T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İDİYOPATİK EPİLEPSİ HASTALARININ YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİYLE MUTASYON FREKANSLARININ SAPTANMASI

Seray KARAÇAY

TIBBİ BİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet Bertan YILMAZ

ADANA-2021

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İDİYOPATİK EPİLEPSİ HASTALARININ YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİYLE MUTASYON FREKANSLARININ SAPTANMASI

Seray KARAÇAY

TIBBİ BİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

I.DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet Bertan YILMAZ
II.DANIŞMANI
Doç. Dr. Özge ÖZALP

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından TYL-2019-12507 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

Tez No:……..
ADANA-2021

KABUL VE ONAY

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tezli Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan

"İdiyopatik Epilepsi Hastalarının Yeni Nesil Dizileme Yöntemiyle Mutasyon Frekanslarının Saptanması"

adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 27 / 08 / 2021

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof Dr. Mehmet Bertan YILMAZ
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof Dr. Ayfer PAZARBAŞI
Çukurova Üniversitesi
Üye

Dr. Öğr.Üyesi Menderes Yusuf TERZİ
Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Behice DURGUN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ETİK BEYANI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Seray KARAÇAY

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini cömertçe sunan, bana her konuda rehberlik eden, destek olan ve yakınlığını esirgemeden eğitimimi tamamlamamı sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Bertan YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın ortaya çıkmasında büyük emeği olan, hekimliğiyle bana yol gösteren, bilgi, destek ve yardımlarını her an benimle paylaşan ikinci danışman hocam Sayın Doç.Dr. Özge ÖZALP'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütülmesi aşamasında desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Davut ALPTEKİN ve tüm saygıdeğer hocalarına,

Adana Şehir Hastanesi Genetik Tanı Merkezi değerli hekimlerinden, Uzm.Dr. İlker GÜNEY, Uzm.Dr. Özlem ANLAŞ, Uzm.Dr. Enver Okan ÖTE'ye, hastaların sonuçlarını değerlenirmekte bana büyük yardımları dokunan Uzm.Dr. Bilge SARIKEPE, hastalarımızın klinik bilgilerini değerlendiren Uzm.Dr. Nilay GÜNEŞ'e, Çocuk Nöroloji Polikliniği değerli hekimlerinden Dr. Esra SARIGEÇİLİ ve Dr. Habibe KOÇ UÇAR'a,

Tez çalışmam süresince benden desteğini ve yardımlarını bir an bile esirgemeyen değerli meslektaşım Dok.Öğ. Yasenya KAŞIKCI'ya ve tez çalışmamın deneysel aşamalarında benden yardımlarını esirgemeyen mesai arkadaşlarıma,

Hayatımın her alanında olduğu gibi tez süresi boyunca tüm sabrıyla beni her anlamda destekleyen sevgili annem Seçil KARAÇAY'a ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması TYL-2019-12507 numaralı proje ile Ç.Ü. Rektörlüğü Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY ... ii
ETİK BEYANI ... iii
TEŞEKKÜR ... iv
İÇİNDEKİLER ... v
ŞEKİLLER DİZİNİ ... viii
ÇİZELGELER DİZİNİ ... ix
KISALTMALAR LİSTESİ ... xi
ÖZET ... xv
ABSTRACT ... xvi
1. GİRİŞ ... 1
2. GENEL BİLGİLER ... 3
2.1. Epilepsi ... 3
2.2. Sınıflandırma ... 3
2.3. Epilepsi Genetiği ... 11
2.3.1. Bening ailesel yenidoğan nöbetleri (BFNS) ... 14
2.3.2. Benign Ailesel Yenidoğan- Infantil Nöbetleri (BFNIS ya da SCN2A) ... 15
2.3.3. Benign Ailesel Infantil Nöbetleri (BFIS) ... 16
2.3.4. Erken Başlangıçlı Epileptik Ensefalopatiler ... 17
2.3.4.1. Ohtahara Sendromu-OS ... 17
2.3.4.2. Erken miyoklonik ensefalopati ... 18
2.3.4.3. West Sendromu ... 19
2.3.4.4. Dravet Sendromu-DS ... 20
2.3.5. Febril nöbetli jeneralize epilepsi + (GEFS+) ... 20
2.3.6. Otozomal dominant noktürnal frontal lob epilepsisi (ADNFLE) ... 22
2.3.7. İdiyopatik Epilepsiler ... 22
2.3.7.1. İdiyopatik Jeneralize Epilepsiler ... 23
2.3.7.1.1. Çocukluk Absans Epilepsi (CAE) ... 26
2.3.7.1.2. Juvenil Absans Epilepsi (JAE) ... 27
2.3.7.1.3. Juvenil Miyoklonik Epilepsi (JME) ... 28

2.3.7.1.4. Miyoklonik Absans Epilepsi (EMA) 29
2.3.7.1.5. Miyoklonik Astatik Epilepsi, Doose Sendromu (MAE) 30
2.3.7.1.6. Jeavons sendromu (Göz Kapağı Miyoklonili Absans Epilepsisi) 32
2.3.7.1.7. Absanslı perioral miyokloni (POMA) 32
2.3.7.1.8. Fantom Absanslı Idiyopatik Jeneralize Epilepsi 33
2.3.7.1.9. Otozomal Dominant Kortikal Tremor, Miyoklonus ve Epilepsi (ODKT) 34
2.3.7.1.10. Absans Status Epileptikus (ASE) 35
2.3.7.2. İdiyopatik Fokal Epilepsiler (IFE) 35
2.3.7.2.1. Sentro-Temporal Dikenli Selim Çocukluk Çağı Epilepsisi (Selim 'Benign' Rolandik Epilepsi: BRE) 36
2.3.7.2.2. Çocukluğun İdiyopatik Oksipital Paroksizmli Epilepsileri 37
2.3.7.2.2.1.Çocukluğun Erken Başlangıçlı Selim Oksipital Epilepsisi: Panayiotopoulos Sendromu (PS) 37
2.3.7.2.2.2. Çocukluğun Geç Başlangıçlı Oksipital Epilepsisi 38
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER 39
3.1 Verilerin ve Numulerin Toplanması ve Bireylerin Klinik Özellikleri 39
3.2. DNA İzolasyonu (QIAGEN QIAamp DNA Blood Mini Kit) 47
3.3. Qubit DNA Konsantrasyon Ölçüm 48
3.4. NGS 48
3.4.1. Kütüphane Hazırlığı 49
3.4.2. Dilüsyon 49
3.4.3. FRAG-MİX 51
3.4.4. Adaptör Ligasyon 52
3.4.5. Adaptöre bağlanmış DNA'nın QIAseq Beadlerle Purifikasyonu 53
3.4.6. Hedef Zenginleştirme PZR 55
3.4.7. Hedef zenginleştirme PZR sonrası QIAseq Beadlerle Purifikasyon 56

3.4.8. Universal PZR Amplifikasyon 57
3.4.9. Universal PZR sonrası QIAseq Beadlerle Purifikasyon 59
3.4.10. Kitaplık Ürünlerinin Kantitasyonu- Qiaseq Quant Assay 60
3.4.10.1. Standartların Hazırlanması 60
3.4.10.2. Dilüsyon sonrası örneklerin RT-PZR ile Kantitasyonu 61
3.4.10.3. Analiz 63
3.4.11. QIAxcel Kitaplık Ürünlerinin Kalite Kontrolü 63
3.4.12. Örneklerin Birleştirilmesi 64
3.4.13. Örneklerin Miseq Cihazına Yüklenmesi 64
3.5. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz 65
4. BULGULAR 67
4.1. Hastaların Klinik Özellikleri 67
4.2. Elde edilen DNA'ların konsantrasyonları 69
4.3. QIAxcel ile Kitaplık Ürünlerinin Kalite Kontrolü ve Görüntüleri 70
4.4. Kitaplık Ürünlerinin (Qiaseq Quant Assay) Rotor-Gene Q ile Değerlendirilmesi 75
4.5. Hastalarda saptanan mutasyonlar 78
4.6. Mutasyon saptanan hastaların IGV (Integrative Genomics Viewer) görüntüleri 80
5. TARTIŞMA 94
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 117
KAYNAKLAR 120
EKLER 131
ÖZGEÇMİŞ 132

