcuttu. Hastaya değişik zamanlarda çekilen EEG'lerde burst supresyon paterni ve multifokal epileptik bozukluk izlenmekteydi. Hastanın WES analizinde saptanan KCNQ2 c.793G>A varyantı KCNQ2-NEE kliniği ile uyumlu bulunmuştur.

Çalışmada yer alan toplam 102 hastadan 56'sı (~%55) aile çalışması sonrasında da epilepsi için moleküler tanı alamamıştır.

Epilepsi ilişkili moleküler tanı almayan dört hastada (P79, P80, P100, P105), hastaların klinikleri ve sorumlu olan hastalıkların kalıtım modelleriyle uyumlu olası patojene yakın VUS varyantlar saptanmıştır (Tablo 11).

Ebeveynleri arasında dördüncü derece akrabalık bulunan P79; entelektüel yetersizlik ve dismorfik özellikler sebebiyle 8 yaşında yönlendirilmiş olup, motor gelişim geriliği ve ateşe duyarlı nöbetleri bulunmaktaydı. Hastaya yapılan WES analizinde *PIGO*'da homozigot c.1357G>C (p.Gly453Arg) varyantı tespit edilmiş ve ACMG 2015 kriterlerinden PM2, PM3_P ve PP4 ile klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştır. *PIGO* tarafından kodlanan protein (Phosphatidylinositol-Glycan Biosynthesis Class O Protein, PIGO) endoplazmik retikulumda (ER) glikozilfosfatidilinozitol (GPI) biyosentezinde yer almakta ve GPI çekirdeğinin üçüncü mannozuna (Man3) fosfatidiletanolamin (PE) transferinde rol oynamaktadır (71). Bialelik patojen *PIGO* mutasyonlarının sebep olduğu Hiperfosfatazya mental retardasyon sendromu-2 (OMIM: # 614749, HPMRS2) orta ila ciddi derecede gecikmiş psikomotor gelişim, yüz dismorfizmi, brakitelefalanji ve artmış serum alkalin fosfataz (hiperfosfatazya) ile karakterize bir hastalık olup, bazı hastalarda kardiyak septal defektler ve nöbetler görülebilmektedir. Hastalığa glikozilfosfatidilinozitol biyosentez bozukluğu sebep olmaktadır (72). Hastanın geriye dönük serum alkalin fosfataz (ALP) aktiviteleri incelendiğinde normalden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hastanın mevcut klinik, laboratuvar ve moleküler genetik bulguları HPMRS2 kliniği ile uyumlu bulunmuştur.

P80; gelişme geriliği, epilepsi, strabismus ve nefrolitiyazis sebebiyle 19 aylıkken yönlendirilmiş olup ebeveynleri arasında üçüncü derece akrabalık bulunmaktaydı. Yapılan WES analizinde *GPAA1*'de homozigot c.947C>T (p.Ala316Val) varyantı tespit edilmiş ve ACMG 2015 kriterlerinden PM2, PM3_P, PP2 ve PP3 ile klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştır. Bialelik patojen *GPAA1* mutasyonları Glikozilfosfatidilinozitol biyosentez bozukluğu-15 (OMIM # 617810, GPIBD15)'e neden olmaktadır. GPIBD15; gecikmiş psikomotor gelişim, değişken entelektüel yetersizlik, hipotoni, çoğu hastada erken başlangıçlı nöbetler ve serebellar atrofi ile karakterize otozomal resesif bir hastalıktır. Bir diğer glikozilfosfatidilinozitol biyosentez bozukluğu olan HPMRS2'nin aksine serum ALP aktivitesi normal olmaktadır (73).

Gelişimsel gecikme, ataksik yürüme ve 2,5 yaşındaki ilk nöbetiyle beraber regresyon öyküsü bulunan 14 yaşındaki P100'ün EEG'si jeneralize keskin yavaş dalga deşarjlarının eşlik ettiği ESES (yavaş uykuda elektriksel status epileptikus) paterni şeklinde yorumlanmış olup üçlü antiepileptik tedaviye rağmen uykusunda nöbetleri devam etmekteymiş. Ebeveynleri arasında üçüncü derece akrabalık olan hastanın, benzer şekilde etkilenmiş bir kız kardeşi ve iki sağlıklı kardeşi bulunmaktadır. Yapılan WES analizinde *FRRS1L*'de homozigot c.524G>A (p.Ser175Asn) varyantı saptanmış olup varyantın aile çalışması ile etkilenmiş kardeşin homozigot, ebeveynlerin ve sağlıklı kardeşlerin heterozigot taşıyıcı olduğu tespit edilmiştir. Saptanan c.524G>A varyantı ACMG 2015 kriterlerinden PM2, PM3_P, PP1 ve PP3 ile klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştır. Bialelik patojen *FRRS1L* mutasyonları Gelişimsel ve epileptik ensefalopati 37 (OMIM: #

616981, DEE37)'ye neden olmaktadır. DEE37, yaşamın ilk aylarında veya yıllarında inatçı nöbetlerin veya anormal hareketlerin başlaması ile karakterize otozomal resesif epileptik-diskinetik nörolojik bir hastalıktır. Hastalar tipik olarak; erken bebeklik döneminde normal veya sadece gelişimde hafif gecikme bulgularına sahiptir, ancak daha sonra yaklaşık 6 ay ila 2 yaş arasında ortaya çıkabilen nöbetlerin başlamasından sonra gelişimsel gerileme ve durgunluk göstermektedir. Epileptik ensefalopatiye ek olarak, etkilenen bireyler ayrıca koreatetoz, spastisite ve rijidite ile hiperkinetik hareket bozukluğu gösterirler. Ciddi zihinsel gelişim ve işlev bozukluğu, konuşma eksikliği ile sözlü becerilerin kaybı ve istemli hareketlerde bozulma olmaktadır (74). Hastanın klinik bulguları ve c.524G>A varyantın segregasyon paterni varyantın hastalık etmeni olabileceğini kuvvetle düşündürmektedir. Fakat varyant ACMG 2015 kriterlerince yorumlandığında VUS olarak değerlendirilmektedir.

Nöbetsiz EEG anomalili hastalardan P105'de, AGA geninde klinik önemi belirsiz c.617C>T(p.Thr206Ile) varyantı homozigot olarak saptanmıştır. Saptanan varyant ACMG 2015 kriterlerinden PM2, PM3_P ve PP3'ü karşılamış olup, klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştır. Hastadan idrar aspartilglukozamin düzeyi çalışılması planlanmış fakat uygulanamamıştır. Aspartilglukosaminüri (OMIM: # 208400), merkezi sinir sistemini tutan ve iskelet anormalliklerinin yanı sıra bağ dokusu lezyonlarına neden olan ciddi bir otozomal resesif lizozomal depo bozukluğu olup hastaların yaklaşık üçte birinde epileptik nöbetler görülebilmektedir (75). Hastada bulunan EEG anomalisinin aspartilglukosaminüri hastalığı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Güncel literatür verilerinden sağlanan bilgilerle; P79, P80, P100 ve P105’de saptanan varyantların ACMG 2015 sınıflamasına göre olası patojen olarak sınıflamaya yetecek kadar kriter taşımadığı görülmüş olmakla beraber hastaların klinik, laboratuvar, ve görüntüleme bulguları ile moleküler genetik bulgularının birbiriyle oldukça uyumlu olduğu düşünülmüştür. Varyantların zaman içinde artan bilgi birikimi sayesinde olası patojen veya patojen olarak değerlendirilmesi beklenmektedir.

ACMG 2015 varyant değerlendirme kılavuzu, yeni nesil dizileme gibi yüksek sayıda nadir varyant tespit edilen genetik tetkiklerde tespit edilen varyantların yorumlanması için kullanışlı ve yarı objektif kriterler sağlamaktadır. Fakat bu kriterler kullanıcılara göre farklı yorumlanabilmekte olup, yorumlanan varyantlarının patojenitesinin de kesin bir doğruluğu bulunmamaktadır. Çalışmada yer alan hastalarda saptanan varyantların patojenite yorumlaması yapılırken, bazı kriterler hastanın klinik uyumu da göz önünde bulundurularak farklı yorumlanmış olmakla beraber, genel itibariyle ACMG 2015 varyant değerlendirme kılavuzuna sıkı sıkıya bağlı kalınmıştır. P79, P80, P100 ve P105 örneğinde olduğu gibi bu durum bazı hastaların moleküler tanı alamamasına yol açabilmektedir. Bu gibi durumlarda hastanın genetik hastalığının tanısının; hastaların klinik, laboratuvar, görüntüleme ve moleküler genetik bulgularının uyumu, yolak-hastalık mekanizması ve ayırıcı tanıya giren hastalıklar da göz önünde bulundurularak ve mümkünse hastayı takip eden tüm klinik birimlerce ortak bir konseyde tartışılıp konmalıdır. Bu durum epilepsi gibi yüksek genetik ve fenotipik heterojenite içeren

klirikler için çok dikkatli ve titiz yapılmalıdır. Aksi taktirde hastaların yanlış hastalık tanısı almaları da mümkün olabilecektir.

Moleküler tanı almayan hastalardan P63, ağır gelişme geriliği ve epilepsi nedeniyle tarafımıza yönlendirilmiş olup, EEG’si ESES paterni ile uyumlu bulunmuş ve beyin MRG’de periventriküler lökomalazi ve serebellar hipoplazi saptanmıştır (Tablo 2). Hastaya yapılan WES analizinde *TTC1* c.784T>G (p.Phe262Val) homozigot varyantı (rs1060499752) saptanmıştır. Saptanan c.784T>G varyantı daha önce entelektüel yetersizlik, mikrosefali ve beyin anomalileri bulunan bir Türk hastada da homozigot olarak bildirilmiş (76) olup ClinVar veri tabanında “olası patojen” olarak girdisi bulunmaktadır (ClinVar erişim: VCV000402170.1). *TTC1*’in epilepsi ile ilişkisini gösteren başka literatür verisi bulunmadığından varyantın hastanın kliniği ile ilişkisinin net olmadığı d ş n lm ş ve varyant klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştır. Fonksiyonel alışmalar ve yeni vaka bildirimleri ile *TTC1*-epilepsi ilişkisinin ortaya konması mümkün olabilecektir.

Entelektüel gerilik, motor gecikme, epilepsi ve otistik bulguları bulunan P85’in WES analizinde *CADM2*’de homozigot anlamsız c.1276C>T (p.Gln426Ter) varyantı saptanmıştır. *CADM2*, bir milyon SNP için 1402 trio genotipleme yapılan homozigot haplotipleme çalışmasında, otizm için aday gösterilen genlerden biridir (77). *CADM2*, merkezi sinir sisteminin erken postnatal gelişiminde ( zellikle sinaps oluşumu) potansiyel rollere sahip olan ve ağırlıklı olarak gelişmekte olan ve yetişkin beyin nöronlarında eksprese edilen sinaptik hücre adhezyon molekülü (SynCAM) immünoglobulin süper ailesinin bir  yesi olup hem eksitator hem de

inhibitör nöronlarda ifade edilmektedir (77). Kodlanan protein, üç Ig benzeri domaine ve C-terminaline yakın bir sitozolik protein 4.1 bağlanma domainine sahiptir. Protein 4.1 ailesine ait proteinler, spektrine çapraz bağlanmakta ve diğer hücre iskeleti proteinleri ile de etkileşime girmektedir (78). Hastada saptanan anlamsız c.1276C>T varyantı genin son ekzonunda yer almakta olup, kodlanan transkriptin NMD ile yıkıma gitmesi beklenmemekle beraber, proteinin C-terminalinde, protein 4.1 bağlanma domainine oldukça yakın bir bölgenin kaybına yol açması beklenmektedir. Bu kaybın, domain'in fonksiyonunu ve dolayısıyla proteinin diğer proteinlerle etkileşimini etkilemesi muhtemeldir. *CADM2*'de saptanan bu olası fonksiyon kaybının normal nöronal gelişim ve etkileşimi bozarak otizm ve P85'de görüldüğü gibi gelişme geriliği ve epilepsiye yol açmış olması muhtemeldir. *CADM2*-epilepsi ilişkisinin ortaya konması için daha fazla vaka bildirimlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

WES analizi sonucu epilepsisinin etiyolojisi açıklanamayan hastalardan 6'sı epilepsi dışındaki bulgularının bir kısmını veya tamamını açıklayan moleküler tanımları almıştır. Bu hastalardan P12 primer siliyer diskinezi 40 (OMIM: # 618300), P20 okülökutanöz albinizm tip 1B (OMIM: # 606952) , P55 LEOPARD 1 sendromu (OMIM # 151100), P65 optik atrofi artı sendromu (OMIM: # 125250), P92 Anajen saç kaybı ile birlikte Noonan benzeri sendrom (OMIM # 617506) ve P99 Otozomal resesif spastik parapleji 5A (OMIM # 270800) ile dismorfik yüz ve ekstremiteler anomalileri ile birlikte nörogelişimsel hastalık (OMIM # 617755) tanımları almıştır.

