

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ERKEN BAŞLANGIÇLI EPİLEPTİK ENSEFALOPATİ
HASTALARINDA HEDEFLİ GEN PANELİ ANALİZLERİNİN
TANISAL DEĞERİNİN SAPTANMASI**

Gülüşan UZUNER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ

2019

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ERKEN BAŞLANGIÇLI EPİLEPTİK ENSEFALOPATİ
HASTALARINDA HEDEFLİ GEN PANELİ ANALİZLERİNİN
TANISAL DEĞERİNİN SAPTANMASI**

Gülüşan UZUNER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU

Etik Kurul Onay No: KÜ GOKAEK 2019/98

KOCAELİ

2019

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: Erken Başlangıçlı Epileptik Ensefalopati Hastalarında Hedefli Gen Paneli Analizlerinin Tanısal Değerinin Saptanması

Tez yazarı: Gülüşan UZUNER

Tez savunma tarihi: 25.06.2019

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS TEZİ) olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN	BURCU KURUCU	Burcu
ÜYE(DANIŞMAN)	Alper Güne	
ÜYE	Bölent Kara	
ÜYE	Deniz S. Akkoynlu	
ÜYE		

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../06/2019

Prof. Dr. Sema Aşkın KEÇELİ

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ÖZET

Erken Başlangıçlı Epileptik Ensefalopati Hastalarında Hedefli Gen Paneli Analizlerinin Tanısal Değerinin Saptanması

Amaç: Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati (EBEE), genetik ve fenotipik heterojeniteye sahip multifaktöriyel bir hastalıktır. Bu nedenle EEG, MRG ve metabolik testler gibi geleneksel yöntemler tanıda kısıtlı kalmaktadır. Son zamanlarda klinikte yaygın olarak kullanılan hedefli gen paneli yaklaşımı ile kesin tanıya yüksek doğrulukta ulaşılabilmektedir. Bu retrospektif çalışmada, hedefli gen panelinin EBEE tanılı hastalardaki tanısal değerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada, 2017-2018 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nöroloji Polikliniği'nden Tıbbi Genetik AD laboratuvarına rutin tanı testi amacıyla yönlendirilen hastalar arasından rastgele seçilmiş EBEE tanılı 50 hasta yer aldı. Çalışma için hastalarda saptanan nedensel varyantlar (patojenik, olası patojenik ve VUS) incelendi. VUS varyant tanımlanan hastalar segregasyon analizi ve in silico tahmin araçlarından yararlanılarak tekrar analiz edildi ve patojenisiteleri güncellendi. Nedensel varyant tespit edilen hastaların çalışmaya alınan toplam hasta sayısına oranlanmasıyla gen panelinin tanısal değeri hesaplandı.

Bulgular: Yapılan retrospektif incelemede 11 hastada (% 22) patojenik, 2 hastada (%4) olası patojenik 9 hastada (%18) VUS varyant tanımlandı. Patojenik ve olası patojenik varyant belirlenen hastaların %4'ü West sendromu (n=2), %4'ü malign migratuvar epilepsi (n=2), %16'sı EBEE (n=8), %2'si Dravet sendromluydu (n=1). Yeniden analiz edilen VUS varyantların patojenisitesi değişmedi. Dravet sendromlu hastaların tamamında nedensel bir varyant belirlendi. Hastaların %10'unda (5/50), tüm varyantların ise %23'ünde SCN1A varyantı bulundu (5/22). Bu retrospektif çalışmada, bilinen 55 epileptik ensefalopati geni içeren hedefli gen paneli analiziyle belirlenen tanısal değer %26 (P,OP) ve %44'dür (P,OP ve VUS). Tanısal değer, ilk nöbetini 6 aydan önce geçiren hastalarda en yüksekti (n=15, %30).

Sonuç: Çalışmamızda saptanan %26'lık (P,OP) ve % 44'lük (P,OP ve VUS) tanısal değer, EBEE hastalarının tanısında hedefli gen paneli analizlerinin kullanıldığı son çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Hedefli gen paneli, genotip-fenotip korelasyonları kurmayı sağladığından ve tedaviye yön verdiği için dolayı EBEE hastaları için pratik bir tanı aracı olarak görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Epileptik ensefalopati, hedefli gen paneli, tanısal değer

ABSTRACT

Determination of Diagnostic Value of Targeted Gene Panel Analysis in Patients with Early Onset Epileptic Encephalopathy

Objective: Early onset epileptic encephalopathy (EOEE) is a multifactorial disease with genetic and phenotypic heterogeneity. Therefore, conventional methods such as EEG, MRI and metabolic tests are limited in diagnosis. Recently, the targeted gene panel approach, which is widely used in clinical practice, can achieve accurate diagnosis with high accuracy. In this retrospective study, we aimed to investigate the diagnostic value of the targeted gene panel in patients with EOEE.

Metod: Fifty patients with randomly selected EOEE were included in the study between 2017-2018 from the Department of Pediatric Neurology Outpatient Clinic of Kocaeli University Medical Medical Genetics Department. Causative variants (pathogenic, likely pathogenic and VUS) detected in the patients were examined for the study. Patients with VUS variant were re-analyzed using segregation analysis and in silico estimation tools and their pathogenicity was updated. The diagnostic value of the gene panel was calculated by proportioning the patients with causative variants to the total number of patients included in the study.

Results: In the retrospective analysis, VUS variant was identified in 11 patients (22%) and in 2 patients (4%) and in 9 patients (18%). Of the patients with pathogenic and possible pathogenic variants, 4% had West syndrome (n = 2), 4% had malignant migratory epilepsy (n = 2), 16% had EOEE (n = 8), and 2% had Dravet syndrome (n = 1). Pathogenicity of re-analyzed VUS variants did not change. A causative variant was identified in all patients with Dravet syndrome. SCN1A variant was found in 10% (5/50) and 23% of all variants (5/22). In this retrospective study, the diagnostic value determined by targeted gene panel analysis containing 55 known epileptic encephalopathy genes was 26% (P, OP) and 44% (P, OP and VUS). Diagnostic value was highest in patients who had their first seizure before 6 months (n = 15, 30%).

Conclusions: The diagnostic value of 26% (P, OP) and 44% (P, OP and VUS) found in our study was consistent with recent studies using targeted gene panel analyzes in the diagnosis of EOEE patients. The targeted gene panel is seen as a practical diagnostic tool for EOEE patients because it allows to establish genotype-phenotype correlations and guide treatment.

Key words: Epileptic Encephalopathy, targeted gene panel, diagnostic value

TEŞEKKÜR

Tıbbi Genetik alanında çalışma şansını veren değerli hocamız Prof. Dr. Hakan Savlı'ya,

Bu süreçte bilime dair farklı bakış açıları kazandıran, değerli görüşlerini paylaşan hocam Doç. Dr. Naci Çine'ye,

Tez danışmanlığımı üstlenen ve her türlü yardım, ilgi ve desteğini esirgemeyen, öneri ve eleştirileriyle beni yönlendiren, sonsuz sabrı, anlayışı, güleryüzü ve paylaştığı bilgi birikimiyle yanımda olan değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU'ya,

Eğitimim sırasında büyük katkıları olan, bilgileri, tecrübeleri ve yardımları adına başta Uzman Biyolog Elif Büşra YILMAZ olmak üzere Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik Bölümü ailesine,

Bu yolda birlikte yürüdüğümüz değerli arkadaşlarım; Nurhan KÜLCÜ, Malike İNCE, Ayşegül ŞAHİN ve Şebnem ÖZDEMİR'e,

Hayatım boyunca her daim maddi ve manevi desteğini arkamda hissettiğim, bu süreçte beni motive eden, benimle yorulan ve sabreden anneme, babama ve kardeşlerime içtenlikle teşekkür ederim.

Gülüşan UZUNER

TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

25/06/2019

Gülüşan UZUNER

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
TEŞEKKÜR	vi
TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ÇİZİMLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Epilepsi İle İlgili Tanımlar	1
1.2.Epileptik Ensefalopatilerin Sınıflandırılması	1
1.2.1. ILAE Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması	2
1.2.2. ILAE Epileptik Sendrom Sınıflandırılması	4
1.3. Dravet Sendromu (Ağır Myoklonik Epilepsi).....	6
1.4. Myoklonik Astatik Epilepsi (Doose Sendromu)	7
1.5. West Sendromu (İnfanıl Spazm)	7
1.6. Erken İnfanıl Epileptik Ensefalopati (Ohtahara Sendromu)	9
1.7. Erken Myoklonik Ensefalopati	9
1.8. Malign Migratuvar Parsiyel Epilepsi.....	10
1.9. Lennox-Gastaut Sendromu	10
1.10. Landau-Kleffner Sendromu ve Uyku Sırasında Devam Eden Diken Dalgalı Epilepsi(CSWS/ESES).....	11
1.11.Epileptik Ensefalopatilerin Etyolojisi.....	11
1.12.Epileptik Ensefalopatilerin İnsidans ve Prevalansı	12
1.13.Epileptik Ensefalopatilerde Prognoz	12
1.14.Epileptik Ensefalopati Tedavisi.....	13
1.14.1. Antiepileptik İlaç Tedavisi	13
1.14.2.Cerrahi Tedavi	16
1.14.3.Vagal Sinir Uyarımı	16
1.14.4.Ketojenik Diyet	17
1.15.Epileptik Ensefalopatilerin Genetiği	18
1.15.1.Voltaj Kapılı İyon Kanalı	18
1.15.1.1.Sodyum İyon Kanalı.....	19
1.15.1.2.Potasyum İyon Kanalı	19
1.15.1.3.Kalsiyum İyon Kanalı.....	19

1.16. Epileptik Ensefalopati Tanısı	20
1.16.1.Moleküler Tanı Yöntemleri	20
1.16.1.1.MLPA	21
1.16.1.2.Array-CGH	22
1.16.1.3.Real Time PCR	22
1.16.1.4.Sanger Dizileme	23
1.16.1.5. Yeni Nesil Dizileme	24
1.16.1.5.1.Hedefli Gen Paneli.....	27
1.16.1.5.2. Veri Analizi	28
2.AMAÇ	30
3. YÖNTEM	31
3.1.Varyant Analizi.....	31
3.2.Verilerin Toplanması.....	34
3.3.VUS Varyantların Yeniden Analizi.....	34
3.4.Tanısal Değerin Belirlenmesi	35
3.5.İstatistiksel Analiz	35
4.BULGULAR	36
5.TARTIŞMA.....	46
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	60
ETİK KURUL EKİ.....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- aCGH: Dizi Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyonu
- ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics
- ACTH: Adrenokortikotropik hormon
- AEİ: Antiepileptik İlaç
- BFNS: Benign Ailesel Yenidoğan Nöbetleri
- BOS: Beyin Omurilik Sıvısı
- CNV: Kopya Sayısı Varyasyonu
- CSWS: Uyku Sırasında Devam Eden Diken Dalgalı Epilepsi
- ddNTP: Dideoksi Nükleotid Trifosfat
- DS: Dravet Sendromu
- EBEE: Erken Başlangıçlı Epileptik Ensefalopati
- EE: Epileptik Ensefalopati
- EEG: Elektroensefalografi
- EIEE13: Erken İnfantil Epileptik Ensefalopati Tip 13
- EIEE19: Erken Başlangıçlı Epileptik Ensefalopati Tip 19
- EME: Erken Myoklonik Ensefalopati
- EOEE: Early Onset Epileptic Encephalopathy
- GABA: γ -aminobütirik asit
- GABRB3: Gama-Aminobütirik Asit Tip A Reseptör B3
- ILAE: International League Against Epilepsy(Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği)
- KD: Ketojenik Diyet
- LGS: Lennox-Gastaut Sendromu
- MAQ: Multipleks Amplikon Ölçümü
- MLPA: Multipleks Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu
- MMPE: Malign Migratuvar Parsiyel Epilepsi
- MRG: Magnetik Rezonans Görüntüleme
- NGS: Next-Generation Sequencing

OD: Otozomal Dominant
OP: Olası Patojenik
OR: Otozomal Resesif
OS: Ohtahara Sendromu
PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SD: Sanger dizileme
SNV: Tek Nükleotid Varyasyonları
SPSS: Statistical Package for Social Sciences
STXBP1: Syntaxin-Binding Protein 1
SUDEP: Epilepside Ani Beklenmedik Ölüm
UTR: Transle edilmeyen bölge
VPA: Valproik asit
VSU: Vagal Sinir Uyarımı
VUS: Patojenitesi Kesin Olmayan Varyant
WES:Tüm Ekzom Dizileme
WGS:Tüm Genom Dizileme
WS: West sendromu
YND:Yeni Nesil Dizileme

ÇİZİMLER DİZİNİ

Çizim 1.2. Epilepsi Sınıflandırılması Şeması	6
Çizim 1.16.1.1. DNA Dizileme Teknolojisinin Gelişimi	21
Çizim 1.16.1.5.1. Yeni Nesil Dizileme Analizi	24
Çizim 1.16.1.5.2. Birinci, İkinci ve Üçüncü Nesil DNA Sıralama Teknolojilerinin ve Önde Gelen Ticari Geliştiricilerin Sıralama Kimyalarının Özeti	25
Çizim 4.1.50 Hastada Bulunan Varyant Türleri.....	36
Çizim 4.2.50 Epileptik Ensefalopati Hastasında Belirlenen Patojenik, Olası Patojenik, VUS Varyantların Genlere Göre Dağılımı	37
Çizim 4.3. P, OP ve VUS Genlerin Fonksiyon Sınıflandırması	37
Çizim 4.4. P ve OP ve VUS Varyantların Kalıtım Paternleri	38
Çizim 4.5.50 Epileptik Ensefalopati Hastasındaki Varyantların Literatür Bilgisi	38
Çizim 4.6. Hastaların Etyolojiye Göre Dağılımı	39
Çizim 4.7. Patojenik, Olası Patojenik ve VUS Varyant Bulunan 22 Hastanın Nöbet Başlangıç Yaşı	40
Çizim 4.8. Nöbet Başlangıç Yaşına Göre Tanısal Değer.....	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.2.1.Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması	2
Çizelge 1.2.2.Epileptik Sendrom Sınıflandırılması.....	4
Çizelge 1.2.3.Çocukluk Çağında Görülen Epileptik Ensefalopatiler	5
Çizelge 1.14.1.Antiepileptik İlaçların Etki Ettiği Nöbet Tipleri ve Mekanizmaları	14
Çizelge 3.1.Hedefli Gen Panelindeki 55 Genin Kalıtım Paterni ve Fenotip Sınıflandırması	31
Çizelge 3.2.Çalışmada Kullanılan Gen Panelindeki 55 Genin Fonksiyon Sınıflaması.....	33
Çizelge 4.1.P,OP ve VUS Genlerin Bildirilen Bazı Epilepsi Sendromlarıyla İlişkisi	39
Çizelge 4.2.Belirlenen Varyantların Genotip Detayları	41
Çizelge 4.3.Belirlenen Varyantların İn Siliko Tahmin Araçları Bilgisi.....	43
Çizelge 4.4.Patojenik ve Olası Patojenik Varyantların Fenotip Detayları	44
Çizelge 4.5.VUS Varyantların Fenotip Detayları	44
Çizelge 4.6.50 hastada Hedefli Gen Paneli Analizleriyle Elde Edilen Tanısal Değer.....	45

1.GİRİŞ

1.1.Epilepsi İle İlgili Tanımlar

İngiliz Hekim Jackson'a göre epilepsi; merkezi sinir sisteminde kortikal veya subkortikal bölgelerde yer alan nöronların ani, anormal hipersenkron deşarjları sonucu ortaya çıkan ve genellikle tekrarlayıcı nitelikte olan klinik bir tablodur (Binder ve Scharfman 2004). Epilepsi; nörolojik hastalıklar arasında çocukluk ve ergenlik çağında en sık, erişkinlerde ise beyin damar hastalıklarından sonra en sık rastlanan ikinci hastalıktır (Arzimanoglou ve diğ 2007, Aktekin ve Kayrak,2008). Bir başka tanımlamaya göre en az 24 saat aralıkla altta yatan herhangi bir uyarıcı faktör olmaksızın gerçekleşen iki yada daha fazla sayıda nöbet epilepsi şüphesini güçlendirmektedir (Yakıncı 2006).Epileptik nöbetlerin gelişimi, nöronal hücrelerde hiperstabilite veya nöronal hücre komplekslerinde anormal eşzamanlı elektriksel aktivite ile açıklanabilir (Oliva ve diğ 2012).

Epileptik sendrom ise nöbet tipleri, etiyoloji, EEG bulguları, nöbetlerin başlangıç yaşı, nörolojik durum, prognoz ve spesifik antiepileptik ilaçlara cevap gibi ayırt edici bulgular ile karakterize klinik tablolarıdır (Çelik 2011 ve Köylü 2012).

Epileptik ensefalopati; yenidoğan ve çocukluk dönemlerinde meydana gelen miyelinasyon, sinaptogenez, nöron göçü ve apoptozis aktif süreçlerinin bozulması gibi nedenlerle EEG üzerinde sık sık nöbetler ve belirgin epileptiform anormalliklerin görüldüğü epilepsidir(Basel-Vanagaite ve diğ 2013). Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (ILAE), epileptik ensefalopatileri epileptiform anormalliklerin serebral fonksiyondaki progresif bozukluğa yol açtığı durumlar olarak tarif etmektedir (Lado ve diğ 2013). Epileptik ensefalopatiler, erken çocukluk döneminde tekrarlayan nöbetler ve belirgin interiktal epileptiform deşarjlarla karakterizedir (Lee 2018). Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati; EEG'de özellikle derin uykuda belirgin patlama sönme paterni ile karakterize,çok sayıda ve sık miyokloniler, parsiyel nöbetlerin de eşlik ettiği, ve ilk 3 aylık dönemde başlayan ensefalopatidir (Yakıncı 2006).

1.2.Epileptik Ensefalopatilerin Sınıflandırılması

1981 yılında Epileptik Nöbetlerin Klinik ve Elektrografik Sınıflaması ve 1989 yılında Epileptik Sendrom Sınıflaması ILAE tarafından geliştirilmiş olup halen tüm dünyada kullanılmaktadır. Nöbet sınıflandırması doğrudan gözlem, görgü tanığının dinlenmesi ve video kaydının izlenmesine dayanır. Sendrom sınıflandırması ise; nöbetlerin aksine

doğrudan gözlem yada video kaydının izlemi ile yapılamaz, tanı için başlangıç yaşı, etyoloji, aile öyküsü, nöbet sıklığı, görüntüleme yöntemleri gibi ek bilgiler gereklidir (Bora 2008). Sınıflandırmayla hastanın sahip olduğu nöbet türlerini, nöbetleri için potansiyel tetikleyicileri ve prognozlarını anlamak için bir çerçeve oluşturulur. Ayrıca öğrenme güçlüğü, zihinsel engelli olma, otizm spektrum bozukluğu gibi psikiyatrik özellikler ve epilepside ani beklenmedik ölüm (SUDEP) dahil olmak üzere ko-morbidite risklerini de bildirir (Scheffer ve diğ 2017).

1.2.1. ILAE Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

Nöbet sınıflaması, klinik ve EEG bulgularına göre her nöbeti tek bir olay gibi kabul ederek sınıflandırmaktır (Commission, 1981). ILAE'nin yaptığı sınıflama Çizelge 1.2.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2.1. Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

- | |
|---|
| <p>1-PARSİYEL (FOKAL) NÖBETLER</p> <p>A. Basit parsiyel nöbetler</p> <p>1. Motor semptomlu</p> <p>a) fokal motor</p> <p>b) Jacksonian</p> <p>c) Versif</p> <p>d) Postural</p> <p>e) Fonatuar</p> <p>2. Somatosensorial veya özel duyuşal semptomlu nöbetler</p> <p>a) Somatosensoriyal</p> <p>b) Vizüel</p> <p>c) Odituvar</p> <p>d) Olfaktor</p> <p>e) Gustatör</p> <p>f) Vertijinöz</p> <p>3. Otonomik semptomlu</p> <p>4. Psişik semptomlu</p> <p>a) Disfazi</p> <p>b) Dismnezi</p> <p>c) Kognitif</p> |
|---|

d) Affektif

e) İllüzyonlar

f) Yapılandırılmış halüsinasyonlar

B. Kompleks Parsiyel Nöbetler

1. Basit parsiyel nöbet ardından bilinç kaybı

a) Basit parsiyel nöbet şeklinde başlayan

b) Otomatizmalarla giden

2. Başlangıçta bilinç kaybı

a) Sadece bilinç kaybı

b) Otomatizmalarla giden

C. Sekonder jeneralize nöbetlere dönüşen parsiyel nöbetler

1. Basit parsiyel nöbetlerin jeneralize nöbetlere dönmesi

2. Kompleks parsiyel nöbetlerin jeneralize nöbetlere dönmesi

3. Basit parsiyel nöbet şeklinde başlayıp kompleks parsiyel nöbete dönüşüp jeneralize nöbete dönmesi

2. JENERALİZE NÖBETLER

A. Absans nöbetler

1- Tipik absans

a) Sadece bilinç kaybı

b) Hafif klonik komponentli

c) Atonik komponentli

d) Tonik komponentli

e) Otomatizmalarla giden

f) Otonomik komponentli

2- Atipik Absans

B. Miyoklonik nöbetler

C. Tonik nöbetler

D. Klonik nöbetler

E. Tonik-klonik nöbetler

F. Atonik nöbetler

3. SINIFLANDIRALAMAYAN EPİLEPTİK NÖBETLER

1.2.2. ILAE Epileptik Sendrom Sınıflandırılması

Sendrom sınıflama, epilepsi tipi dışında etiyoloji, başlangıç yaşı, neden olan beyin patolojisi göz önüne alınarak yapılmaktadır (Commission,1989).ILAE'nin yaptığı sınıflama Çizelge 1.2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2.2.Epileptik Sendrom Sınıflandırılması

1. LOKALİZASYONLA İLİŞKİLİ EPİLEPSİLER VE SENDROMLAR

A. İdiopatik (Yaşla ilişkili başlangıç)

- Sentrotemporal dikenli benign çocukluk çağı epilepsisi
- Oksipital paroksizmlili çocukluk çağı epilepsisi
- Primer okuma epilepsisi

B. Semptomatik

- Kronik progresif epilepsi parsiyalis kontinua (Kojewnikow Sendromu)
- Spesifik faktörlerle ortaya çıkan nobetlerle karakterize sendromlar
- Temporal, frontal, parietal, oksipital lob epilepsileri

C. Kriptojenik

2. JENERALİZE EPİLEPSİLER VE SENDROMLAR

A. İdiopatik (Yaşla ilişkili başlangıç)

- Benign ailesel yenidoğan konvulziyonları
- Benign yenidoğan konvulziyonları
- Çocukluk çağı benign miyoklonik epilepsi
- Çocukluk çağı absans epilepsi
- Jüvenil absans epilepsi
- Jüvenil miyoklonik epilepsi
- Uyanırken gelen grand mal nöbet epilepsisi
- Diğer jeneralize idiyopatik epilepsiler
- Beliri aktivasyon yöntemleriyle karakterize epilepsi

B. Kriptojenik veya semptomatik

- West sendromu
- Lennox-Gastaut sendromu
- Miyoklonik astatik nöbetli epilepsi
- Miyoklonik absanslı epilepsi

C. Semptomatik

- Spesifik olmayan etyoloji

a.Erken miyoklonik ensefalopati

b.Supresyon burstlu erken infantil epileptik ensefalopati

c. Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler

- Spesifik norolojik hastalıklara bağlı epilepsiler

D. Özgül sendromlar

3. FOKAL Mİ JENERALİZE Mİ OLDUĞU BELİRSİZ SENDROMLAR VE EPİLEPSİLER

A. jeneralize ve fokal konvülsiyonlu epilepsiler

- Yenidoğan nöbetleri

- Süt çocukluğu çağı ciddi miyoklonik epilepsisi

- Yavaş dalga uykusunda sürekli diken dalgalı epilepsi

- Edinilmiş epileptik afazi (Landau- Klefner sendromu)

- Tanımlanmamış diğer epilepsiler

B. jeneralize veya fokal konvülsiyonlu özelliği belirlenemeyen epilepsiler

4. ÖZEL SENDROMLAR

A. Özel bir durumla ilişkili nöbetler

- Febril nöbetler

- İzole nöbetler veya izole status epileptikus

- Yalnız alkol, ilaçlar, eklampsi, nonketotik hiperglisemi gibi etmenlere bağlı akut metabolik veya toksik bir olay varken ortaya çıkan nöbetler

Epileptik ensefalopati sınıflaması hem uygun antiepileptik ilaç seçimi hem de bilimsel verilerin toplanması ve karşılaştırılması için önemlidir. Epileptik ensefalopatilerin sınıflandırılması Çizelge 1.2.3 ve Çizim 1.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2.3. Çocukluk Çağında Görülen Epileptik Ensefalopatiler. Yiş ve diğ. (2006)'den alınmıştır.