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No: **Sayfa No:**

Şekil 1. ILAE 2017, Epilepsi Sınıflandırılması Şeması(10) 6
Şekil 2. Hastaların EDTA'lı tüpteki kanları ve periferik kandan izole edilen DNA örnekleri....47
Şekil 3. Qiaseq Targeted DNA panel ile NGS çalışması İş Akışı....51
Şekil 4. Örneklerin MiSeq v2 Reagent Kit'e yüklenme düzeni ve Illumina Miseq Cihazı....65
Şekil 6. 23 Hastanın kitaplık ürünlerinin jel görüntüsü 71
Şekil 7. **15** bp-3000 bp arası markır elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)....71
Şekil 8. H1- H4 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)....72
Şekil 9. H5- H8 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)....72
Şekil 10. H9- H12 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software) 73
Şekil 11. H13- 16 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)....73
Şekil 12. H17- H20 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software) 74
Şekil 13. Şekil X. H21- H23 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software) 74
Şekil 14. H1 ve H2' de saptanan SCN1A geni c.264+3G>A heterezigot mutasyonu 80
Şekil 15. H6' da saptanan CHRNA2 c.402G>C heterezigot mutasyonu....81
Şekil 16. H7'de saptanan CACNA1A c.1438C>T heterezigot mutasyonu....82
Şekil 17. H8'de saptanan SLC2A1 c.600G>C heterezigot mutasyonu....83
Şekil 18. H8'de saptanan CACNA1A c.6974_6976dupAGG heterezigot mutasyonu 84
Şekil 19. H8' de saptanan KCNMA1 c.364G>A mutasyonu 85
Şekil 20. H9'da saptanan KCNMB3 geni c.192C>G heterezigot mutasyonu 86
Şekil 21. H10'da saptanan BRD2 geni c.145_146delGCinsTG heterezigot mutasyonu 87
Şekil 22. H10'da saptanan EFHC1 geni c.1504C>T heterezigot mutasyonu 88
Şekil 23. H12' de saptanan TBC1D24 geni c.74A>G heterezigot mutasyonu 89
Şekil 24. H18'de saptanan CACNA1A geni c.3410C>G heterezigot mutasyonu 90
Şekil 25. H19'da saptanan SCN3A geni c.654C>G heterezigot mutasyonu 91
Şekil 26. H20'de saptanan GRIN2A geni c.1265T>C homozigot mutasyonu....92
Şekil 27. H23'de saptanan TBC1D221 geni c.1057G>A heterezigot mutasyonu 93

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge No: **Sayfa No:**

Çizelge 1. ILAE 1989 Epilepsi ve Epileptik sendromların Uluslararası Sınıflaması 6
Çizelge 2. Lokalizasyonla ilişkili (fokal, lokal, parsiyel) epilepsiler ve sendromlar 7
Çizelge 3. Jeneralize epilepsi ve sendromlar 8
Çizelge 4. Fokal mi jeneralize mi olduğu belirsiz sendromlar ve epilepsiler 9
Çizelge 5. Özel Sendromlar 9
Çizelge 6. ILAE 2017 Basit Sınıflandırılması 10
Çizelge 7. İdiyopatik Epilepsi Sendromlarında Tanımlanan Genler(22) 13
Çizelge 8. QIAseq Targeted DNA Panel Kit İçeriği ve Solüsyon Miktarları 48
Çizelge 9 . 96 kuyucuklu plate üzerinde hastaların konumları 49
Çizelge 10. DNA konsantrasyonları (ng/ µl) ve FRAG-MİX aşaması için gerekli olan DNA konsantrasyonlarının belirlenmesi 50
Çizelge 11. Fragment Mix PZR Reaksiyon Protokolü 51
Çizelge 12. FRAG-MİX PZR Sıcaklık Protokolü 52
Çizelge 13. Adaptör Ligasyon PZR Mix 52
Çizelge 14. QIAseq 96-Index I Set A ya da C IL-N701-N715 Adaptör Plate Düzeni 53
Çizelge 15. 23 Hastanın 96 Indexli IL- N701-N715 Adaptör Plate Düzeni- Set A 53
Çizelge 16. Hedef Zenginleştirme PZR Mix 55
Çizelge 17. 1500'den küçük primer için Hedef Zenginleştirme PZR Sıcaklık Protokolü 56
Çizelge 18. Qiaseq 96- Index Universal PZR Mix Protokolü IL-S502-S511 Index Primer Plate 57
Çizelge 19. Universal PZR Sıcaklık Protokolü 58
Çizelge 20. Universal PZR Sıcaklık protokolü döngü sayıları 58
Çizelge 21. IL-502-511 Index Primer Plate Set A ya da B Düzeni 59
Çizelge 22. 23 hasta için IL-N7 Adaptör plate ve IL-S5 Index Plate kombinasyonu 59
Çizelge 23. Standartların Hazırlanması 60
Çizelge 24. DNA kütüphanesinin Dilüsyonu 60
Çizelge 25. Dilüsyon sonrası örneklerin RT-PZR Mix 61
Çizelge 26. Rotorgene Q cihazı örnek dağılım listesi 62
Çizelge 27. Dilüsyon sonrası örneklerin RT-PZR Sıcaklık Protokolü 63
Çizelge 28. Qiaxcel Yürütme Protokolü 64
Çizelge 29. Hastaların Klinik Özellikleri 67
Çizelge 30. DNA örneklerinin ng/ µl cinsinden konsantrasyon değerleri 70
Çizelge 31. 23 hastanın kitaplık ürünlerinin 1:5000 ve 1:50000 dilüsyon oranlarıyla C_T değerleri 75
Çizelge 32. 23 Hastanın pM ve nM cinsinden konsantrasyonları 77
Çizelge 33. Hastaların tespit edilen mutasyonları 79
Çizelge 34. H1 ve H2 varyant detayları 80

Çizelge 35. H6 varyant detayları 81
Çizelge 36. H7 varyant detayları 82
Çizelge 37. H8 SLC2A1 geni varyant detayları 83
Çizelge 38. H8 CACNA1A geni varyant detayları....84
Çizelge 39. H8 KCNMA1 geni varyant detayları....85
Çizelge 40. H9 varyant detayları 86
Çizelge 41. H10 BRD2 geninde saptanan mutasyonun varyant detayları 87
Çizelge 42. H10 EFHC1 geninde saptanan mutasyonun varyant detayları 88
Çizelge 43. H12 varyant detayları 89
Çizelge 44. H18 varyant detayları 90
Çizelge 45. H19 varyant detayları 91
Çizelge 46. H20 varyant detayları 92
Çizelge 47. H23 varyant detayları 93

KISALTMALAR LİSTESİ

ADRA2B : Adrenoseptör Alfa 2B

AEİ : Antiepileptik İlaçlar

AHM : Ailesel Hemiplejik Migren

AP2M1 : Adaptör İlişkili Protein Kompleksi 2 Alt Birim Mu 1

ARHGEF9 : Cdc42 Guanin Nükleotid Değişim Faktörü 9

ARX : Aristaless

ASE : Absans Status Epileptikus

BAME : Benign Ailesel Miyoklonik Epilepsi

BFIS : Benign Ailesel Infantil Nöbetleri

BFNIS : Benign Ailesel Yenidoğan- Infantil Nöbetleri

BFNS : Bening Ailesel Yenidoğan Nöbetleri

BRAT1 : BRCA1 İlişkili ATM Aktivatörü 1

BRE : Bening Rolandik Epilepsi (Sentro-Temporal Dikenli Selim Çocukluk

CACNA1A : Kalsiyum Voltaj Kapılı Kanal Alt Birimi Alfa1

CACNB4 : Kalsiyum Voltaj Kapılı Kanal Yardımcı Alt Birimi Beta 4

CAE : Çocukluk Çağı Absans Epilepsi

CBZ : Karbamazeprin

CDKL5A : Siklin Bağımlı Kinaz 5

CHD2 : Kromodomain Helikaz DNA Bağlayıcı Protein 2

CHD2 : Kromodomain Helikaz DNA Bağlayıcı Protein 2

CHRNA4 : Kolinerjik Reseptör Nikotinik Alfa 4 Alt Birimi

CHRNB2 : Kolinerjik Reseptör Nikotinik Beta 2 Alt Birimi

CLB : Klobazam

CLCN2 : Klorür Voltaj Kapılı Kanal 2

CSWS : Yavaş uykuda sürekli diken dalga ile giden epilepsi sendromlu Çağı Epilepsisi)