P55, noktürnal frontal lob epilepsisi klinik tanısıyla yönlendirilmiş olup yapılan dismorfik muayenede; boy kısalığı, yaygın lentijinöz deri lezyonları ve cafe au lait lekeleri saptanmıştır (Tablo 2). Hastaya yapılan WES analizinde *PTPN11*’de daha önce LEOPARD sendromu ile ilişkilendirilmiş c.1492C>T (p.Arg498Trp) varyantı (rs397507541) saptanmış olup nöbet etiyolojisi ile ilişkili olası patojen/patojen varyant saptanmamıştır. Hastada saptanan bu sonuç hastanın dismorfik bulguları ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. LEOPARD sendromu çoklu lentijinöz cilt lezyonları, hipertrofik kardiyomiyopati, boy kısalığı, pektus deformitesi ve geniş aralıklı gözler ve pitoz dahil olmak üzere dismorfik yüz özelliklerin görüldüğü genetik bir sendromdur (79). LEOPARD sendromu, Ras/mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolunun bileşenlerini veya düzenleyicilerini kodlayan genlerdeki germ hattı mutasyonlarının neden olduğu klinik olarak tanımlanmış sendromlar grubu olarak tanımlanan RASopati sendromlarından biridir (80). Entelektüel etkilenim nadir görülmekle beraber epilepsi beklenmedik bir özelliktir fakat yine aynı RASopati grubunda yer alan Kardiyofasyokutanöz Sendrom’da nöbet bozukluğu görülebilmektedir (79). LEOPARD sendromunda epilepsi yine sendromun beklenmeyen bir özelliği olan şizensefalili bir hastada bildirilmiş olmakla beraber P55’in beyin MRG tetkiği normal olarak saptanmıştır (81). P55’in epilepsisi tespit edilememiş bir genetik etiyolojiye sahip olabileceği gibi *PTPN11*’de saptanan c.1492C>T varyantı ile de henüz ortaya konulmamış bir ilişkisinin olması göz ardı edilemez.

P92’de yine RASopati grubunda yer alan Anajen saç kaybıyla beraber Noonan-benzeri sendrom 2’ ile ilişkilendirilmiş *PPP1CB* c.146C>G (p.Pro49Arg)

varyantı (rs886037952) saptanmıştır (ClinVar erişim: VCV000254648.18). *PPP1CB*'de saptanan c.548A>C (p.Glu183Ala) varyantı daha önce gelişme geriliği ve epilepsi ile ilişkilendirilmiş olmasına karşın (82, 83) vaka sayısındaki yetersizlik sebebiyle *PPP1CB*-epilepsi ilişkisinin net olmadığı ve P92'nin epilepsi fenotipinin tam olarak açıklanamadığı düşünülmüştür. *PPP1CB* mutasyonu bildirilen hastaların sayısı arttıkça *PPP1CB*-epilepsi ilişkisinin netleşmesi mümkün olacaktır.

P65'de *OPA1*'de heterozigot anlamsız c.2815C>T (p.Gln939Ter) varyantı saptanmıştır ve saptanan bu varyantın görme kaybı bulunan babadan kalıtıldığı görülmüştür. *OPA1*, iç mitokondriyal membrana lokalize olan ve mitokondriyal ağın stabilitesi, mitokondriyal biyoenerjetik çıktı ve mitokondriyal krista boşlukları içinde proapoptotik sitokrom c oksidaz moleküllerinin sekestrasyonu dâhil olmak üzere birçok önemli hücresel süreci düzenleyen bir proteini kodlamaktadır (84). *OPA1* mutasyonları hem dominant hem de resesif kalıtım modeli ile mitokondriyal hastalıklara yol açmaktadır. *OPA1* ilişkili tanımlanan ilk hastalık olan Dominant optik atrofi (DOA) (OMIM: # 165500) juvenil başlangıçlı izole optik atrofiye neden olmaktadır. Başlangıç yaşı değişkenlik göstermekte ve eksik penetrans görülebilmektedir (85). Dominant optik atrofi artı (DOA+; OMIM: # 125250)'da ise optik atrofinin yanı sıra çocukluk çağında sensörinöral işitme kaybı ile birlikte değişken derecelerde progresif eksternal oftalmopleji, kas krampları, hiperrefleksi, ataksi ve periferik nöropati görülebilmektedir. DOA+, çocukluktan erişkinliğe kadar değişen başlangıç yaşı göstermektedir (85). *OPA1* ilişkili resesif kalıtmı olarak; ataksi, piramidal belirtiler, spastisite ve entelektüel yetersizlik gibi nörolojik özelliklerin eşlik ettiği erken başlangıçlı optik atrofi ile karakterize Behr sendromu

(OMIM: # 210000) ve benzer ama daha ağır kliniğin görüldüğü Mitokondriyal DNA deplesyon sendromu 14 (OMIM # 616896) tanımlanmıştır.

OPA1'de DOA ve DOA+ kliniklerine neden olan mutasyonlar genellikle farklıdır. *OPA1*'deki haployetersizliğe neden olan mutasyonlar DOA'ya neden olurken, dominant negatif etkili mutasyonlar DOA+'ya neden olmaktadır (85). Fakat *OPA1*'de 1005. kodonu etkileyen c.3013_3014delGA varyantı hem DOA, hem de DOA+'lı hastalarda tanımlanmış olup varyantın 1008. kodonda erken sonlanma kodonuna yol açıp kodlanan proteinden 11 aminoasit eksilmesine yol açması beklenmektedir (86). P65'de saptanan *OPA1* c.2815C>T (p.Gln939Ter) varyantı yalnızca optik atrofi bulunan babadan kalıtılmış olup, hem DOA hem de DOA+ kliniği ilişkili olabilecek bir varyant olabileceği tarafımızca önerilmektedir.

Nöbet, mitokondriyal hastalıklarda görülebilen bir bulgu olmakla beraber *OPA1* mutasyonlarının nöbet etiyolojisi ile ilişkisi net değildir. Literatürde oksipital lob epilepsisi ve retinoensefalopati bir hastada sağlıklı anneden kalıtılan *OPA1* c.796 G>A (p.Asp266Asn) varyantı bildirilmiş olmakla beraber yetersiz veri sebebiyle P65'de saptanan varyantın epilepsi ilişkisi net olmadığı düşünülmüştür (87). Hastanın klinik bulguları DOA+ kliniğinden beklenenden erken başlangıçlı olup, hastada ek olarak hipotoni ve motor gelişim gecikmesi öyküsü de mevcuttur (Tablo 2). Bu duruma hastada WES ile saptanamamış olası ikinci bir *OPA1* mutasyonu yol açmış olabilir, fakat hastada resesif *OPA1* ilişkili kliniklerde görülen spastisite ve ekstrapiramidal bulgular gözlenmemiştir. *OPA1* varyantının yalnızca optik atrofi ve işitme kaybı bulguları ile ilişkili olup epilepsi, hipotoni ve motor gecikmenin tespit edilememiş başka genetik etiyolojisinin olması da ihtimaller

dâhilindedir. OPA1 mutasyonlu yeni vaka bildirimlerinin bu durumu aydınlatmaya yardım edeceği düşünülmektedir.

Hiperfosfatazya ve abasans nöbetleri sebebiyle 2 yaşında tarafımıza yönlendirilen P99'da; Otozomal resesif herediter spastik parapleji 5A (OMIM: # 270800)'ya sebep olan homozigot *CYP7B1* c.1250G>A (p.Arg417His) (rs121908611) varyantı ile birlikte Dismorfik yüz ve distal ekstremitte anomalileri ile birlikte nörogelişimsel hastalık (NEDDFL, OMIM: # 270800) kliniği için olası patojen olarak yorumlanan heterozigot *BPTF* c.7214C>A (p.Ser2405Ter) varyantı saptanmıştır. Herediter spastik paraplejilerde nöbet kliniği görülebilmekle beraber *CYP7B1* ilişkili spastik parapleji 5A'da bildirilmemiştir (88). *CYP7B1* tarafından kodlanan sitokrom P450-7B1, 7 α -hidroksilasyon yoluyla kolesterol türevleri dehidroepiandrosteron ve ilgili hidoksisteroidler için birincil metabolik yol ve karaciğerde safra asit sentezi için alternatif yol sağlamaktadır (88). Bialelik *CYP7B1* varyantları aynı zamanda konjenital safra asit sentez bozukluğu 3 (OMIM: # 613812)'e neden olmaktadır. Spastik parapleji 5A'nın başlangıç yaş aralığı bir ila 47 aralığında olup, hastanın spastisite-kas güçsüzlüğü bulgularının olmayışı sebebiyle hastada saptanan c.1250G>A varyantının şimdilik hastadaki sadece hiperfosfatazya kliniği ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Hastanın spastik parapleji gelişip gelişmeyeceği yönünden takibe alınarak izlenmesi uygun olacaktır. *BPTF*'de saptanan anlamsız c.7214C>A (p.Ser2405Ter) varyantının ise erken sonlanma kodonu yolu ile transkriptin NMD'ye gideceği tahmin edilmiştir. P99 tanı aldığı tarihte patojen *BPTF* varyantlarının sebep olduğu ve az sayıda hasta tanımlanmış NEDDFL kliniğinin epilepsi ile ilişkisi bilinmemekteydi. Fakat

bildirilen vaka sayısının artmasıyla birlikte, NEDDFL tanısı alan hastalarda nöbetlerin de görülebildiği anlaşılmış ve hastanın nöbet etiyolojisinin *BPTF*'de saptanan c.7214C>A (p.Ser2405Ter) varyantı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (89).

WES çalışması ile tanı alamayan 5 hastada (P22, P58, P63, P81, P84) ise otozomal resesif hastalıklar için yalnızca bir heterozigot patojen varyant saptanmıştır. Söz konusu hastalıklarda, heterozigot taşıyıcılarda klinik bulgu beklenmemektedir. Saptanan varyantların sebep olduğu hastalıkların hastaların kliniği ile kısmen örtüşme gösterdiği tespit edilmiştir. Bu duruma, WES analizinin hastaların hastalıktan sorumlu ikinci varyantını gösterememiş olması yol açmış olabileceği gibi hastaların varyantları tesadüfi olarak saptanmış taşıyıcılıklar olup sorumlu mekanizmanın, WES'in tespit edemediği başka bir durum olması da muhtemeldir. WES analizinde sorumlu varyantların tespit edilememesinin nedenlerinden biri de P63'de önerildiği gibi saptanan değişikliğin, henüz hastalığa yol açtığına dair yeterli bir kanıtın bulunmaması da olabilmektedir.