İnfant ve Çocuklarda Myoklonik Nöbetler İle Birlikte Olan Epileptik Ensefalopatiler

Dravet Sendromu (Ciddi Myoklonik Epilepsi)

Myoklonik Astatik Epilepsi (Doose Sendromu)

Hipsaritmi İle Birlikte Olan İnfantil Epileptik Ensefalopati

West Sendromu

Supresyon-Burst İle Birlikte Olan Erken İnfantil Epileptik Ensefalopatiler

Ohtahara Sendromu

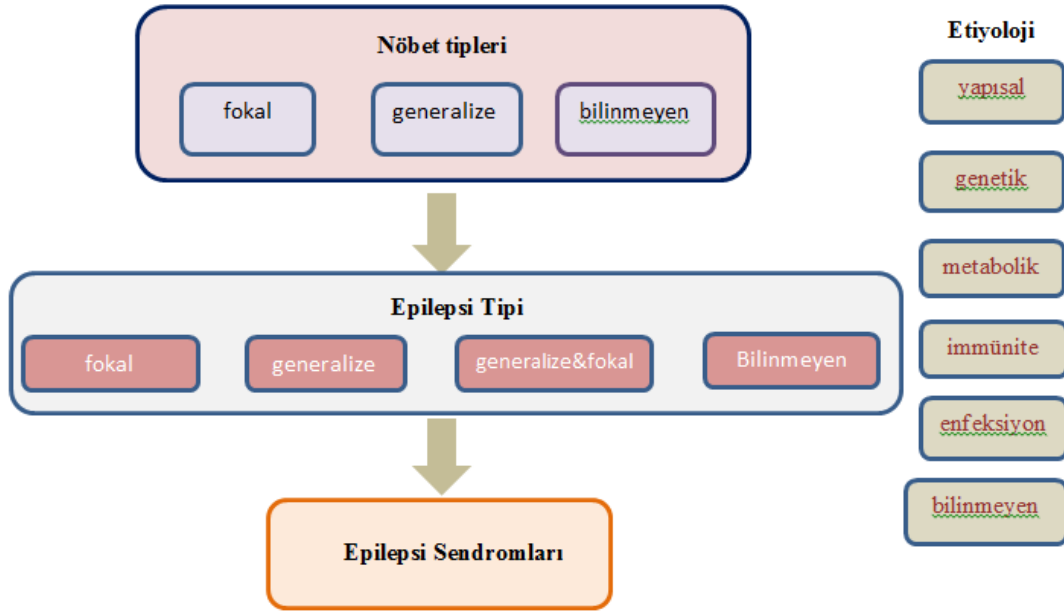
Erken Myoklonik Ensefalopati

Diğer Epileptik Ensefalopatiler

Malign Migratuvar Parsiyel Epilepsi

Lennox-Gastaut Sendromu

Landau-Kleffner Sendromu ve uyku sırasında devam eden diken dalgalı epilepsi (CSWS)



Çizim 1.2.Epilepsi Sınıflandırılması Şeması. Scheffer ve diğ (2017)’den alınmıştır.

1.3. Dravet Sendromu (Ağır Myoklonik Epilepsi)

İlk defa Charlotte Dravet tarafından “ağır miyoklonik epilepsi” olarak tanımlanmıştır (Dravet ve diğ 2005). Dravet sendromu (DS) normal bir bebeğin yaklaşık 6 ayda hemiklonik ya da genelleşmiş olabilen febril status epileptikus geliştirdiği, belirgin bir infantil başlangıç epilepsi sendromudur(Scheffer 2011). Semptomlar yaşamın ilk yılında çoğunlukla uzun süreli febril hemiklonik nöbetler veya genelleşmiş tonik klonik nöbetler ile ortaya çıkar (Mahdieh ve diğ 2018). Diğer nöbet tipleri ilk 4 yılda gelişir. Erken gelişim normaldir ve yaşamın ikinci yılında yavaşlar (Scheffer 2011).İlk yıllarda EEG normaldir. Daha sonra çok odaklı (miyofokal) keskin, diken yavaş dalgalarla çoklu diken (polispike) dalgaların yanı sıra zemin ritminde yavaşlama ve bozulma izlenir (Yakıncı 2006). Hastaların yarısında ağır olmak üzere tüm olgularda kognitif bozukluklar vardır, bu nedenle % 15’i nöbet sırasında ya da eşlik eden hastalıklardan ölebilir. Prognoz bu nedenle kötüdür (Panayiotopoulos 2005). DS insidansı 0.5-1/40.000 olup hayatın ilk 3 yılı içerisinde oluşan epilepsilerin %8 oluşturur (Nieh ve Sherr 2014). Prevalans, 3 yaşından önce başlayan epilepsilerin yaklaşık% 6’sıdır.Aile öyküsü, febril nöbet oranının yüksek olması ve monozigotik ikizlerde yüksek prevalans bu sendromda daha çok genetik yönünü düşündürmektedir (Panayiotopoulos 2005).

Klinik tanısı; nöbet tipleri, klinik seyir ve EEG özelliklerin belirlenmesine dayanır (Brunklous ve diğ 2012). Hastaların %80'inde SCN1A mutasyonu sorumludur ve bunun %90 *de novo* mutasyondur (Depienne ve diğ 2009-2010).Çalışmalarda GABR2,SCN2A ve SCN8A dahil olmak üzere çeşitli genlerin, DS'na neden olduğu bildirilmiştir (Lee 2018). Klinik seyirde gözlenen tüm nöbet tipleri tedaviye dirençlidir (Çokar ve Kutlu 2014). En yararlı ilaçlar, nöbetlerin sıklığını ve süresini azaltan valproat, fenobarbital ve benzodiazepinlerdir. Bunun yanında etosuksimid, topiramet, levetiracetam, zonisamid ve bromürler de DS'de etkili bulunmuştur. Ancak lamotrijinin nöbetleri arttırdığı bildirilmiştir. Bazı olgularda, özellikle DS'nun erken evrelerinde ketojenik diyet (KD) ve immunoterapiye iyi yanıtlar alınmıştır (Çokar ve Kutlu 2014). Son yıllarda yapılan bir çalışmada sitokrom p450 inhibitörü olan stiripentol ve klobozamin beraber kullanımının bu hastalarda nöbet sıklığını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Yiş ve diğ 2006).

1.4. Myoklonik Astatik Epilepsi (Doose Sendromu)

Çocukluk çağı epilepsilerinin %1-2'sini oluşturan prognozu hastadan hastaya değişen belirgin bir yatkınlığın olduğu, idiyopatik jeneralize bir sendromdur (Bora 2008). Lennox-Gastaut sendromunun miyoklonik çeşidi olarak da tanımlanmaktadır (Yakıncı 2006). Başlangıcı 7 ay ile 6 yaş arasındadır. Bilişsel ve psikomotor becerilerdeki bozukluklar sıklıkla mevcuttur. Atipik yokluk, atonik, tonik ve miyoklonik astatik nöbetler gibi çoklu nöbet tipleri ile karakterizedir (Gonsales ve diğ 2015).Hastaların %80'inde ailede febril nöbetler ve diğer epileptik nöbetler bulunmaktadır (Per ve Canpolat 2013). Gün içinde çok sayıda miyoklonus ve düşme atakları görülür (Yakıncı 2006). Erkekler kızlardan daha fazla etkilenir ve nöbet başlamadan önce gelişim normaldir (Ferrie 2015). Sık konvülfiz olmayan status epileptikus epizodları kötü prognoz işaretidir (Yakıncı 2006).EEG mevcut en iyi tanı aracıdır (Gonsales ve diğ 2015). Antiepileptik ilaç (AEİ)'lara cevap, belirgin ilaç direncine verilen cevaplardan tamamen farklıdır. Bunlar arasında sodyum valproat, topiramet, levetirasetam ve benzodiazepinler bulunur. KD yanıtı iyidir (Ferrie 2015)

1.5.West Sendromu (İnfanıl Spazm)

İlk defa 1841 yılında Dr.James West dört aylık oğlunda infanıl spazm için karakteristik olan nöbetleri tespit etmiş (Dulac 2001) ve süt çocukluğu ve erken çocukluk dönemine özgü yaşa bağımlı epileptik ensefalopati olarak tanımlamıştır (West 1841).West sendromu (WS),epileptik spazmlar, gelişimsel gecikme/gerileme ve EEG'de hisaritmi ile karakterize, bebeklikte başlayan bir epileptik ensefalopatidir. Epileptik spazmlara ek

olarak, etkilenen hastalar gelişimsel yetersizlikler, entelektüel ve davranışsal anormallikler ve uzun süreli epilepsi açısından yüksek risk altındadır (Kesavan ve Sankhyan 2019). WS'nun başlama yaşı 3-12 aydır; en sık 3-7 aylar arasında ortaya çıkar (Çokar ve Kutlu 2014).10.000 canlı doğumda 2-4 sıklıkla en sık görülen epileptik ensefalopatilerden biridir. Epileptik spazmlar tipik olarak bebeklik döneminde ortaya çıkar ve EEG paterni hiparitmidir (Yuskaitis ve diğ 2018).Bazı semptomatik olgularda otizm veya Lennox-Gastaut sendromu gelişebilir (Covanis 2012). Hastaların yarısı kalıcı motor sakatlıklarına ve üçte ikisi genellikle ciddi bilişsel ve psikolojik bozukluklara sahiptir, sadece yaklaşık% 5-12'si normal zihinsel ve motor gelişim gösterir(Panayiotopoulos 2005). Mortalite; gelişmiş ülkelerde giderek iyileşen tıbbi bakım nedeni ile %5'in altına düşmüştür(Yılmaz, 2011). Hastaların yaklaşık %40'ında etiyolojik faktör saptanamaz. Kalan %60'ında ise prenatal, perinatal ya da postnatal bir faktör saptanabilir(Frost ve Hrachovy 2003).Semptomatik grup(%80), psikomotor geriliği, nörolojik belirtiler, radyolojik belirtiler veya diğer nöbet tipleri varlığı veya bilinen bir etiyoloji ile karakterizedir. Daha küçük, kriptojenik grup(%20), önceden beyin hasarı ve bilinen etiyoloji belirtilerinin olmaması ile karakterizedir. Tanıda kromozom analizi, nörometabolik testler, beyin omurilik sıvısı (BOS) incelenmesi kullanılır (Panayiotopoulos 2005). Birçok genetik kökenli hastalığın infantil spazm ile ilişkilili olduğu bilinmektedir (Frost ve Hrachovy 2003).Aicardi sendromu, Tip-1 inkontinensia pigmenti, ARX ve CDKL5 gen mutasyonları, infantil spazmla ilişkili bir metabolik bozukluk olan piruvat dehidrogenaz kompleks eksikliği gibi hastalıklar, Xp11 ve Xp22 bölgelerindeki defektlerden kaynaklanır ve genetik kökenli infantil spazmla ilişkili hastalıklar olarak tanımlanır (Yılmaz 2011). ARX ve CDKL5, infantil spazmlarla en sık ilişkili genler arasındadır(Lee 2018).Tedavi için ACTH (adrenokortikotropik hormon) ve vigabatrin epileptik spazmların kısa süreli tedavisinde muhtemelen etkili ilk ajanlardır (Hrachovy ve Frost 2008, D'Alonzo ve diğ 2018).Bunun dışında nitrazepam, lamotrigin, levetirasetam, sultiam, topiramet, zonisamid, KD, immünoglobulin tedavisi, felbamat ve tirotropin salgılayan hormon kullanılmaktadır (Panayiotopoulos 2005). Dirençli hastalarda epileptik cerrahi diğer bir tedavi seçeneğidir (Yiş ve diğ 2006).

1.6. Erken İnfantil Epileptik Ensefalopati (Ohtahara Sendromu)

Ohtahara ve diğerleri tarafından ilk defa 1976'da tanımlanmıştır. Yaşa bağlı gelişen epileptik ensefalopatiler arasında en ciddi ve en erken başlayan ensefalopatidir (Donat 1992).Tekrarlayan, sıklıkla inatçı olmayan, nöbetler ve gelişimsel bozukluklarla karakterizedir (Mastrangelo ve Leuzzi 2012). Nöbet tipi sık tekrarlayan tonik spazmlardır (Murakami ve diğ 1993). Nöbetler hem uyku hem uyanıklık zamanı görülebilir (Ohtahara ve diğ 2003).En sık EEG bulgusu burst supresyon paterni ile ortaya çıkan tonik spazmlardır (Basel-Vanagaite ve diğ 2013). Bazı durumlarda zamanla West sendromuna daha ileride de Lennox-Gastaut sendromu gelişebilir (Yamatogi ve Ohtahara 2002). Semptomlar ilk 3 ayda ve genellikle ilk 10 gün içerisinde başlar (Donat 1992). EEG'de çoklu diken dalga aktivitesi ve burst-süpresyon paterni, tedaviye dirençlilik ve kötü prognoz özelliği göstermektedir. Hastaların dörtte biri ilk iki yılda kaybedilmektedir (Karagöl ve diğ 2012). Ohtahara sendromu (OS)'nun patogenezinde yapısal beyin anomalileri, doğuştan gelen metabolizma hataları, genetik anormallikler ve bilinmeyen faktörler yer almaktadır (Lee 2018).

Bu güne dek OS ile ilişkisi bulunan birçok gen tanımlanmıştır. Bunlardan biri olan Syntaxin-Binding Protein 1 (STXBP1) sinaptik vezikül salınımını regüle eder (Saitsu ve diğ 2008). STXBP1'de heterozigot *de novo* mutasyonları bildirilmiştir (Basel-Vanagaite ve diğ 2013).OS'nin etyolojisinde yer alan diğer genlerden ARX geni nöronal progenitörlerin proliferasyon ve differensasyonunu regüle edici olarak (Kato ve diğ 2007), SLC25A22 mitokondriyal glutamat reseptörünün kodlayıcısı (Molinari ve diğ 2009) ve aynı zamanda potasyum voltaj kapılı kanal olarak, KCNQ2 hücrenin elektrik sinyali oluşturma ve iletilmesinde rol alan genlerdir (Weckhuysen ve diğ 2012).ARX testinin bir yaşından küçük OS'li hastalarda ve açıklanamayan nörodejenerasyon, ilerleyici beyaz madde kaybı ve kortikal atrofisi olan hastalarda yapılması gerektiği önerilmiştir (Gonsales ve diğ 2015).Tedavide benzodiazepinler, sodyum valproat, vigabatrin ve ACTH kullanılmaktadır (Karagöl ve diğ 2012).

1.7. Erken Myoklonik Ensefalopati

Erken myoklonik ensefalopati (EME), hayatın ilk üç ayında başlayan myokloniler ve parsiyel nöbetler ile karakterize epileptik bir ensefalopatidir (Yiş ve diğ 2006).Yaşamın ilk 3 ayında başlayan şiddetli miyoklonik spazmlarla veya miyoklonik jerklerle karakterize epileptik ensefalopati sendromudur (Hwang ve Kwon 2015).Kimi hastalarda doğumdan

kısa bir süre sonra ve yaşamın ilk birkaç haftasında ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Ferrie 2015).Fokal miyoklonus ve fokal motor nöbetler görülmekle birlikte, bazı hastalarda jeneralize miyoklonus da görülebilmektedir. Miyoklonus genellikle yüz ve ekstremiteleri tutar (Hwang ve Kwon 2015). İnteriktal EEG bulgusu özellikle derin uykuda görülen supresyon-börst paternidir. Uyanıklık döneminde yavaş zemin aktivitesi ile birlikte multifokal diken dalga görülmektedir (Yiş ve diğ 2006). EME genellikle amino ve organik asidüraz, pürin metabolizması bozuklukları ve peroksizomal bozukluklar gibi doğuştan gelen metabolizma hatalarından kaynaklanır.Otozomal resesif kalıtım sıklıkla görülür. Tedavi edilebilir bir metabolik bozukluk bulunması, etkili bir tedaviyi zorlaştırır. Yaşamın ilk haftalarında ve aylarında ölüm oranı çok yüksektir ve hayatta kalanlar ciddi fiziksel ve zihinsel bozukluklara sahiptir (Ferrie 2015). Nöbetler antiepileptik ilaçlar, ACTH, steroidler ve pridoksine dirençlidir (Ohtahara ve Yamatogi 2003).

1.8. Malign Migratuvar Parsiyel Epilepsi

Bebeklik döneminde inatçı nörogelişimsel gecikmeyle nadir görülen erken başlangıçlı epileptik ensefalopatidir. MMPE tanısı, ardışık nöbetlerde bir kortikal alandan diğerine hareket eden, birden fazla bağımsız serebral bölgeyi içeren rastgele deşarjları gösteren iktal EEG'ye dayanır (Selioutski ve diğ 2015) Bu nadir sendrom, ilk yedi ayda kendini gösterir. Motor ve belirgin otonomik semptomlarla,sekonder jeneralize ve fokal nöbetler ile karakterizedir. Yapılan bir çalışma bu sendroma KCNT1 genindeki bir mutasyonun neden olabileceğini göstermiştir (Ferrie 2015).

1.9. Lennox-Gastaut Sendromu

İlk defa 1969 yılında Lennox ve Gastaut tarafından tanımlanmıştır (Markand 2003).%65-75 oranında semptomatik etyolojiye sahip,1-7 yaş arasında başlayan sık düşmelere yol açan tonik ve atonik nöbetler ile uyku sırasında görülen tonik nöbetlerin ve atipik absans tipi nöbetlerin karakteristik olduğu epileptik bir ensefalopatidir (Atmaca ve diğ 2012).Klinik belirtileri nöbetlerin başlamasından sonra gelişen progresif mental gerileme ve davranış bozukluğu, uyanıklık EEG'de diffüz yavaş diken dalga ve uyku EEG'de diffüz hızlı ritimlerdir (Arzimanoglou ve diğ 2009).Tonik nöbetler en dirençli nöbet tipi ve hastaların neredeyse hepsinde (%95) görülür (Yagi 1996). İnfantil spazmları olan bebeklerin % 40- 60'ı tonik ve atonik nöbetlerle Lennox-Gastaut sendromu (LGS) geliştirir (Zupanc 2009). Prevalansı %3-10'dür. 10 yıllık mortalitesi %3-7'dir, ölümler genellikle nöbetlere bağlı kazalardan kaynaklanır (Atmaca ve diğ 2012). Semptomatik

olması, erken yaşta başlangıç, sık tonik nöbet, konvülsif olmayan status epileptikus ve EEG’de düzensiz zemin aktivitesi düzensizliği kötü prognoz işaretidir (Yakıncı 2006). LGS çocukluk çağıının tedaviye en dirençli epilepsilerinin başta gelenidir (Bora 2008). Tedavisinde valproat, klobazam, lamotrijin, topiramet, felbamat ve rufinamid kullanılır (Atmaca ve diğ 2012). Olguların 1/3’ünün aile öyküsünde genellikle idiopatik/genetik epilepsi mevcuttur (Covanis 2012).

1.10. Landau-Kleffner Sendromu ve Uyku Sırasında Devam Eden Diken Dalgalı Epilepsi (CSWS/ESES)

CSWS, yaşla ilişkili başlangıç ve bitiş gösteren, klinikte epilepsi, kognitif bozukluk ve EEG değişikliği gösteren heterojen özelliklere sahip hastalıktır. İlk kez 1971’de Patry tarafından ‘subklinik elektriksel statüs epileptikusla ilişkili ensefalopati’ adıyla tanımlanmıştır. Başlangıç yaşı ortalama 4-5 yıldır (Bora 2008). Erkek:kadın oranı 2:1’dir (Veggiotti ve diğ 1999). İzlenen nöbetler başlıca jeneralize tonik-klonik veya noktürnal fokal motor nöbetlerdir. Atonik, miyoklonik, atipik absans, basit veya fokal diskognitif nöbetler görülebilir. Tonik nöbetler görülmez (Covanis 2012). MRG normaldir. Hastaların sadece yarısı, nispeten normal bir yaşam sürdürebilir. Diğer yarısı çok şiddetli olabilen kalıcı sekeller bırakır. Etiyolojisi bütünüyle bilinmemekle birlikte ailede epilepsi öyküsü önemlidir ve kardeş etkilenebilir (Panayiotopoulos 2005). Tedavi olarak valproat, etosüksimid ve benzodiazepinlerin tek başına veya kombinasyon şeklinde klinik ve EEG bulguları üzerine etkili olduğu bilinmektedir fakat konuşabilme ve davranışlarda iyileşme gerçekleşmeyebilir (Çokar ve Kutlu 2014, Ferrie 2015). Yine bazı hastalarda intravenöz immunglobulin ile başarılı sonuçlar alındığı bildirilmektedir (Çokar ve Kutlu 2014). Birçok çocuk nöbet başlamadan önce nörogelişimsel olarak normaldir, ancak diğerleri serebral palsy ve öğrenme güçlüğü gibi çeşitli gelişimsel problemlere sahiptir (Ferrie 2015).

1.11. Epileptik Ensefalopatilerin Etiyolojisi

Epileptik ensefalopati (EE) multifaktoriyel bir hastalık olduğu için etiyolojisi kesin bir nedene bağlı değildir. Bu güne kadar travma, perinatal yaralanma, inme, enfeksiyon sonrası lezyonlar, çevre, tümörler, dismorfik hastalıklar, yapısal beyin anomalileri ve metabolik hastalığı içerebilen genetik nedenler sıralanmıştır. Bu nedenerle % 40-50’inde altta yatan etiyoloji bilinmemektedir, ancak % 30’unun genetik olduğu tahmin edilmektedir. Yakın tarihli bir çalışmaya göre, erken başlangıçlı epilepsili bireylerin ~% 40’ında genetik alt yapı mevcuttur (Lindy ve diğ 2018, Kwong ve diğ 2015). Genetik

epilepsi grubu, zihinsel yetersizlikten EBEE'ye kadar değişen geniş bir fenotipik spektruma sahiptir. Birçok monogenik epilepside yaygın fenotipik ve genetik heterojenite gözlenmiştir. Aynı gen ve hatta aynı mutasyon, geniş fenotipik varyasyonlara yol açabilir ve aynı epilepsi sendromu, farklı genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanabilir (Møller ve diğ 2016).

Epileptik aktivite, anormal beyin fonksiyonunu indükleyebilir veya normal fizyolojik aktiviteyi inhibe edebilir. Bu süreçteki potansiyel mekanizmalar, iyon kanalı alt birimlerinin oranlarının değişmesi, sinaptik yeniden düzenleme, nörojenez ve apoptoz nedeniyle hücreyel uyarılabilirlikteki değişlikleri içerir. Diğer bir potansiyel mekanizma, nöronal ağların bütünlüğünün bozulmasıdır. (Howell ve diğ 2016).Etyolijinin nöbet gelişimine bağlı olduğunu destekleyen in-vitro çalışmalarda, 2- 3 haftalık farelerin immatür kortikal nöronların düşük ekstraselüler kalsiyum konsantrasyonu, tekrarlayan uyarılar, penisilin, pikrotoksin yüklemesi gibi çeşitli uyarıların sonucunda epileptiform desarjlar geliştirmeye daha eğimli oldukları gösterilmiştir (Hamon 1998,Swann 1984-1991).

1.12.Epileptik Ensefalopatilerin İnsidans ve Prevalansı

Son zamanlarda yapılan küçük popülasyon temelli çalışmalar, 36 aydan önce epilepsi ile başvuran hastaların üçte birinin kesin tanı aldığını ve 24 ayda başlayan epilepsinin % 36'sının epileptik ensefalopati olarak ortaya çıktığını göstermektedir (Kothur ve diğ 2018). Dünyada her yıl yeni tanı konulan yaklaşık 3,5 milyon epilepsi hastasının % 40'ı 15 yaşın altındadır. On beş yaş altında en az bir kez geçirilen toplam epileptik nöbet insidansı % 1-1,7 arasındadır ve % 0,7'sinde tekrarlayan epileptik nöbetler mevcuttur. On yaşın altındaki hastalarda en az bir adet nonfebril epileptik nöbet geçirme prevalansı % 0.52-0.81 arasındadır (Kılıç 2008).Epileptik ensefalopati insidansı bebeklerde yeni tanı almış epilepsi vakalarının % 40'ını oluşturur (Zhou ve diğ 2018). Doğumdan 16 yasına kadar olan insidans her yıl için 100.000'de 40 olarak bildirilmiştir (Camfield ve diğ 1996).