DOORS : Sağırlık, Onikodistrofi, Osteodistrofi, Mental Retardasyon ve Nöbetler

DS : Dravet sendromu

Dup : Duplikasyon

EA-2 : Epizodik Ataksi Tip-2

EBEE : Erken Başlangıçlı Epileptik Ensefalopatiler

EE : Epileptik Ensefalopati

EEG : Elektoensefalografi

EFHC1 : EF-El Domaini İçeren 1

EJM1 : Juvenil Miyoklonik 1

EJM2 : Juvenil Miyoklonik 2

EMA : Miyoklonik Absans Epilepsi

EME : Erken miyoklonik ensefalopati

ESES : Yavaş Uykuda Elektriksel Status Epileptikus

ESM : Etosuksimid

FEB : Fokal Epileptik Bozukluk

FFEVF4 : Epileptik Ensefalopati ve Değişken Odaklı Aiesel Fokal Epilepsi-4

GABAA : γ-aminobütirik asit

GABRA1 : Gama-Aminobütirik Asit Tip A Reseptör Alt Birimi Alfa 1

GABRA2 : Gama-Aminobütirik Asit Tip A Reseptör Alt Birimi Alfa 2

GABRD : Gama-Aminobütirik Asit Tip A Reseptör Alt Birim Delta

GAP : GTPaz Aktive Edici Proteinler

GCTS : Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler

GEFS+ : Febril Nöbetli Jeneralize Epilepsi +

GLUT1-DS : GLUT1 Eksikliği Sendromu

GRM4 : Glutamat Metabotropik Reseptör 4

HCN1 : Hiperpolarizasyonla Aktifleştirilen Siklik Nükleotid Kapılı Potasyum

HPV : Hiperventilasyon

Hz : Hertz

IFE : İdiyopatik Fokal Epilepsiler

IGV : Integrative Genomics Viewer

IJE : İdiyopatik Jeneralize Epilepsi

ILAE : Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği

İns : İnsersiyon

JAE : Juvenil Absans Epilepsi

JEB : Jeneralize Epileptik Bozukluk

JME : Juvenil Miyoklonik Epilepsi

JRK : Jrk Helix-Turn-Helix Protein

JS : Jeavons Sendromu

KCNQ2 : Potasyum Voltaj Kapılı Kanal Alt Ailesi Q Üyeleri

KIAA2022 : Nörit Uzantısı ve Migrasyon Faktörü

LEV : Levetirasetam

LMT : Lamotrijin

MA : Miyoklonik Absans

MAE : Miyoklonik Astatik Epilepsi

MASS1 : Adezyon G Proteinine Bağlı Reseptör V1

MECP2 : Metil-CpG Bağlayıcı Protein 2

MLPA : Multipleks Ligasyona Bağımlı Prob Amplifikasyonu

MRI : Manyetik Rezonans Görüntüleme

nAChR : Nikotinik asetilkolin reseptörleri

NaV : Voltaj kapılı sodyum kanalı alfa alt birimi

ncRNA : Kodlanmayan RNA

NMDA : N-Metil-D-Aspartat

OD : Otozomal Dominant

ODKT : Otozomal Dominant Kortikal Tremor

ODNFLE : Otozomal Dominant Noktürnal Frontal Lob Epilepsisi

OPÇE-G : Oksipital Paroksizmli Çocukluk Çağı Epilepsi

OR : Otozomal Resesif

OS : Ohtahara sendromu

PCDH19 : Protokadherin 19

PLCB1 : Fosfolipaz C Beta 1

PMA : Perioral Miyoklini Absans

PNKD3 : Paroksismal Kinezijenik Olmayan Diskinezi-3

POMA : Absanslı Perioral Miyokloni

PRRT2 : Prolin Bakımından Zengin Transmembran Protein 2

PS : Panayiotopoulos Sendromu

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SCA6 : Spinoserebellar Ataksi 6

SCN2A : Sodyum Voltaj Kapılı Kanal Alfa Alt Birimi 2

SCN8A : Sodyum Voltaj Kapılı Kanal Alfa Alt Birimi 8

SLC25A22 : Çözünen Taşıyıcı Ailesi 25 Üye 22

SMEI : Şiddetli Miyoklonik Epilepsisi

SNP : Tek Nükleotid Polimorfizmi

SPTAN1 : Spektrin Alfa Eritrositik Olmayan 1

ST3GAL3 : ST3 Beta-Galaktosit Alfa-2,3-Sialiltransferaz 3

STX1B : Sintaksin 1B

STXBP1 : Syntaksin Bağlayıcı Protein 1

SUDEP : Epilepside Beklenmeyen Ani Ölüm

SYNGAP1 : Sinaptik Ras GTPaz Aktive Edici Protein 1

TA : Tipik Absans

TBC1D24 : TBC1 Domain Ailesi Üyesi 24

TP-FEB : Tempoparyetal Bölgelerden Köken Alan Fokal Epileptik Bozukluk

TPM : Topiramat

TSC : Tüberoskleroz Kompleksi

UTR : Kodlanmayan Bölge

VPA : Valproik asit

WS : West Sendromu

YND : Yeni Nesil Dizileme

ÖZET

İdiyopatik Epilepsi Hastalarının Yeni Nesil Dizileme Yöntemiyle Mutasyon Frekanslarının Saptanması

Epilepsi, kortikal nöronlarda meydana gelen elektriksel deşarj ve anormalliklerle, tetiklenmemiş nöbetlerin tekrarlanması ile ortaya çıkan kronik durum ve bozukluktur. Epileptik nöbet ise "Beyinde anormal aşırı nöronal aktiviteden kaynaklanan belirti ya da semptomların geçici olarak ortaya çıkması" durumudur. Dünya sağlık örgütünün son verilerine göre, 65 milyon kişiye epilepsi tanısı konulmuş ve literatüre yılda 70.000 ila 128.000 arasında yeni vaka eklenmektedir.

Bu çalışmanın amacı, hastaların klinik bulgu ve mutasyonların, hasta kliniğine yansımasını değerlendirmek ve aynı mutasyona sahip fakat prognozu farklı olan hastalar arasında klinik heterojeniteyi göstermektir. Çalışmada Elektoensefalografi (EEG), nöbet tipi ve sıklığı ve antiepileptik sayısının yer aldığı klinik parametmerelerle, hastaların davranış özellikleri de göz önüne alınarak hastaların klinik bulguları yeni nesil dizileme (YND) yöntemi kullanılarak mutasyonlarla birlikte değerlendirildi. İdiyopatik epilepsi tanısıyla takipli toplamda 23 hastada saptanan mutasyonlar; 2 hastada, heterezigot SCN1A c.264+3G>A mutasyonu; 1 hastada heterezigot CHRNA2 c.402G>C (p.Arg134Ser) mutasyonu; 3 hastada sırasıyla heterezigot CACNA1 c.1438C>T (p.Arg480Cys), c.6974_6976dupAGG (p.Gln2325_Ala232insGlu), c.3410C>G (p. Pro1137Arg) mutasyonları; 1 hastada SCN3A heterezigot c.654C>G (p.Phe218Leu) mutasyonu; 1 hastada heterezigot SLC2A1 (p.Gln200His) mutasyonu; 1 hastada KCNMA1 heterezigot c.364G>A (p.Gly122Arg) mutasyonu; 1 hastada heterezigot KCNMB3 c.192C>G (p.Leu64=) mutasyonu; 1 hastada BRD2 heterezigot c.145_146delGCinsTG (p.Ala49Cys); 1 hastada EFHC1 heterezigot c.1504C>T (p.Arg483Trp); 1 hastada TBC1D24 heterezigot c.74A>G; 1 hastada homozigot GRIN2A c.1265T>C (p.Ile422Thr) ve son olarak 1 hastada TBC1D221 heterezigot c.1057G>A (p.Ala353Thr) şeklindedir. 11 hastada ise patojenik varyant saptanmamıştır.

Bu çalışma sonucunda, aynı mutasyonel değişime sahip hastaların farklı klinik özellik ve tedaviyle takipli olması; genom üzerindeki bu çalışmada belirlenemeyen farklı mutasyonel değişimler, polimorfizmler, epigenetik faktörler, çevresel faktörler kliniğin ve tedavi sonrası durumun farklılığına sebep olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak bu çalışma hastalar arasındaki klinik ve mutasyonel heterojeneyi ortaya koymuş olup özellikle genlerin ifade edildiği protein ve moleküler yolakların araştırılması dahilinde pek çok epileptik nöbet ve sınıflandırılan epilepsi türünün patogenezi aydınlatabilecektir.