Yeni nesil dizileme teknolojileri, mendelyen kalıtmı hastalıklar için güçlü bir tanı aracı olmakla birlikte, tanısal verim %30-50 aralığında olup birçok hastada klinik önemi belirsiz varyantlar saptanmaktadır (5). Bu varyantlar zamanla artan bilgi birikimi sayesinde benign veya patojen olarak değerlendirilebilmektedir. Epilepsi gibi yüksek genetik heterojenite gösteren bir kliniğin incelendiği bu araştırmada, moleküler tanı almayan hastaların birçoğunda klinik önemi belirsiz varyantlar saptanmıştır. Moleküler tanı almayan fakat VUS varyantları bulunan 39 hastanın toplam 82 VUS varyantı, WES rapor tarihinden en az 6 ay sonra güncel

literatür verisi ile tekrar değerlendirilmiş ve bir hastada (P34) ilk analizinde VUS olarak değerlendirilen bir varyant olası patojen olarak değerlendirilmiştir. P34’de *CHD2*’de sinonim c.1719G>A (p.Thr573=) varyantı saptanmış olup, bu varyant sağlıklı popülasyon veri tabanlarında bulunmamaktadır. İn siliko tahmin araçlarınca, kırılma bölgesini bozacağı tahmin edilen varyant için ClinVar veri tabanında, belirtilmemiş bir klinik için “olası patojen” girdisi bulunmaktaydı (ClinVar erişim: VCV000374747.8). Aile çalışması yapılamayan bu varyant mevcut veriler ile ilk analizde klinik önemi belirsiz olarak yorumlanmıştı. Yeniden yorumlama yapıldığı tarihte varyant için ClinVar’da gelişimsel ve epileptik ensefalopati-94 için bir “patojen” girdinin daha yapılmış olduğu görülmüş ve bu bilgiler ışığında varyant olası patojen olarak yorumlanmıştır. Saptanan bu durum, VUS varyantların belirli aralıklarla yeniden yorumlanmasının tanısal verimi artırabileceğine dair kanıt sunmaktadır.

Çözülmemiş vakalarda WES verilerinin sistematik tekrar analizi de nadir hastalıklar için tanısal verimi artırabilmektedir (90). The Epilepsy Genetics Initiative (EGI) tarafından yapılan; 96’sı trio, 43’ü proband temelli olmak üzere çözülmemiş 139 epilepsi vakasının yeniden değerlendirildiği bir çalışmada 8 vaka daha moleküler tanı almıştır. Bu vakalardan 6’sında, ilk analizde sorumlu genin epilepsiye yol açtığına dair yeterli kanıt bulunamamış olup; 2’sinin varyantları raporlanmamış, 4’ünün varyantları ise VUS olarak raporlanmıştır. Kalan 2 vaka ise, varyantlarının daha önce epilepsi ile ilişkilendirilmiş olan *SCN8A*’nın sonradan ortaya konan, alternatif ekzon 5 A üzerindeki etkisinin tespiti sayesinde çözülmüştür (91). Bu araştırmada, çalışma kapsamında olmadığından çözülmemiş

vakaların WES verilerinin yeniden analizi yapılmamıştır. Fakat epilepsi gibi yeni gen keşiflerinin hızla arttığı bir klinik için, WES verilerinin yeniden analizinin de tanısal verimi artıracağı aşikârdır.

Rutin WES analizi ile yapısal kromozom anomalileri, CNV'ler, DNA dizisini etkilemeyen genetik değişiklikler (imprinting hataları, UPD vb.), dinamik mutasyonlar, kodlamayan bölge mutasyonları (derin intronik, düzenleyici bölge, intergenik vb.) ve mitokondriyal DNA mutasyonları tespit edilmemektedir (47). Söz konusu genetik anomalilerin, gen ifadenmesini bozup hastalık oluşturma potansiyeli bulunmaktadır. Yine belirli bir doku ile sınırlı mozaik varyantların, periferik kandan izole edilen DNA ile tespiti mümkün olmamaktadır ve beyin sınırlı mozaik varyantların epilepsi etiyolojisinde rolü olabileceği gösterilmiştir (2). Çalışmada yer alan hastalar, WES analizine dâhil edilmeden önce patojen CNV'ler açısından array CGH ile değerlendirilmiş olmakla beraber, array CGH ile tespit edilemeyecek küçük CNV'lerin de hastalık oluşturma potansiyeli bulunmaktadır. Bu CNV'lerin tespiti için optik haritalama, MLPA gibi özel genetik test yöntemleri gerekmektedir. Çalışmada moleküler tanı almayan hastaların epilepsi etiyolojisinde WES ile tespit edilemeyen söz konusu mekanizmaların yer alma ihtimalinin yanı sıra, etiyolojinin ortaya konulamamış edinsel bir durumla da ilişkili olma ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır.

Sanger dizi analizi sonuçlanma süresi; ebeveyn DNA örneği teminindeki gecikmeler, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) optimizasyon süreci ve artan hasta yükü sebebiyle bazı hastalar için bir yıla kadar uzamıştır. Segregasyon sürecindeki bu uzamalar, hastaların tanı sürecini ve dolayısıyla tedavi, takip ve genetik

danışmanlığı ertelemiştir. Yine birçok hastada ebeveynlik çalışması yapılmamış ve bu hastalarda *de novo* olarak saptanan varyantlar için ACMG 2015 kriterlerinden “güçlü” PS2 kriteri yerine “orta” PM6 kriteri kullanılmıştır. Bu açıdan incelendiğinde anne-baba-proband trio WES çalışması bu gibi problemlerin önüne geçerek tanı sürecinin hızlı tamamlanması için iyi bir yöntem olarak düşünülebilmektedir. Trio analiz, sadece proband analizinde önceliklendirilen varyantları için değil, tüm varyantlar için *de novo* verisi sağlayacağı ve ek ebeveynlik çalışmasına gerek olmayacağı için tanı sürecini hızlandırmanın yanı sıra tanısal verimi de artırması beklenmektedir. Fakat trio analizin maliyetli olması ve tetkikin geri ödemesindeki problemlerden ötürü epilepsi hastalarına yalnızca proband temelli WES analizi yapılmıştır.

Çalışmaya dâhil olan hastaların bir kısmı detaylı öykü, görüntüleme bulguları ve klinisyen görüşü ile refere edilirken, bazı hastalarda bu bilgiler kısıtlı kalmıştır. WES laboratuvar çalışmaları ve WES verilerin oluşturulma ve analize hazır hale getirilme süreci hastalara göre farklılık göstermiştir. EK-3’de tarif edilen genel bir analiz algoritması izlenmekle beraber, hastaların WES analizleri farklı klinik genetikçiler tarafından yapılmış, filtreleme ve analiz tercihlerindeki küçük farklılıklar varyant önceliklendirme ve aile çalışması planlanmasını da muhtemelen etkilemiştir. Ek olarak aile çalışması planlanan varyantların bir kısmının çalışması tamamlanamamış, aile çalışması yapılan varyantların büyük bir kısmı için de ebeveynlik testi yapılamamıştır. Retrospektif olarak planlanan ve uygulanan mevcut araştırma, bu nedenlerden ötürü istenilen düzeyde objektif bilgi sağlayamamıştır. Minimum standart bir klinik bilgi içerecek şekilde prospektif

olarak planlanan, WES laboratuvar çalışması ve analiz protokolü standart olan ve mümkünse anne-baba-ocuk trio olarak çalışılan yüksek sayıda vaka içeren benzer çalışmaların epilepsi genetiği hakkında daha çok ve gveniler veriler sağlaması beklenmektedir.



6. SONUÇLAR

Yapılan bu çalışmada epilepsi veya nöbetsiz EEG anormalisi ile birlikte entelektüel yetersizliği olan 102 hastanın klinik bulguları WES analiz sonuçları ile birlikte değerlendirilmiş ve aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Hastaların %45'ine moleküler tanı konmuştur. Bu sonuç WES analizinin epilepsinin genetik etiolojinin tespiti için kuvvetli bir tanı aracı olduğunu doğrulamaktadır.
- Araştırmada yer alan hastaların yaklaşık dörtte birinin benzer şekilde etkilenmiş akraba öyküsü olduğu tespit edilmiş ve epilepsi ilişkili hastalıkların kalıtılabilirliğinin yüksek olduğu çıkarımı yapılmıştır.
- Ebeveylere akraba evliliği öyküsünün, resesif kalıtmalı epilepsiler için ek risk oluşturmaya rağmen tanısal verimi artırmadığı gözlenmiş ve epilepsi için resesif kalıtmalı daha birçok hastalığın keşfedilmeyi beklediği çıkarımı yapılmıştır.
- Epilepsinin genetik etiolojisinin ortaya konmasının hasta yönetimine katkıları vurgulanmıştır.
- Çalışmada yer alan 24 hastada 26 novel patojen/olası patojen saptanmış olup varyantların sorumlu tutulduğu fenotipler klinisyenlerin erişimine sunulmuştur.
- Varyant patojenitesi yorumlamada ACMG 2015 varyant değerlendirme kılavuzuna sıkı sıkıya bağlı kalmanın tanısal verimi olumsuz etkileyebileceği görülmüş ve genetik hastalıklar tanı merkezlerinin bazı

durumlarda bu kılavuzu esas almak yerine destekleyici olarak kullanmasının uygun olabileceği önerilmiştir.

- Bazı klinik önemi belirsiz varyantların zaman içinde artan bilgi birikimi sayesinde hastalık ile ilişkisinin netleşebildiği, az vaka sayısı sebebiyle epilepsi ile ilişkisi net olmayan tanısı konmuş bazı hastalıkların da artan vaka sayıları sayesinde epilepsi ile ilişkili olabileceği mevcut çalışma özelinde de görölmüştür.

KAYNAKLAR

1. WHO. Epilepsy 2019 [cited 2021 Sept 9]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy#>
2. Perucca P, Bahlo M, Berkovic SF. The Genetics of Epilepsy. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2020;21:205-30.
3. Thomas RH, Berkovic SF. The hidden genetics of epilepsy—a clinically important new paradigm. *Nature Reviews Neurology.* 2014;10(5):283.
4. Helbig I, Abou Tayoun AN. Understanding genotypes and phenotypes in epileptic encephalopathies. *Molecular syndromology.* 2016;7(4):172-81.
5. Sánchez Fernández I, Loddenkemper T, Gaínza-Lein M, Sheidley BR, Poduri A. Diagnostic yield of genetic tests in epilepsy. *Neurology.* 2019;92(5):e418-e28.
6. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia.* 2014;55(4):475-82.
7. Öztürk Ş. Dünya Epilepsi Günü: Türk Nöroloji Derneği Basın Açıklaması 2020 [cited 2021 Jan 24]. Available from: <https://www.noroloji.org.tr/haber/353/dunya-epilepsi-gunu-turk-noroloji-dernegi-basin-aciklamasi>.
8. Newton CR, Garcia HH. Epilepsy in poor regions of the world. *The Lancet.* 2012;380(9848):1193-201.

9. Serdaroglu A, Ozkan S, Aydin 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):271-4.
10. Gastaut H. Clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1970;11:102.
11. Gastaut H, Caveness, W.F., Landolt, W., Lorentz de Haas, A.M., McNaughton, F.L., Magnus, O., Merlis, J.K., Pond, D.A., Radermecker, J., Storm van Leeuwen, W. A proposed international classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1964;5:297–306.
12. Proposal for Revised Clinical and Electroencephalographic Classification of Epileptic Seizures. 1981.
13. Falco-Walter JJ, Scheffer IE, Fisher RS. The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res*. 2018;139:73-9.
14. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):512-21.
15. Hildebrand MS, Dahl H-HM, Damiano JA, Smith RJ, Scheffer IE, Berkovic SF. Recent advances in the molecular genetics of epilepsy. *Journal of medical genetics*. 2013;50(5):271-9.
16. Vezzani A, Fujinami RS, White HS, Preux P-M, Blümcke I, Sander JW, et al. Infections, inflammation and epilepsy. *Acta neuropathologica*. 2016;131(2):211-34.