1.13.Epileptik Ensefalopatilerde Prognoz

Prognoz bir hastalıktan iyileşme şansı olarak ifade edilir. Epileptik ensefalopatilerde prognoz değerlendirilirken; aile öyküsü, nöbet tekrarı, etyolojik nedenler, AEI etkileri, tedavinin süresi gibi faktörler dikkate alınmaktadır (Bora 2008).Yenidoğan veya infantil ensefalopati ile başvuran hastalar sıklıkla erken ölüme veya kötü bir nörolojik sonuca yol açan yıkıcı bir seyir izlemektedir (Basel-Vanagaite ve diğ 2013).

1.14.Epileptik Ensefalopati Tedavisi

Epilepsi alanında özellikle son dönemde epilepsi cerrahisi, vagal sinir stimülasyonu, fokal ilaç enjeksiyonları, hücre transplantasyonları ve genetik alanında önemli ilerlemeler kaydetmektedir (Bora 2008). EE'ye neden olan genlerin keşfiyle, her bir genetik mutasyonun patofizyolojisi aydınlatılmaya çalışılmış, böylece tedaviye yön vermek hedeflenmiştir. Örneğin, KD glukoz taşıyıcı tip 1 eksikliği için, rapamisin inhibitörleri mTORopatiler için ve retigabin KCNQ2 ensefalopati için etkili hedefli tedavilerdir (Ko ve diğ 2018a).

1.14.1.Antiepileptik İlaç Tedavisi

Epilepsi tedavisinin temel dayanağı antiepileptik ilaçlardır (Vezyroglou ve Cross 2016). Londra'da 11 Mayıs 1987'de "Royal Medical and Chirurgical Society"nin bilimsel oturumunda, Sir Charles Locock 14 epilepsi hastasında kullandığı KBr'ün biri dışında hastalarının nöbetlerine etkili olduğunu bildirmesiyle ilk antiepileptik ilaç tanımlanmıştır. Başarılı antiepileptik tedavinin temeli, nöbetlerin doğru sınıflandırılması, maksimal monoterapi uygulanması, maksimal uyumlu dozda ilaç seçimi, EEG bulguların değil semptomların tedavisidir. AEİ tedavisi ile primer amaç;yan etki olmaksızın morbidite mortalitede azalma ve yaşam kalitesinin düzelmesiyle birlikte nöbetlerin tam olarak ortadan kaldırılmasıdır (Bora 2008). İki ya da fazla epileptik nöbet geçiren hastalarda MRG görüntüleme sonrası saptanan bir yapısal anomali, EEG'de saptanan epileptik deşarjlar ya da nörogelişimsel bir gerilik, nöbetin tekrarlama olasılığının yüksek olması durumunda ilaca başlanmasına karar verilmektedir (Heilbroner 2007). İdiyopatik fokal ve jeneralize nöbeti olan hastalar AEİ'lere iyi yanıt verir. Semptomatik grup ise prognozu çok daha kötü olmakla birlikte AEİ tedavisine yanıtı daha azdır. Epilepsili hastaların % 60–70'i yalnızca ilk tercih edilen ilaçlardan biri ile yapılan monoterapi sonrası bir daha nöbet geçirmez. Geri kalan %30-40'lık grup ise AEİ tedavisi ile tam nöbet kontrolü sağlanamayan hastaları içerir (Kılıç 2008). Bunun yanında AEI tedavisi alan hastaların %30-40'ında dirençli epilepsi gelişir (Bora 2008).

Antiepileptik ilaçlar üç şekilde etki gösterir

- a- Voltaj duyarlı iyon kanalları üzerinden modülasyon (Ca, Na, K)
- b- İnhibitör mekanizmaları güçlendirenler (GABA⁻ erjik sistem)
- c- Eksitator mekanizmaları zayıflatanlar (Glutamaterjik sistem) (Deckers ve diğ 2003).

Günümüzde epilepsi tedavisinde kullanılan ve etkinliği kanıtlanmış antiepileptik ilaçların etki ettiği nöbet tipi ve etki mekanizmaları Çizelge 1.14.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.14.1.Antiepileptik İlaçların Etki Ettiği Nöbet Tipleri ve Mekanizmaları *Sendromlar II, Epilepsi terimleri sözlüğü* (2006)’den alınmıştır.

AEİ	Nöbet Tipi/Epilepsi Türü	Etki Mekanizması
Fenobarbital	jeneralize ve parsiyel nöbet febril konvülsiyon yenidoğan nöbetleri	GABA _A reseptör kompleksinde inhibitör nörotransmisyonu güçlendirmek ve glutamatın eksitatör etkilerini baskılamak.
Fenitoin	basit yada kompleks parsiyel nöbet jeneralize konvülsiyonlar status epileptikus	omurilik nöronlarında devamlı polarizasyonla uyandırılan peşpeşe aksiyon potansiyeli ateşlemelerini sınırlandırmak. Fokal başlamış patolojik elektriksel aktivitenin sağlam beyin bölgelerine yayılmasını engellemek.
Primidon	jeneralize ve parsiyel nöbet	
Etosüksimit	absans ve miyoklonik nöbet	talamusta T tipi voltaj bağımlı Ca ⁺² kanallarında akımı azaltma
Karbamazepin	basit ve kompleks parsiyel nöbet jeneralize konvülsiyon	aksiyon potansiyeli ateşlemelerini sınırlandırmak Voltaj bağımlı Na ⁺¹ kanallarını engellemek
Okskarbazepin	Basit ve kompleks parsiyel nöbet birincil ve ikincil jeneralize tonik-klonik nöbet	aksiyon potansiyeli ateşlemelerini sınırlandırmak Voltaj bağımlı Na ⁺¹ ve Ca ⁺² kanallarını engellemek
Valproik asit	jeneralize ve parsiyel tonik-klonik nöbet absans nöbet, miyoklonik nöbet, juvenil miyoklonik epilepsi, uyanmada grand mal epilepsisi, fotosensitif epilepsi, febril konvülsiyon, West send yenidoğan nöbeti	Na ⁺¹ kanallarına, Ca ⁺² akımına etki ederek ve GABA erjik etkinliği arttırmak. GAD glutamik asit dekarboksilaz enzim etkinliğini arttırmak. GABA – transaminaz enzimini inhibe etmek

Benzodiaepin	status epileptikus	nöronların yüksek frekanslı ateşlemelerini azaltarak membran stabilizasyonu yapmak
Diapazam	status epileptikus febril konvulsiyon	
Klonazepam	Generalize epilepsi absans nöbetler infantil spazm miyoklonik nöbet Lennox-Gastaut send juvenil miyoklonik epilepsi statüs epileptikus dirençli yenidoğan nöbetleri	
Klobazam	Lennox-Gastaut send. parsiyel nöbet	
Gabapentin		GABA salımını modüle etmek.
Lamotrijin	Basit ve kompleks parsiyel nöbet absans,miyoklonik nöbet Lennox-Gastaut send. infantil spazm	voltaj bağımlı Na^{+2} kanallarının inaktivasyonunu uzatarak tekrarlayan ateşlemeleri önlemek ,kortikal ve striatal nöronlara yüksek voltajla aktive olan Ca^{+2} akımlarını inhibe etmek.
Vigabatrin	West send. dirençli parsiyel epilepsi	GABA transaminaz enzimini geri dönüşümsüz inhibe etmek
Topiramet	tedaviye dirençli parsiyel ve primer jeneralize epilepsi Lennox-Gastaut send. parsiyel ve sekonder jeneralize nöbet Lennox-Gastaut sendromu infantil spazm	voltaj bağımlı Ca^{+2} ve Na^{+2} kanallarını bloke etmek. glutamatın AMPA tipi reseptörlerini bloke etmek.
Levetirasetam	dirençli parsiyel nöbet semptomatik ve idiyopatik jeneralize konvulsif nöbet	perisinaptik düzeyde sinaptik vezikül proteini SV2A'ya bağlanmak ve bu proteinin ekzositoz işlevini modüle etmek.
Tiagabin	basit ve kompleks parsiyel nöbet	GABA membran taşıyıcısı GAT-1'i

	sekonder jeneralize tonik-klonik nöbet infantil spazm	inhibe ederek GABA' nın geri alımını baskılamak.
Felbamat	diğer ilaçlara cevap vermeyen parsiyel tip ve sekonder olarak jeneralize olan epilepsi Lennox-Gastaut send.	NMDA aracılı yanıtları baskılamak GABA aracılı etkiyi güçlendirmek
Zonisamid	parsiyel,jeneralize tonik-klonik ve absans nöbet miyoklonik nöbet	voltaj bağımlı Na ⁺¹ kanallarını bloke etmek ve voltaj bağımlı T-tipi Ca ⁺² akımlarını zayıflatmak.
Pregabalin	(sekonder jeneralize) parsiyel nöbetler	voltaj kapılı Ca ⁺² alfa2 gama alt ünitesine yüksek afiniteyle bağlanmak ve K _{ATP} akımı arttırmak.

1.14.2.Cerrahi Tedavi

AEİ ile remisyon sağlanamayan hastaların %30'unda korpus kallostomi ve lobektomi gibi epilepsi cerrahisinden yararlanılmaktadır. Korpus kallostomi işlemi; dirençli epilepsisi olan ancak cerrahi öncesi değerlendirmede odak saptanamayan yada birden fazla epileptik odağı olan hastalara uygulanmaktadır. Böylece epileptik doku ortadan kaldırılmaz, ancak nöbet yayılımı engelenmiş olur. Lobektomi ise genellikle temporal yada frontal loplara büyük kısmını kapsayan beyindeki bir lobun çıkarılmasıdır. Cerrahi olarak tedavi edilebilir hastaların çoğunluğu cerrahi öncesinde 20 yıldan daha uzun süreli epileptik nöbet öyküsüne sahip hastalardır (Bora 2008, Yakıncı 2006).

1.14.3.Vagal Sinir Uyarımı

Vagal sinir uyarımı (VSU), cerrahi işlem uygun olmadığında veya etkisiz kaldığında, ilaca dirençli epilepsinin nöbet sıklığını azaltmada etkili olduğu kanıtlanan bir nörostimülasyon tekniğidir (Benedictis ve diğ 2013). VSU, sol vagus sinirinin, boyundaki sinir gövdesi etrafına sarılı elektrotlarla periyodik elektrik sinyali taşınmasına dayanır. Bu yöntem 1997'de farmako dirençli fokal epilepsinin ek tedavisi için FDA tarafından onaylanmıştır. Parsiyel nöbetler ile ≥ 12 yaş hastalarda dirençli epilepsiye ek tedavi olarak kullanılmaktadır.VSU'nun nöbetleri modüle ettiği kesin mekanizma belirsizdir; ancak, nöbet sayısını % 30-40 oranında azalttığı,% ≤ 10 'unda nöbetsiz kaldığı gösterilmiştir ve yan etki profili, birçok AEİ'dan daha olumludur (Cross ve diğ 2013). VSU uygulanan 3321 vakada yapılan yeni bir meta-analizde, tam nöbet kontrolü sağlanan hastaların azınlığına

rağmen,% 45'lik bir nöbet azalması bildirmiştir. Başka bir çalışmada pediatrik popülasyon arasında, status epileptikus veya katastrofik epilepsisi olan çok az sayıda vakanın VSU'ndan faydalandığı bildirilmiştir. (Benedictis ve diğ 2013).

1.14.4.Ketojenik Diyet

İlk defa 1921 yılında Wilder tarafından Mayo kliniğinde nöbetleri azaltmak için oruç tutulduğunun keşfedilmesiyle kullanılmıştır (Vezyroglou ve Cross 2016). KD, çeşitli EE sendromları için etkili bir terapötik seçenek olmakla birlikte farmakolojik tedavilere bir alternatif sunmaktadır (Ko ve diğ 2018a). Karbonhidrat ve proteinden fakir, yağdan zengin bir diyet tedavisidir. Serbest yağ asitlerinin beta oksidasyonu ile aseton,asetoasetat ve betahidroksibütirat şeklinde üretilen keton cisimcikleri kan beyin bariyerini geçer.Böylece enerji dengesinin aktivasyonu ile nöronal uyarılabilirlik gerçekleşmektedir.Hastalara pediatrik epileptologlar tarafından gerekli ölçümler yapıldıktan sonra yağ/protein ve karbonhidrat oranları 2:1,3:1 ve 4:1 şeklinde diyet verilmektedir. Hastalar diyet rejimine başlangıçta aç kalma süresi olmadan hemen başlamaktadırlar ve günlük kalori alımının % 75'i uzun zincirli yağ asitleriyle sağlanmaktadır. Araklı olarak ketozu değerlendirmek için serum β -hidroksibütirat ve idrar keton cisimlerinin ölçümleri yapılmaktadır (Bora 2008,Ko ve diğ 2018a).

Çocuklarda epilepsi tedavisi için ketojenik diyetin etkinliğini kanıtlayan 2008'deki ilk randomize kontrollü çalışmada refrakter epilepsili 145 çocuğun 73'ünde nöbet kontrolü sağlanmıştır ketojenik diyetin epilepsili çocuklarda etkili olduğu kanıtlanmıştır ve SLC2A1 mutasyonları olan hastalar için oldukça etkili bir tedavi yöntemi olduğu gösterilmiştir (Vezyroglou ve Cross 2016). Ko ve diğ 333 hasta üzerinde yaptığı bir çalışmada KD başlangıcından 3 ay sonra 133 EE hastasının 65'inde nöbetlerin %90 azaldığını bildirmiştir (Ko ve diğ 2018a). Landau-Kleffner sendromlu üç hastada ise dil yeteneği, davranış bozuklukları ve nöbet sayısında belirgin düzelmeler gözlenmiştir (Bora 2008).Yine birçok çalışmada ketojenik diyetin Dravet sendromu, West sendromu, Lennox-Gastaut sendromu ve miyoklonik atonik nöbetlerde etkili olduğu bildirmiştir (Caraballo ve diğ 2005,Eun ve diğ 2006,Lemmon 2012,Kang 2004). İnfantil spazmlar, miyoklonik, atonik ve tonik-klonik generalize nöbetlerin, kompleks parsiyel nöbetlere kıyasla diyete olumlu tepki verdiği bildirilmektedir. Genel olarak, 3 aylık sürede çocukların % 77'sinde iyileşme görülmüştür (Coppola ve diğ 2010).

1.15.Epileptik Ensefalopatilerin Genetiği

Epilepsi, hastalıklı kalıtsal biçimlere bağlı > 200 gen ile fenotipik ve genetik olarak yüksek derecede heterojen bir hastalıktır (Baasch ve diğ 2014). Genetik epilepsi, nöbetlerin genetik mutasyondan kaynaklanıyor olmasıdır (Scheffer ve diğ 2017). EE'lerin genetiği bilindiğinde, bu hastalıkların daha kesin teşhis, genetik danışma ve sınıflandırmaya olanak tanıyacak ve sonunda hedefli tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır (Basel-Vanagaite ve diğ 2013).

Epileptik ensefalopatiyle ilişkili genler; iyon taşınması, enzimatik metabolizma, sinyal yolları, zar yapısı, membran uyarılabilirliği, sinaptik plastisitesi, presinaptik nörotransmitter salınımı, postsinaptik reseptörler, taşıyıcılar, hücre metabolizması ve erken beyin gelişimini düzenleyen moleküler yolaklar ve mekanizmalarda rol oynar. Bu genlerin her birinde, moleküler yeniden düzenlemeler, epilepsi popülasyonu içinde çok düşük bir allel frekansı ile meydana gelir ve hastaların küçük bir kısmını oluşturur (Zhou ve diğ 2017, Mei ve diğ 2017).

Epilepsilerin en az %40'ının etyolojisinde genetik faktörlerin rolü olduğu düşünülmektedir (Bora 2008). Ciddi gelişimsel ve epileptik ensefalopati olan bebeklerin % 30- 50'sinde *de novo* mutasyonlar belirlenmiştir. En iyi bilinen örnek, hastaların% 80'inde patojenik SCN1A varyantına sahip olduğu Dravet sendromudur. Mozaiklik de, epileptik ensefalopatilerin prognozunu etkileyebilir, SCN1A çalışmaları daha düşük mozaik oranlarının epilepside daha hafif seyrettiğini göstermiştir (Scheffer 2011). Ayrıca *de novo* kopya sayısı varyasyonları (CNV) vakaların ~% 8'ini oluşturmaktadır (Mefford ve diğ 2011). *De novo* mutasyonların, ebeveynlerin germ hücrelerinde postbiyotik mutasyonlar olarak ortaya çıktığına inanılmaktadır (Xu ve diğ 2015).

1.15.1.Voltaj Kapılı İyon Kanalı

Voltaj-kapılı iyon kanalları büyük, geniş bir gen ailesinin üyeleridir. Bu ailedeki birçok iyon kanalı membran depolarizasyonuna yanıt olarak açılır ve yüksek derecede voltaja bağımlılık gösterir. Bu sınıftaki iyon kanalları voltaj kapılı Na⁺, K⁺ ve Ca⁺² kanallarıdır. Voltaj-kapılı katyon kanalları benzer yapısal özelliklere sahiptirler. Temel birim beşinci ve altıncı domain arasından geçen iyon deliğiyle birlikte altı adet transmembran domain şeklindedir. Voltaja bağımlı hızlı inaktivasyon mekanizması, N-terminal halka yapısında bulunur (Akay ve diğ 2010). Çalışmalar, nöronal eksitabilite genlerindeki önemli mutasyonların farklı iyon kanallarının işlev bozukluğuna yol açtığını göstermiştir (Mizielinska 2007). Sinapslardaki nörotransmitter reseptör iyon kanallarının aktivasyonu,

beyin gelişimi sırasında sinaptik plastisiteyi artırır. Bu nedenle, anormal iyon taşınması nöral uyarılabilirliği ve beyin gelişimini etkileyerek epilepsiye neden olabilir. Ayrıca, sinaps oluşumu ve normal fonksiyon, sinyalleme ve sinir ağlarının oluşumunda önemlidir (Zhang ve diğ 2015).

1.15.1.1.Sodyum İyon Kanalı

Voltaj kapılı sodyum kanalları, bir α alt birim ve iki β alt birimden oluşur ve aksiyon potansiyellerinin başlatılıp yayılmasında önemli rol oynar (Ohba ve diğ 2014). Alfa alt birimi, sodyum kanallarının aktif çalışması için gereklidir (Mahdieh ve diğ 2018). Görevi aksiyon potansiyelinin başlamasını ve yayılımını sağlamak olan Na^+ iyon kanalları nöronal uyarılabilirlik açısından önemli belirleyicilerdir. Yapılan moleküler analizler memeli beyinde bulunan sodyum kanallarının α (260kDa), $\beta 1$ (36kDa) ve $\beta 2$ (33kDa) alt ünitelerinden oluştuğunu, α alt ünitesinin 9, β alt ünitesinin ise 4 gen tarafından kodlandığını ortaya çıkarmış ve bu alt ünitelerde meydana gelen mutasyonların epilepsi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Reid ve diğ 2009). Bunların arasında sırasıyla Nav1.1, Nav1.2 ve Nav1.3, tarafından kodlanan SCN1A, SCN2A ve SCN3A epilepsiden sorumludur (Ohba ve diğ 2014).

1.15.1.2.Potasyum İyon Kanalı

Membranın depolarizasyonu voltaj kapılı potasyum kanallarını aktive eder (Akay ve diğ 2010). Nöronal M akımının altında yatan voltaj kapılı K^+ kanal alt birimlerini şifreleyen Kv7.2 (KCNQ2) ve Kv7.3 (KCNQ3) genlerindeki mutasyonlar, geniş ölçüde birbirinden ayrılan bir fenotipik spektrum ile erken başlangıçlı epileptik hastalıklardan sorumludur. *de novo* yanlış anlamalı Kv7.2 mutasyonlarının, Ohtahara sendromu da dahil olmak üzere erken başlangıçlı EE'lerin en yaygın nedenlerinden biri olarak gösterilmiştir. (Miceli ve diğ 2015). Voltaj kapılı potasyum kanalını kodlayan ve ilk önce benign ailesel yenidoğan nöbetleri (BFNS) ile ilişkili bulunan KCNQ2 geni, EBEE'nin yaklaşık% 10'undan sorumludur. BFNS de prognoz iyiye KANQ2 ensefalopati, inatçı nöbetler ve ciddi gelişimsel gecikme ile kötü prognozludur (Pisano ve diğ 2015).

1.15.1.3.Kalsiyum İyon Kanalı

Kalsiyum kanalları membranın uyarılabilirliğinin, iletim maddelerinin salımının ve gen ekspresyonunun önemli modülatörleridir. Mutasyonlar kalsiyum kanal girişini etkileyebilir (Akay ve diğ 2010). Ca^{2+} kanalları, çeşitli serebral ve spinal nöronal popülasyonların sinaptik öncesi ve somatodendritik seviyesinde ifade edilen voltaj kapılı kalsiyum

kanallarıdır. Ca V 2.1 kanallarının, korteks, hipokampus, talamus ve serebellumda, hem uyarıcı hem de inhibe edici çeşitli nöronal hücre tiplerinden sinaptik salgılanmaya aracılık ettiği gösterilmiştir (Damaj ve diğ 2015).

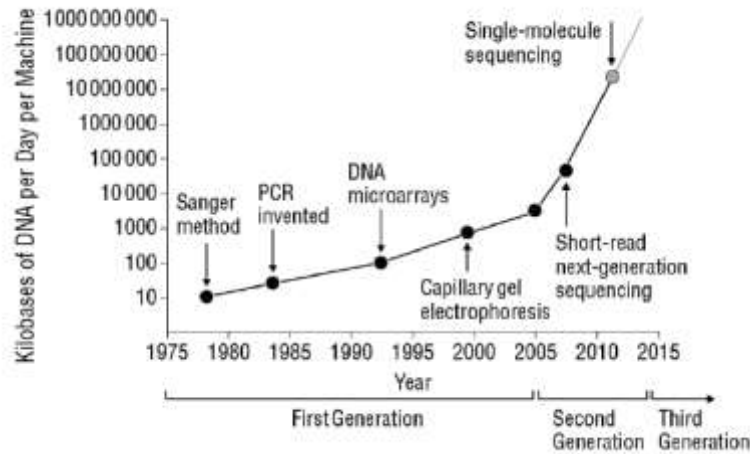
1.16. Epileptik Ensefalopati Tanısı

Hastanın sahip olduğu spesifik klibik özellikler doğru şekilde tanımlandığında hem nedensel genetik sendrom hemde neden olan genetik defektler gün yüzüne çıkarılabilmektedir (Hardies ve diğ 2016).Standart tanı için biyokimyasal ve enzim analizi, EEG, MRG beyin görüntüleme ve genom çapında mikroarray analizi yapılmaktadır (Trump ve diğ 2016).Bu araştırmalarda fenotiple bağlantılı kesin bulgular elde edilemediğinde ve etyoloji belirlenemediğinde moleküler genetik tabanlı yöntemlerin kullanıldığı spesifik tanı önem taşımaktadır. Spesifik tanı, DS'nda ve SCN1A mutasyon pozitif hastalarda sodyum blokerlere karşı karbamazepin ve fenitoin gibi antipileptik ilaç kullanma veya GLUT1 hastalarında KD kullanımının spesifik endikasyonu gibi tedavi kararlarını etkileyebilmektedir (Gonsales ve diğ 2015).Mercimek-Mahmutoğlu ve diğ 2015'de yaptığı bir çalışmada 110 EE hastasında % 4.5'inde klinik özellikler,% 2.7'sinde a-CGH ile patojenik CNV,% 1.8'de beyin MRG ve % 7'sinde metabolik incelemelere dayanarak spesifik genetik neden tespit edilmiştir.

1.16.1.Moleküler Tanı Yöntemleri

Moleküler genetik teknolojilerdeki son gelişmeler, farklı epilepsi biçimlerinin haritalanması ve birkaç genin keşfedilmesine olanak sağlamıştır. Bağlantı analizi ve aday gen çalışmaları gibi geleneksel yaklaşımlar, büyük pedigrilerde bireyler arasındaki genetik belirteçlerin ayrımını değerlendirmeyi, kohortlar arasındaki alel frekanslarını karşılaştırmayı ve hastalığa katkıda bulunan genlerin kromozom pozisyonunu belirlemeyi mümkün kılmaktadır (Gonsales ve diğ 2015). Genetik tanının asıl amacı hedefe yönelik tedavidir. Örneğin; GRIN2A/ GRIN2B mutasyonu için memantin, KCNT1 mutasyonu için quinidin, KCNQ2 mutasyonu için retigabin, SCL2A1 mutasyonu için KD gibi tedaviler önerilmektedir (Ko ve diğ 2018b).Epilepsinin moleküler tanısı sonraki gebelikler için tekrar riskini belirlemek, nöbetleri kontrol altına alabilmek,ilaca dirençli hastalarda farklı tedavi yolları bulabilmek ve tedaviye giden yolda gereksiz invaziv yöntemleri elemine edebilmek açısından da önemlidir (Mina ve diğ 2015).