<u>Anahtar Kelimeler:</u> Epilepsi, İdiyopatik Epilepsi, Yeni Nesil Dizileme, Klinik Heterojenite, Kişiselleştirilmiş Tıp

ABSTRACT

Detection of Mutation Frequencies in Idiopathic Epilepsy Patients by Next Generation Sequencing

Epilepsy is a chronic case and disorder that occurs with the repetition of unprovoked seizures, with electrical discharges and abnormalities occurring in cortical neurons. An epileptic seizure is a situtaion of "temporary manifestation of signs and/or symptoms resulting from abnormal excessive or synchronous neuronal activity in the brain". According to the latest data of the World Health Organization, 65 million people have been diagnosed with epilepsy and between 70.000 and 128.00 new cases are added to the literature annually.

The aim of this study is to evaluate the reflection of the clinical finding and mutation correlation of the patients on the patient's clinical feature. Furthermore, To demonstrate clinical heterogeneity among patients with the same mutation but with a different clinical course. In this study, clinical parameters including EEG, seizure type and frequency, and antiepileptic drugs and the behavioral characteristics of the patients were evaluated together with the mutations using the NGS method. Mutations detected in a total of 23 patients followed up with the diagnosis of idiopathic epilepsy; in 2 patients, heterozygous SCN1A c.264+3G>A mutation; heterozygous CHRNA2 c.402G>C (p.Arg134Ser) mutation in 1 patient; heterozygous CACNA1 c.1438C>T (p.Arg480Cys), c.6974_6976dupAGG (p.Gln2325_Ala232insGlu), c.3410C>G (p. Pro1137Arg) mutations in 3 patients, respectively; SCN3A heterozygous c.654C>G (p.Phe218Leu) mutation in 1 patient; heterozygous SLC2A1 (p.Gln200His) mutation in 1 patient; KCNMA1 heterozygous c.364G>A (p.Gly122Arg) mutation in 1 patient; heterozygous KCNMB3 c.192C>G (p.Leu64=) mutation in 1 patient; BRD2 heterozygous c.145_146delGCinsTG (p.Ala49Cys) in 1 patient; EFHC1 heterozygous c.1504C>T (p.Arg483Trp) in 1 patient; TBC1D24 heterozygous c.74A>G in 1 patient; Homozygous GRIN2A c.1265T>C (p.Ile422Thr) mutation was detected in 1 patient and TBC1D221 heterozygous c.1057G>A (p.Ala353Thr) mutation was detected in 1 patient, and no pathogenic variant was detected in 11 patients. As a result of this study, patients with the same mutational change were followed up with different clinical features and treatment; Different mutational changes, polymorphisms, epigenetic factors, environmental factors that could not be determined in this study on the genome may cause differences in clinical and post-treatment status.

In conclusion, this study has revealed the clinical and mutational heterogeneity among the patients and will be able to illuminate the pathogenesis of many epileptic seizures and classified epilepsy types, especially within the scope of investigating molecular pathways in which genes are expressed.

Key Words: Epilepsy, Idiopathic Epilepsy, Next Generation Sequencing, Clinical Heterogeneity, Personalized Medicine

1. GİRİŞ

Epilepsi, kortikal nöronlardaki olağan dışı elektro-kimyasal boşalım sonucu ortaya çıkan ve epileptik nöbetlerin görülmesiyle karakterize bir durum olarak tanımlanır. Epileptik nöbet ise Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği (ILAE-International League Against Epilepsi) tarafından, beyindeki anormal aşırı ya da senkronize nöronal aktiviteye bağlı olarak belirti veya semptomların geçici olarak ortaya çıkması durumu olarak tanımlanmaktadır.

Epilepsinin insidansı sadece ABD'de yaklaşık 2,5 milyon olup, toplumdan topluma değişmekle birlikte yılda 20-50/100.000 olarak raporlanmış, aktif epilepsi prevalansı ise 4-10/1000, yaşam boyu birikmiş insidans ise yaklaşık %3 olarak bildirilmektedir. Epilepsi insidansının en yüksek olduğu iki dönem yenidoğan ve 60 yaş sonrasıdır. Epilepsi çocukluk ve ergenlik döneminde en sık, yetişkinlerde ise beyin damar hastalıklarının ardından görülen en sık nörolojik hastalıktır (1).0-16 yaş arası Türk çocuklarında yapılan bir çalışmada prevelans, %55,2 jeneralize, %39'u parsiyel ve %5,8'le %0,8 tanımlanmayan epilepsi olarak raporlanmıştır (2).

İlk kez 1960 yılında uluslararası epilepsi uzmanları tarafından ILAE kurulmuş ve sınıflandırma çalışmaları başlatılmıştır. İlk sınıflandırma "1981 Epileptik Nöbetlerin Klinik ve Elektroensefalografik Sınıflaması" ve "1989 Epilepsiler ve Epilepsi Sendromları Sınıflaması" ile epilepsiyle ilgili ortak bir bilimsel dil oluşumu sağlanmış ve ILAE tarafından sırasıyla 2001, 2006, 2010 ve 2017 yıllarında yeniden güncellenmiştir. Sınıflama çalışmaları genetik, moleküler biyoloji, video-EEG ve nörogörüntüleme yöntemleriyle birlikte klinik ve laboratuvar çalışmaları korelasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır (3, 4).

Nöbetler ILAE tarafından konumlarına, klinik semptomlarına, yayılım ve sürelerine bağlı; epilepsi sendromları ise klinik tanımlama ve etiyolojilere göre sınıflandırılmaktadır (5, 6). Sınflandırmanın başlangıç noktası nöbet tipidir. Nöbetler temel olarak; fokal, jeneralize ve bilinmeyen başlangıçlı olarak 3'e ayrılır. Sınıflamanın ikinci aşaması olan epilepsi tipi ise; jeneralize epilepsi, fokal epilepsi ve bunlara ek olarak kombine jeneralize ve bilinmeyen epilepsi kategorilerini içermektedir (7, 8). Sınıflamanın son aşaması ise, nöbet tipi, elektoensefalografi (EEG) ve MRI ile birlikte epilepsi sendrom tanısının koyulmasıdır (9, 10). Epidemiyolojik çalışmalar, epilepsi

genetik insidansının, dünya genelinin %0,4'den fazlasını etkilediğini ve tüm epilepsilerin %50'den fazlasının ise genetik temellerinin olduğunu raporlamıştır. ILAE 1989 nöbet sınıflamasında nöbetlerin nedeni bilinmeyen hasta grubu 'idiyopatik' olarak tanımlanmış olup idiyopatik epilepsiler yaşa bağlı, klinik ve elektrografik özellikler ve genetik etiyoloji ile tanımlanmaktadır (11).

Moleküler teknik yöntemlerdeki gelişmeler idiyopatik epilepsilerin genetik temellerinin olduğunu kanıtlayan pek çok çalışmayla birlikte yirmiden fazla genin "idiyopatik" epilepsilere karşı büyük bir yatkınlığı olduğunu raporlamıştır. Genetik epilepsi fenotipi, monojenik epilepsilerden, kompleks kalıtsal polijenik epilepsilere kadar gözlemlenebilir (5, 12). Yapılan çalışmalarda idiyopatik epilepsi sendromlarıyla ilişkili pek çok iyon kanal alt ünitesi gen mutasyonu olduğu gösterilmiş olup, ayrıca iyon kanallarından bağımsız olarak iyonik olmayan mekanizmaların epilepsi sendromlarına neden olabileceği vurgulanmıştır (13).

Bu tez çalışmamızın amacı, hastaların klinik bulgularıyla birlikte mutasyonların, hastaların kliniklerine yansımasını değerlendirmek ve aynı mutasyona sahip fakat klinik seyri farklı olan hastalar arasında klinik heterojeniteyi göstermektir.