17. Parikh S, Jr R., N.D., De Vivo, D.C. Chapter 31: Epilepsy in the Setting of Inherited Metabolic and Mitochondrial Disorders. 2015:388-407.
18. Correll CM. Antibodies in epilepsy. Current neurology and neuroscience reports. 2013;13(5):348.
19. Ottman R, Annegers JF, Hauser WA, Kurland LT. Seizure risk in offspring of parents with generalized versus partial epilepsy. *Epilepsia*. 1989;30(2):157-61.
20. Annegers J, Hauser W, Anderson V, Kurland L. The risks of seizure disorders among relatives of patients with childhood onset epilepsy. *Neurology*. 1982;32(2):174-.
21. Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Annals of neurology*. 1998;43(4):435-45.
22. Vadlamudi L, Andermann E, Lombroso C, Schachter S, Milne R, Hopper JL, et al. Epilepsy in twins: insights from unique historical data of William Lennox. *Neurology*. 2004;62(7):1127-33.
23. Steinlein OK, Mulley JC, Propping P, Wallace RH, Phillips HA, Sutherland GR, et al. A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 4$ subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nature genetics*. 1995;11(2):201-3.
24. Singh NA, Charlier C, Stauffer D, DuPont BR, Leach RJ, Melis R, et al. A novel potassium channel gene, KCNQ2, is mutated in an inherited epilepsy of newborns. *Nature genetics*. 1998;18(1):25-9.
25. Claes L, Del-Favero J, Ceulemans B, Lagae L, Van Broeckhoven C, De Jonghe P. De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe

myoclonic epilepsy of infancy. The American Journal of Human Genetics. 2001;68(6):1327-32.

26. Myers C, Mefford H. Advancing epilepsy genetics in the genomic era. Genome Med. 2015; 7: 91.

27. Bartolini E, Camprostrini R, Kiferle L, Pradella S, Rosati E, Chinthapalli K, et al. Epilepsy and brain channelopathies from infancy to adulthood. Neurological Sciences. 2020;41(4):749-61.

28. Dagli AI, Mueller J, Williams CA. Angelman syndrome. GeneReviews®[internet]. 2017.

29. Allen AS, Bellows ST, Berkovic SF, Bridgers J, Burgess R, Cavalleri G, et al. Ultra-rare genetic variation in common epilepsies: a case-control sequencing study. The Lancet Neurology. 2017;16(2):135-43.

30. Corbett MA, Bellows ST, Li M, Carroll R, Micallef S, Carvill GL, et al. Dominant KCNA2 mutation causes episodic ataxia and pharmacoresponsive epilepsy. Neurology. 2016;87(19):1975-84.

31. Shaw M, Winczewska-Wiktor A, Badura-Stronka M, Koirala S, Gardner A, Kuszel Ł, et al. EXOME REPORT: novel mutation in ATP6V1B2 segregating with autosomal dominant epilepsy, intellectual disability and mild gingival and nail abnormalities. European journal of medical genetics. 2020;63(4):103799.

32. Mullen SA, Carvill GL, Bellows S, Bayly MA, Berkovic SF, Dibbens LM, et al. Copy number variants are frequent in genetic generalized epilepsy with intellectual disability. Neurology. 2013;81(17):1507-14.

33. Dibbens LM, Mullen S, Helbig I, Mefford HC, Bayly MA, Bellows S, et al. Familial and sporadic 15q13. 3 microdeletions in idiopathic generalized epilepsy: precedent for disorders with complex inheritance. *Human molecular genetics*. 2009;18(19):3626-31.
34. Consortium E, Consortium E, Steffens M, Leu C, Ruppert A-K, Zara F, et al. Genome-wide association analysis of genetic generalized epilepsies implicates susceptibility loci at 1q43, 2p16. 1, 2q22. 3 and 17q21. 32. *Human molecular genetics*. 2012;21(24):5359-72.
35. Consortium TILAE. Genetic determinants of common epilepsies: a meta-analysis of genome-wide association studies. *The Lancet Neurology*. 2014;13(9):893.
36. Consortium TILAE. Genome-wide mega-analysis identifies 16 loci and highlights diverse biological mechanisms in the common epilepsies. *Nature communications*. 2018;9.
37. Perucca P. Genetics of focal epilepsies: what do we know and where are we heading? *Epilepsy currents*. 2018;18(6):356-62.
38. Peljto AL, Barker-Cummings C, Vasoli VM, Leibson CL, Hauser WA, Buchhalter JR, et al. Familial risk of epilepsy: a population-based study. *Brain*. 2014;137(3):795-805.
39. Christensen J, Pedersen MG, Pedersen CB, Sidenius P, Olsen J, Vestergaard M. Long-term risk of epilepsy after traumatic brain injury in children and young adults: a population-based cohort study. *The Lancet*. 2009;373(9669):1105-10.

40. Ye Z, McQuillan L, Poduri A, Green TE, Matsumoto N, Mefford HC, et al. Somatic mutation: the hidden genetics of brain malformations and focal epilepsies. *Epilepsy research*. 2019;155:106161.
41. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, et al. 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):676-85.
42. Howell KB, Eggers S, Dalziel K, Riseley J, Mandelstam S, Myers CT, et al. A population-based cost-effectiveness study of early genetic testing in severe epilepsies of infancy. *Epilepsia*. 2018;59(6):1177-87.
43. Annegers JF, Hauser WA, Shirts SB, Kurland LT. Factors prognostic of unprovoked seizures after febrile convulsions. *New England Journal of Medicine*. 1987;316(9):493-8.
44. Zhang Y-H, Burgess R, Malone JP, Glubb GC, Helbig KL, Vadlamudi L, et al. Genetic epilepsy with febrile seizures plus: refining the spectrum. *Neurology*. 2017;89(12):1210-9.
45. Vadlamudi L, Milne RL, Lawrence K, Heron SE, Eckhaus J, Keay D, et al. Genetics of epilepsy: the testimony of twins in the molecular era. *Neurology*. 2014;83(12):1042-8.
46. Wiebe S. *Goldman-Cecil Medicine*. 26 ed 2019. p. 2358-70.
47. Wallace SE, Bean LJ. Educational Materials—Genetic Testing: Current Approaches. *GeneReviews®*[Internet]: University of Washington, Seattle; 2020.

48. Wojcik A. Genetic Testing and Epilepsy 2019 [cited 2021 Feb 15]. Available from: <https://www.epilepsy.com/learn/epilepsy-due-specific-causes/genetic-causes-epilepsy/genetic-testing-and-epilepsy>.
49. Golyala A, Kwan P. Drug development for refractory epilepsy: The past 25 years and beyond. *Seizure*. 2017;44:147-56.
50. Sheidley BR, Smith LA, Helbig KL. Genetics of Epilepsy in the Era of Precision Medicine: Implications for Testing, Treatment, and Genetic Counseling. *Current Genetic Medicine Reports*. 2018;6(2):73-82.
51. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. 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):405-23.
52. Sezer A, Kayhan G, Koç A, Ergün MA, Perçin FE. Warburg Micro Syndrome 1 due to Segmental Paternal Uniparental Isodisomy of Chromosome 2 Detected by Whole-Exome Sequencing and Homozygosity Mapping. *Cytogenetic and Genome Research*. 2020;160(6):309-15.
53. Hitomi Y, Heinzen EL, Donatello S, Dahl HH, Damiano JA, McMahon JM, et al. Mutations in TNK2 in severe autosomal recessive infantile onset epilepsy. *Annals of neurology*. 2013;74(3):496-501.
54. Tatton-Brown K, Rahman N. Sotos syndrome. *European Journal of Human Genetics*. 2007;15(3):264-71.

55. Coman D, Kranc KR, Christodoulou J. Fumarate hydratase deficiency. 2020.
56. Steinfeld R, Grapp M, Kraetzner R, Dreha-Kulaczewski S, Helms G, Dechent P, et al. Folate receptor alpha defect causes cerebral folate transport deficiency: a treatable neurodegenerative disorder associated with disturbed myelin metabolism. *The American Journal of Human Genetics*. 2009;85(3):354-63.
57. Wolf B. Biotinidase deficiency. 2016.
58. Jaeken J, Detheux M, Van Maldergem L, Foulon M, Carchon H, Van Schaftingen E. 3-Phosphoglycerate dehydrogenase deficiency: an inborn error of serine biosynthesis. *Archives of Disease in Childhood*. 1996;74(6):542-5.
59. Carvill G, Helbig I, Mefford H. CHD2-related neurodevelopmental disorders. 2015.
60. Bahi-Buisson N, Bienvenu T. CDKL5-related disorders: from clinical description to molecular genetics. *Molecular syndromology*. 2011;2(3-5):137-52.
61. Fehr S, Wilson M, Downs J, Williams S, Murgia A, Sartori S, et al. The CDKL5 disorder is an independent clinical entity associated with early-onset encephalopathy. *European Journal of Human Genetics*. 2013;21(3):266-73.
62. Platzer K, Yuan H, Schütz H, Winschel A, Chen W, Hu C, et al. GRIN2B encephalopathy: novel findings on phenotype, variant clustering, functional consequences and treatment aspects. *Journal of medical genetics*. 2017;54(7):460-70.
63. Platzer K, Lemke JR. GRIN1-related neurodevelopmental disorder. 2019.

64. Catterall WA. Structure and function of voltage-gated sodium channels at atomic resolution. *Experimental physiology*. 2014;99(1):35-51.
65. Epi4K, Investigators E. De novo mutations in the classic epileptic encephalopathies. *Nature*. 2013;501(7466):217.
66. Wei C-M, Xia G-Z, Ren R-N. Gene mutations in unexplained infantile epileptic encephalopathy: an analysis of 47 cases. *Zhongguo Dang dai er ke za zhi= Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. 2018;20(2):125-9.
67. Liu Y, Schubert J, Sonnenberg L, Helbig KL, Hoei-Hansen CE, Koko M, et al. Neuronal mechanisms of mutations in SCN8A causing epilepsy or intellectual disability. *Brain*. 2019;142(2):376-90.
68. Wengert ER, Tronhjem CE, Wagnon JL, Johannesen KM, Petit H, Krey I, et al. Biallelic inherited SCN8A variants, a rare cause of SCN8A-related developmental and epileptic encephalopathy. *Epilepsia*. 2019;60(11):2277-85.
69. Hammer MF, Wagnon JL, Mefford HC, Meisler MH. SCN8A-related epilepsy with encephalopathy. 2016.
70. Miceli F, Soldovieri MV, Joshi N, Weckhuysen S, Cooper E, Taglialetela M. KCNQ2-related disorders. *GeneReviews®[Internet]*. 2018.
71. Hong Y, Maeda Y, Watanabe R, Inoue N, Ohishi K, Kinoshita T. Requirement of PIG-F and PIG-O for transferring phosphoethanolamine to the third mannose in glycosylphosphatidylinositol. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(27):20911-9.
72. Krawitz PM, Murakami Y, Hecht J, Krüger U, Holder SE, Mortier GR, et al. Mutations in PIGO, a member of the GPI-anchor-synthesis pathway, cause

hyperphosphatasia with mental retardation. The American Journal of Human Genetics. 2012;91(1):146-51.