Moleküler teşhis için hangi genlerin test edilmesi gerektiğine karar vermek, pediatrik genetik epilepsi sendromlarında sıklıkla gözlenen değişken ve spesifik olmayan fenotipler ve düşük mutasyon oranı nedeniyle zor olmaktadır. Bu sebeple günümüzde multipleks ampikon ölçümü (MAQ), multipleks ligasyona bağlı prob amplifikasyonu (MLPA) ve dizi karşılaştırmalı genomik hibridizasyonu (a-CGH) ve yeni nesil dizileme (YND) gibi ilave moleküler yöntemler kullanılmaktadır (Mei ve diğ 2017). Moleküler genetik araçlar EE'ler gibi epilepsilerin altında yatan genetik faktörlerin ve etyolojinin çözülmesine yardımcı olmuştur, ayrıca nadir görülen mutasyonların tanımlanmasıyla, kanal genleri ile ilgili yeni biyokimyasal yollar keşfedilmiştir. Özetle, potansiyel olarak zararlı mutasyonları saptamak için kullanılan moleküler tanı yöntemleri DNA dizilemede kullanılan kılcal elektroforez tekniğinden (Sanger dizileme) gelecek nesil yüksek verimli teknolojilere kadar ilerlemiştir. (Pittman ve Hardy 2013, Gonsales ve diğ 2015). DNA dizilemede kullanılan yöntemlerin ve diziledikleri boyutların zamanla değişimi Çizim 1.16.1.1'de gösterilmiştir.



Çizim 1.16.1.1. DNA Dizileme Teknolojisinin Gelişimi. Pittman ve Hardy (2013)'den alınmıştır

1.16.1.1.MLPA

Tek primer çiftiyle 50 kadar probun aynı anda amplifiye edilebilmesi ve birden fazla gende farklı bölgelerin değerlendirilebilmesini sağlayan bu yöntem kısa DNA dizilerinin CNV'lerini incelemede kullanılan aCGH ve SNP microarray yöntemlerine göre daha ucuz, basit, hızlı, uygulaması ve yorumlaması kolay bir tekniktir. MLPA'nın çoklu bölgelerde daha küçük dizileri analiz edebilmesi FISH tekniğine göre önemli bir üstünlüktür. Tüm genom araştırmalarında uygun bir teknik olmasa da farklı küçük DNA dizilerini aynı anda değerlendirmeye olanak tanınması geniş kullanım alanı bulmasını sağlamıştır (Celayir

2012). MLPA reaksiyon başına 50 hedef ekzonla sınırlı olduğundan bir defada çoklu genleri taraması genellikle zordur (Stuppia ve diğ 2012).

Epilepside rutin tanı SCN1A ve KCNQ2 genlerinde CNV'lerin teşhisi için MLPA uygulamasıyla başlamıştır. SCN1A ve KCNQ2 epilepsi genleri dahil olmak üzere birçok gen için MLPA prob kitleriyle delesyon ve duplikasyon taraması yapılırken gene özgül olmayan standart protokoller kullanılır (Mulley ve Mefford 2011). EE ilişkili kanalopati ve sinaptik transmisyonundan sorumlu olduğu bilinen 7 gen üzerinde Kwong ve diğ yaptığı çalışmada bir hastada MLPA analizi ile SCN1A ve SCN2A da gen delesyonu bulunmuş diğer 5 gen için negatif sonuç alınmıştır. Araştırmacılar MLPA tarafından tanımlanan genetik defektlerin verimi düşük olduğundan kopya numarası varyasyonlarını bu yöntemle belirlemeyi önermemişlerdir (Kwong ve diğ 2015).

1.16.1.2.Array-CGH

DNA miktarındaki değişiklikleri yüksek çözünürlükte incelemesinden dolayı oldukça güvenilir bir yöntemdir. Bu mikrodiziler, küçük miktarlarda DNA'nın katı bir destek üzerine düzenli bir şekilde depolanması ve hareketsizleştirilmesi ile oluşturulur. Başlangıçta kanserdeki genetik dengesizlikleri araştırmak için bir araştırma aracı olarak geliştirilen aCGH, o zamandan beri çok çeşitli hastalık genleri ve gen lokusundaki CNV'lerin genetik teşhisinde düzenli olarak kullanılmıştır. MLPA ile karşılaştırıldığında, aCGH, daha kesin bir çözünürlüğe sahiptir (Özbolat ve Tuli 2017). Epileptik ensefalopatili hastalarda, bu yöntemle hastaların %5'inde patojenik CNV'ler tespit edilmiştir (Mercimek-Mahmutoglu ve diğ 2015). a-CGH, genom çapında CNV'leri tespit edebilir, ancak standart çözünürlüğü nispeten düşüktür (> 10 kb) (Stuppia ve diğ 2012). Array-CGH CNV'leri kesin boyut ve gen içeriği için moleküler olarak karakterize etmek üzere MLPA ve diğer teknolojilere yardımcı olarak kullanılmaktadır (Mulley ve Mefford 2011).

1.16.1.3.Real Time PCR

Real Time PCR'in temeli, DNA polimeraz eşlikli DNA amplifikasyon sürecini "gerçek zamanlı" olarak izlemektir. Geleneksel PCR'den farklı olarak, her bir amplifikasyon döngüsünün sonunda PCR ampikonlarının amplifikasyonunu bir flüoresan boya sistemi ve flüoresans saptama özelliğine sahip bir termosiklin kullanarak tespit edebilir. Northern blot ve in situ hibridizasyon gibi diğer RNA miktar tayin yöntemlerine kıyasla hızlı ve kolaydır (Kuang ve diğ 2018). Gen ekspresyon analizi için en hassas ve güvenilir kantitatif yöntemlerden biridir. Mikroarray doğrulaması, patojen ölçümü, kanserde onkogen

ekspresyon seviyesinin tespiti, transgenik kopya sayısı tespiti ve ilaç tedavisi çalışmalarına geniş çapta uygulanmıştır (Yuan ve diğ 2006). Dravet sendromundaki GABAerjik fonksiyon bozukluğunun altında yatan fizyolojik mekanizmaları araştıran bir yayında otopsi beyin dokularından elde edilen ve $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ - $\alpha 1\beta 2$ GABA A reseptörlerini eksprese eden *Xenopus* oosit hücrelerinde RT-PCR ile ekspresyon seviyeleri ölçülmüştür (Ruffolo ve diğ 2018) *GRIN2B*, *BDNF* ve *IL-1 β* genlerinin epilepsi patogenezindeki rolünü değerlendirmek için tonikonik nöbetler ile genelleştirilmiş epilepsili 50 hastada Real Time PCR ile ekspresyon seviyeleri karşılaştırılmış ve epilepsili hastalarda bu genlerin anlamlı derecede yükseldiği gösterilmiştir (Zhand ve diğ 2018).

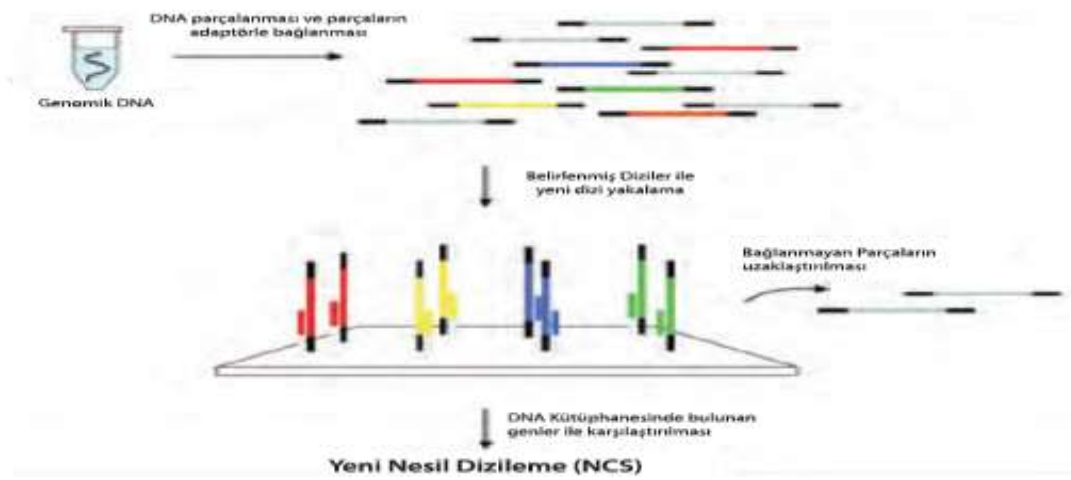
1.16.1.4.Sanger Dizileme

Floresan boyayla işaretli dideoksi nükleotid trifosfatlar (ddNTP)'rın kullanıldığı Sanger dizileme (SD) yöntemiyle çok sayıda örnek aynı anda dizilenebilmekte, her bir yürütmeye 400-800 bazlık bir uzunluğa sahip olan DNA dizileri yüksek doğrulukla okunabilmektedir. Bu yöntem günümüze kadar en çok kullanılan DNA dizileme yöntemi olmuştur (Doğan ve diğ 2017).SD, tek gen mutasyonu ile ilişkili iyi tanımlanmış fenotipi olan hastalarda küçük dizi değişimlerinin saptanması için altın standarttır (Lee 2018). Yanlış-pozitif çağrılar önüne geçebilmek için herhangi bir aday genin sonraki analizlerden önce mevcut standart olan Sanger dizilimi kullanılarak doğrulanması gerekmektedir (Dashti ve Gamielien 2017).

Bununla birlikte, bir hastada elde edilen potansiyel patojenik varyantların sayısı geleneksel SD tarafından taranamayacak kadar yüksektir (Fung ve diğ 2017). Ayrıca bir seferde yalnızca bir gen taranabilmektedir (Lemke ve diğ 2012).Yine bu yöntemle substitüsyonlar, küçük insersiyonlar ve delesyonların tespiti kısıtlı olduğundan submikroskopik delesyonlar, CNV'lerin tespiti için çoğu zaman FISH, microarray, array-CGH analizleri yapmak gerekmektedir (Doğan ve diğ 2017).Epileptik ensefalopati etyolojisinin aydınlatılmasında SD kullanıldığında birden fazla gen taranması gerektiğinden klinikte tanı koyma süreci uzamakta ve her gen için ayrı primerler kullanıldığından maliyet artmaktadır.

1.16.1.5. Yeni Nesil Dizileme

Yeni nesil dizileme teknolojisi Next Generation Sequencing (NGS) olarak bilinen üçüncü nesil dizileme yöntemidir ve eş zamanlı olarak milyonlarca DNA fragmentinin dizilenmesine olanak tanıyan ileri düzey bir yöntemdir (Mardis 2008). Bu yöntem ilk olarak Ng, SB. ve diğerleri tarafından 2009 yılında geliştirilmiştir. Yeni nesil dizileme yöntemlerinde temel, DNA'nın enzimatik reaksiyonlarla kesilerek çok sayıda DNA parçasıyla bir kütüphane oluşturulmasına dayanmaktadır (Nijman ve diğ 2014). SD sonrası teknolojiler toplu olarak NGS teknolojileri olarak tanımlanmaktadır (Pittman ve Hardy 2013). Yeni nesil dizileme iş akış basamakları Çizim 1.16.1.5.1.'de gösterilmektedir.



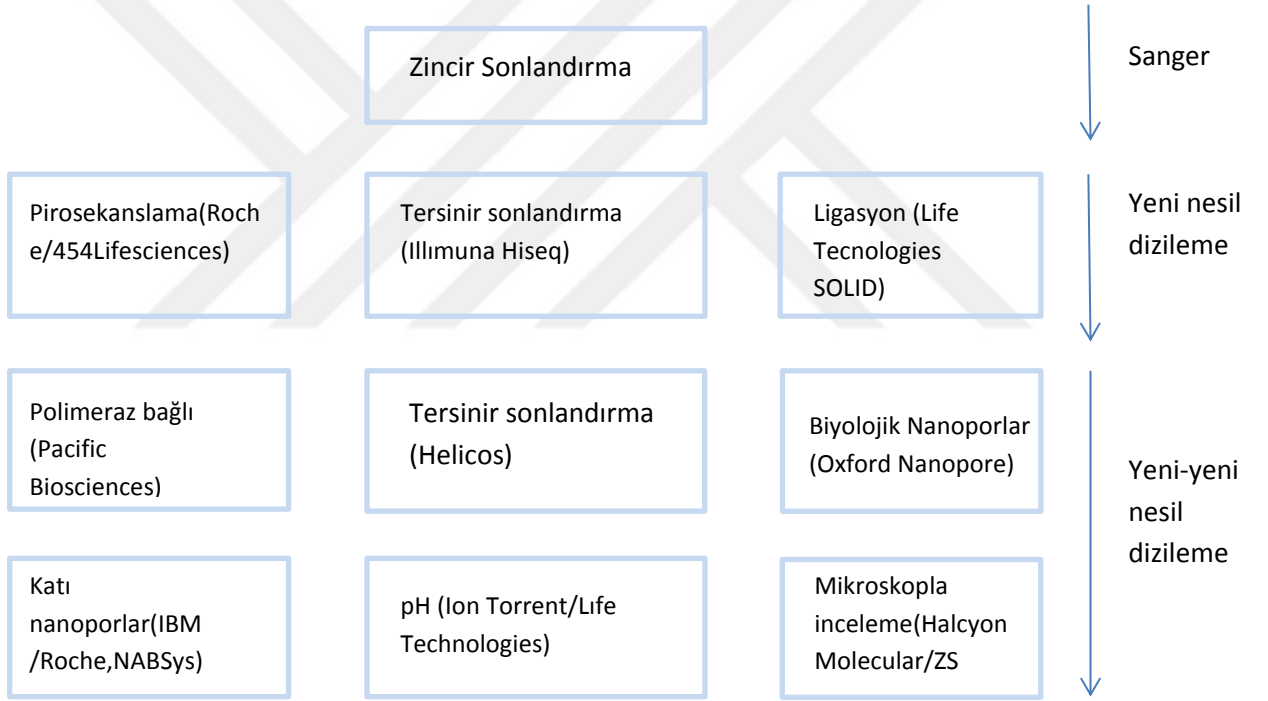
Çizim 1.16.1.5.1. Yeni Nesil Dizileme Analizi

Mevcut NGS platformları, aynı DNA'nın "kümelerini" oluşturmak için şablon DNA'nın klonal amplifikasyonunu, ardından floresan etiketli nükleotitler veya oligonükleotitler ile dizilimini kullanır (Pittman ve Hardy 2013). Günümüzde tüm dünyada yaygın olarak kullanılan birkaç adet farklı yeni nesil dizileme platformu mevcuttur. Illumina Genome Analyzer, Applied Biosystems Inc, Roche 454, LifeTechnologies Ion Torrent, Heicos BioScience ve Pacific Bioscience gibi kuruluşların farklı platformları farklı dizileme yöntemleriyle yüksek verimli okuma yapmaktadır. Özellikle nadir görülen primer immün yetmezlikler gibi hastalıklarda rutin olarak kullanılmak üzere "hedef bölge seçimi" temelli platformlar oluşturulmaktadır (Nijman ve diğ 2014).

Bu tez çalışmasında kullanılan Ion Torrent sisteminde ise hedef polimeraz zincir reaksiyonu (PZR); primerlerin kısmi kesilmesi, barkod ve adaptör bağlanması ve saflaştırması ardından emülsiyon PZR ile klonal çoğaltma, yüklü partiküller üzerinde zenginleştirme ardından senteze dayalı dizileme yapılır ve nükleotidlerin uzayan DNA

zincirine eklenmesi sonucu açığa çıkan H⁺ iyonlarının neden olduğu pH değişimleri algılanır. Bu nedenle dizileme için floresan işaretli nükleotidlere, kamera ya da lazer sistemlerine ihtiyaç duyulmaz (NGS çalışma grubu).

Bu platformlar genom dizileme, hedeflenen yeniden dizileme ve RNA sıralaması gibi çok çeşitli uygulamalar için kullanılmaktadır. Her sekanslama reaksiyonunun önceden tanımlanmış tek bir hedefi temsil ettiği Sanger yönteminden farklı olarak, ikinci nesil platformlardaki DNA molekülleri katı bir yüzey üzerinde immobilize edilir ve in situ sıralanır ayrıca milyonlarca hedef molekülün paralel olarak sıralanmasına ve maliyette önemli bir düşüşe izin verir (Pittman ve Hardy 2013). Günümüze kadar kullanılan dizileme platformlarının ticari geliştiricileri ve kullandıkları yöntemler Çizim 1.16.1.5.2.'de gösterilmiştir.



Çizim 1.16.1.5.2. Birinci, İkinci ve Üçüncü Nesil DNA Sıralama Teknolojilerinin ve Önde Gelen Ticari Geliştiricilerin Sıralama Kimyalarının Özeti. Pittman ve Hardy (2013)'den alınmıştır.

NGS bilinen monogenik epilepsi genleriyle ilişkili fenotipik spektrumun tanımlanmasına da katkıda bulunmuştur. NGS'nin genetik epilepsi alanındaki gelişimini izleyen monogenik epilepsilerle ilişkili olan gen sayısı hızla 150'nin üzerine çıkmıştır. Bu keşiflerin kümülatif etkisi, erken başlangıçlı ciddi epilepsi ve nörolojik değişimleri ilişkilendirmeyi sağlamaktadır. Bazı durumlarda, tek bir nedensel gen kusurunun keşfi, biyokimyasal ve görüntüleme seviyesinde ilerleyici bir hastalık arayışı içinde daha ileri

tanısal araştırmalara duyulan ihtiyaçı azaltabilir. Genotip-fenotip korelasyonlarının epilepsinin iyi huylu olabileceğini öne sürdüğü durumlarda, mutasyon-pozitif gen testi anti-epileptik ilaç tedavisini durdurma kararını destekleyebilmektedir. Bununla birlikte, hızlı geri dönüşlü genetik testler zamanında kişiselleştirilmiş tedaviye izin verir ve bu şekilde gereksiz araştırmalar ve gereksiz tedavilerden kaçınır (Mei ve diğ 2017). Mendelian kalıtsal hastalıkların genetik etyolojisini belirlemek için yeni ve etkili yöntemler geliştirmeyi sağlamaktadır (Hardies ve diğ 2016).

Yeni nesil dizileme yöntemi esas olarak, klinik etkileri için önemli olan genlerin ifade edilen bölgelerinde zararlı tek nükleotid varyasyonlarını (SNV) ve küçük delesyon ve duplikasyonları tespit etmek için kullanılır (Ergüner 2017). Çok sayıda tek gen testi uygulamak yerine, belli bir hastalık için geniş bir aralıkta tarama yapılmakta ve çeşitli filtrelerden yararlanarak yalnızca klinik açıdan bağlantılı olan genler belirlenmektedir (Bale ve diğ 2015). Az miktarda DNA gerektirmesi, düşük mozaiklik oranına sahip mutasyonların gösterilebilmesine olanak sağlaması ve tek seferde fazla sayıda bölgenin incelenebilmesini sağlaması açısından da tercih edilen bir yöntemdir (Luthra ve diğ 2015). DNA fragmentlerinin bakteriyel klonlanmasına gerek kalmadan kütüphaneler oluşturulabiliyor olması, aynı anda milyonlarca kısa dizilemenin yapılabilmesi ve elektroforeze ihtiyaç duyulmuyor olması diğer tercih nedenlerindedir (Nijman ve diğ 2014). Elde edilen verilerin yorumlanmasıyla; yeni tanısal tahlillerin ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi, hastalığın başlangıcını, ciddiyetini ve ilerlemesini tahmin etmek mümkün olabilmektedir (Pittman ve Hardy 2013). Kısacası, kardiyomiyopatiler, nöromüsküler hastalıklar, retinopatiler ve epilepsiler gibi oldukça heterojen bir genetik arka plana sahip bozukluklardaki mutasyonları taramak için özellikle uygun görünmektedir (Lemke ve diğ 2012).

Tüm bu avantajlarının yanında bir takım kısıtlamaları da barındırmaktadır. Saptanan varyantlar sıralama ve hizalama hatalarından kaynaklanan yanlış pozitif varyantlarla birlikte çok sayıda önemsiz polimorfizm içerebilir (Ergüner 2017, Thomas ve diğ 2017). Ayrıca dizileme sonunda Sanger dizilemeye göre daha kısa okumalar alınması ve cihazın bazı bölgelerdeki G/C tekrarları nedeniyle hatalı okumalar yapar. Nükleotitlerdeki SNP, substitüsyon, insersiyon, delesyon belirlemede aşırı derecede etkili olmasına rağmen, CNV, yapısal yeniden düzenlemeler (translasyon ve inversiyon) veya kısmi düzenlemeler gibi diğer genomik varyasyonlar için etkili değildir (Nicastro ve D'Antiga 2018). Ek

olarak, en yaygın kullanılan NGS stratejileri, verilen bir genomik bölgenin üçlü tekrarlarını veya metilasyon durumunu tespit edememektedir.

1.16.1.5.1.Hedefli Gen Paneli

NGS'deki gelişmeler, hem ailesel hem de sporadik epilepsi formlarında yeni nedensel genlerin tanımlanmasına yol açmıştır. Yapılan çalışmalarda 100'den fazla farklı gendeki patojenik varyantların çeşitli epilepsi türlerine ve nöbetlere neden olduğu bildirilmiştir (Butler ve diğ 2017).

YND teknolojileri ile tüm genom ve tüm ekzom dizilenmesinin yanısıra hedefe yönelik olarak oluşturulan YND panelleri ile etiyojisi genetik heterojenite gösteren hastalıklar için çok sayıda gen aynı anda dizilenebilmektedir (Doğan ve diğ 2017).Hedefli gen panelleri, hem klinik hem de genetik olarak çok heterojen bir hastalık olan mutasyonların otozomal dominant (OD), sıklıkla *de novo* yada otozomal resesif (OR) kaldığı EE'de nedensel değişkeni bulmak için uygun bir yaklaşım sağlamaktadır (Staněk ve diğ 2018). Sınırlı sayıda gen içeren küçük bir panel % 100 kapsama sağlayabilir, çünkü düşük kaplamalı veya düşük kaliteli okuma bölgeleri Sanger sekansıyla doldurulabilir. Daha geniş paneller hedeflenen tüm genlerde % 100 kapsama ulaşamayabilir ve Sanger dizilimi ile kolayca doldurulamaz, ancak daha fazla sayıda gen hedeflediği için moleküler bir tanıya ulaşma şansını artırabilir (Mei ve diğ 2017). Patojenliğin kesin genetik kanıtı için, aynı gen defektinin bağımsız hastalarda tanımlanması gerekir (Hardies ve diğ 2016).

Çalışmalar paneldeki aday gen sayısı arttıkça tanısal değerini arttırdığını bildirmektedir. Parrini ve diğ. ilaca dirençli 349 epilepsi hastası 30 genlik panelle ile taradığında tanısal değeri %14 iken 95 genlik panelle taradığında tanı değeri %20,3'e çıktığını göstermiştir. Bunun yanında küçük bir panele kıyasla, büyük bir panel yüksek VUS oranı ve fenotip ile ilişkili olmayan genlerin dahil edilmesiyle varyant filtrelemede daha fazla karışıklığa neden olabilmektedir (Møller ve diğ 2016, Parrini ve diğ 2016).

Genetik tanının panel analiziyle doğrulanması, daha fazla invaziv tanısal araştırmanın (lomber ponksiyon ve doku biyopsisi gibi) önüne geçebilir. Nedensel genlerin belirlenmesi EBEE'deki hastalık mekanizmalarının anlaşılmasını sağlayabilir ve yeni hedefli ilaç tedavilerinin geliştirilmesini kolaylaştırabilir (Ngoh ve diğ 2014). Ayrıca zaman ve maliyeti azaltmak ve nüks risklerini tahmin etmek için yararlıdır (Nijman ve diğ 2014). Küçük örneklem büyüklüğündeki çalışmalarda da a-CGH'den daha yüksek tanısal değer

gösterilmiştir (Mercimek-Mahmutoglu ve diğ 2015). Özel panellerin temel avantajı, kodlama dizileri, transle edilmeyen bölgeler (UTR), promotör bölgesi, intron-ekzon bölgeleri gibi kodlayan ve kodlamayan bölgelerin seçimi üzerinde tam kontrol ve esneklik elde etmek üzere tasarlanmış olmasıdır (Mei ve diğ 2017). Tüm bunların yanında, gen paneli analizlerindeki dezavantaj önceden tanımlanmış sayıda gen içermesi ve yeni gen keşifleri nedeniyle panel içindeki genlerin zamanla güncellemeye gerek duymasıdır (Møller ve diğ 2016).