Bu amaç kapsamında, Adana Şehir Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıklarına bağlı Çocuk Nöroloji Anabilim Dalı iş birliğiyle gerçekleştirilen ön çalışmalar sonucu, Adana Şehir Hastanesi Genetik Tanı Merkezine idiyopatik epilepsi tanısıyla gönderilen 23 hasta çalışma kapsamında değerlendirilmiştir. 23 hastanın periferik kanından elde edilen DNA materyalleri, yeni nesil dizileme yöntemiyle sekanslanarak mutasyonları saptanmıştır. Epilepsi paneli kapsamında SCN1A, SCN2A, SCN9A, SCN1B, GABRG2, SCN3A, TAP1, BRD2, EFHC1, GABRA1, EPM2A, KCTD7, KCNQ3, KCNJ10, SLC2A1, KCNK9, GABRB3, LGI1, TBC1D24, DEPDC5, TBC1D22A, ATP1A2, GRIN2A, CACNA1A, CHRNA2, CHRNA4, CHRNB2, KCNT1, KCNA1, KCNMA1, KCNMB3, KCNQ2, KCNQ3 ve STXBP genleri dizilenmektedir. EEG, nöbet tipi ve sıklığı ile antiepileptik sayısı gibi klinik parametmerelerle, davranış özellikleri de göz önüne alınarak hastaların klinik bulguları, saptanan mutasyonlarla birlikte değerlendirildi.

Bu tez çalışması sonucunda, idiyopatik epilepsi tanısı almış hasta bireylerde saptanan mutasyonların hastanın kliniğine etkisi daha önce yapılan çalışmalarda göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir. İleriki çalışmalarda, aynı mutasyona sahip bireylerin klinik ciddiyetlerinin birbirlerinden farklı olması altında yatan moleküler mekanizmalar tanımlanmalı ve tedavi için yeni yaklaşımlar geliştirilmelidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

Epilepsi, kortikal nöronlardaki elektriksel deşarj ve anormalliklerle ortaya çıkan, ani ve tekrarlayıcı olarak tanımlanabilen olaylarla tetiklenmiş birden fazla epileptik nöbetin görülmesiyle karakterize bir durum ve bozukluktur **(5, 14)**. Epileptik nöbet "Beyinde anormal derecede aşırı nöronal aktiviteden kaynaklanan belirti ve semptomların geçici olarak ortaya çıkması" durumu olarak tanımlanmaktadır ve bu durum sırasında, çok sayıda beyin hücresi anormal olarak aynı anda aktive olur **(5, 15)**. Epilepsi dünyada görülme prevelansı %0,1-20 arasında değişen yaygın nörolojik bir hastalıktır. Epilepsi, nörolojik bozukluklar arasında en sık tanısı koyulan hastalıklardan birisi olup yaşam boyu risk insidansı %3 ila %3,1 arasındadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 2,5 milyon; Dünya sağlık örgütünün son verilerine göre, Dünyada 65 milyon kişiye epilepsi tanısı konulmuş ve literatüre yılda 70.000 ila 128.000 arasında yeni vaka eklenmektedir (3). Ayrıca, 0-16 yaş arası Türk çocuklarında yapılan çalışmada; %55,2 jeneralize, %39'u parsiyel ve %5,8 tanımlayan epilepsi olmak üzere prevelans %0,8 olarak bulunmuştur **(2)**. Nöbetler hem epilepsi hastalarını hem de aielelerinin yaşam kalitesini, okul, iş, sosyal çevreye varana kadar olumsuz etkiler. Buna ek olarak mevcut tedaviler, kişinin yaşı, uyku-uyanıklık döngüsü,beyinde daha önce meydana gelen zedelenmeler, genetik eğilimler, metabolik bozukluklar, ataksi, gastrointestinal rahatsızlık, kilo alma, kemik yoğunluğunda azalma ve teratojeniti gibi birtakım bilişsel bozukluğa sebep olarak hastaların günlük yaşantılarını olumsuz etkiler **(6)**.

2.2. Sınıflandırma

İlk kez 1960 yılında epilepsi uzmanları, Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği (ILAE- International League Against Epilepsi) Sınıflandırma ve Terminoloji komisyonu tarafınca epileptik nöbetler ve epilepsi sendromları sınıflandırılmaları oluşturulmuştur ve böylece dünyada ortak bir dil oluşumu sağlanmıştır (6, 14). Nöbetler; konumlarına, klinik semptomlarına, yayılmalarına ve sürelerine bağlı; epilepsi sendromları ise klinik tanımlama ve etiyolojilere göre sınıflandırılmaktadır (5, 6). ILAE tarafından mevcut sınıflandırılmalar sırasıyla 2001, 2006 ve 2010 ve en son 2017 yıllarında güncelenmiş

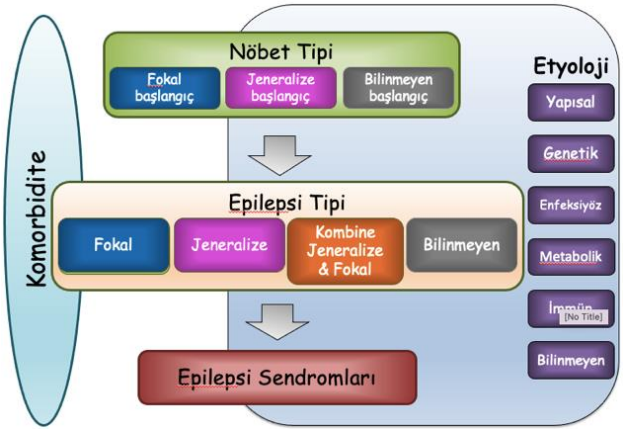
ve bu sınıflandırmalar genetik, moleküler biyoloji, video-EEG ve nörogörüntüleme yöntemlerinin klinik ve laboratuvar çalışmalar sonucu ortaya çıkmıştır (14). ILAE tarafından yayınlanan son sınıflama önerisinde epileptik nöbetler, epilepsiler ve elektroklinik sendromlar üzerinde ciddi radikal değişikler yapılmıştır (Çizelge 1) (14, 16).

ILAE'nin 2017 yılında büyük ölçüde 1981 sınıflandırmasına bağlı kalarak yayınladığı son sınıflandırmada; birincil farklılıklar, daha önce sadece genel kategoride sayılabilecek bazı yeni fokal nöbetlerin spesifik listelemesi, farkındalığın bilinç için bir aracı olarak kullanılması, fokal nöbetlerin ilk klinik yanıtına göre sınıflandırmasına vurgu, genel kategoride birkaç yeni nöbet tipi ve başlangıçta bilinmeyen bazı nöbetleri sınıflandırmak ve belirli terimleri yeniden sınıflandırmaktır (7). Klinik, elektrofizyolojik, etiyolojik ve komorbid faktörlerin birlikteliği ile tanımlanan herhangi bir vakada; yapılan sınıflandırma sonrası sonuç, sendromların çok yönlü olduğunu kabul ederek; faydalı ve pragmatik olmayı vaat ediyor (8).

ILAE, 2017 sınıflaması için yayınladığı raporlarda; tonik nöbetler veya epileptik spazmlar gibi bazı nöbet tiplerinin, fokal veya jeneralize bir başlangıca sahip olabileceğini vurguladı. Nöbetlerin başlangıcı hakkında bilgi eksikliği, nöbetin sınıflandırmaya alınmaması sonucunu doğurur. Yeni sınıflandırmaya göre; 1981 sınıflanmasına dahil olmayan bazı önemli nöbet tipleri 2017 sınıflamasında yer almaktadır (9). Nöbetler ilk aşamada başlangıç tipine göre karakterize edilir. Fokal başlangıçlı nöbetlerde 'Tek bir hemisfere sınırlı ağlardan kaynaklanma' olarak tanımlanır. Fokal nöbetler subkortikal yapılarda ortaya çıkabilir. Genelleşmiş başlangıç nöbetleri, bilateral dağılmış ağlar içerisinde bir noktadan kaynaklanan ve hızlı devreye giren olarak tanımlanır. Bilinmeyen bir başlangıç nöbeti ise tonik-klonik gibi tanımlayıcı motor veya davranış durdurma gibi motor olmayan gibi karakteristik özelliklerini gösterebilir. İlerleyen çalışmalarla birlikte bilinmeyen başlangıçlı nöbetler, herhangi bir sınıflandırma çeşitlerinde yeniden sınıflandırılabilir. Sonuç olarak 2017 sınıflamasına göre nöbetler; fokal, jeneralize ve bilinmeyen başlangıçlı olarak varsayılır (9).