73. Nguyen TTM, Murakami Y, Sheridan E, Ehresmann S, Rousseau J, St-Denis A, et al. Mutations in GPAA1, encoding a GPI transamidase complex protein, cause developmental delay, epilepsy, cerebellar atrophy, and osteopenia. The American Journal of Human Genetics. 2017;101(5):856-65.

74. Madeo M, Stewart M, Sun Y, Sahir N, Wiethoff S, Chandrasekar I, et al. Loss-of-function mutations in FRRS1L lead to an epileptic-dyskinetic encephalopathy. The American Journal of Human Genetics. 2016;98(6):1249-55.

75. Arvio M, Mononen I. Aspartylglycosaminuria: a review. Orphanet journal of rare diseases. 2016;11(1):1-10.

76. Karaca E, Harel T, Pehlivan D, Jhangiani SN, Gambin T, Akdemir ZC, et al. Genes that affect brain structure and function identified by rare variant analyses of Mendelian neurologic disease. Neuron. 2015;88(3):499-513.

77. Casey JP, Magalhaes T, Conroy JM, Regan R, Shah N, Anney R, et al. A novel approach of homozygous haplotype sharing identifies candidate genes in autism spectrum disorder. Human genetics. 2012;131(4):565-79.

78. Elektronik Veritabanı: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>.

79. Gelb BD, Tartaglia M. Noonan syndrome with multiple lentigines. 2015.

80. Rauen KA. The rasopathies. Annual review of genomics and human genetics. 2013;14:355-69.

81. Liang J-S, Chien Y-H, Hwu W-L, Yeh S-J, Peng S-F. Schizencephaly in LEOPARD syndrome. Pediatric neurology. 2009;41(1):71-3.

82. Lin C-H, Lin W-D, Chou I-C, Lee I-C, Fan H-C, Hong S-Y. Epileptic spasms in PPP1CB-associated Noonan-like syndrome: a case report with clinical and therapeutic implications. *BMC neurology*. 2018;18(1):1-6.
83. Hong S-Y, Yang J-J, Li S-Y, Lee I-C. A Wide Spectrum of Genetic Disorders Causing Severe Childhood Epilepsy in Taiwan: A Case Series of Ultrarare Genetic Cause and Novel Mutation Analysis in a Pilot Study. *Journal of Personalized Medicine*. 2020;10(4):281.
84. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Gorman G, Lourenco C, Wright A, Auer-Grumbach M, et al. Multi-system neurological disease is common in patients with OPA1 mutations. *Brain*. 2010;133(3):771-86.
85. de La Barca JMC, Prunier-Mirebeau D, Amati-Bonneau P, Ferré M, Sarzi E, Bris C, et al. OPA1-related disorders: diversity of clinical expression, modes of inheritance and pathophysiology. *Neurobiology of disease*. 2016;90:20-6.
86. Chen S, Zhang Y, Wang Y, Li W, Huang S, Chu X, et al. A novel OPA1 mutation responsible for autosomal dominant optic atrophy with high frequency hearing loss in a Chinese family. *American journal of ophthalmology*. 2007;143(1):186-8. e1.
87. Nass RD, Hansen N, Quesada C, Rüber T, Kornblum C, Zsurka G, et al. Retinoencephalopathy with occipital lobe epilepsy in an OPA-1 mutation carrier. *Seizure-European Journal of Epilepsy*. 2019;66:1-3.
88. Fink JK. Hereditary spastic paraplegia: clinico-pathologic features and emerging molecular mechanisms. *Acta neuropathologica*. 2013;126(3):307-28.

89. Glington KE, Hurst AC, Bowling KM, Cristian I, Haynes D, Adstamongkonkul D, et al. Phenotypic expansion of the BPTF-related neurodevelopmental disorder with dysmorphic facies and distal limb anomalies. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2021;185(5):1366-78.
90. Nambot S, Thevenon J, Kuentz P, Duffourd Y, Tisserant E, Bruel A-L, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of rare disorders with congenital anomalies and/or intellectual disability: substantial interest of prospective annual reanalysis. *Genetics in Medicine*. 2018;20(6):645-54.
91. Initiative EG, Berkovic SF, Goldstein DB, Heinzen EL, Laughlin BL, Lowenstein DH, et al. The epilepsy genetics initiative: systematic reanalysis of diagnostic exomes increases yield. *Epilepsia*. 2019;60(5):797-806.

8. ÖZET

Epilepsi, beyin hücrelerinde ortaya çıkan anormal elektriksel aktiviteye bağlı epileptik nöbetlerle karakterize kronik nörolojik bir hastalık olup etiolojisinde genetik faktörler ağırlıklı olarak rol oynamaktadır. NGS teknolojileri, epilepsi genetik etiolojisini aydınlatmada kullanılan kuvvetli tanı araçlarıdır. NGS'in yaygın kullanımı sayesinde çoğu az sayıda hastada tanımlanmış yüzlerce epilepsi geni bulunmuştur. Vaka sayısının az olması sebebiyle bu genlerle ilişkili hastalıkların bulgularının çeşitliliği hakkında kısıtlı veri bulunmaktadır ve tanımlanacak her vakanın bulgu spektrumuna önemli katkılar yapması beklenmektedir.

Mevcut çalışmada, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı WES arşivinde 2017-2020 yılları arasında yer alan epilepsili veya nöbetsiz EEG anomalili 102 hasta, klinik bulguları ve epilepsi türlerine göre farklı fenotipik alt gruplara ayrılmış ve demografik, klinik ve moleküler genetik sonuçları ile birlikte değerlendirilmiştir.

Çalışmadaki hastaların %37'sinde ebeveyn akrabalığı ve yaklaşık dörtte birinde benzer şekilde etkilenmiş akraba öyküsü bulunduğu saptanmıştır. WES analizi ile hastaların %45'ine tanı konulmuş olmakla beraber fenotipik alt gruplarda tanı oranlarının değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Mevcut sonuçlar epilepsi ilişkili hastalıklarının kalıtılabilirliğinin yüksek olduğunu göstermenin yanı sıra, WES analizinin epilepsi genetik tanısında kuvvetli bir tanı aracı olduğunu vurgulamaktadır. Çalışma alt grupları arasında farklı tanı oranları saptanmış olup, etiyojilerinde WES ile tespit edilemeyecek alternatif

genetik mekanizmaların farklı oranlarda bulunabileceğini düşündürmektedir. Birçok hastada konulan moleküler tanılar; tedavi seçeneği, prognoz, tekrarlama riski gibi genetik danışmanlık bilgilerinin yanı sıra, etkilenmiş aile bireylerinin de tanı almasını sağlamış ve tekrarlama riski yüksek durumlarda prenatal tanı seçeneği sunmuştur. Bu durum, WES analizinin genetik etiyoloji düşünölen epilepsilerde hasta yönetiminin önemli bir parçası olması gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Epilepsi, WES, Arşiv Çalışması

9.SUMMARY

Epilepsy is a chronic neurological disease characterized by epileptic seizures due to abnormal electrical activity in brain cells, while genetic factors play a predominant role in its etiology. NGS technologies are powerful diagnostic tools in elucidating the genetic etiology of epilepsy. Thanks to the widespread use of NGS, hundreds of epilepsy genes have been identified; however, the number of cases defined for many of these genes is quite low. Due to the small number of cases, there is limited data on the diversity of manifestations of diseases associated with these genes, and therefore each case to be defined is expected to contribute significantly to the spectrum of manifestations of the disease.

In this study, 102 patients with epilepsy or seizure-free EEG anomalies in the WES archive of Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics between 2017-2020 were divided into different phenotypic subgroups according to their clinical findings and epilepsy types; and evaluated together with their demographic, clinical and molecular genetic results.

It was found that 37% of the patients in the study had parental consanguinity, and about a quarter of patients had a history of affected relatives. Although 45% of the patients were diagnosed with WES analysis, it was determined that the diagnosis rates varied in phenotypic subgroups.

The results show that the heritability of epilepsy-related diseases is high and, WES analysis is a powerful diagnostic tool in the genetic diagnosis of epilepsy. Different diagnosis rates were found among the study subgroups, suggesting that alternative genetic mechanisms that cannot be detected by WES may role at

different rates in their etiologies. In many patients, molecular diagnoses provided genetic counseling information such as treatment options, prognosis, risk of recurrence, as well as diagnosis of affected family members, and offered prenatal diagnosis in cases with a high risk of recurrence. This indicates that WES analysis should be an important part of epilepsy patients' management with suspected genetic etiology.

Key Words: Epilepsy, WES, Archival Study

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Mustafa Hakan

Soyadı: Demirbaş

Doğum Yeri ve Tarihi: TRABZON 02/10/1992

Eğitimi:

2017-2021: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim

Dalında Araştırma Görevlisi Doktor

2010-2016: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

2006-2010: Trabzon Kanuni Anadolu Lisesi

1998-2006: Trabzon Mimar Sinan İlköğretim Okulu

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Tıbbi Genetik Derneği

Bilimsel Etkinlikleri

Ulusal bilimsel toplantılarda bildiri kitaplarında basılan sözlü sunumlar:

- 1) Demirbas M. H., Ozbudak P., Serdaroglu A., Percin, E.F.; A novel mutation in HECW2 gene resulting neurodevelopmental disorder with hypotonia, seizures, and absent language, Erciyes Tıp Genetik Günleri, 2019, Kayseri.
- 2) Demirbas M. H., Kayhan G., Cinaz P., Yalcın M.M., Doger E., Percin, E.F.; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda incelenen santral hipogonadizimli hastaların tüm ekzom dizileme (WES) analizi sonuçları, 14. Uluslararası Katılımlı, Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi (Online), 2020.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1) Kayhan, G., Demirbas, M.H., Percin, E.F.; Deletion of the SOX3 gene causes panhypopituitarism: A case report, 13. Uluslararası Katılımlı, Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 2018, Antalya.

2) Gundogdu-Ogutlu, O.B., Sezer A., Demirbas, M.H., Kayhan G., Percin E.F.; Kutis laksa tanımlı iki kardeşin olgu sunumu, 1. Bursa Uluslararası Katılımlı Genetik Günleri Dermatogenetik Sempozyumu, 2020, Bursa.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1) Demirbas, M.H., Habioglu E., Ergun, M.A., Percin E.F., Yirmibes-Karaoguz, M.; A mosaic double aneuploidy: mos 45,X/47,XX,+18/46,XX with mild phenotype, 51st European Society of Human Genetics Conference: Electronic Posters, 2018, Milano.

2) Demirbas, M.H., Sezer A., Gucuyener K., Percin E.F.; Two siblings with Infantile-onset multisystem neurologic, endocrine, and pancreatic disease, IMNEPD: a case report, 13th Balkan Congress of Human Genetics, 2019, Edirne.

3) Demirbas M. H., Ozbudak P., Serdaroglu A., Ergun M.A., Percin, E.F; A rare etiology of epileptic encephalopathy: HECW2 mutations, 52nd European Society of Human Genetics Conference, 2019, Gothenburg.