1.16.1.5.2. Veri Analizi

Epilepsi genetiği, epilepsiden sorumlu ilk genin bulunmasından bu yana çok hızlı bir şekilde ilerlemiştir. Bunun nedeni yeni nesil dizilemenin keşfiyle pedigrî çalışmalarından varyant analizine geçiştir (Hoffman ve Górká 2017). NGS veri analiziyle DNA dizisi değişikliklerini ve yeni hastalık genlerini tanımlamak için genom çapında mutasyon paternleri gözlemlenebilmektedir (Mutz ve diğ 2013).

NGS tarafından üretilen veri hacmi çok büyük olduğundan iş yükü laboratuvarından veri analiz sürecine doğru kaymıştır. NGS teknolojisi için analiz hattı kabaca 3 analitik adıma ayrılabilir. Birincil analiz; cihaz çalışma esnasında ışık sinyali yoğunluklarını nükleotid baz çağrılarına dönüştürülmesidir. İkincil analiz; fragment DNA'nın referans diziyeye haritalanması ve ikisi arasındaki değişkenlerin çağrılmasıdır. Üçüncül analiz ise söz konusu genetik deney ile ilgili değişken verilerin analizi ve yorumlanmasıdır (Pittman ve Hardy 2013). Bu süreçte; varyant temelli seçim genellikle ilk adımdır. Varyant çağrısının kapsama alanı-kalitesi, popülasyon veritabanlarındaki sıklık ve kodlanmış protein üzerindeki etkileri değerlendirilir. Genetik seçim olarak adlandırılan ikinci adımda kalıtım modelleriyle ilgili yapılan varsayımlara dayanarak varyant önceliklendirmesi yapılır. Daha sonra, kalan aday değişkenleri barındıran tüm genlerde araştırmacının tecrübesiyle bağıntılı olan veri madenciliği gerçekleştirilir. Spesifik bir gen kusurunun potansiyel etkisi hakkındaki son yorum, kısmen değişken bazlı ve kısmen gen bazlıdır. Son olarak, genetik, klinik ve tercihen fonksiyonel verilere dayanan bir varyantın patojenitesini belirlemek için yorumlama yapılır (Hardies ve diğ 2016).

Kalıtısal hastalıklarda önemli olduğu bilinen genlerin patojenitesini değerlendirirken Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Birliği'nin (ACMG) kılavuzlarından yararlanılmaktadır. Varyantları yorumlarken genel veri tabanları (COSMIC, My Cancer Genome, Leiden Open Variation Database, dbSNP, 1000 genomes), yayınlanmış literatür

(PubMed) ve mutasyon sıralama tahmin araçlarından (Mutation Taster,SIFT,PolyPhen2) yararlanılmaktadır. Korunmuş genlerdeki patolojik varyantları araştırırken ClinVar ya da İnsan Gen Mutasyonu Veri Tabanı (HGMD) gibi referanslardan yararlanılmaktadır (Bale ve diğ 2015). NGS sonrası doğru bir veri analiziyle ailelerinin ~% 25'inde OD ve % 40'ında OR patojenik bir varyant tanımlanabilmektedir (Hardies ve diğ 2016).

Bir NGS panelinde bulunan gen sayısı ile tanısal değer arasında pozitif bir ilişki vardır. Dizilenen genlerin sayısı artarsa, tanımlanan varyantların sayısı da artar. Bunun yanında hem biyoinformatik filtreleme işleminin hem de genotip-fenotip yorumlaması zorlaşır.Bu yüzden, bir varyantın taşıyıcı durumunu veya *de novo* oluşumunu belirlemek için ebeveynlerde yapılan segregasyon analizi, patojenite için daha fazla kanıt sağlar (Mei ve diğ 2017).Yakın zamanda yapılan araştırmalarda veri analizleri ile %10-48 oranında tanısal değer elde edilmiştir (Hardies ve diğ 2016).

2.AMAÇ

Epilepsi, ilk defa 1874 yılında Jackson tarafından ‘‘Epilepsi, gri maddenin ani, aşırı hızlı ve lokal boşalmalarının adıdır.’’ şeklinde tanımlanmıştır (Jackson 1870). Epileptik ensefalopati; bilişsel, davranışsal ve diğer beyin fonksiyonlarının ilerleyici olarak bozulmasına yol açan ve bilişsel süreçlerdeki gerilemeye epileptik deşarjların neden olduğu epileptik sendromlardır. Bu sendromlar genellikle hayatın ilk 12 ayı içinde gelişir, ortak özellikleri nöronal hasarın olduğu dönemdeki beyin maturasyonu durumuna özgül klinik ve elektroensefalografi (EEG) bulguları ve antiepileptik ilaçlara dirençli olmalarıdır (Zupanc 2009,Donat 1992).

Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati (EBEE), belirli bir konjenital veya kazanılmış yapısal beyin lezyonu, metabolik bozukluk, trizomi, CNV veya tek gen mutasyonu sonucu oluşabilen bir yaş bağımlı elektroklinik sendromları temsil eder (Allen ve diğ 2015). EBEE etiyojisi kromozomal anomalileri, tek gen bozukluklarını, yapısal beyin malformasyonlarını ve doğuştan gelen metabolizma sorunlarını içerecek şekilde geniş bir yelpazeye sahiptir (Forman ve diğ 2017). Etiyojileri kapsamlı yapısal, metabolik ve immünolojik araştırmalara rağmen sahip oldukları genetik heterojeniteden dolayı tamamıyla belirlenememektedir (Rim ve diğ 2018).

Genetik testlerde kaydedilen ilerlemelerle, EBEE’den sorumlu yeni nedensel genler ve mutasyonlar tanımlanabilmektedir (Venkatesan ve diğ 2016). Bu şekilde epileptik ensefalopati tanılı çocukların % 30-50’sinde *de novo* mutasyonlar belirlenmiştir (Scheffer ve diğ 2017). YND’yle gen panellerinin hedefli dizilenmesi, şüpheli genetik epilepsileri olan hastalar için en uygun maliyetli tanı seçeneği olarak görünmektedir (Mei ve diğ 2017). Günümüzde patogenezele ilişkili genleri içeren panellerin, genotip-fenotip korelasyonu göstermeyen erken başlangıçlı hastalarda tek gen testinin yerine geçtiği bildirilmiştir (Oates ve diğ 2018).

EBEE’lerin genetik ve fenotip heterojenisitesi, hastalara doğru tanı koymayı güçleştirmekle beraber tedaviden istenen sonucun alınmasını da engellemektedir. Hedefli gen paneli analizlerinin patojenik varyantı başarılı bir şekilde tanımlamasıyla; gereksiz invaziv işlemlerden kaçınmak, böylece maliyet ve zaman tasarrufu sağlamak ve gene özgü ilaç tedavisi almak mümkün olabilmektedir. Bu tez çalışmasında, EE ile ilişkili 55 genden oluşan hedefli gen paneli analizinin EBEE tanılı 50 hastada tanısal değerini belirlemek amaçlanmıştır.

3. YÖNTEM

Bu retrospektif tez çalışması, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında yürütüldü. Çalışma için, hasta dosyaları geriye dönük şekilde incelendi. Çalışmada, 2017-2018 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nöroloji Polikliniği'nden Tıbbi Genetik AD. laboratuvarına rutin tanı testi amacıyla yönlendirilen 102 hastadan rastgele seçilen 50 hasta yer aldı.

Seçim yapılırken hastaların varyant sonuçları hiçbir şekilde dikkate alınmamış olup dosya kayıt sırasına göre seçim yapıldı. Hastalara ait yaş, nöbet başlangıç yaşı, ön tanı, aile öyküsü gibi fenotipik bilgilere ve varyant sonucu ile ilgili genotipik bilgilere dosyalarındaki tıbbi arşiv kayıtlarından ulaşıldı. Çalışmaya alınan hastaların tümünde ebeveynlerinden alınmış yazılı aydınlatılmış onam izni bulunmaktadır.

Çalışma, Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (KÜ GOKAEK 2019/98).

3.1.Varyant Analizi

Laboratuvarımızda daha önce bu hastaların periferik kanlarından DNA izolasyonu yapıldı ve zenginleştirilmiş kütüphane örnekleri 55 gen içeren hedefli gen panelinde yeni nesil dizilemeyle çalışıldı. Dizileme cihazından alınan verilerin çeşitli yazılımlar (Ion Torrent Reporter Software,Seq-Genomize), veribankaları (Varsome), segregasyon analizleri ve in silico tahmin araçları (Mutation Taster,SIFT ve Polyphen-2) kullanılarak biyoinformatik analizleri gerçekleştirildi. Analiz sonuçları raporlandırılarak hasta dosyalarına eklendi. Test panelinde yer alan genler, genlerin kalıtım paternleri ve sebep olduğu EBEE türleri Çizelge 3.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1.Hedefli Gen Panelindeki 55 Genin Kalıtım Paterni ve Fenotip Sınıflandırması

SAYI	GEN	KALITIM PATERNİ	FENOTİP
1	STXBP1		EBEE 4
2	KCNT1		EBEE 14
3	SPTAN1		EBEE 5
4	GNAO1		EBEE 17
5	SCN1A		GEFS+,Dravet send,febril nöbetler

6	GABRA1	OD	EBEE 19,juvenil miyoklonik epil.
7	SCN9A		Dravet send.GEFS+,febril nöbetler
8	HCN1		EBEE 24
9	KCNQ2		EBEE7,iyi huylu neonatal nöbetler
10	KCNB1		EBEE 26
11	SCN2A		EBEE 11,Benign ailesel infantil nöbetler 3
12	SCN8A		EBEE 13, Benign ailesel infantil nöbetler 5
13	GRIN2B		EBEE27,Mental reterdasyon OD 6
14	SIK1		EBEE 30
15	DNM1		EBEE 31
16	KCNA2		EBEE 32
17	EEF1A2		EBEE 33,Mental reterdasyon OD38
18	SLC1A2		EBEE 41
19	CACNA1A		EBEE 42,Episodik ataksi 2
20	GABRB3		EBEE 43
21	GABRB1		EBEE 45
22	GRIN2D		EBEE 46
23	FGF12		EBEE 47
24	HNRNPU		EBEE 54
25	SLC25A22		EBEE 3
26	SLC13A5		EBEE 25
27	PNKP		Ataksi,mikrosefali,nöbetler,gelişimsel gecikme
28	DOCK7		EBEE 23
29	PLCB1		EBEE 12
30	WWOX	EBEE 28,spinoserebellar ataksi	
31	ST3GAL3	EBEE 15,mental reterdasyon	
32	AARS	EBEE 29, Charcot-Marie-Tooth send.	
33	TBC1D24	EBEE 16,Doors Send,sağırılık	

34	SCN1B	OR	EBEE 52,Brugada Send 5,GEFS+
35	SYNJ1		EBEE 53,Erken başlan. Parkinson
36	MDH2		EBEE 51
37	CAD		EBEE 50
38	FRRS1L		EBEE 37
39	SZT2		EBEE 18
40	ARV1		EBEE 38
41	NECAP1		EBEE 21
42	SLC25A12		EBEE 39
43	SLC12A5		EBEE 34
44	GUF1		EBEE 40
45	ITPA		EBEE 35
46	UBA5		EBEE 44, spinoserebellar ataksi
47	AP3B2		EBEE 48
48	DENND5A	EBEE 49	
49	ARX	X	EBEE 1
50	CDKL5		EBEE 2
51	ARHGEF9		EBEE 8
52	PCDH19		EBEE 9
53	PIGA		Çoklu konjenital anomali,hipotoni
54	SLC35A2		Glikolizasyona bağlı konjenital h.
55	ALG13		EBEE 36

Hücrede farklı görev ve yapılarda bulunan 55 genin fonksiyon sınıflandırması Çizelge 3.2.'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.2. Gen Panelindeki 55 Genin Fonksiyon Sınıflaması. Wang ve diğ.(2017a)'den alınmıştır.

Fonksiyon	Gen
Nükleik Asit Bağlayıcı	ARX EEF1A2 GUF1 HNRNPU
Enzim	CDKL5 PNKP PLCB1 ST3GAL3 GNAO1 WWOX AARS SIK1 DNM1 ITPA ALG13 GUF1 UBA5
Taşıyıcı	SLC25A22 SLC13A5 SLC12A5 SLC25A12 SLC1A2
Reseptör	FRRS1L

Membran Trafiği	STXBP1
Hücre iskelet Proteini	SPTAN1
Sodyum Kanal	SCN1A SCN2A SCN8A SCN9A SCN1B
Potasyum Kanal	KCNQ2 KCNT1 KCNB1 KCNA2
Kalsiyum Kanal	CACNA1A
HCN Kanal	HCN1
Sinyal Transdüksiyonu	FGF12
Hücre Adezyonu	PCDH19
GABA A Reseptörü	GABRA1 GABRB1 GABRB3
NMDA Reseptörü	GRIN2D
Enzim Modülatörü	DOCK7
Enzim Modülatörü	ARHGEF9 TBC1D24
Sınıflandırılmayan	NECAP1 SZT2 ARV1
Bilinmeyen	PIGA SLC35A2 GRIN2B AP3B2 DENND5A CAD MDH2 SYNJ1

3.2.Verilerin Toplanması

Tez çalışması için öncelikle hastaların genotip-fenotip bilgilerine göre çeşitli tablolar oluşturuldu. Bunun için çalışılan hastaların ön tanıları, yaşları, nöbet başlangıç yaşları, etyolojileri dosyalarından incelendi ve tablolarda ortalama ve yüzde (%) olarak belirtildi. Patojenik, olası patojenik ve VUS varyantların bulunduğu hasta sayısı, genlere ve etyolojilere göre dağılımı hesaplandı. Bu genlerin fonksiyon sınıflandırılması yapıldı. Tespit edilen varyantların literatürde daha önce bildirilip bildirilmediği gen bilgilerini (NM numarası, nükleotid ve protein değişimi) ClinVaR, ExAC ve LOVD veribankalarına girerek kontrol edildi. Hastalık fenotipinin *de novo* yada anne-baba kalıtımını belirlemek için segregasyon analizleri de incelendi.

3.3.VUS Varyantların Yeniden Analizi

Hastaların dosyalarındaki varyant sonuçları retrospektif olarak incelendi. Biyoinformatik analiz sonucu patojenik,olası patojenik ve VUS varyantlar belirlendi. VUS varyanta sahip hastaların bilgileri tekrar incelendi ve analiz edildi.Çünkü VUS varyantların sınıflandırılması, analiz yazılımları ve veritabanlarındaki bilgilerin güncellenmesi sonucu zaman içerisinde değişebilmektedir.Yeniden analiz için ticari bir analiz programı olan Seq-Genomize,cihazın kendi analiz programı olan Ion Torrent –Reporter Software ve in siliko araçları (SIFT, PolyPhen-2 ve MutationTaster) ve OMIM veribankaları kullanıldı. Varyantı hastalık fenotipiyle ilişkilendirmek için ClinVar veritabanı kontrol edildi. Son olarak ücretsiz çevrimiçi veritabanı olan VARSOME üzerinde değerlendirme yapıldı. Bunun için arama motoruna varyantın kromozom bölgesi ve nükleotid değişimi bilgisi

girildi. Çıkan sonuç, incenenen diğer veritabanlarının bilgisiyle birlikte değerlendirilip ACGM'nin son kılavuzuna dayanan beş sınıflı kategoriye göre Likely Benign (LB), Benign (B), VUS, Likely Pathogenic (LP) ya da Pathogenic (P) olarak sınıflandırıldı.

3.4. Tanısal Değerin Belirlenmesi

Bu retrospektif çalışmada, patojenik ve olası patojenik varyant bulunan hastaların çalışmadaki tüm hasta sayısına oranlanmasıyla gen panelinin söz konusu hasta grubunda yüzde cinsinden (%) tanısal değeri hesaplandı. VUS varyantların da hesaplama dahil edilmesiyle bir tanısal değer daha hesaplandı. Tanısal değerler (P,OP ve P,OP,VUS) literatürde farklı sayıda gen içeren panellerin sonuçlarıyla karşılaştırıldı. EBEE hastalarında hedefli gen paneli analizi sonucu elde edilen verileri diğer benzer çalışmalarla karşılaştırmak için yine literatür taraması yapıldı. Bunun için anahtar kelime olarak "next generation sequencing; yeni nesil dizileme, targeted gene panel (analysis) ;hedefli gen paneli (analizi), diagnostic value; tanısal değer, diagnostic rate; tanısal oran, diagnostic value; tanısal değer, epileptic encephalopathy; epileptik ensefalopati, early onset epileptic encephalopathy" girildi. Ayrıca hedefli gen paneli analizleri diğer moleküler tanı yöntemleriyle karşılaştırıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz

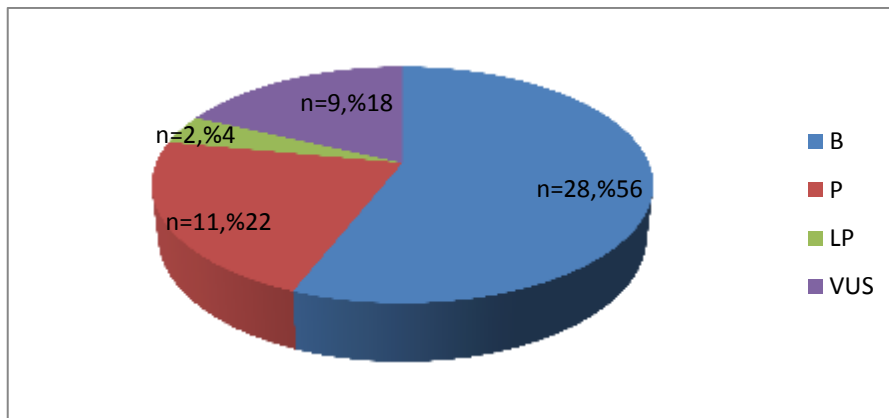
Hasta verileri Excel programına kayıt edildi. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, sıklık ve oran) kullanıldı. Çizelgeler ve çizimler yüzde cinsinden (%) hesaplanarak hazırlandı.

4.BULGULAR

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nöroloji Polikliniği'nden 2017-2018 yılları arasında rutin tanı amaçlı, EE ile ilişkili olduğu bilinen 55 gen içeren hedefli gen paneli çalışması için Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarına yönlendirilen erken başlangıçlı epileptik ensefalopati tanılı 102 hasta arasından rastgele seçilen 50 hasta çalışmaya alındı.

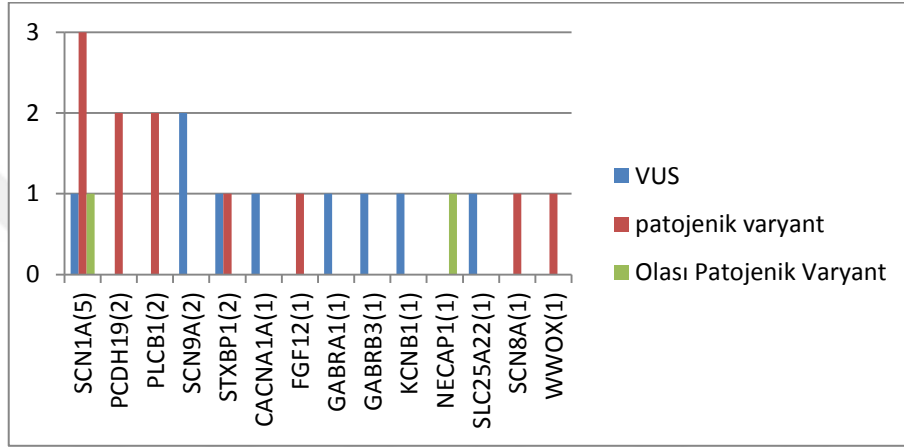
Seçilen hastaların 21'i erkek (%42),29'u (%58) kız hastaydı. Bu hastaların ön tanıları Erken Başlangıçlı Epileptik Ensefalopati (n=28), West sendromu (n=18), Dravet sendromu (n=2) ve Malign Migratuvar Parsiyel Epilepsi'ydi (n=2). Hastaların yaş aralığı 1-18 yıl (ortalama 9.5 yıl) arasındaydı. 50 hastanın 48'inde nöbet başlangıç yaşı ile ilgili bilgilere ulaşılırken 2 hastanın dosyasında bu bilgi bulunamadı. Nöbet başlangıç yaşı 48 hasta için ortalama 193,5 gündü (6,36 ay).Nedensel mutasyon tespit edilenler ortalama 191 gün (6,28 ay) iken, herhangi bir mutasyon saptanmayanlarda ortalama 196 gündü (6,44 ay).Hastalarda görülen yaygın nöbet tipi fokal nöbetlerdi (% 29). Hastaların geçirdikleri ilk epilepsi nöbeti 4. gün ile 41. ay arasında değişmekteydi.

Yeni nesil dizileme yöntemiyle çalışılan hedefli gen panelinden elde edilen veriler çeşitli yazılımlar, segregasyon analizleri ve in silico tahmin araçlarıyla tanımlanmasıyla 50 hastanın 11'inde (% 22) patojenik varyant tespit edildi. İkisinde (%4) olası patojenik varyant tespit edildi. 9 hastada (%18) ise patojenitesi kesin olmayan varyant (VUS) tespit edildi. Yeniden analiz edilen VUS varyantların tamamında sınıflandırma değişmedi. 28 hastada herhangi bir varyant belirlenmedi (%56). Toplamda 22 hastada nedensel varyant (patojenik,olası patojenik ve VUS) tespit edildi.Hastalarda tespit edilen varyant türleri Çizim 4.1'de gösterilmiştir.



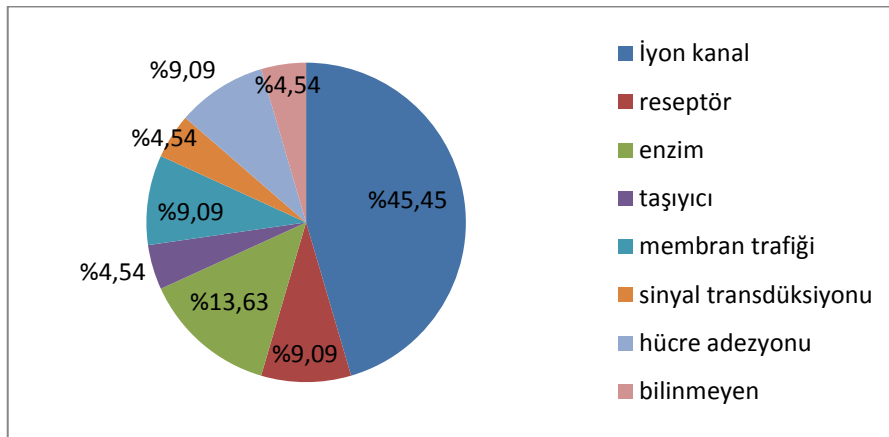
Çizim 4.1. 50 Hastada Bulunan Varyant Türleri

Çalışmada 14 farklı gende 20 farklı nedensel varyant bulundu. Buna göre SCN1A geninde 3 patojenik,1 olası patojenik ve 1 VUS varyant tespit edildi. Tüm hastaların %10'unda(5/50),tüm varyantların ise %23'ünde SCN1A varyantı bulundu (5/22). PCDH19 geninde 2 patojenik varyant, PLCB1 geninde 2 patojenik varyant, FGF12 geninde 1 patojenik varyant STXBP1 geninde 1 patojenik varyant, SCN8A geninde 1 patojenik varyant ve WWOX geninde 1 patojenik varyant tespit edildi. NECAP geninde sadece olası patojenik varyant tespit edilirken 8 gende toplam 9 varyant VUS'du. Varyant türlerinin genlere göre dağılımı Çizim 4.2.'de gösterilmiştir.