Epilepsi sınıflandırılması, nöbetlerle başvuran bir bireyin değerlendirilmesindeki en temel kritik araçtır. Hastanın sahip olduğu nöbet türü, o kişide ileride meydana gelmesi olasılığı yüksek olan diğer nöbet türlerini ve nöbetleri tetikleyen prognozu

anlamak için bir çerçeve sağlar. Ayrıca sınıflandırma, öğrenme güçlüğü, zihinsel yetersizliği, otizm spektrum bozukluğu gibi psikiyatrik özellikler ve mortalite riski olan epilepside beklenmeyen ani ölüm (SUDEP) gibi komorbiditelerin risklerini de bildirir. Buna ek olarak sınıflandırma genellikle anti-epileptik tedavilerin seçimlerine de rehberlik eder (10). Epilepsi sınıflandırma çerçevesinin başlangıç noktası nöbet tipidir; klinisyenin epileptik nöbet için kesin bir teşhis koyduğunu varsayar ve epileptik ve nonepileptik durumları ayırt etmek için bir teşhis algoritması oluşturur (10, 17). Nöbetler; fokal başlangıçlı, jeneralize başlangıçlı ve bilinmeyen başlangıçlı olarak sınıflandırılır (10). Sınıflamanın ikinci aşaması epilepsi tipidir; 2014 tanımlamasını temel alarak iyi belirlenmiş jenerelize epilepsi ve fokal epilepsilere ek olarak "kombine jeneralize ve fokal epilepsi" ve "bilinmeyen epilepsi kategorilerini" içerir (10, 18). Jeneralize epilepsi de hasta tipik olarak EEG'de diken dalga aktivitesi gösterir ve absans, miyoklonik, atonik, tonik, tonik-klonik nöbet tipleri görülür. Fokal epilepsiler, unifokal ve multifokal bozuklukların yanı sıra tek bir hemisferi içeren nöbetler içerir ve fokal uyanık nöbetler, fokal motor nöbetler, fokal non-motor nöbetler ve fokal bilateral tonik-klonik nöbetler dahil olmak üzere bir dizi nöbet tipi görülebilir (10). İnteriktal EEG tipik olarak fokal epileptik form deşarjları gösterir. Kombine jeneralize ve fokal epilepsi grubunun ise hem jeneralize hem de fokal nöbetleri mevcuttur ve tanı klinik ile birlikte EEG ile konur. Bu gruba Dravet sendromu ve Lennox-Gastaut sendromu örnek verilebilir (10). Bilinmeyen epilepsi terimi ise hastanın epilepsi tanısının konulduğu fakat klinisyen tarafından epilepsi türünün fokal ya da jeneralize olduğunu belirleyemediği durumlar için kullanılır. Sınıflamanın üçüncü aşaması ise epilepsi sendromu tanısıdır. Epilepsi sendromu tanısı; nöbet tipi, EEG ve görüntüleme özelliklerini içeren bir dizi özellikle ortaya çıkar. EEG ve görüntüleme çalışmalarına ilişkin spesifik bulgularla birlikte zihinsel ve psikiyatrik işlev bozuklukları gibi farklı komorbiditeler olabilir (3). EEG ve görüntüleme çalışmalarına ilişkin spesifik bulgularla birlikte zihinsel ve psikiyatrik işlev bozuklukları gibi farklı komorbiditeler olabilir. Epilepsi sendromları etiyolojik, prognostik ve tedavi etkilerine ve kendine özgü komborditelere bağlıdır (19, 20).

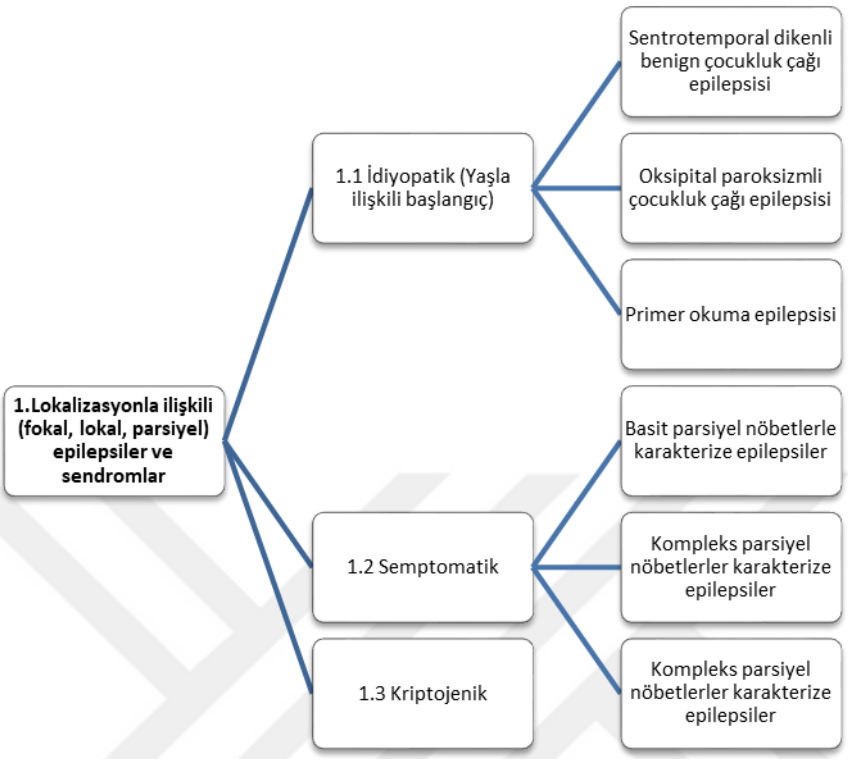


Şekil 1. ILAE 2017, Epilepsi Sınıflandırılması Şeması(10)

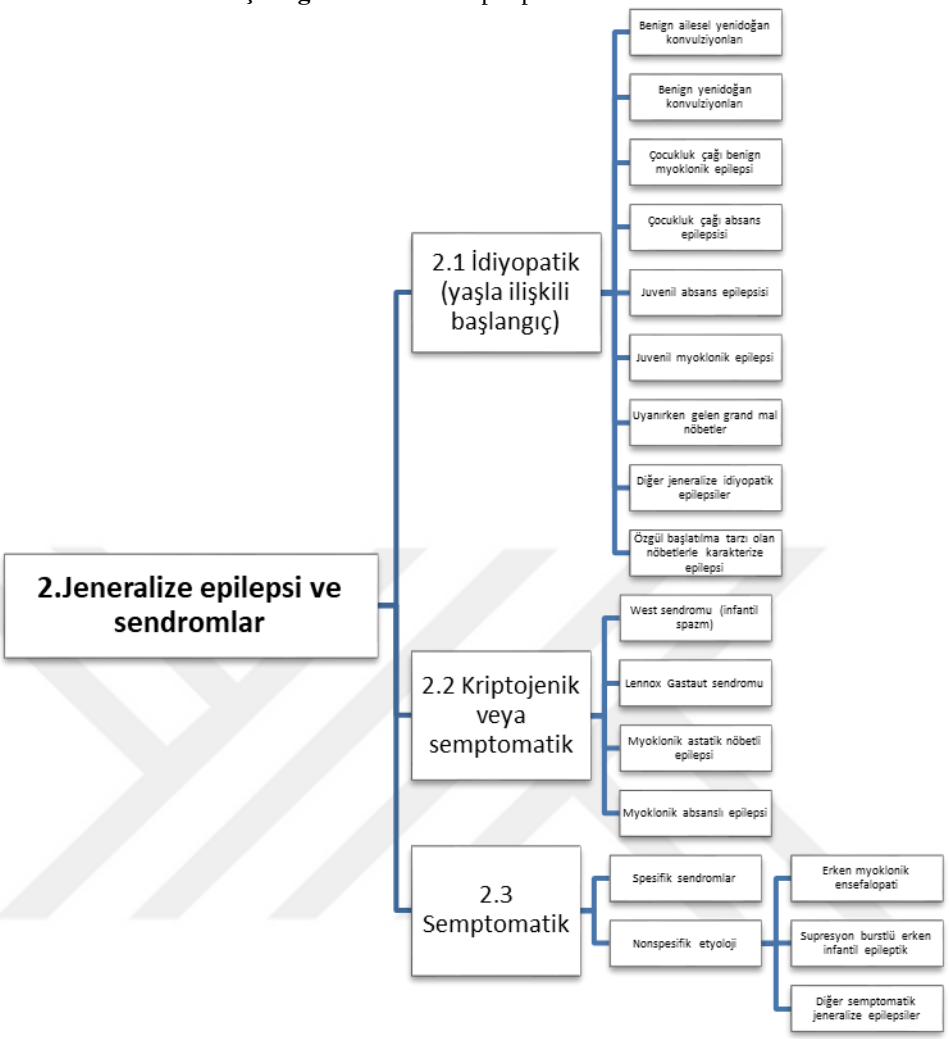
Çizelge 1. ILAE 1989 Epilepsi ve Epileptik sendromların Uluslararası Sınıflaması