Katıldığı Kongre / Sempozyum /Kurslar

1) Erciyes Tıp Genetik Günleri, 2017, Kayseri

2) Genetikte Güncel Tedaviler Sempozyumu, 2017, Eskişehir

3) 51st European Society of Human Genetics (ESHG) Conference, 2018, Milano

- 4) Erciyes Tıp Genetik Günleri, 2019, Kayseri
- 5) 13th Balkan Congress of Human Genetics, 2019, Edirne
- 6) 52nd European Society of Human Genetics Conference, 2019, Gothenburg
- 7) 2. Genetikte Güncel Tedaviler Sempozyumu, 2018, Konya
- 8) 2. Online Kanser Genetiği Kursu, 2020
- 9) 14. Uluslararası Katılımlı, Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi (Online), 2020
- 10) Preimplantasyon "Genetik" Tanı, Online, 2021
- 11) Dismorfoloji Kursu, Online, 2021

11. EKLER

11.1. Çalışmanın Etik Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU							
ETİK KURUL İLETİŞİM BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi (GÜ) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu					
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık (GÜTF) Binası 06500 Beşevler/Ankara					
	TELEFON	0312 202 69 58					
	FAKS	0312 202 46 73					
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr					
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında 2017-2020 yılları arasında tüm egzom dizileme (WES) analizi yapılmış epilepsi ve/veya EEG anomali bulunan hastaların retrospektif analizi					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVAN/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ferda Emriye PERÇİN					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı / GÜTF					
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)						
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Dosya ve görüntü kayıtları kullanılarak yapılan retrospektif çalışmalar veya arşiv taramaları – Uzmanlık tezi					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐		
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	04.05.2020	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐					
	BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU	☐					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 349	Toplantı tarihi: 22.05.2020					
	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında 2017-2020 yılları arasında tüm egzom dizileme (WES) analizi yapılmış epilepsi ve/veya EEG anomali bulunan hastaların retrospektif analizi başlıklı başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemlerinin incelenerek uygun bulunduğuna GÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.						
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU							
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI				İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu			
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI				Prof. Dr. D. Berrin GÜNAYDIN			
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırmayla İlişkisi	Katılım	İmza	
Prof. Dr. D. Berrin GÜNAYDIN BAŞKAN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Farmakoloji Bilim Dr.	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof. Dr. Gülten TAÇOY BAŞKAN YARD.	Kardiyoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		

Doç. Dr. İlyas OKUR BİLDİRİMDEN SORUMLU ÜYE	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Ç.Met. Beslenme Bilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nevzat YÖKSEL ÜYE	Psikiyatri Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN ÜYE	Tabii Genetik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nuriye ÖZDEMİR ÜYE	İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tabii Onkoloji Bilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL ÜYE	Tabii Biyokimya Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Hasan BOSTANCI ÜYE	Genel Cerrahi Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Murat UÇAR ÜYE	Radyoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Gülşen S. ÖZTÜRK FİNCAN ÜYE	Tabii Farmakoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi A. Mahrem SEVGİLİ ÜYE	Tabii Fizyoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Uzm. Dr. Emine AVCI ÜYE	Halk Sağlığı	Halk Sağlığı Genel Müd.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Araç Güç. Dr. Fahri Erdem KAŞAK ÜYE	Hukukçu	Hacı Bayram Veli Üniv.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
1 Nöbet EKŞİ ÜYE	Sivil Temsilci	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

11.2. EK-2: Veri Toplama Formu

Hasta kodu:

İlk başvuru yaşı:

Cinsiyet:

DNA izolasyon yöntemi:

Çalışma tarihi:

WES platformu:

Analiz Yöntemi:

Etkilenen başka aile bireyi:

Akrabalık:

Grup:

Genetik sonuç:

Sekonder genetik sonuç:

BULGULAR:

Büyüme:

-

Nörolojik:

-

Baş-Boyun:

-

Solunum:

-

Genitoüriner:

-

GİS:

-

İskelet:

-

Kardiyovasküler:

-

Endokrin:

-

Cilt:

-

Kronik hastalık-ameliyat

-

Fizik Muayene:

-

Kraniyal görüntüleme:

-

EEG:

-

Diğer görüntüleme:

-

11.3. EK-3: Moleküler Genetik Tetkikler ve Verilerin Analizi

11.3.1. Moleküler Genetik Tetkikler İçin Kullanılacak DNA'nın İzolasyonu

WES için kullanılacak DNA, hastaların Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuru tarihine göre tuzla çöktürme yöntemi, MagNA Pure LC 2.0 cihazında MagNA Pure LC DNA isolation kit 1 veya Qiagen EZ1 Advanced XL cihazında EZ1 DNA Blood 200µL kit kullanılarak üç farklı şekilde izole edilmiştir. Her bir hasta için kullanılan DNA izolasyon yöntemi EK-4'te yer almaktadır.

Hastalardan izole edilen DNA'lar WES laboratuvar çalışması başlayıncaya kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

11.3.2. WES analizi

11.3.2.1. WES Verilerin Oluşturulması

2017-2018 arasında WES analizine dâhil edilen hastaların 14'ünün WES laboratuvar çalışması Ion torrent S5 XL (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) platformunda, kalan hastaların laboratuvar çalışması MGISEQ-2000 (BGI Inc., Shenzhen, China) platformunda yapılmıştır. Ion torrent S5 XL platformunda WES çalışması Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim dalında yapıp ham veri oluşturulmuştur. MGISEQ-2000 platformunda WES çalışması Genoks Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'nde yapılmış olup, veri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim dalında analiz edilmiştir.

Hizmet sunucu firmadan alınan bilgiye göre, MGISEQ-2000 platformundan elde edilen Fastq dosyaları Burrows–Wheeler Aligner (BWA, <http://bio->

bwa.sourceforge.net) kullanılarak referans genomu (Hg19 - Human genome 19) haritalandırılmıştır. Daha sonra oluşan SAM dosyası PICARD TOOLS ile koordinatlarına göre sıralanıp, duplike okumalar işaretlenmiştir. İndel'ler GATK kullanılarak yeniden lokalize edilip BAM dosyası oluşturulmuştur. Hedef BED dosyası kullanılarak GATK HaplotypeCaller (v3.7) ile SNP ve indel varyant çağırma dosyaları oluşturulmuştur. SNP ve indel dosyaları filtrelenip birleştirilerek tek bir dosya haline getirilip Variant call format (vcf) dosyaları oluşturulmuştur.

Ion torrent S5 XL platformundan elde edilen ham veriler Ion Reporter™ (versiyon: 5.4) yazılımı ile fastq dosyası haline getirilmiştir. Daha sonra Hg19'a göre haritalandırılıp BAM dosyası ve oluşan BAM dosyasından da VCF dosyası elde edilmiştir.

Hastalara göre kullanılan dizileme platformu EK-4'de yer almaktadır.

11.3.2.2. WES Verilerinin Analizi

Hastalara ait WES verilerinin analizi vcf dosyalarından başlanarak; Microsoft Excell 2016 (64 bit sürüm), VarAFT version 2.15/2.16 veya Ingenuity® Variant Analysis™ yazılımları kullanılarak yapılmıştır. Hastalara göre kullanılan analiz yöntemleri EK-3'te yer almaktadır. Analiz yöntemlerine ait ayrıntılı bilgi aşağıda yer almaktadır.

11.3.2.2.1. Microsoft Excell 2016 Yazılımı ile Analiz

Hastalara ait vcf dosyaları wANNOVAR (<http://wannovar.wglab.org/>) kullanılarak hg19'a göre anote edilip text message (txt) formatında anote vcf elde

edilmiştir. Anote vcf, Microsoft Excell 2016 yazılımında açılmıştır. Ayrıntılı analizden önce tüm hastalarda “ClinVar_SIG” sütununda patojen veya olası patojen olarak bulunan hastanın kliniği ile ilişkili olabilecek varyantlar önceliklendirilmiştir.

Ayrıntılı analizin ilk basamağında GnomAD genome minör alel frekansı (MAF) $\leq$ %0.1 olan varyantlar seçilmiştir. Sonra hem “Func.refGene” sütunundaki “exonic”, “exonic;splicing” ve “splicing” dışında kalan bölgeler filtrelenmiştir. Daha sonra “ExonicFunc.refGene” sütununda “synonymus SNV” harici tüm seçenekler işaretlenerek kalan varyantlar ayrı bir sayfaya kopyalanmıştır. Ayrı sayfaya kopyalanan tüm varyantlara, güncel morbid OMIM genleri ile ilişkilendirilmiş fenotipler kullanılarak, fenotipik filtreleme yapılmıştır. Analiz edilen hastanın kliniği ile ilişkili genlerde bulunan varyantlar önceliklendirilmiştir. Analiz, homozigot ve heterozigot varyantlar için tarif edilen şekilde ayrı ayrı yapılmıştır.

Önceliklendirilen tüm varyantlar ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) 2015 kriterlerine (ACMG 2015) göre “patojen”, “olası patojen”, “klinik önemi belirsiz”, “olası benign” veya “benign” olmak üzere beş farklı kategori de sınıflandırılmıştır. Sınıflandırılan varyantlardan “patojen”, “olası patojen” veya “klinik önemi belirsiz” kategorisinde değerlendirilen varyantlar raporlanmıştır.

11.3.2.2.2. Ingenuity® Variant Analysis™ Yazılımı ile Analiz

Hastalara ait vcf dosyaları, web tabanlı ingenuity variant analysis (<https://variants.qiagenbioinformatics.eu/va>) yazılımına dosyalara barkod numarası verilerek yüklenmiştir. Analizin ilk adımında “My Sample” sekmesinde görüntülenen hasta seçilerek analize başlanmıştır. Açılan ekranda “Case” kısmına hasta verisi yüklenmiş, “Control” kısmı boş bırakılmıştır. Sonraki basamakta analiz tasarımı “Genetic disease” olarak seçilmiştir. Daha sonra açılan sekmede hastanın klinik bulgularına uygun HPO terimleri seçilerek analiz başlatılmıştır.

Yazılım, seçilen terimlerle analizi tamamladıktan sonra “My Analyses” sekmesinde görüntülenen hasta verisine çift tıklanarak analiz açılmıştır. Analizin ilk adımında filtre sekmesindeki “add filter” ikonuna tıklanarak yeni “Common Variants” filtresi açılmıştır. Bu filtre ile gnomAD genom minör alel frekansı (MAF) ≤ 0.1 dışında kalan varyantlar filtrelenmiştir. Daha sonra yine “add filter” ikonuna tıklanarak “predicted deleterious” filtresi açılmıştır. Filtreler sonucunda önceliklendirilen varyantlar ACMG 2015 kriterlerine göre yorumlanmıştır.

11.3.2.2.3. VarAFT Yazılımı ile Analiz

Hastalara ait vcf dosyaları, VarAFT yazılımı anotasyon aracı kullanılarak anote edilmiştir. Analiz, VarAFT analiz ve filtreleme aracı kullanılarak yapılmıştır. Analizin ilk basamağında CLINSIG sütununda patojen veya olası patojen olarak bulunan hastanın kliniği ile ilişkili olabilecek varyantlar önceliklendirilmiştir. Ayrıntılı analizde, “Frequency” sekmesinde, GnomAD genome minör alel frekansı (MAF) ≤ 0.1 olan varyantlar seçilmiştir. Daha sonra, “Variant type” sekmesinde

ekzonik ve kırılma bölgesi dışında kalan varyantlar ile birlikte sinonim (TR) varyantlar filtrelenerek gizlenmiştir. Kalan varyantlar, “Genes Information” sekmesinde klinikle ilişkili insan fenotip ontolojisi (Human Phenotype Ontology - HPO) ve OMIM genleri seçilerek filtrelenmiştir. Kalan varyantlardan klinik bulgularla ilişkili olabilecek olanlar önceliklendirilmiştir. Önceliklendirilen tüm varyantlar ACMG 2015 kriterlerine göre yorumlanmıştır.

11.3.2.3. WES Analiz Verilerinin Konfirmasyonu ve Klinik Önemi Belirsiz Varyantların Aile Çalışması

2017-2018 yılında laboratuvar çalışması yapılan hastaların raporlanacak aday varyantları Sanger dizileme ile doğrulandıktan sonra rapora yansıtılmıştır. Yine aile çalışması ile sınıflaması değişebilecek klinik önemi belirsiz varyantların aile çalışması, probandı da içerecek şekilde Sanger dizileme ile yapılmıştır.