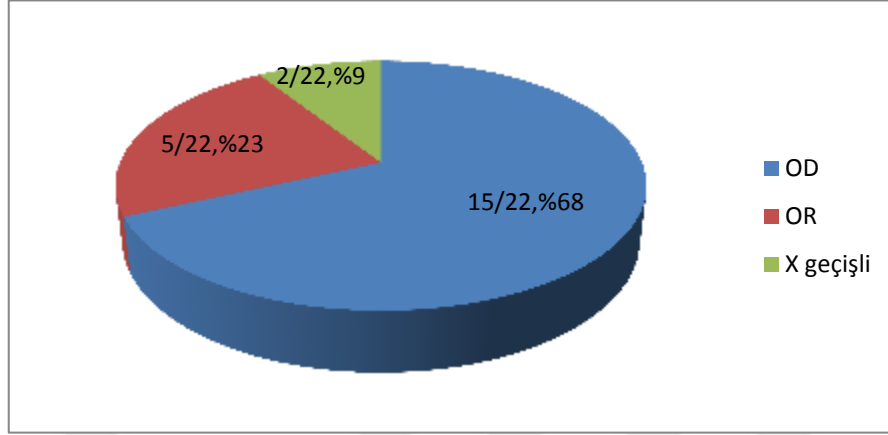
Çizim 4.2. 50 Epileptik Ensefalopati Hastasında Belirlenen Patojenik, Olası Patojenik, VUS Varyantların Genlere Göre Dağılımı

Toplam varyantın %45,45'i kanalopati genlerinden oluştu (SCN1A,SCN8A,SCN9A, CACNA1A ve KCNB1).Ardından toplamda %27,27 ile GABA_A reseptör genleri (GABRA1,GABRB3),membran trafiğinde görevli proteini üreten gen (STXBP1) ve hücre adezyonu proteinini üreten gen (PCDH19) yer aldı. Nedensel genlerin yer aldığı fonksiyon sınıflandırması Çizim 4.3'de gösterilmiştir.



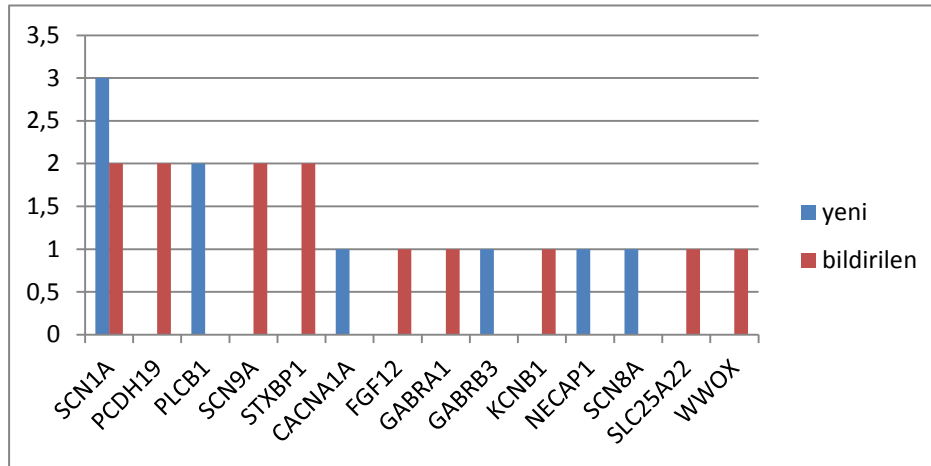
Çizim 4.3. P,OP ve VUS Genlerin Fonksiyon Sınıflandırması

Nedensel varyantların kalıtım paternleri incelendiğinde 15 hasta otozomal dominant, 5 hasta otozomal resesif, 2 hasta X'e bağlı kalıtım gösterdi. Varyantların kalıtım paterni Çizim 4.4'de gösterilmiştir.



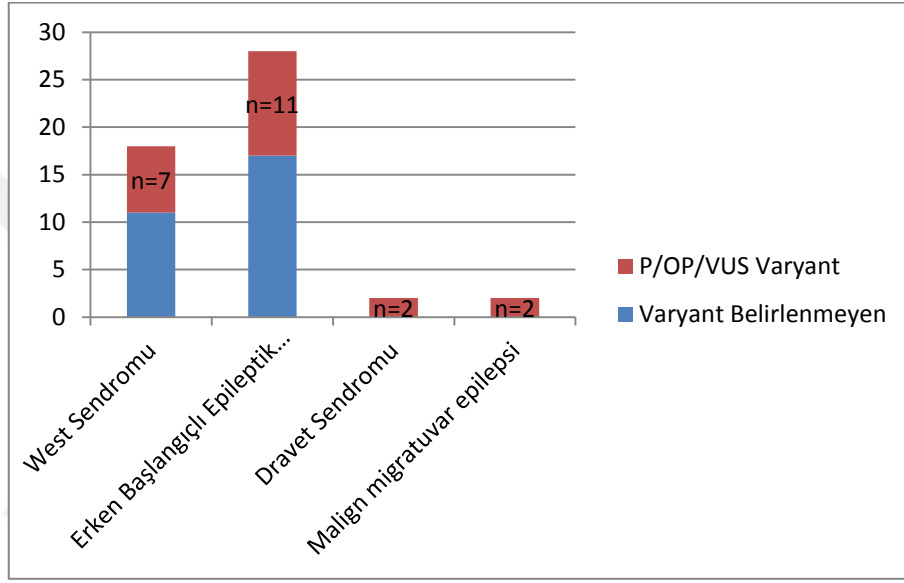
Çizim 4.4. P ve OP ve VUS Varyantların Kalıtım Paternleri

Belirlenen nedensel varyantların literatürde başka çalışmalarda da rapor edilmiş olma durumu araştırıldı. Buna göre varyantların dokuzunun (%41) yeni, on üçünün (%59) ise literatürde daha önce bildirilen varyantlar olduğu tespit edildi. İlk defa bildirilen SCN1A (n=3) ve PLCB1 varyantları (n=2) toplam varyantların %23'ünü oluşturdu. Bu çalışmada yeni tespit edilen ve bildirilen varyantların bulunduğu genler Çizim 4.5'de gösterilmiştir.



Çizim 4.5. 50 Epileptik Ensefalopati Hastasındaki Varyantların Literatür Bilgisi

Epileptik ensefalopati ön tanısıyla gelen 50 hastada mevcut varyantlar etyolojilerine göre sınıflandırıldı. Buna göre malign migratuvar epilepsi ve Dravet sendromuyla başvuran hastaların tamamında nedensel bir varyant tespit edilmişken, West sendromlu hastaların % 38,88’inde,erken başlangıçlı epileptik ensefalopatili hastaların % 39,28’inde nedensel bir varyant tespit edildi. Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati hastaları nedensel bir varyantın en çok tanımlandığı hasta grubunu oluşturmaktaydı (n=11),ardından 7 hasta ile West Sendromu takip etmekteydi. Varyant belirlenen ve varyant belirlenmeyen hastaların etyolojileri Çizim 4.6’da gösterilmiştir.



Çizim 4.6. Hastaların Etiyolojiye Göre Dağılımı

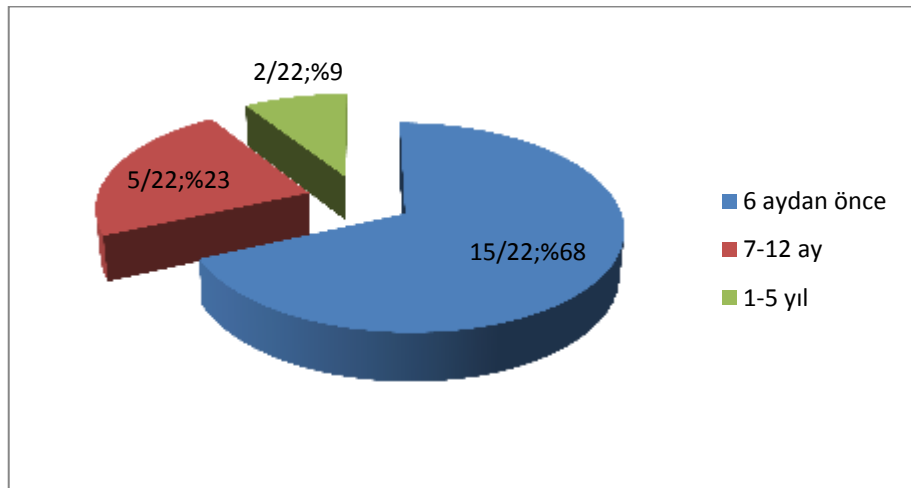
Çalışmamıza Dravet sendromu, West sendromu, malign migratuvar epilepsi ve erken başlangıçlı epileptik ensefalopati tanısıyla yönlendirilen 50 hastada bulunan nedensel genlerin literatürde bildirilen diğer epilepsi sendromlarıyla ilişkisi Çizelge 4.1.’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. P,OP ve VUS Genlerin Bildirilen Bazı Epilepsi Sendromlarıyla İlişkisi Gonsales ve diğ (2015)’den alınmıştır.

GEN	FENOTİP
SLC25A22	EME, Bebeklikte fokal nöbetler Supresyon Burst paterniyle görülen Neonatal Epileptik Ensefalopati
STXBP1	EME,EBEE,Ohtahara, LennoxGastaut,West Sendromu
SCN1A	Akut Ensefalopati, Doose,Dravet,Lennox- Gastaut,West Sendromu Erken Başlangıçlı Ensefalopati Febril Nöbetlerle Seyreden Jeneralize

	Epilepsi Kortikal Gelişim Malformasyonları Bebeklikte Malign Migratuvar Parsiyel Epilepsi
PCDH19	Dravet, Lennox-Gastaut Sendromu İnfantil veya erken çocukluk dönemi epilepsisi
NECAP1	Çeşitli infantil epileptik ensefalopati
KCNB1	EBEE
PLCB1	EBEE Bebeklikte Malign Migratuvar Parsiyel Epilepsi
SCN8A	Bebeklikte fokal nöbetler İnfantil epileptik ensefalopati ve SUDEP
CACNA1A	Lennox-Gastaut Sendromu, İnanfil Spazm
GABRA1	Lennox-Gastaut Sendromu, İnanfil Spazm
GABRB3	Lennox-Gastaut Sendromu, İnanfil Spazm
WVOX	EBEE
FGF12	EBEE

Nedensel varyant tespit edilen hastaların nöbet başlangıç yaşı 3 gruba ayrıldı. Birinci grup ilk nöbetini 6. aydan önce geçirenler, ikinci grup ilk nöbetini 7-12.ay arasında geçirenler ve üçüncü grup ilk nöbetini 1-5.yıl arasında geçirenlerdir. İlk nöbetini 6.ay ve öncesinde geçirenlerin %68'inde, 7-12.aylar arasında geçirenlerin %23'ünde ve 1-5.yıl arasında geçirenlerin %9'unda nedensel varyant belirlendi. Patojenik, olası patojenik ve VUS varyant bulunan hastaların nöbet başlangıç yaşı Çizim 4.7.'de gösterilmiştir.



Çizim 4.7. Patojenik, Olası Patojenik ve VUS Varyant Bulunan 22 Hastanın Nöbet Başlangıç Yaşı

Tespit edilen varyantlara ait gen bilgileri Seq-Genomize ve Varsome programlarından Mutation Taster,SIFT,Polyphen-2 ve HSF gibi in siliko tahmin araçlarından,ExAC ve ClinVar veritabanlarından alındı. Buna göre en sık rastlanan mutasyon tipi yanlış anlamlı mutasyondur (%59,n=13).Diğer mutasyon tipleri ise çerçeve kayması (%14,n=3), ve diğerleriydi (%27,n=6) (dur kodonu oluşumu, başlangıç kodonunda görülen mutasyon, splice bölgesinde görülen mutasyon,UTR bölgesinde görülen mutasyon). PLCB1 geninde c.1945A>G, OR, yanlış anlamlı mutasyon ve PCDH19 geninde c.1091-1092 insC, X'e bağlı kalıtılan, çerçeve kayması mutasyonu iki kardeşle ortak. Biyoinformatik analizler sonucu tüm varyantların genotip bilgileri Çizelge 4.2 ve in siliko tahmin araçları bilgileri Çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Belirlenen Varyantların Genotip Detayları

Hasta No	Gen	Genotip	Kalıtım	Mutasyon tipi	Bölge	Transkript Numarası
3	PLCB1	homozigot	AR	Yanlış anlamlı	Exon 19	NM_015192.3
4	PLCB1	homozigot	AR	Yanlış anlamlı	Exon 19	NM_015192.3
8	SCN1A	heterozigot	dn,AD	Yanlış anlamlı	Exon 6	NM_006920.4
9	GABRB3	heterozigot	AD	3 prime UTR	3'UTR	NM_000814.5
11	STXBP1	heterozigot	AD	Splice bölgesi	İntron 8	NM_003165.3
13	SCN1A	heterozigot	dn,AD	Dur kodonu	Exon 12	NM_006920.4
14	SCN1A	heterozigot	AD	Yanlış anlamlı	Exon 26	NM_006920.5
18	SCN1A	heterozigot	AD	Çerçeve kayması	Exon 7	NM_006920.4
20	SCN9A	heterozigot	AD	Yanlış anlamlı	Exon 15	NM_002977.3
25	GABRA1	heterozigot	AD	Yanlış anlamlı	Exon 11	NM_001127645.1
27	NECAP1	homozigot	AR	Başlangıç kodonu	Exon 1	NM_015509.3
28	KCNB1	heterozigot	AD	Yanlış anlamlı	Exon 2	NM_004975.3
29	PCDH19	heterozigot	XLD	Çerçeve kayması	Exon 1	NM_001184880.1
30	PCDH19	heterozigot	XLD	Çerçeve kayması	Exon 1	NM_001184880.1
34	CACNA1A	heterozigot	AD	Yanlış anlamlı	Exon 19	NM_01127221.1
38	SLC25A22	homozigot	AR	5 Prime UTR	5'UTR	NM_001191061.1
40	FGF12	heterozigot	dn,AD	Yanlış anlamlı	Exon 3	NM_021032.4
44	SCN9A	heterozigot	AD	Yanlış anlamlı	Exon 12	NM_002977.3
45	SCN1A	heterozigot	dn,AD	Splice bölgesi	intron 14	NM_001353948.1
46	WWOX	homozigot	AR	Yanlış anlamlı	Ekzon 7	NM_016373.3

47	SCN8A	heterozigot	dn,AD	Yanlış anlamlı	Ekzon 27	NM_014191.3
49	STXBP1	heterozigot	AD	Yanlış anlamlı	Ekzon 5	NM_003165.3

dn:de novo AR:Otozomal Resesif AD:Otozomal Dominant

Hasta No	Gen Lokasyonu	Nükleotid değişimi	Aminoasit değişimi
3	chr20:8713941	c.1945A>G	Arg649Gly
4	chr20:8713941	c.1945A>G	Arg649Gly
8	chr2:166908424	c.769T>C	Cys257Arg
9	chr15:26792819	c.*121C>T	*
11	chr9:130428443	c.664-2A>G	*
13	chr2:166898897	c.2048C>A	Ser683Ter
14	chr2:166848094	c.5691T>G	Asn1886Lys
18	chr2:166905410	c.1013delA	Asn338fs
20	chr2:167134706	c.2428G>A	Val810Met
25	chr5:161324187	c.1130C>T	Pro377Leu
27	chr12:8234886	c.2T>A	Met1Lys
28	chr20:47990100	c.1997C>T	Pro666Leu
29	chrX:99662504	c.1091-1092 insC	Tyr366Leufs
30	chrX:99662504	c.1091-1092 insC	Tyr366Leufs
34	chr19:13409974	c.2473G>A	Val825Met
38	chr11:795147	c.-141G>A	*
40	chr3:192053223	c.341G>A	Arg114His
44	chr2:167141193	c.1747G>A	Glu583Lys
45	chr2:166895930	c.2589+3A>T	*
46	chr16:78458877	c.716T>G	Leu239Arg
47	chr12:52200146	c.4876C>T	Arg1626Cys
49	chr9:130422343	c.281C>T	Pro94Leu

*bilinmiyor+var-yok

Çizelge 4.3.Belirlenen Varyantların İn Siliko Tahmin Araçları Bilgisi

	In silico tahmin araçları						
Hasta No	Mutation Taster	Polyphen2	SIFT	ExAC	ClinVar	HSF	ACGM sınıfları.
3	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	-	-	+	Patojenik
4	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	-	-	+	Patojenik
8	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	-	patojenik	+	Patojenik
9	Hastalığa neden olan	Mutasyon yok	*	-	-	-	VUS
11	Hastalığa neden olan	Mutasyon yok	*	sık değil	-	+	Patojenik
13	Otomatik Hastalığa neden olan	Mutasyon yok	Tolere eilebilir	sık değil	-	+	Patojenik
14	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	sık değil	-	+	VUS
18	*	Mutasyon yok	*	yok	-	+	Patojenik
20	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	sık değil	Patojenitesi çelişkili	-	VUS
25	Hastalığa neden olan	benign	Tolere eilebilir	sık değil	VUS	+	VUS
27	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	-	-	+	Olası Patojenik
28	Hastalığa neden olan	Benign	Zararlı	sık değil	Patojenitesi çelişkili	+	VUS
29	*	*	*	sık değil	patojenik	-	Patojenik
30	*	*	*	sık değil	patojenik	-	Patojenik
34	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	sık değil	-	+	VUS
38	Hastalığa neden olan	*	*	-	VUS	-	VUS
40	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Tolere edilebilir	-	patojenik	+	Patojenik
44	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Tolere edilebilir	sık değil	-	+	VUS

45	Hastalığa neden olan	*	*	yok	patojenik	+	Olası Patojenik
46	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	yok	-	+	Patojenik
47	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Zararlı	yok	-	+	Patojenik
49	Hastalığa neden olan	Muhtemelen zararlı	Tolere edilebilir	sık değil	benign	+	VUS

*bilinmiyor+var-yok

Hastaların 41'inde (%82) anne ve baba örnekleri de aynı panelle çalışıldı. Segregasyon analizlerine göre PLCB1, NECAP1, WWOX SLC25A22 genlerindeki varyantların maternal ve paternal kalıtıldığı gösterildi. VUS varyantların altısı paternal kalıtıldı. 5 hastada bulunan varyantlar *de novo* olarak ortaya çıktı.4 hastada anne ve baba örnekleri eksik olduğu için kalıtımı belirlenemedi. Hedefli gen paneli analizi sonucu patojenik olası patojenik ve VUS varyant bulunan hastaların fenotip bilgileri Çizelge 4.4.ve Çizelge 4.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Patojenik ve Olası Patojenik Varyantların Fenotip Detayları

Hasta No/Cinsiyet	Yaş	Fenotip	Nöbet başlangıç yaşı	Gen(transkript)	Aile	ACGM sınıfı
3(F)	7y 11m	MME	5 ay	PLCB1(NM_015192.3)	Maternal-paternal	P
4(M)	4y 10m	MME	6 gün	PLCB1(NM_015192.3)	Maternal-paternal	P
8(F)	5y 5m	EBEE	4,5 ay	SCN1A(NM_006920.4)	de novo	P
11(F)	2y 4m	West	2,5 ay	STXBP1(NM_003165.3)	*	P
13(M)	11y 6m	EBEE	1 yaş	SCN1A(NM_006920.4)	de novo	P
18(M)	1y 8m	West	5 ay	SCN1A(NM_006920.4)	*	P
29(F)	16y 1m	EBEE	15 ay	PCDH19(NM_001184880.1)	*	P
30(F)	17y 7m	EBEE	7,5 ay	PCDH19(NM_001184880.1)	*	P
40(F)	6y 8m	EBEE	4 gün	FGF12(NM_021032.4)	de novo	P
46(F)	1y 8m	EBEE	41 gün	WWOX(NM_016373.3)	Maternal-paternal	P
47(F)	5y 7m	EBEE	11 ay	SCN8A(NM_014191.3)	de novo	P
27(M)	3y 4m	EBEE	5,5 ay	NECAP1(NM_015509.3)	Maternal-paternal	LP
45(F)	1y 6m	Dravet	6 ay	SCN1A(NM_001353948.1)	de novo	LP

*mevcut değil

Çizelge 4.5. VUS Varyantların Fenotip Detayları

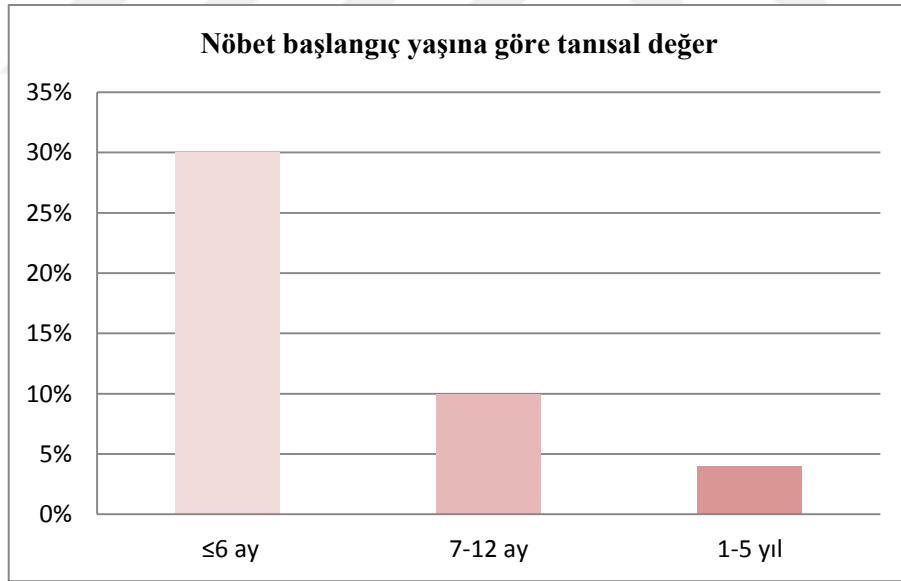
Hasta No/Cinsiyet	Yaş	Fenotip	Nöbet başlangıç yaşı	Gen(transkript)	Aile	ACGM sınıfı
9(F)	2y 8m	EBEE	4,5 ay	GABRB3 (NM_000814.5)	Paternal	VUS
14(M)	9y	Dravet	8 ay	SCN1A (NM_006920.5)	Paternal	VUS
20(F)	1y 6m	West	1,5 ay	SCN9A(NM_002977.3)	Paternal	VUS
25(F)	2y 10m	West	6 ay	GABRA1(NM_001127645.1)	Paternal	VUS
28(F)	8y 10m	EBEE	4 ay	KCNB1 (NM_004975.3)	Paternal	VUS
34(M)	1y 3m	West	3,5 ay	CACNA1A (NM_01127221.1)	Paternal	VUS
38(M)	4y 11m	EBEE	18 ay	SLC25A22(NM_001191061.1)	Maternal-paternal	VUS
44(M)	3y 3m	West	10,5 ay	SCN9A(NM_002977.3)	Maternal	VUS
49(F)	3y 3m	West	2,5 ay	STXBP1(NM_003165.3)	Maternal	VUS

Bu tez çalışmasında, hedefli gen paneli analizinin erken başlangıçlı epileptik ensefalopati hastalarındaki tanısal değeri %26 (P,OP) ve %44 (P,OP ve VUS) bulundu. Hesaplanan tanısal değerler Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. 50 Hastada Hedefli Gen Paneli Analizleriyle Elde Edilen Tanısal Değer

Patojenik/Olası Patojenik	Tanısal Değer
n=13	%26
Patojenik/Olası Patojenik+VUS	Tanısal Değer
n=22	%44

Çalışmada nöbet başlangıç yaşına göre tanısal değer hesaplandı. Buna göre ilk nöbetini 6. ay ve öncesinde geçirenler için tanısal değer %30 (n=15), ilk 7-12. ayda nöbet geçirenler için % 10 (n=5), ilk 5 yılda nöbet geçirenler için %4 (n=2) olarak belirlendi. Nöbet başlangıç yaşlarına göre tanısal değer karşılaştırılması Çizim 4.8'de gösterilmiştir.