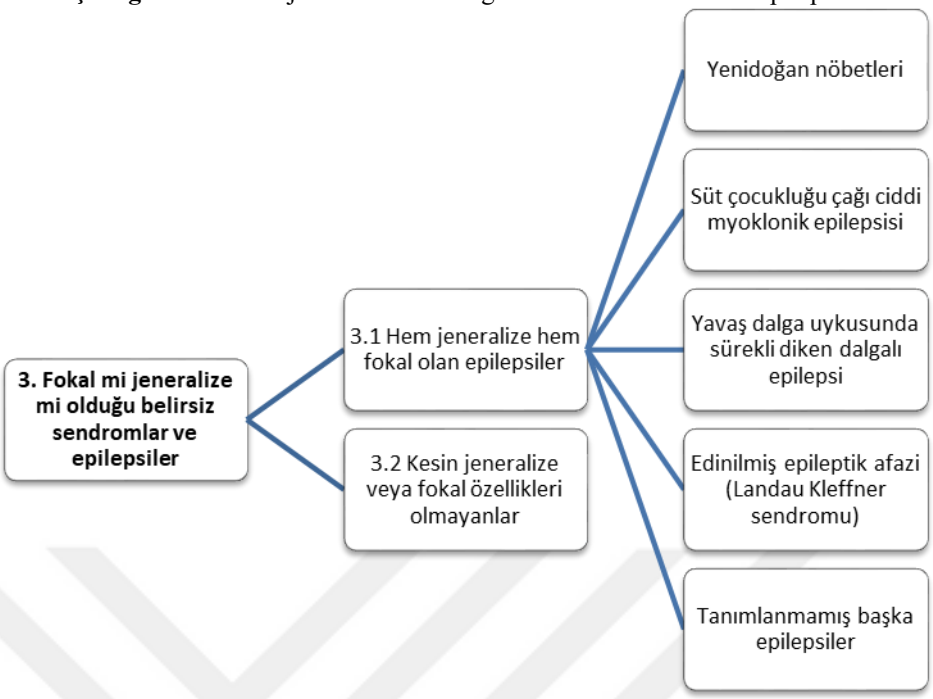
Çizelge 2. Lokalizasyonla ilişkili (fokal, lokal, parsiyel) epilepsiler ve sendromlar



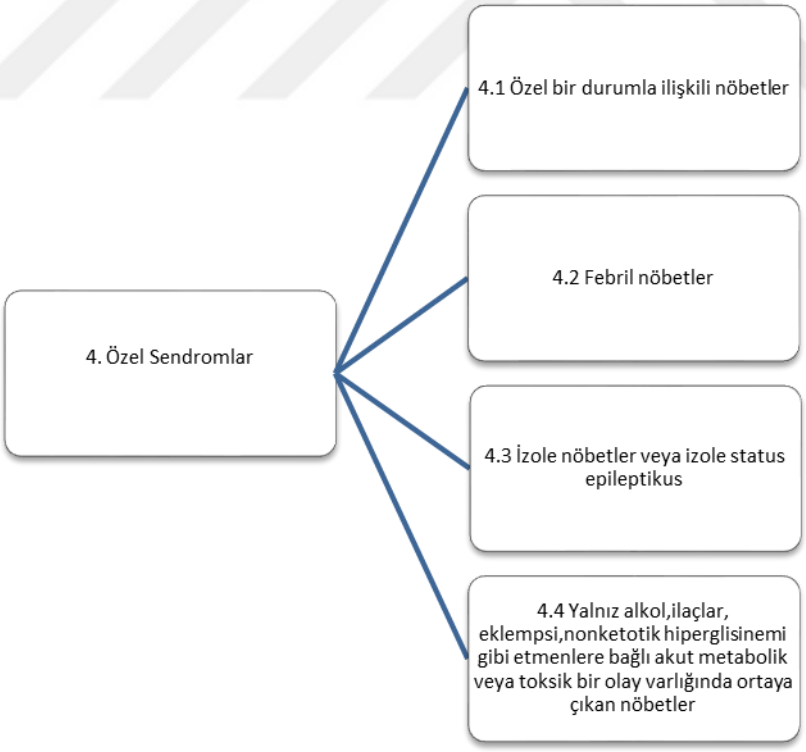
Çizelge 3. Jeneralize epilepsi ve sendromlar



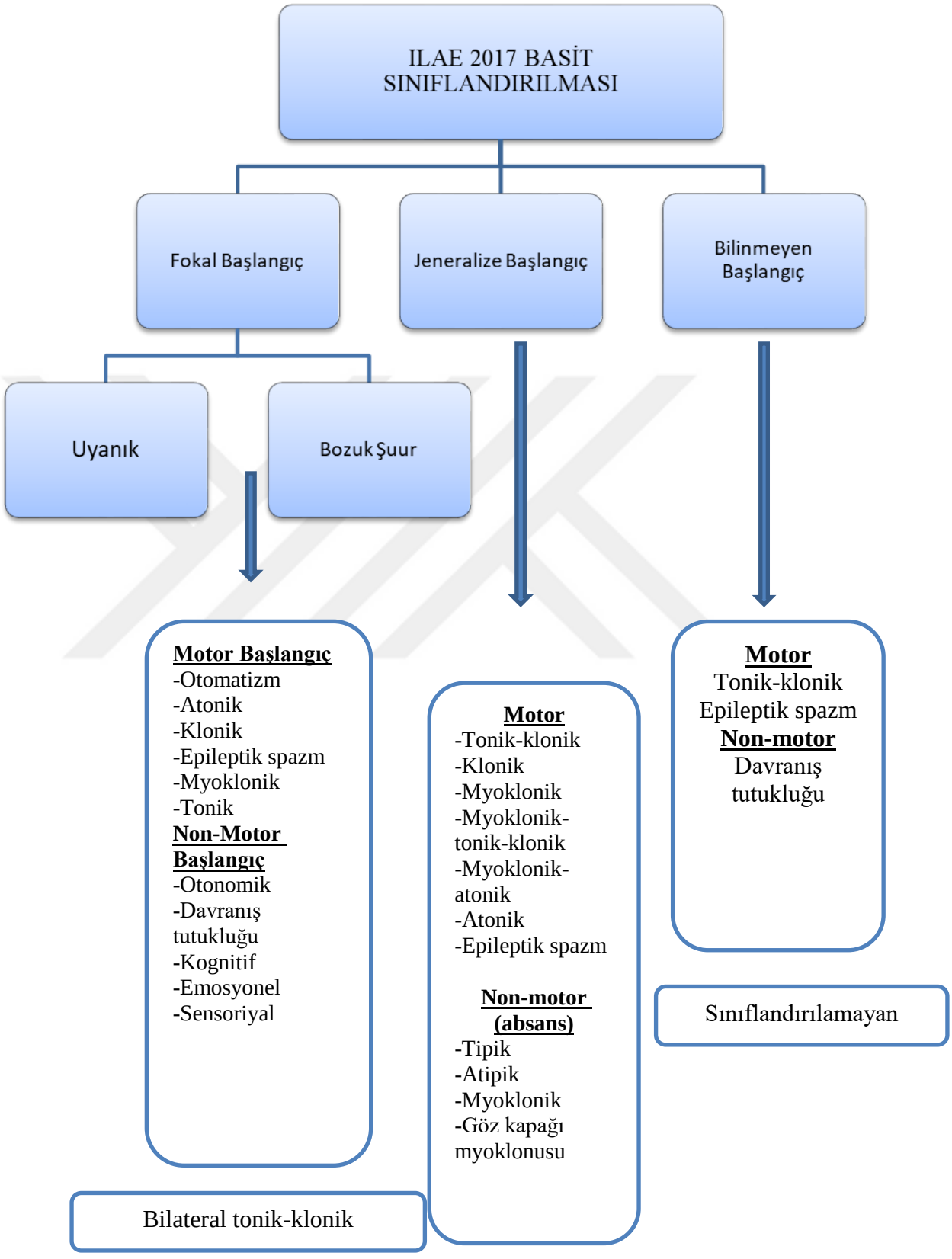
Çizelge 4. Fokal mi jeneralize mi olduğu belirsiz sendromlar ve epilepsiler