11.4. EK-4: Hastalara göre DNA İzolasyonu, WES Laboratuvar Çalışması ve Analiz Yöntemi

Hasta	DNA izolasyon	WES platformu	Analiz
P1	TUZ	S5	Excell 2016
P2	TUZ	S5	Excell 2016
P3	TUZ	S5	Excell 2016
P4	TUZ	S5	Excell 2016
P5	TUZ	S5	Excell 2016
P6	TUZ	S5	Excell 2016
P7	TUZ	S5	Varaft
P8	TUZ	MGI-Seq	Excell 2016
P9	TUZ	MGI-Seq	Excell 2016
P10	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P11	TUZ	MGI-Seq	Excell 2016
P12	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P13	TUZ	MGI-Seq	Excell 2016
P14	TUZ	MGI-Seq	IVA
P15	TUZ	MGI-Seq	Excell 2016
P16	Magnapure	S5	Excell 2016
P17	Magnapure	S5	Excell 2016
P18	Magnapure	S5	Varaft
P19	Magnapure	S5	IVA
P20	Magnapure	S5	Varaft
P21	EZ1	S5	Varaft
P22	Magnapure	S5	Varaft
P23	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P24	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P25	TUZ	MGI-Seq	IVA
P26	Magnapure	MGI-Seq	IVA
P27	TUZ	MGI-Seq	Excell 2016
P28	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P29	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P30	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P31	TUZ	MGI-Seq	Varaft

P32	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P33	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P34	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P35	EZ1	MGI-Seq	Excell 2016
P36	Magnapure	MGI-Seq	IVA
P37	Magnapure	MGI-Seq	Excell 2016
P38	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P39	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P40	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P41	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P42	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P43	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P44	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P45	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P46	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P47	EZ1	MGI-Seq	IVA
P48	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P49	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P50	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P51	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P52	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P53	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P54	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P55	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P56	TUZ	MGI-Seq	IVA
P57	TUZ	MGI-Seq	IVA
P58	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P59	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P60	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P61	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P62	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P63	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P64	EZ1	MGI-Seq	IVA
P65	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P66	EZ1	MGI-Seq	IVA
P67	EZ1	MGI-Seq	Varaft

P69	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P70	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P71	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P72	TUZ	MGI-Seq	Excell 2016
P73	TUZ	MGI-Seq	Excell 2016
P74	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P75	TUZ	MGI-Seq	Varaft
P76	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P77	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P78	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P79	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P80	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P81	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P82	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P83	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P84	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P85	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P86	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P87	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P88	Magnapure	MGI-Seq	Varaft
P89	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P90	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P91	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P92	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P93	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P94	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P95	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P96	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P97	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P98	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P99	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P100	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P101	EZ1	MGI-Seq	Varaft
P102	EZ1	MGI-Seq	Varaft

11.5. EK-5: Aile Çalışması Yapılan Hastalar, Varyantlar ve Çalışma Öncesi ve Sonrası Patojenite Yorumları

Hasta	Varyant	Segragasyon/Yorum	Kriter	Ek kriter
P1	1)RAB3GAP1 c.664delC (p.Pro222fs) HOM 2)UNC80 c.1459C>A (p.Pro487Thr) HOM (PT/UPD-2)	1)(PT HET/UPD-2) / PAT=>PAT 2)(PT HET/UPD-2) / VUS=>VUS	1)PVS1,PM2,PM3_P	1) (-)
P2	1)AP4E1 c.685T>C (p.Tyr229His) HET 2) AP4E1 c.1910C>T (p.Ala637Val) HET	1)PT / VUS=>VUS 2)MAT / VUS=>VUS	1)PM2 2)PM2	1) (-) 2) (-)
P3	(-)			(-)
P4	(-)			(-)
P5	(-)			(-)
P6	1)VRK1 c.1072C>T p.(Arg358Ter) HOM	1)MAT-PT / PAT=>PAT	1)PVS1,PM2,PP5	1) (-)
P7	1)PIGO c.1944C>G (p.Cys648Trp) HET 2)PIGO 2708_2710del (p.Phe903del) HET 3)GRIN2B c.1852G>A (p.Val618Ile) HET	1)MAT / VUS=>OPAT 2)de novo/ VUS=>PAT 3)de novo/ OPAT=>PAT	1)PM2,PM3,PP3,PP4 2)PS2,PM2,PM4,PP3,PP4 3)PM1,PM2,PM5,PP3	1)PM3 2)PS2,PM3 3)PS2
P8	1)CREBBP c.4268dupC (p.Pro1424)fs HET	1)de novo / OPAT=>PAT	1)PVS1,PM2	1)PS2
P9	1)CLN3 c.849G>A (p.Trp283Ter) HOM	1)MAT/PT /PAT=>PAT	1)PVS1,PM2,PM3_P	1) (-)
P10	1)CHD8 c.6746C>T (p.Thr2249Ile) HET 2)PTEN c.386G>C (p.Ser129Thr) HET	1)MAT / VUS=>VUS 2)PT VUS=>VUS	1)PM2 2)PM2	1) 2)BS4
P11	1)MEF2C c.158delA (p.Lys53Sfs) HET 2)IFIH1 c.376G>A (p.Val126Met) HET 3)SCN9A c.3917C>T (p.Ala1306Val) HET	1)de novo / OPAT=>PAT 2)MAT / VUS=>VUS 3)MAT / VUS=>VUS	1)PVS1,PM2 2)PM2 3)PM2,PP3	1)PM6, 2) (-) 3) (-)
P12	1)DNAH9 c.4549C>T (p.Arg1517Ter) HOM	1)MAT/PT /PAT=>PAT	1)PVS1,PM2,PM3_P	1) (-)
P13	1)NCAPD2 c.181G>T (p.Asp61Tyr) HOM	1)MAT/PT / VUS=>VUS	1)PM2,PM3_P	1) (-)
P14	(-)			
P15	1)HECW2 c.4484G>A (p.Arg1495Lys) HET 2)HNRNPU c.310A>G (p.Met104Val) HET	1)de novo / VUS=>OPAT 2)MAT / VUS=>OBEN	1)PM2,PM5,PP2 2)PM2,BP4	1)PM6 2)BS4

P16	1)PHF8 c.206+2T>C (p.?) HEM	1)MAT /PAT=>PAT	1)PVS1,PM2	1) (-)
P17	1)CLN8 c.202G>C (p.Ala68Pro) HOM	1)MAT / OPAT=>OPAT	1)PM1,PM2,PM3_P,PP2,PP3	1) (-)
P18	1)SCN3A c.2077A>G (p.Met693Val) HET	1)PT / VUS=>VUS	1)PM2	1)BS4
P19	1)ALG13 c.1762-8dupT (p.?) HET	1)PT / VUS=>OBEN	1)PM2,BP4	1)BS4
P20	1)TYR c.98A>C (p.Lys33Thr) HET 2)TYR c.1037-7T>A HET	1)MAT / OPAT=>OPAT 2)PT / OPAT=>PAT	1)PM1,PM2,PP2,PP3 2)PM2,PP3,PP5_S	1)PM3 2)PM3
P21	1)COL4A1 c.1552C>T (p.Pro518Ser) HET 2)CASR c.2551T>A (p.Cys851Ser) HET	1)PT / VUS=>VUS 2)PT / VUS=>VUS	1)PM1_P,PM2,PP3 2)	1)BS4
P22	(-)			
P23	1)UFM1 c.-155_-153delTCA HOM	MAT-PT / OPAT=>OPAT	1)PS3,PM2,PM3_P	1) (-)
P24	1)GRIN1 c.1823G>T (p.Trp608Leu) HET	1)de novo / OPAT=>OPAT	1)PM1,PM2,PP2,PP3	1)PM6
P25	(-)			
P26	1)COL4A1 c.1580A>G (p.Lys527Arg) HET 2)HCN1 c.128C>A (p.Pro43Gln) HET 3)SETBP1 c.946G>A (p.Asp316Asn) HET	1)PT / VUS=>VUS 2)MAT / VUS=>OBEN 3)MAT / VUS=>OBEN	1)PM2,PP2,PP3 2)PM2,BP4 3)PM2,BP4	1) (-) 2)BS4 3)BS4
P27	1)COL4A1 c.G3610A (p.Gly1204Arg) HET	1)de novo / OPAT=>OPAT	1)PM2,PM5,PP2,PP3	1)PM6
P28	1)EIF2B5 c.584G>A (p.Arg195His) HOM	1)MAT-PT / VUS=>VUS	1)PM2,PM3_P,PM5,PP2,PP5	1) (-)
P29	1)PTRH2 c.269_270del (p.Ala90fs) HOM	1)MAT-PT / PAT=>PAT	1)PVS1,PM2,PM3_P,PP5	
P30	1)PLP1 c.641C>A (p.Ala214Asp) HEM	1)MAT / OPAT=>OPAT	1)PM1,PM2,PP2,PP3	1) (-)
P31	1)AUTS2 c.742+9delC (p.?) HET 2)CLTC c.4945G>A (p.Val1649Ile) HET	1)PT / VUS=>OBEN 2)PT / VUS=>OBEN	1)PM2,BP4 2)PM2,BP4	1)BS4 2)BS4
P32	(-)			
P33	1)KCNQ2 c.2029C>T (p.Arg677Trp) HET	1)MAT / VUS=>VUS	1)PM2,PP3	1)BS4
P34	(-)			
P35	1)CLN3 c.551G>A (p.Trp184Ter) HOM	1)MAT-PT /PAT=>PAT	1)PVS1,PM2,PM3_P	1) (-)
P36	1)SCN1A c.2988_2989insTGC (p.Asn1007_Glu1008insCys) HET	1)de novo OPAT=>OPAT	1)PM1,PM2,PM4	1)PM6
P37	(-)			
P38	(-)			

P39	1)JAM2 c.698-2A>G (p.?) HOM	1)MAT-PT /PAT=>PAT	1)PVS,PM2,PM3_P	1) (-)
P40	1)QARS1 c.1758+1G>T (p.?) HOM	1)MAT-PT /PAT=>PAT	1)PVS1,PM2,PM3_P	1) (-)
P41	1)CASK c.1648G>T (p.Glu550Ter) HET 2)DHX30 c.659G>A (p.Arg220Lys) HET 3)SETBP1 c.548A>G (p.Glu183Gly) 4) KMT5B c.2069C>T (p.Tyr536Cys)	1)de novo / OPAT=>PAT 2)MAT / VUS=>OBEN 3)PT/ VUS=>VUS 4)MAT / VUS=>VUS	1)PVS1,PM2 2)PM2,BP4 3)PM2,PP3 4)PM2,PP3	1)PS2 2)BS4 3)BS4 4)BS4
P42	1)CUL4B c.1927C>T (p.Gln643Ter) HEM	1)MAT / OPAT=>OPAT	1)PVS1,PM2	1) (-)
P43	(-)			
P44	1)NBEA c.6807-8A>C (p.?) HET 2)PHACTR1 c.71C>G (p.Ala24Gly) HET	1)PT / VUS=>OBEN 2)MAT / VUS=>OBEN	1)PM2,BP4 2)PM2,BP4	1)BS4 2)BS4
P45	(-)			
P46	1)SCN2A c.1242C>G (p.Phe414Leu) HET	1)de novo / OPAT=>PAT	1)PM1,PM2,PP2,PP3	1)PS2
P47	1)GRIN2D c.1380C>A (p.Val460=) HET 2)ATRAX c.1331G>A (p.Arg444Gln) HEM	1)MAT / VUS=>OBEN 2)Yapılmadı	1)PM2, BP7 2)PM2, BP4	1)BS4
P48	1)FBXO11 c.c.389_390delTT (p.Phe130fs) HET	(-)	1)PVS1,PM2	(-)
P49	1)FH c.1127A>C (p.Gln376Pro) HOM	1)MAT-PT / PAT=>PAT	1)PS3,PM1,PM2,PM3,PP2,PP3	(-)
P51	1)KDM6B c.1416_1417delCT (p.Cys473fs) HET 2)PPP2R5D c.608T>G (p.Leu203Arg) HET	1)MAT / OPAT=>OPAT 2)PT / OPAT=>OPAT	1)PVS1, PM2 2)PM1,PM2,PP2,PP3	1)PP5, BS4 2)BS4
P52	(-)			
P53	1)DNMT3A c.2407A>G (p.Arg803Gly) HET	1)de novo VUS=>OPAT	1)PM2,PP2, PP3	1)PM6
P54	1)DNMT3A c.2407A>G (p.Arg803Gly) HET	1)de novo VUS=>OPAT	1)PM2,PP2, PP3	1)PM6
P55	1)PTPN11 c.1492C>T (p.Arg498Trp) HET	(-)	1)PS3,PM1,PM2,PM5,PP2,PP3	(-)
P56	1)EFHC1 c.1005_1008delCACT (p.Thr336Serfs) HET	1)MAT / OPAT=>OPAT	1)PVS1, PM2	(-)
P57	1)ZEB2 c.3211_3219del (p.Ser1071_His1073del) HET	1)de novo / OPAT=>OPAT	1)PM1,PM2,PM4	1)PM6
P58	1)ALDH18A1 c.1411G>A (p.Val471Ile) HET 2)ALDH18A1 c.786G>T (p.Leu262Phe) HET	1)MAT / VUS=>VUS 2)PT / VUS=>VUS	1)PM2,PP2 2)PM2,PP2, PP3	(-)