Çizim 4.8. Nöbet Başlangıç Yaşına Göre Tanısal Değer

5.TARTIŞMA

Epileptik ensefalopatiler, epileptik aktiviteye bağlı refrakter nöbetler ve bilişsel gerileme ile karakterize yıkıcı epilepsi grubudur ve kötü bir prognoz taşımaktadır (Carvill ve diğ 2013). EBEE, Ohtahara sendromu dahil olmak üzere erken bebeklik dönemi ve kısmi bebeklik nöbetleri de dahil olmak üzere, gelişim bozuklukları ve erken dönemde başlayan nöbetler ile karakterize bir grup epileptik ensefalopatidir (Saitso ve diğ 2016).Erken başlangıçlı epileptik ensefalopatilerin genetik ve fenotipik heterojenitesi; tedaviden istenen sonucun alınamamasına ve hastaların ilaca dirençli hale gelebilmelerine neden olmaktadır. En etkin tedavinin sağlanabilmesi için hastalığa neden olan mutasyonun tanımlanması gerekmektedir. Klasik tanı yöntemlerinden Sanger dizileme, tek gende meydana gelen değişikliklerin saptanmasında kullanılmaktadır. Fakat birden fazla genin sorumlu olduğu epileptik ensefalopatiler söz konusu olduğunda bu yöntem maliyetli ve zaman alıcı olabilmektedir. Sanger dizileme yerine EE'lerden sorumlu olduğuna bilinen genlerin yer aldığı hedefli gen panelleri kullanarak nedensel mutasyonu tespit etmek,genotip-fenotip korelasyonu kurarak bulguları klinik bir çerçevede yorumlayabilmek daha olanaklıdır.Ayrıca hedefli gen paneli analizlerinin patojenik varyantı başarılı bir şekilde tanımlamasıyla; gereksiz invaziv işlemlerden kaçınmak, böylece maliyet ve zaman tasarrufu sağlamak ve gene özgü ilaç tedavisi almak mümkün olabilmektedir.Bu sebeplerden dolayı tez çalışmamızda, EE ile ilişkili 55 genden oluşan hedefli gen paneli analizinin EBEE tanılı 50 hastada tanısal değerini belirlemeyi amaçladık.

Bu retrospektif tez çalışmasında, 11 hastada patojenik,2 hastada olası patojenik ve 9 hastada VUS varyant belirlendi. Bu çalışmada patojenik ve olası patojenik varyantların tanısal değeri % 26 tüm varyantların (P,OP,VUS) tanısal değeri %44 olarak belirlendi.Toplam 14 gende 20 farklı nedensel varyant tespit edildi.

Çalışmamızda varyantların en sık saptandığı genler PCDH19,PLCB1 ve SCN1A'dır. PCDH19,beyin gelişimi sürecinde yüksek oranda eksprese edilen protokaderin 19 proteinini kodlamakta olup nöronal göç veya sinaptik bağlantıların kurulmasında rol oynamaktadır. Protokaderinler, kaderin süper ailesinin en büyük alt grubunu oluşturan kalsiyum bağımlı adezyonla ilgili transmembran proteinlerdir. PCDH19, SCN1A'dan sonra epilepside klinik olarak en ilgili ikinci gendir ve gelişmekte olan beyinde yüksek oranda eksprese edilir. Dibbens ve diğ yaptıkları çalışmalarda altı büyük ailede ve etkilenen ikize

sahip bir ailede PCDH19 mutasyonları bildirmiştir. PCDH19 genindeki mutasyonların tanımlanması, erken başlangıçlı epilepsili kadın hastalarda kesin bir tanı sağlar (Depienne ve diğ 2012a,b). Çalışmalarda bu genin Dravet sendromuna benzeyen EBEE'den otizm spektrum bozuklukları ve zihinsel engelli epilepsiye kadar geniş bir klinik spektrumu kapsadığı gösterilmiştir (Mei ve diğ 2017).Bizim çalışmamızda yapılan analizler sonucunda EBEE tanılı 2 kız kardeşte 1091-1092 insC, Tyr366Leufs,çerçeve kayması mutasyonu saptanmıştır.

PLCB1, fosfolinositide spesifik enzim olan fosfolipaz C β 1'i kodlamaktadır.PLCB1 geni, merkezi sinir sisteminin farklı gelişimsel ve işlevsel yönlerini değiştirmede önemli bir rol oynar. Araştırmalar murin modelinde, epileptik bir fenotiple sonuçlanan bir mutasyon saptanmıştır (Ngoh ve diğ 2014).PLCB1 mutasyonları, EBEE 12,malign migratuvar epilepsi,şizofreni,bipolar bozukluk,Huntington hastalığı,depresyon ve Alzheimer hastalığına neden olmaktadır (OMIM) Bizim çalışmamızda malign migratuvar epilepsi tanılı 2 kardeşte 1945A>G, Arg649Gly,yanlış anlamlı mutasyon saptandı.

SCN1A,voltaj kapılı bir sodyum kanalını kodlamaktadır, kas hücrelerinde ve nöronlardaki aksiyon potansiyellerinin oluşumu ve yayılması için gereklidir. GABAergic internöronlardaki sodyum akımının en az% 75'i Na V 1.1 kanallarından gerçekleştirilir. Şiddetli DS fenotipinin %75'inde Na V azalmasıyla sonuçlanan SCN1A fonksiyonu kaybı mevcuttur (Bayat ve diğ 2015,Kwong ve diğ 2015, Gataullina ve Dulac 2017).Fonksiyon kaybı özellikle γ - aminobütirik asit (GABA)ergic hücrelerinde uyarılabilirliği azaltarak nöbet eşiğini yükseltir (Steel ve ark 2017).Yapılan çalışmalarda SCN1A geni, DS'nun yanında ateşle seyreden generalize epilepsi ile de ilişkilendirilmiştir (Lee 2018). Yapılan bir çalışmada ise SCN1A'lı hastalar % 17 (8/46) ile en büyük oranı oluşturmuştur (Zhang ve diğ 2015). Bizim çalışmamızda hastaların %10'unda ve tüm varyantların %23'ünde SCN1A geni tespit edildi. Bu gen Dravet sendromlu hastaların tümünde tespit edilirken EBEE (8. ve 13.hasta) ve West sendromu tanılı (18.hasta) hastalarda tespit edildi.

SCN1A'nın da yer aldığı iyon kanal genlerinin (SCN1A,SCN8A,SCN9A, CACNA1A ve KCNB1), EE'nin gelişiminde belirgin bir rol oynadığı ve bugüne kadar 600'den fazla varyant tanımlandığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada iyon kanalı genlerinin (8/24) en yaygın mutasyonları oluşturduğu gösterilmiştir (Zhang ve diğ 2015).Çalışmamızda iyon kanalı genleri nedensel mutasyonların %45'ini (10/22) oluşturdu. Bu sonuç iyon kanallarının işlev bozukluğunun EBEE patogenezinde kritik rol oynadığını göstermektedir.

Çalışmamızda hastaların %18'inde VUS varyantlar tespit edildi. Literatürde bu varyantlar, mutasyonun nispeten daha az genetik hasar verici olması, hastada daha hafif bir fenotipe ve eksik penetrasyona sahip olmasıyla ilişkilendirilmiştir (Zhou ve diğ 2018). Ayrıca Oates ve diğ VUS varyantları, yetersiz biyoinformatik bilgi, fonksiyonel veri eksikliği, eksik penetrans ve yetersiz klinik bilgi nedeniyle genotip-fenotip korelasyonunun kurulamaması olarak değerlendirmiştir. Bizim çalışmamızda saptanan VUS oranının, kalıttaki eksik penetrans, gen-fonksiyon çalışması eksikliği, veritabanlarında bilgi azlığı ve etkilenmiş diğer aile üyelerinin eksikliği gibi nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Epilepsi gen araştırmalarında, NGS tabanlı hedef dizileme stratejileri, de novo varyantlarının tespitini arttırmaktadır (Rim ve diğ 2018). Yapılan bir çalışmada EE'li 89 hastada, patojenik *de novo* mutasyonlar % 33.7 (30/89) oranında bildirilmiştir (Helbig ve diğ 2016). Başka bir çalışmada, SCN1A geninde 4 varyant ve SCN8A geninde 6 varyantın *de novo* olduğu gösterilmiştir. SCN8A'daki *de novo* yanlış anlamlı mutasyonların, gelişimsel gecikmeyle seyreden erken başlangıçlı nöbetlerin yeni bilinen bir nedeni olduğu bildirilmiştir (Trump ve diğ 2015). Bizim çalışmamızda bulunan varyantların %22.72'sinin (SCN1A,SCN8A ve FGF12) patojenik *de novo* ortaya çıktığı gösterildi (n=5).SCN1A *de novo* varyantların en çok olduğu gendi (%60). Bizde yaptığımız çalışmada EBEE hastaları için hedefli gen paneli diziliminin *de novo* varyantların tespitinde kullanılabilecek en uygun tanı seçeneği olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda hastaların %56'sında nedensel bir varyant tespit edilmedi. Bu grubun genetik altyapısından; mikrolelesyon-mikroduplikasyon varlığı, mutasyonun gen paneli dışındaki genlerde ya da 55 genin intronik bölgelerinde bulunması ve epigenetik mekanizmaların sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Hedefli gen paneliyle nedensel varyant belirlenemeyen EE'lerin tanısında ileri tetkik olarak mikrolelesyon-duplikasyon tespiti için a-CGH, dizileme için WES (Tüm Ekzom Dizileme) ve WGS (Tüm Genom Dizileme) yöntemi kullanılabilir. Fakat hedefli gen paneli, daha ucuz maliyetli olması, ekzom hedef bölgeleri içinde yer almayan veya zayıf kapsanan genomik bölgeleri de dizilemesi ve yalnızca fenotipik olarak ilgili genlerin dahil edilmesiyle tesadüfi bulguları azalttığı için WES analizine bir alternatiftir. Sınırlı sayıda gen, WES'ten daha düşük maliyetlerle daha yüksek okuma derinliğine ve daha iyi analiz kalitesine izin verir (Møller ve diğ 2016,Thomas ve diğ 2017). Ayrıca WES maliyetli bir

yöntemdir ve çok büyük boyutlu verilerin analizi için yoğun iş yükü getirmektedir. Bununla birlikte, geçen zaman düşünüldüğünde hastaya tanı koymak için önce hedefli gen paneli çalışması yapılması daha pratik görülmektedir (Fung ve diğ 2017). Bunun yanında yanlış yorumlanabilen ve yanlış bir tanıya yol açabilecek çok sayıda bilinmeyen öneme sahip varyant tespit edebilmektedir(Nicastro ve D'Antiga 2018). Bu nedenlerden dolayı EBEE hastaların tanısında hedefli gen paneli analizlerinin kullanılmasının daha avantajlı olduğu düşünülmektedir.

Hedefli epilepsi gen panelleri klinik çalışmalarda ve araştırmalarda giderek daha fazla kullanılmaktadır. Literatürde 35-265 genli hedefli EE panelleri ile ilgili çeşitli çalışmalar bildirilmiştir ve tanısal değerler % 10 ila% 48,5 arasındadır (Kothur ve diğ 2018, Mercimek-Mahmutoğlu ve diğ 2015). En yüksek tanısal değer, 265 genin, Dravet, EBEE, rolandik epilepsi, miyoklonik-astatik epilepsi ve Lennox - Gastaut sendromu gibi çeşitli fenotiplere sahip 33 hastada, yeni nesil dizileme kullanılan çalışmada %48 olarak alınmıştır (Lemke ve diğ 2012).

Yapılan bir çalışmada 110 gen içeren panel kullanılarak taranan 339 klinik epilepsi hastasının varyant raporlarının retrospektif olarak incelenmesinde P ve OP varyantlar hastaların %18'inde, VUS varyantlar %6'sında saptanmıştır (Butler ve diğ 2017). 178 hastada 485 genin tarandığı bir başka çalışmada 59 hastada mutasyon tespit edilmiş ve tanısal değer %33 olarak bildirilmiştir (Wang ve diğ 2017b). Kothur ve diğ, EE panelinde 105 hastada 71 gen taramışlar, 15 gende patojenik ve olası patojenik varyantlar belirlemişler ve tanısal değeri %28,5 olarak bildirilmişlerdir (Kothur ve diğ 2018). En geniş hasta kohortunu içeren çalışma 8565 hastada gerçekleştirilmiştir. Burada 70 genin 22'sinde varyasyonlar tespit edilmiştir, tanısal değer %15,4 iken en çok SCN1A ve KCNQ2'de mutasyon bulunmuştur (Lindy ve diğ 2018). İnatçı epilepsi, global gelişimsel gecikme ve bilişsel işlev bozukluğu gibi farklı fenotipleri içeren 110 hastadan oluşan bir çalışmada tanısal değer % 12,7 olarak bildirilmiştir (Mercimek-Mahmutoğlu ve diğ 2015). Görüldüğü gibi literatürde bildirilen tanısal değerlerdeki değişkenlik, panellerde bulunan gen sayısı, dizileme cihazının güvenilirliği, biyoinformatik analiz adımları için farklı yazılımlar, veritabanları kullanılması ve seçilen hastaların fenotip spektrumuyla açıklanabilir. Tanısal değerimizin literatürle benzerlik göstermesinde; gen paneli için yönlendirilen hastaların seçimi, hedef genlerin dizilenmesi, varyant filtreleme ve varyant fenotiple ilişkilendirme gibi süreçlerin doğru yönetilmiş olmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda ilk nöbetini 6. ay ve öncesinde geçirenler için tanısal değer %30 (n=15), ilk 7-12. ayda nöbet geçirenler için % 10 (n=5), 1-5.yıl arasında nöbet geçirenler için %4 (n=2) olarak belirlendi.Araştırmalar nöbet başlangıç yaşı küçüldükçe tanısal değerini arttığını göstermektedir. Bu doğrultuda nöbet başlangıç yaşının patojenik mutasyonla ilişkisi araştırılmış ve yaşamın ilk ayında nöbet geçiren 21 hastanın 13'ünde (%61.9) P ve OP mutasyon bulunmuştur (Staněk ve diğ 2018). Parrini ve diğ patojenik varyant belirlenen hastaların %66'sının 6 aylıktan önce ilk nöbetini geçirdiğini göstermiştir (Parrini ve diğ 2016). Bir çalışmada nöbet başlangıç yaşları farklı (yenidoğan, bebeklik ve çocukluk dönemi) 96 çocuğa 3 farklı gen paneli uygulandığında tanısal değer,ilk nöbetini yenidoğan dönemde geçirenlerde (% 63), bebeklik döneminde geçirenlerde (% 21) ve çocukluk döneminde geçirenlerde % 4 bulunmuştur (Oates ve diğ 2018). Bu sonuçlar bizim çalışmamızdan çıkan sonuçlar ile uyum içindedir.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu retrospektif tez çalışmasında, erken başlangıçlı epileptik ensefalopati tanılı 50 hastanın bilinen 55 EE geni içeren hedefli gen panelinde yeni nesil dizileme yöntemiyle çalışılması sonucu elde edilen varyantların tanısal değeri araştırıldı.

Çalışmamızda saptanan %26'lık (P,OP) ve % 44'lük (P,OP ve VUS) tanısal değer, erken başlangıçlı epileptik ensefalopatili hastalarının tanısında hedefli gen paneli analizlerinin kullanıldığı son çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Literatür bilgisi ışığında hedefli gen panelinin, EE'li çocuklarda erken genetik tanıyı mümkün kılan kapsamlı bir araştırma olduğunu öngörmekteyiz.

Genomik teknolojideki gelişmeler ve maliyetlerdeki azalma ile birlikte yeni nesil dizileme tabanlı gen panelleri rutin klinik uygulamalarda yerini almıştır. Hedefli gen paneli analizlerinin sağladığı avantajlar, epilepsi genetiğindeki ilerlemeyi de beraberinde getirmektedir. Erken başlangıçlı epileptik ensefalopati tanılı 50 hastada hedefli gen paneli analiziyle patojenik bir varyantın tanımlanması, genotip-fenotip korelasyonu kurmayı mümkün kılmaktadır. Bunun yanında prognozu, tedavi seçeneklerini ve genetik danışma sürecini de etkilemektedir.

Hedefli gen paneli çalışması sonucunda herhangi bir nedensel varyant bulunamayan fakat fetotipin genetik altyapıya bağlı olduğu düşünülen hastalarda mikrodelsiyon mikroduplicasyon tespitinde a-CGH, WES veya WGS gibi daha ileri testler uygulanabilir. Ayrıca bu çalışmalar, klinik ve genotipik kayıtlardaki bilgi birikimi, poligenik kalıtım ve spesifik katkı sağlayan epigenetik faktörler çerçevesinde genişletilebilir.

Çalışmamızda tanımlanan varyantların %18'ini oluşturan VUS'ların patojenitesini belirlemek için ileri fonksiyonel analizler ve etkilenmiş-etkilenmemiş diğer aile üyelerinde de mutasyon taraması önerilmektedir.

Hasta sayısının artırılmasıyla belirli bir genin fenotipik spektrumu genişletilebilir. Elde edilen veriler daha önce bildirilen vakalarla karşılaştırılabilir böylece varyant yorumlama kolaylaşabilir ve tanı değeri de daha yüksek olabilir. Bu nedenlerle gen paneli çalışmalarının tanısal değerini arttırmak için daha fazla sayıda ve fenotipik spektrumlu hastayı içine alacak şekilde genişletilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Akay A, Sümer-Turanlıgil C, Uyanıkgil Y. İyon Kanalları ve Epilepsi Patojenezindeki Rollerini. Arşiv 2010; 19: 72
- Aktekin B, Kayrak N. Epilepsilerde Sınıflandırma Çalışmaları. Bora İ, Yeni NS. Gürses C.(Ed). Epilepsi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; 2008;3-11.
- Allen NM, Conroy J, Shahwan A ve diğ. Unexplained early onset epileptic encephalopathy: Exome screening and phenotype expansion. *Epilepsia*. 2016 Jan;57(1):e12-7.
- Arzimanoglou A, Guerrini R, Aicardi J. Aicardi'nin Çocuklarda Epilepsi. İstanbul Medikal Yayıncılık. İstanbul,2007; 7-13.
- Arzimanoglou A, French J, Blume WT ve diğ. Lennox-Gastaut syndrome: a consensus approach on diagnosis, assessment, management, and trial methodology. *Lancet Neurol* 2009;8:82-93.
- Atmaca M, Baykan B, Bebek N ve diğ. A Case of Lennox-Gastaut Syndrome Who Developed Tonic Status Epilepticus Induced by Intravenous Diazepam. *Epilepsi* 2012;18(3):38-42.
- Baasch AL, Huning I, Gilissen C ve diğ. Exome sequencing identifies a de novo SCN2A mutation in a patient with intractable seizures, severe intellectual disability, optic atrophy, muscular hypotonia, and brain abnormalities. *Epilepsia*,2014; 55(4):e25–e29.
- Bale SJ, Beadling C, Bry L ve diğ. Klinik Tanıda Yeni Nesil Sıralama: Erken Uygulamaya Koyanların Deneyimleri.2015.
- Basel-Vanagaite L, Hershkovitz T, Heyman E ve diğ. Biallelic SZT2 Mutations Cause Infantile Encephalopathy with Epilepsy and Dysmorphic Corpus Callosum. *The American Journal of Human Genetics*, 2013;(93), 524–529
- Bayat A, Hjalgrim H, Møller RS. The incidence of SCN1A-related Dravet syndrome in Denmark is 1:22,000: A population-based study from 2004 to 2009. *Epilepsia*. 2015 Apr;56(4):e36-9.
- Benedictis AD, Freri E, Rizzi M ve diğ. Vagus nerve stimulation for drug-resistant Epilepsia Partialis Continua: Report of four cases. *Epilepsy Research*, 2013; 107, 163—171.
- Binder K. D. Scharfman E. H. Recent Advances in Epilepsy Research. Kluwer Academic\Plenum Publishers,2004;12-35.
- Blanchard MG, Willemsen MH, Walker JB ve diğ. De novo gain-of-function and loss-of-function mutations of SCN8A in patients with intellectual disabilities and epilepsy. *J Med Genet*. 2015 May;52(5):330-7.
- Bora İ, Yeni NS, Gürses C.(Ed). Epilepsi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; 3-11, 2008.
- Brunklaus A, Dorris L, Ellis R ve diğ. The clinical utility of an SCN1A genetic diagnosis in infantile-onset epilepsy. *Dev Med Child Neurol*,2013; 55: 154–61.
- Butler KM, da Silva C, Alexander JJ ve diğ. Diagnostic Yield From 339 Epilepsy Patients Screened on a Clinical Gene Panel. *Pediatr Neurol*, 2017 Dec;77:61-66.
- Camfield CS, Camfield PR, Gordon K ve diğ. Incidence of epilepsy in childhood and adolescents: a population based study in Nova Scotia from 1977- 1985. *Epilepsia* 1996 Jan; 37(1):19-23.
- Caraballo RH, Cersosimo RO, Sakr D ve diğ. Ketogenic diet in patients with Dravet syndrome. *Epilepsia*,2005;46:1539-44.
- Carvill GL, Heavin SB, Yendle SC ve diğ. Targeted resequencing in epileptic encephalopathies identifies de novo mutations in CHD2 and SYNGAP1. *Nat Genet*, 2013 Jul;45(7):825-30.

Celayir FM. Otizm Bulgusu Gösteren Bireylerdeki Genetik Değişikliklerin Mİpa Yöntemi İle Ortaya Konması. Uzmanlık Tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,2012.

Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*,1989;30:389-399.

Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*,1981,22:489-501.

Coppola G,Verrotti A,Ammendola E ve diğ. Ketogenic diet for the treatment of catastrophic epileptic encephalopathies in childhood. *European Journal of Paediatric Neurology*, 2010; 14(3):229-234

Covanis A. Epileptic encephalopathies (including severe epilepsy syndromes). *Epilepsia*, 2012;53 (Suppl 4):114-126.

Cross JH, Kluger G, Lagae L. Advancing the management of childhood epilepsies. *Eur J Paediatr Neurol*, 2013; 17: 334–47.

Çelik T.Semptomatik epilepsili hastalarda dirençliliği belirleyen faktörler. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı,2011.

Çokar Ö,Kutlu G. Epileptic Encephalopathies in Infancy. *Epilepsi* 2014;20(ES 1):32-36.

D'Alonzo R, Rigante D, Mencaroni E ve diğ. West Syndrome: A Review and Guide for Paediatricians. *Clin Drug Investig*,2018; 38:113–124.

Damaj L, Lupien-Meilleur A, Lortie A ve diğ. CACNA1A haploinsufficiency causes cognitive impairment, autism and epileptic encephalopathy with mild cerebellar symptoms. *Eur J Hum Genet*, 2015; 23(11): 1505–1512.

Dashti JSM, Gamiieldien J. A practical guide to filtering and prioritizing genetic Variants. *BioTechniques*, 2017; 62:18-30.

Deckers CL, Genton P, Sills GJ ve diğ. Current limitations of antiepileptic drug therapy: a conference review. *Epilepsy Res*, 2003; 53: 1-17.

Depienne C, Trouillard O, Saint-Martin C ve diğ. Spectrum of SCN1A gene mutations associated with Dravet syndrome: analysis of 333 patients. *J Med Genet*,2009;46:183-191.

Depienne C, Trouillard O, Gourfinkel-An I ve diğ. Mechanisms for variable expressivity of inherited SCN1A mutations causing Dravet syndrome. *J Med Genet*, 2010;47:404-410.

Depienne C, Gourfinkel-An I, Baulac S, ve diğ. Genes in infantile epileptic encephalopathies. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies. 4.Baskı. Bethesda ,*National Center for Biotechnology Information*; 2012.

Depienne C, LeGuern E. PCDH19-related infantile epileptic encephalopathy: an unusual X-linked inheritance disorder. *Hum Mutat*, 2012;33(4):627-34.

Doğan M,Eröz R,Yüce H ve diğ. The Known about Next-Generation Sequencing (NGS).(Review of the Literature). *Duzce Medical Journal*, 2017;19(1):27-30.

Donat JF. The age-dependent epileptic encephalopathies. *J Child Neurol*. 1992;7(1):7–21.

Dravet C, Bureau M, Oguni H ve diğ. Severe myoclonic epilepsy in infancy: Dravet syndrome. *Adv Neurol*, 2005;95:71-102.

Dulac O. Epileptic encephalopathy. *Epilepsia* 2001;42 (Suppl 3):23-26.

Ergüner B. Computational methods for analyzing ngs data to discover clinically relevant mutations. Doktora Tezi.Sabancı Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı,2017.

- Eun SH, Kang HC, Kim DW ve diğ. Ketogenic diet for treatment of infantile spasms. *Brain Dev*, 2006; 28:566–71.
- Farnaes L, Nahas SA, Chowdhury S ve diğ. RCIGM Investigators. Rapid whole enome sequencing identifies a novel GABRA1 variant associated with West syndrome. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*, 2017;1;3(5).
- Ferrie CD. Severe paediatric epilepsy syndromes,2015:7.
- Forman EB, Gorman KM, Conroy J ve diğ. Cost of exome sequencing in epileptic encephalopathy: is it 'worth it'?, *Arch Dis Child*,2018;103(3):304.
- Frost JD, Hrachovy RA. Infantile spasms. Boston, Kluwer Academic Publishers, 2003.
- Fung CW, Kwong AK, Wong VC. Gene panel analysis for nonsyndromic cryptogenic neonatal/infantile epileptic encephalopathy. *Epilepsia Open*,2017; 2(2):236–243.
- Gataullina S, Dulac O. From genotype to phenotype in Dravet disease. *Seizure*,2017 ;44:58-64.
- Gokben S, Onay H, Yilmaz S ve diğ. Targeted next generation sequencing: the diagnostic value in early-onset epileptic encephalopathy. *Acta Neurol Belg*,2017; 117:131–138.
- Gonsales MC, Montenegro MA, Soler CV ve diğ. Recent developments in the genetics of childhood epileptic encephalopathies: impact in clinical practice. *Arq Neuropsiquiatr*,2015;73(11):946-58.
- Hamon B,Heinemann U. Developmental changes in neural sensitivity to excitatory aminoacids in area of CA1 of the rat hippocampus. *Brain Res*, 1998;466:286- 290.
- Hardies K, Weckhuysen S, Jonghe PD ve diğ S. Lessons learned from gene identification studies in Mendelian epilepsy disorders. *European Journal of Human Genetics*,2016; 24, 961–967.
- Heilbroner PL, Castaneda GY. Pediatric Neurology: Essentials for General Practice. *Seizures, Epilepsy, and Related Disorders*. 1.Baskı. Lippincott Williams & Wilkins 2007;148-87
- Helbig KL, Kelly D, Farwell Hagman KD, Deepali N, Shinde DN. Diagnostic exome sequencing provides a molecular diagnosis for a significant proportion of patients with epilepsy. *Genetics in medicine*,2016;18(9):898-905.
- Hoffman-Zacharska D, Górka-Skoczylas P.Trends and expectations the research on the molecular background of epileptic encephalopathies.*Dev Period Med*, 2017;21(4):317-327.
- Howell KB, Harvey AS, Archer JS. Epileptic encephalopathy: Use and misuse of a clinically and conceptually important concept. *Epilepsia*, 2016;57(3):343-7.
- Hrachovy RA, Frost JD. Severe encephalopathic epilepsy in infants: infantile spasms (West syndrome). Pellock JM, Bourgeois BFD, Dodson WE (Ed). *Pediatric epilepsy: diagnosis and therapy*. 3.baskı. New York: Demos; 2008;249-268.
- Hwang SK, Kwon S. Early-onset epileptic encephalopathies and the diagnostic approach to underlying causes. *Korean J Pediatr*, 2015;58:407-414.
- Jackson JH. A study of convulsions. Trans St. Andrews *Med Crad Assoc*, 1870; 3:1-45.
- Kang HC, Chung DE, Kim DW ve diğ.Early- and late-onset complications of the ketogenic diet for intractable epilepsy. *Epilepsia*,2004; 45:1116–23.
- Karagöl BS, Özkan M,Okumuş N ve diğ. Case Report of a Newborn with Early Infantile Epileptic Encephalopathy and West Syndrome in Follow-Up.*İstanbul Tıp Derg* 2012;13(2):89-92.
- Kato M, Saitoh S, Kamei A ve diğ. A longer polyalanine expansion mutation in the ARX gene causes early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern (Ohtahara syndrome). *Am J Hum Genet*, 2007;81:361-366.

- Kesavan S, Sankhyan N. West Syndrome: Questions Aplenty- Few Answers. *The Indian Journal of Pediatrics*,2019; 86(2):116–117.
- Kılıç H. Valproik Asit Kullanan Epilepsili Çocuklarda Leptin, İnsülin ve Kan Lipidleri ile Vücut Kitle İndeksi Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2008.
- Ko A, Jung DE, Kim SH ve diğ. The Efficacy of Ketogenic Diet for Specific Genetic Mutation in Developmental and Epileptic Encephalopathy. *Front Neurol*, 2018; 16:9:530.
- Ko A, Youn SE, Kim SH ve diğ. Targeted gene panel and genotype-phenotype correlation in children with developmental and epileptic encephalopathy. *Epilepsy Res*, 2018;141:48-55.
- Kodera H, Kato M, Nord AS ve diğ. Targeted capture and sequencing for detection of mutations causing early onset epileptic encephalopathy. *Epilepsia*,2013; 54(7),1262-1269.
- Kothur K, Holman K, Farnsworth E ve diğ. Diagnostic yield of targeted massively parallel sequencing in children with epileptic encephalopathy. *Seizure*,2018; 59, 132–140.
- Köylü A. Antiepileptik ilaç kullanan çocuklarda ultrasonografik olarak karaciğer yağlanması, abdominal aorta ve ana karotis arterde intima-media kalınlığının değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı,2012.
- Kwong AK, Ho AC, Fung CW ve diğ. Analysis of Mutations in 7 Genes Associated with Neuronal Excitability and Synaptic Transmission in a Cohort of Children with Non-Syndromic Infantile Epileptic Encephalopathy. *PLoS One*. 2015;10(5)
- Kuang J, Yan X, Genders AJ, Granata C, ve diğ. An overview of technical considerations when using quantitative real-time PCR analysis of gene expression in human exercise research. *PLoS One*. 2018;13(5).
- Lado FA, Rubboli G, Capovilla G ve diğ. Pathophysiology of epileptic encephalopathies. *Epilepsia*,2013;54 (Suppl 8):6-13.
- Lee EH. Epilepsy syndromes during the first year of life and the usefulness of an epilepsy gene panel. *Korean J Pediatr* 2018;61(4):101-107.
- Lemke JR, Riesch E, Scheurenbrand T ve diğ. Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia*,2012;53(8):1387–1398.
- Lemmon ME, Terao NN, Ng YT ve diğ. Efficacy of the ketogenic diet in Lennox-Gastaut syndrome: a retrospective review of one institution's experience and summary of the literature. *Dev Med Child Neurol*,2012; 54:464–8.
- Lindy AS, Stosser MB, Butler E ve diğ. Diagnostic outcomes for genetic testing of 70 genes in 8565 patients with epilepsy and neurodevelopmental disorders. *Epilepsia*, 2018;59(5):1062-1071.
- Luthra R, Chen H, Roy-Chowdhuri S ve diğ. Next-Generation Sequencing in Clinical Molecular Diagnostics of Cancer: Advantages and Challenges. *Cancers (Basel)*,2015;7(4):2023-36.
- Mahdieh N, Mikaelia S, Badv RS ve diğ. Pathogenic significance of SCN1A splicing variants causing Dravet syndrome: Improving diagnosis with targeted sequencing for variants by in silico analysis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*,2018; 166, 80–90.
- Mardis ER. Next-Generation DNA Sequencing Methods. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2018;9:387-402.
- Marini C, Romoli M, Parrini E ve diğ. Clinical features and outcome of 6 new patients carrying de novo KCNB1 gene mutations. *Neurol Genet*. 2017; 3(6).
- Markand ON. Lennox-Gastaut syndrome (childhood epileptic encephalopathy). *J Clin Neurophysiol*, 2003;20:426-441.

- Mastrangelo M, Leuzzi V. Genes of early-onset epileptic encephalopathies: from genotype to phenotype. *Pediatr Neurol*, 2012; 46(1): 24-31.
- Mefford HC, Yendle SC, Hsu C ve diğ. Rare copy number variants are an important cause of epileptic encephalopathies. *Ann Neurol*, 2011; 70(6): 974-85.
- Mei D, Parrini E, Marini C, ve diğ. The Impact of Next-Generation Sequencing on the Diagnosis and Treatment of Epilepsy in Paediatric Patients. *Mol Diagn Ther*, 2017; 21(4): 357-373.
- Miceli F, Soldovieri MV, Ambrosino P ve diğ. Early-onset epileptic encephalopathy caused by gain-of-function mutations in the voltage sensor of Kv7.2 and Kv7.3 potassium channel subunits. *J Neurosci*, 2015; 4; 35(9): 3782-93.
- Michaud JL, Lachance M, Hamdan FF ve diğ. The genetic landscape of infantile spasms. *Human Molecular Genetics*, 2014; 23(18), 4846–4858.
- Mina DE, Ciccone R, Brustia F ve diğ. Improving molecular diagnosis in epilepsy by a dedicated high-throughput sequencing platform. *European Journal of Human Genetics*, 2015; 23, 354-362.
- Mizielinska SM. Ion channels in epilepsy. *Biochem Soc Trans*, 2007; 35: 1077–1079.
- Molinari F, Kaminska A, Fiermonte G ve diğ. Mutations in the mitochondrial glutamate carrier SLC25A22 in neonatal epileptic encephalopathy with suppression bursts. *Clin Genet*, 2009; 76: 188-194.
- Møller RS, Larsen LHG, Johannesen KM ve diğ. Gene Panel Testing in Epileptic Encephalopathies and Familial Epilepsies. *Mol Syndromol*, 2016; 7(4): 210-219.
- Mulley JC, Mefford HC. Epilepsy and the new cytogenetics. *Epilepsia*, 2011; 52: 423–432.
- Murakami N, Ohtsuka Y, Ohtahara S. Early infantile epileptic syndromes with suppression-bursts: early myoclonic encephalopathy vs. Ohtahara syndrome. *Jpn J Psychiatry Neurol*, 1993; 47: 197-200.
- Mutz KO, Heilkenbrinker A, Lönne M ve diğ. Transcriptome analysis using next-generation sequencing. *Current Opinion in Biotechnology*, 2013; 24(1), 22-30.
- Ngoh A, McTague A, Wentzensen IM ve diğ. Severe infantile epileptic encephalopathy due to mutations in PLCB1: expansion of the genotypic and phenotypic disease spectrum. *Dev Med Child Neurol* 2014; 56(11): 1124-1128.
- Nicastro E, D'Antiga L. Next generation sequencing in pediatric hepatology and liver transplantation. *Liver Transpl*. 2018 ; 24(2): 282-293.
- Nieh SE, Sherr EH. Epileptic encephalopathies: new genes and new pathways. *Neurotherapeutics*, 2014; 11: 796-806.
- Nijman IJ, van Montfrans JM, Hoogstraat M ve diğ. Targeted next-generation sequencing: a novel diagnostic tool for primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*, 2014; 133(2): 529-534.
- Oates S, Tang S, Rosch R ve diğ. Incorporating epilepsy genetics into clinical practice: a 360° evaluation. *NPJ Genom Med*, 2018; 3: 13.
- Ohba C, Kato M, Takahashi S ve diğ. Early onset epileptic encephalopathy caused by de novo SCN8A mutations. *Epilepsia*, 2014; 55(7): 994-1000.
- Ohtahara S, Yamatogi Y. Epileptic encephalopathies in early infancy with suppression-burst. *J Clin Neurophysiol*, 2003; 20: 398-407.
- Oliva M, Berkovic SF, Petrou S. Sodium channels and the neurobiology of epilepsy. *Epilepsia*, 2012; 53: 1849–1859.
- OMIM, PLCB1. <https://www.omim.org/entry/607120>. Erişim: 03.07.2018

- Özbolet G, Tuli A. Talasemi ve ilgili hemoglobinopatilerin Moleküler Tanı Yöntemleri: Günümüz ve Gelecek. *Adıyaman Üni. Sağlık Bilimleri Derg*, 2017;3(3):599-616.
- Panayiotopoulos CP. Epileptic encephalopathies in infancy and early childhood. Panayiotopoulos CP, (Ed). *The epilepsies: Seizures, Syndromes and Management*. Oxfordshire; Bladon Medical Publishing; 2005; 137-206.
- Parrini E, Marini C, Mei D ve diğ. Diagnostic Targeted Resequencing in 349 Patients with Drug-Resistant Pediatric Epilepsies Identifies Causative Mutations in 30 Different Genes. *Hum Mutat*, 2017;38(2):216-225.
- Papandreou A, McTague A, Trump N ve diğ. GABRB3 mutations: a new and emerging cause of early infantile epileptic encephalopathy. *Dev Med Child Neurol*, 2016; 58(4): 416-420.
- Per H, Canpolat M. Malignant Epileptic Syndromes in Infancy. *Erciyes Med J*, 2013; 35(4): 189-97.
- Pisano T, Numis AL, Heavin SB ve diğ. Early and effective treatment of KCNQ2 encephalopathy. *Epilepsia*, 2015;56(5):685-691.
- Pittman A, Hardy J. Genetic Analysis in Neurology: The Next 10 Years. *JAMA Neurol*. 2013;70(6): 696-702.
- Reid AC, Berkovic FS, Petrou S. Mechanisms of human inherited epilepsies. *Progress in Neurobiology*, 2009;87; 41-57.
- Reid ES, Williams H, Anderson G ve diğ. Mutations in SLC25A22: hyperprolinaemia, vacuolated fibroblasts and presentation with developmental delay. *J Inher Metab Dis*, 2017; 40:385-394.
- Rim JH, Kim SH, Hwang IS ve diğ. Efficient strategy for the molecular diagnosis of intractable early-onset epilepsy using targeted gene sequencing. *BMC Medical Genomics*, 2018;11:6.
- Ruffolo G, Cifelli P, Roseti C. A novel GABAergic dysfunction in human Dravet syndrome. *Epilepsia*, 2018;59(11):2106-2117.
- Saitu H, Kato M, Mizuguchi T ve diğ. De novo mutations in the gene encoding STXBP1 (MUNC18-1) cause early infantile epileptic encephalopathy. *Nat Genet*, 2008;40:782-788.
- Saitu H, Fukai R, Ben-Zeev B ve diğ. Phenotypic spectrum of GNAO1 variants: epileptic encephalopathy to involuntary movements with severe developmental delay. *Eur J Hum Genet*, 2016; 24(1): 129-134.
- Scheffer IE. Genetic Testing in Epilepsy: What Should You Be Doing? *Epilepsy Currents*, 2011;11(4): 107-111.
- Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G ve diğ. ILAE Classification of the Epilepsies Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 2017; 58(4): 512-521.
- Selioutski O, Seltzer L, Burchfiel J ve diğ. Characteristic features of the interictal EEG background in two patients with Malignant Migrating Partial Epilepsy in Infancy (MMPEI). *J Clin Neurophysiol*, 2015; 32(4): e23-e29.
- Staněk D, Laššuthová P, Štěrbová K ve diğ. Detection rate of causal variants in severe childhood epilepsy is highest in patients with seizure onset within the first four weeks of life. *Orphanet J Rare Dis*, 2018;13(1):71.
- Steel D, Symonds JD, Zuberi SM ve diğ. Dravet syndrome and its mimics: Beyond SCN1A. *Epilepsia*, 2017;58(11):1807-1816.
- Stuppia L, Antonucci I, Palka G ve diğ. Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases. *Int J Mol Sci*, 2012;13:3245-3276.
- Synevo. www.synevo.com.tr. Erişim: 15.03.2019.
- Swann J.W, Brady R.J. Penicilin-induced epileptogenesis in immature rats CA3 hippocampal pyramidal cells. *Dev Brain Res*, 1984;12:243-254.

- Swann J.W, Smith K.L, Brady R.J.Age-dependant alterations in the operations of hippocampal neural Networks. *Ann NY Acad Sci*,1991;627:264- 276.
- Thomas MG, Maconachie G, Sheth V ve diğ. Development and clinical utility of a novel diagnostic nystagmus gene panel using targeted next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet*, 2017;25(6):725-734.
- Trump N, McTague A, Brittain H ve diğ. Improving diagnosis and broadening the phenotypes in early-onset seizure and severe developmental delay disorders through gene panel analysis. *J Med Genet*, 2016;53:310–317.
- Veggiotti P, Beccaria F, Guerrini R ve diğ. Continuous spike-and-wave activity during slow-wave sleep: syndrome or EEG pattern? *Epilepsia*, 1999;40:1593-1601.
- Venkatesan C, Angle B, Millichap JJ.Early-life epileptic encephalopathy secondary to SZT2 pathogenic recessive variants. *Epileptic Disord* 2016; 18 (2): 195-200.
- Vezyroglou K,Cross HJ. Targeted Treatment in Childhood Epilepsy Syndromes. *Curr Treat Options Neurol*,2016; 18: 29.
- Wang J, Zhi-Jian L,Liua L ve diğ. Epilepsy-associated genes. *Seizure*,2017;44:11–20.
- Wang J, Gao H, Bao X ve diğ. SCN8A mutations in Chinese patients with early onset epileptic encephalopathy and benign infantile seizures. Wang et al. *BMC Medical Genetics*,2017;18:104.
- Weckhuysen S, Mandelstam S, Suls A ve diğ. KCNQ2 encephalopathy: Emerging phenotype of a neonatal epileptic encephalopathy. *Ann Neurol*,2012;71:15-25.
- West WJ. On a peculiar form of infantile convulsions. *Lancet*,1841; 1:724–725.
- Yakıncı C.*Sendrom II, Epileptoloji Terimleri Sözlüğü*. Tıp Terimleri Sözlüğü.2006;4(4):4-38.
- Yagi K. Evolution of Lennox-Gastaut syndrome: a long-term longitudinal study. *Epilepsia* 1996;37 (Suppl 3):48-51.
- Yamatogi Y, Ohtahara S. Early-infantile epileptic encephalopathy with suppression-bursts, Ohtahara syndrome; its overview referring to our 16 cases. *Brain Dev*,2002;24:13-23.
- “Yeni Nesil Dizi Analizinde Algoritmalar.”Yeni Nesil Dizi Analizinde Algoritmalar Çalışma Grubu.
- Yılmaz KS.İnfantil spazmda prognostik faktörler. Uzmanlık Tezi.Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2011.
- Yiş U, Dirik E, Kurul S. Epileptic Encephalopathies In Childhood. *Deü Tıp Fakültesi Dergisi*,2006;20(3):83-191.
- Yuan JS,Reed A,Chen F ve diğ. Statistical analysis of real-time PCR data. *BMC Bioinformatics*, 2006; 7:85.
- Yuskaitis CJ, Ruzhnikov MRZ, Howell KB ve diğ. Infantile Spasms of Unknown Cause: Predictors of Outcome and Genotype-Phenotype Correlation. *Pediatric Neurology*, 2018;87:48-56.
- Xu X, Yang X, Wu Q ve diğ. Amplicon Resequencing Identified Parental Mosaicism for Approximately 10% of “de novo” SCN1A Mutations in Children with Dravet Syndrome. *Hum Mutat*,2015;36:861–872.
- Zhand A, Sayad A, Ghafouri-Fard S.ve diğ. Expression analysis of GRIN2B, BDNF, and IL-1 β genes in the whole blood of epileptic patients. *Neurol Sci*,2018;39(11):1945-1953.
- Zhang Y, Kong W, Gao Y ve diğ. Gene Mutation Analysis in 253 Chinese Children with Unexplained Epilepsy and Intellectual/Developmental Disabilities. *PLoS One*, 2015; 10(11).
- Zhang Q, Li J, Zhao Y ve diğ. Gene mutation analysis of 175 Chinese patients with early-onset epileptic encephalopathy. *Clin Genet* 2017;91:717–724.

Zhou P, He N, Zhang JW ve diğ. Novel mutations and phenotypes of epilepsy-associated genes in epileptic encephalopathies. *Genes, Brain and Behavior*, 2018.

Zupanc ML. Clinical evaluation and diagnosis of severe epilepsy syndromes of early childhood. *J Child Neurol*, 2009;24(8 Suppl):6-14.



ÖZGEÇMİŞ

1. BİREYSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Gülüşan UZUNER

Doğum Yeri ve Tarihi: Trabzon-20.08.1993

Uyruğu: TC

Medeni Durumu: Bekar

İletişim Adresi ve Telefonu: Bahçelievler Mah.Necmettin Şener Cad.Çağlar Sitesi A
Blok No:28/18 Merkez/BİLECİK

Tel: 0545 583 43 11

2. EĞİTİM DURUMU

2014 – 2017: Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

2008 – 20012: İzmir Menderes Fatma Ramazan Büküşoğlu Anadolu Lisesi

STAJLAR

2016: Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

YABANCI DİL

İngilizce

3. ÜNVANLARI

2017:Moleküler Biyolog

4. MESLEKİ DENEYİMİ

- Kandan ve dokudan DNA ve RNA izolasyonu
- Agaroz jel elektroforezi ve jel görüntüleme, yorumlama
- Real Time PCR Teknolojisi-LightCycler 1.5 ve LightCycler 480 cihazı
- İnsan Kanser Hücre Kültürü
- Yeni Nesil Dizileme Veri Analizi

5. BİLİMSEL ETKİNLİKLER

• Ulusal Kongrelerde Kabul Edilen Poster Bildirileri

Deniz Sünnetçi-Akkoyunlu, Bülent Kara, Naci Çine, Elif Büşra Yılmaz, Bilge Dursun, Nurhan Külcü, **Gülüşan Uzun**, Nisa Devrim, Hakan Savlı. P-005- *Erken-Başlangıçlı Epileptik Ensefalopati Tanılı 67 Olguda Hedef Gen Paneli Analizleri*-13.Uluslararası Katılımlı Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi,2018,Antalya.



ETİK KURUL EKİ



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Etik Kurul Bilgileri	Adı	Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	Adres	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Ara Kat 41380 Umuttepe Yerleşkesi /KOCAELİ
	Telefon	0262 303 74 50
	Faks	0262 303 74 63
	E-Posta	gokaetikkurul@kocaeli.edu.tr

Başvuru Bilgileri	Araştırmanın Adı	Erken Başlangıçlı Epileptik: Ensefalopati Hastalarında Hedefli Gen Paneli Analizlerinin Tanısal Değerinin Saptanması			
	Araştırma Proje Numarası	KÜ GOKAEK 2019/98			
	Sorumlu Araştırmacı Unvanı/Adı/Soyadı	Dr. Öğretim Üyesi Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU			
	Sorumlu Araştırmacının Uzmanlık Alanı	Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji			
	Araştırma Merkezi Destekleyici	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji AD			
	Araştırmanın Türü	Yüksek Lisans Tezi			
	Araştırmaya Katılan Merkezler	Tek Merkezli <input checked="" type="checkbox"/>	Çok Merkezli <input type="checkbox"/>	Ulusal <input checked="" type="checkbox"/>	Uluslararası <input type="checkbox"/>

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Var	Yok	Açıklama
	Başvuru Dilekçesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Başvuru Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Araştırmanın Türü	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dosya ve görüntü kayıtları gibi retrospektif arşiv taraması
	Araştırma Protokolü	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Kullanılacak Form Örnekleri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Aydınlatılmış Onam Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Araştırma Bütçesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Literatür Örneği	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Taahhütname	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Biyolojik Materyal Transfer Anlaşması	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	İzin Belgeleri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Başhökümlük Orayı	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Özgeçmişler	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Değişiklik Bilgi Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Proje Sonuç Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Diğer	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu

Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su	Sayfa
Onay Formu	09.04.2019/KOGEK001.3	1/2

Karar Bilgileri	Karar No: <u>KÜ GOKAEK 2019/0153</u> Proje No: <u>2019/98</u> Tarih: <u>22.04.2019</u>
	Dr. Öğretim Üyesi Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU sorumluluğunda yapılan ve yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçesi, amacı, yaklaşım ve yöntemleri, gönüllüler için beklenen yarar ve riskler dikkate alınarak değerlendirilmiş ve araştırmanın ilgili protokol doğrultusunda belirtilen merkezlerde yürütülmesi etik açıdan, <input checked="" type="checkbox"/> Uygun bulunmuştur. <input type="checkbox"/> Eksikliklerin tamamlanması koşulu ile uygun bulunmuştur.* <input type="checkbox"/> Uygun bulunmamıştır.*

Dayanakları	Hasta Hakları Yönetmeliği (01.08.1998/23420); Biyoloji ve Tıbbın Uygulanması Bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin Korunması Sözleşmesi; İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (09.12.2003/25311); Biyotıp Araştırmalarına İlişkin İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesine Ek Protokolün Onaylanmasının Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (29.03.2011/27899); İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik (13.04.2013/28617); Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği (06.09.2014/29111); Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi; İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu; Türk Tabipleri Birliği Hekimlik Meslek Etiği Kuralları; Türk Tabipleri Birliği Araştırma Etiği Bildirgesi
-------------	--

Etik Kurul Üyeleri

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma İle İlişki		Toplantıda Bulunma		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Kadir Babaoğlu Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İ. Erdem Okay Üye	Genel Cerrahi	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Haluk Emre Özel Üye	Restoratif Diş Tedavisi	Kocaeli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Özlem Yıldız Gündoğdu Üye	Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Canan Beydemir Üye	Biyoistatistik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Yusufhan Yazır Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Semih Selcen Göçmez Üye	Farmakoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğretim Üyesi Aslıhan Akpınar Raportör	Tıp Tarihi ve Etik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğretim Üyesi Ceyla Eraldemir Üye	Biyokimya	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

* Gerekeçe ve önerileri:

KÜ Gökçealtı Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.Su:	Sayfa
	Onay formu	09.04.2019/MDG00EK01.3	2/2