P59	(-)			
P60	1)SCN1A c.3700C>T (p.Arg1245Ter) HET	1) <i>de novo</i> / PAT=>PAT	1)PVS1,PM1,PM2,PP5	1)PS2
P61	(-)			
P62	(-)			
P63	(-)			
P64	(-)			
P65	1)OPA1 c.2815C>T (p.Gln939Ter) HET 2)CHRNA1 c.318G>T (p.Val106=) HET	1)PT / OPAT=>OPAT 2)PT / VUS=>VUS	1)PVS1,PM2 2)PM2	(-)
P66	(-)			
P67	(-)			
P69	(-)			
P70	(-)			
P71	1)KCNQ2 c.793G>A (p.Ala265Thr) HET	1) <i>de novo</i> / OPAT=>PAT	1)PM1,PM2,PM5,PP2,PP3,PP5	1)PS2
P72	(-)			
P73	(-)			
P74	1)MSX2 c.121A>C (p.Lys41Gln) HET 2)SOX5 c.2140G>A (p.Gly714Ser) HET	1)MAT / VUS=>VUS 2)PT / VUS=>OBEN	1)PM2, PP2 2)PM2,PP2, BP4	1)BS4 2)BS4
P75	1)SCN8A c.2464G>A (p.Gly822Arg)	1) <i>de novo</i> / OPAT=>OPAT	1)PM1,PM2,PP2,PP3	1)PM6
P76	1)NSD1 (NM_022455.4) c.4681C>T (p.Gln1561Ter)	1) <i>de novo</i> / PAT=>PAT	1)PVS1,PM2,PP5	1)PM6
P77	(-)			
P78	(-)			
P79	1)PIGO c.1357G>C (p.Gly453Arg) HOM 2)RAI1 c.1615C>A (p.Pro539Thr) HET 3)BRPF1 c.2926C>A (p.Pro976Thr) HET 4)CIC c.1097G>A (p.Gly366Glu) HET	1)MAT-PT / VUS=>VUS 2)PT / VUS=>VUS 3)MAT / VUS=>OBEN 4)MAT / VUS=>OBEN	1)PM2,PM3_P,PP4 2)PM2, BS4 3)PM2,BS4,BP4 4)PM2,BS4,BP4	1)(-) 2)BS4 3)BS4 4)BS4
P80	1)GPAA1 c.947C>T (p.Ala316Val) HOM	1)MAT-PT / VUS=>VUS	1)PM2, PM3_P, PP2,PP3	(-)
P81	1)STXBP1 c.1624C>T (p.Leu542Phe) HET 2)MECP2 c.1288A>G (p.Met430Val) HET	1)PT / VUS=>VUS 2)PT / VUS=>VUS	1)PM1, PM2, PP3	1)BS4 2)BS4

P82	(-)			
P83	(-)			
P84	(-)			
P85	(-)			
P86	(-)			
P87	1)HLCS c.64C>T (p.Gln22Ter) HOM	1)MAT-PT PAT=>PAT	1)PVS1, PM2, PM3_P	(-)
P89	(-)			
P90	1)SCN3A c.1411G>A (p.Asp471Asn) HET 2)TCF20 c.1360A>G (p.Ser454Gly) HET 3)RORA c.787G>A (p.Glu263Lys)	1)PT / VUS=>VUS 2)PT / VUS=>VUS 3)PT / VUS=>BEN	1)PM2 2)PM2 3)PM2, BS2	1)BS4 2)BS4 3)BS4
P91	(-)			
P92	(-)			
P93	(-)			
P94	1)ALDH7A1 c.1271C>A (p.Ala424Glu) HOM	1)MAT-PT, 3 sağlıklı kardeşten 2'si WT biri HET / VUS=>OPAT	1)PM2, PM3_P,PP2,PP4	1)PP1
P95	(-)			
P96	(-)			
P97	1)BTD c.476G>A (p.Arg159His) HET, 2)BTD c.1336G>C (p.Asp446His) HET 3)KCNB1 c.1702C>T (p.Pro568Ser) HET	1)PT 2)MAT 3)MAT	1)PM1,PM2,PM5,PP2,PP3,PP5_S 2)PS3,PM2,PP2,PP3,PP4 3)PM2, BP4	1)PM3 2)PM3 3)BS4
P98	(-)			
P99	(-)			
P100	1)FRRS1L c.524G>A (p.Ser175Asn) HOM	1)2 sağlıklı kardeş het, etkilenen kardeş hom VUS=>VUS	1)PM2,PM3_P,PP3	1)PP1
P101	1)BRAF c.770A>G (p.Gln257Arg) HET	1) <i>de novo</i> PAT=>PAT	1)PS3,PM1,PM2,PM5,PP2,PP3	1)PM6
P102	1)PHGDH c.781G>A (p.Val261Met) HOM	1)MAT-PT OPAT=>OPAT	1)PM2, PM3_P, PP3, PP5_M	(-)
P103	1)CACNA1H c.1985A>G (p.His662Arg) HET 2)RELN c.8809G>A (p.Ala2937Thr) HET 3)SETD5 c.2026G>A (p.Gly676Arg) HET	1)PT / VUS=>VUS 2)PT / VUS=>OBEN 3)MAT / VUS=>OBEN	1)PM2, PP3 2)PM2,BP4 3)PM2,PP3,BP1	1)(-) 2)BS4 3)BS4

P104	(-)			
P105	1)AGA c.617C>T (p.Thr206Ile) HOM	1)MAT-PT VUS=>VUS	1)PM2,PM3_P, PP3	(-)

(MAT: maternal, PT: paternal, HOM: homozigot, HET: heterozigot, HEM: hemizigot, OPAT: olası patojen, PAT: patojen (-):ebeveyn çalışması yapılmamış varyant, WT: wild type)

11.6. EK-6: Çalışmada Yer Alan Genlerdeki Varyantlar İçin Kullanılan

Referans Transkriptler

Gen / Transkript		
ADGRV1 / NM_032119.4	DNMT3A / NM_022552.4	PPP2R5D / NM_006245.4
AGA / NM_000027.4	DYRK1A / NM_001396.4	PRRT2 / NM_145239.3
ALDH18A1 / NM_002860.4	EIF2B5 / NM_003907	PTEN / NM_001304717.5
ALDH7A1 / NM_001182.5	FBXO11 / NM_001190274.1	PTPN11 / NM_002834.4
AP4E1 / NM_007347.5	FH / NM_000143.3	PTRH2 / NM_016077
ARSA / NM_001085425.3	FMR1 / NM_002024.5	QARS1 / NM_005051
ASPA / NM_001128085.1	FRRS1L / NM_014334	RAB3GAP1 / NM_012233.2
ASXL2 / NM_018263.5	GABRD / NM_000815.5	RAI1 / NM_030665.4
ATRX / NM_000489.5	GPAA1 / NM_003801.4	RELN / NM_173054.2
AUTS2 / NM_015570.4	GRIN1 / NM_000832	RORA / NM_134261.3
BAZ2B / NM_013450.4	GRIN2B / NM_000834	SCN1A / NM_006920.6
BRAF / NM_004333.5	GRIN2D / NM_000836.2	SCN2A / NM_001040142.2
BRPF1 / NM_001003694.1	HCN1 / NM_021072.4	SCN3A / NM_006922.4
BTD / NM_001281723.3	HECW2 / NM_001348768	SCN8A / NM_014191.4
CACNA1H / NM_021098.3	HNRNPU / NM_031844.3	SCN9A / NM_002977
CADM2 / NM_153184.3	IFIH1 / NM_022168	SETBP1 / NM_015559.3
CASK / NM_003688	JAM2 / NM_021219.4	SETD2 / NM_014159.6
CASR / NM_000388.3	KCNB1 / NM_004975.4	SETD5 / NM_001080517.2
CBL / NM_005188	KCNQ2 / NM_172107.3	SHANK3 / NM_033517.1
CDKL5 / NM_003159.2	KCNT1 / NM_020822.3	SMARCA2 / NM_003070.5
CENPF / NM_016343.4	KDM6B / NM_001080424.2	SMARCC2 / NM_001330288.2
CHD2 / NM_001271.4	KIF5A / NM_004984.4	SOX5 / NM_006940.6
CHD8 / NM_020920.3	KIF7 / NM_198525.3	STAG2 / NM_001042750.1
CHRNA1 / NM_001039523.2	KMT2C / NM_170606.3	STXBP1 / NM_003165.6
CIC / NM_015125.4	KMT5B / NM_017635.5	SZT2 / NM_015284.4
CLN3 / NM_001042432	MACF1 / NM_012090.5	TAF1 / NM_004606.4
CLN8 / NM_018941	MCCC2 / NM_022132.5	TBR1 / NM_006593.4
CLTC / NM_004859.4	MEF2C / NM_001193350	TCF20 / NM_005650.3
COL18A1 / NM_130444.3	MSX2 / NM_002449.5	TNK2 / NM_005781.4
COL4A1 / NM_001845.6	NBEA / NM_015678.4	TRIO / NM_007118.4
CREBBP / NM_004380.2	NCAPD2 / NM_014865.4	TRRAP / NM_001244580.1

<i>CUL4B</i> / NM_001079872	<i>NSD1</i> / NM_022455.4	<i>TTC1</i> / NM_003314.3
<i>CUX1</i> / NM_181552.4	<i>OPA1</i> / NM_130837.2	<i>TUBA1A</i> / NM_006009.4
<i>DEAF1</i> / NM_021008.3	<i>PHACTR1</i> / NM_030948.3	<i>TYR</i> / NM_000372.5
<i>DEPDC5</i> / NM_001242897	<i>PHF8</i> / NM_001184896	<i>UBE3A</i> / NM_130839.4
<i>DHPS</i> / NM_001206974.1	<i>PHGDH</i> / NM_006623.4	<i>UFM1</i> / NM_016617.4
<i>DHX30</i> / NM_138615.3	<i>PIEZO2</i> / NM_022068.3	<i>UNC80</i> / NM_032504.1
<i>DKC1</i> / NM_001363.5	<i>PIGO</i> / NM_032634.3	<i>VRK1</i> / NM_003384.3
<i>DNAH9</i> / NM_001372.4	<i>PLP1</i> / NM_000533	<i>ZEB2</i> / NM_014795.4