Çizelge 5. Özel Sendromlar



Çizelge 6. ILAE 2017 Basit Sınıflandırılması



2.3. Epilepsi Genetiği

Epidemiyolojik çalışmalar, tüm epilepsilerin %50'sinden fazlasının genetik temellerinin olduğunu ortaya koymuş ve genetik insidansı dünya genelinde yaklaşık 40-50 milyon kişi olarak belirlemiş ve genetik epilepsilerin ise genel popülasyonun yaklaşılık %0,4'den fazlasını etkilediğini raporlamıştır (8, 12). Epilepsi tanısı konulmuş kişilerin %50'den fazlasında nöbetlerin nedeni bilinmemektedir ve bu epilepsi türleri, ILAE 1989 nöbet sınıflamasında "idiyopatik" olarak tanımlanmıştır. ILAE Sınıflandırma ve Terminoloji komisyonu tarafından 1989 yılında ilk kez idiyopatik terimi için "olası bir kalıtsal yatkınlıktan başka bir neden yoktur" tanımlaması yapılmıştır. İdiyopatik epilepsiler yaşa bağlı başlangıç, klinik ve elektrografik özellikler ve varsayılan genetik etiyoloji ile tanımlanır (3). Moleküler genetik tekniklerindeki hızlı gelişmeler ve epilepsi genetiği alanında literatürde daha fazla bilginin yer alması idiyopatik epilepsiler hakkında anlayışımızı üssel olarak iyileştirmiş olup, bu epilepsilerin genetik temelini destekleyen bir çok çalışma literatürde yerini almaktadır (12). Yapılan çalışmalar, epilepsilerin yarısından fazlasının genetik temellere dayalı olduğunu bildirmektedir ve bu durum ILAE Sınıflandırma ve Terminoloji Komisyonunun idiyopatik epilepsi terimi yerine "genetik epilepsiler" terimi kullanmasını sağlamıştır. ILAE Sınıflandırma ve Terminoloji Komisyonun 2005-2009 yıllarında tanımladığı "genetik epilepsi" kavramını, bilinen ya da varsayılan genetik defektin bir sonucu olarak meydana gelen nöbetler olarak olarak tanımlamıştır (12, 21). Fokal kortikal displazi, hipokampal skleroz ve ensefalopatiler gibi yapısal lezyonlara bağlı epilepsilerin sadece yapısal patolojik kaynaklı olduğu düşünülürken; son yıllarda bu epilepsilerin genetik temellerini destekleyen çalışmalar literatürde yer almaktadır (12, 20). Yirmiden fazla genin "idiyopatik" epilepsilere karşı büyük bir yatkınlığı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Çoğu kompleks bozukluk gibi, genetik ve çevresel faktörler hastalık fenotip ekspresyonunu etkilerken; çalışmalar epilepsi durumu için daha çok genetik temellerin olduğunu ortaya koymaktadır (5, 12). Epilepsi riskini etkileyen genlerin tanımlanması, mutasyonların nörofizyolojik ve nörogelişimsel etkilerinin incelenmesi, nöbet yatkınlığının altında yatan sebeplerin ortaya çıkmasını ve belirli mekanizmalara yönelik yeni tedavilerin geliştirilmesine ve epileptogenezin önlenmesini sağlar (22). Genetik epilepsi fenotipi, monojenik epilepsilerden, kompleks kalıtsal polijenik epilepsilere kadar gözlemlenebilir (5, 12). Genetik epilepsi

sendromlarının bir çoğu görüldüğü yaşa göre sınıflandırılır (12, 23). Yapılan çalışmalar idiyopatik ya da genetik epilepsi sendromlarıyla ilişkili çok sayıda iyon kanal alt ünitesi gen mutasyonu olduğunu ve bu hastalıkların ortak özelliğinin voltaj veya ligand kapılı kanal genlerindeki mutasyonlar olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak iyon kanallarından bağımsız olarak noniyonik mekanizmaların epilepsi sendromlarına neden olabileceği kanıtlanmıştır (13). 1 yaşından itibaren görülen genetik epilepsiler benign ailesel yenidoğan nöbetleri (BFNS), (Potasyum Voltaj Kapılı Kanal Alt Ailesi Q Üyeleri (KCNQ2 ve KCNQ3)), benign ailesel yenidoğan- infantil nöbetleri (Sodyum Voltaj Kapılı Kanal Alfa Alt Birimi 2 (SCN2A)) ve benign ailesel infantil nöbetleridir. Bu yaş grubunda daha karmaşık kalıtım paternine sahip ve erken başlangıçlı epileptik ensefalopatiler olarak adlandırılan diğer epilepsiler arasında ise Ohtahara sendromu (STXBPI ve ARX), West sendromu ve Dravet sendromu (SCN1A) bulunmaktadır (12, 19). Febril nöbetli jeneralize epilepsi +(GEFS+) (Sodyum Voltaj Kapılı Kanal Alfa Alt Birimi 1, Sodyum Voltaj Kapılı Kanal Beta Alt Birimi 1, Gama-aminobütirik Asit Tip A Reseptör Alt Birimi (SCN1A, SCN1B ve GABRG2)) ve Dravet sendromu (SCN1A) özellikle ateşli nöbetleri ve gelişme geriliği olan çocuklarda ayrıca bir tanı oluşturması açısından oldukça kritiktir (12, 24). Kanıtlanmış mutasyonlar Mendelyen idiyopatik epilepsilerinin çeşitli formlarına duyarlılık üzerinde büyük bir etkiye sahip olan pek çok gende keşfedilmiştir ve Çizelge 7 günümüzde en çok kabul edilen ve doğrulanan genleri ve bulguları içermektedir. Bu genlere ek olarak, Kalsiyum Voltaj Kapılı Kanal Alt Birimi Alfa1 H (CACNA1H), Kalsiyum Voltaj Kapılı Kanal Yardımcı Alt Birimi Beta 4 (CACNB4), Gama-Aminobütirik Asit Tip A Reseptör Alt Birim Delta (GABRD), Klorür Voltaj Kapılı Kanal 2 (CLCN2) ve Adezyon G Proteinine Bağlı Reseptör V1 (MASS1) gibi aday genler üzerinde yapılan çalışmalar, saptanan mutasyonların, karmaşık kalıtıma sahip bazı küçük ailelerde varyantların tanımlanmasına yol açmıştır fakat bu varyantların hastalık patolojisi üzerindeki etkisi hala aydınlatılmayı beklemektedir (22, 24).

Çizelge 7. İdiyopatik Epilepsi Sendromlarında Tanımlanan Genler(22)

Yaşamın ilk yılında başlayan sendromlar	Lokus	Gen	Ürün
Bening ailesel yenidoğan nöbetleri	**20q13.3**	**KCNQ2**	**KV7.2 (K+ channel)**
	8q24	**KCNQ3**	**KV7.3 (K+ channel)**
Benign Ailesel Yenidoğan- Infantil Nöbetleri	**2q23-q24.3**	**SCN2A**	**NaV1.2 (Na+ channel)**
Ohtahara Sendromu	**9q34.1**	**STXBP1**	**Syntaxin bağlı protein 1**
	Xp22.13	**ARX**	**Aristaless-ilişkili homeobox protein**
Erken başlangıçlı spazmlar	**Xp22**	**STK9/CDKL5**	**Siklin bağımlı kinaz benzeri 5**
X'e bağlı infantile spazmlar	**Xp22.13**	**ARX**	**Aristaless ilişkili homebox protein**
Belirgin ateşli nöbetleri olan sendromlar			
Dravet sendromu (infantil dönemindeki şiddetli miyoklonik epilepsi)	**2q24**	**SCN1A**	**NaV1.1 (Na+ channel)**
Febril nöbetli genetik (jeneralize) epilepsi + (GEFS+)	**2q24**	**SCN1A**	**NaV1.1 (Na+ channel)**
	19q13.1	**SCN1B**	**β1 subunit (Na+ channel)**
	5q34	**GABRG2**	**γ2 subunit (GABAA reseptör)**
Febril nöbetli çocukluk çağı absans epilepsi	**5q34**	**GABRAG2**	**γ2 subunit (GABAA receptör)**
İdiyopatik Jeneralize Epilepsi			
Erken başlangıçlı absans epilepsi	**1p35-p31.1**	**SLC2A1**	**GLUT I (Glukoz transporter tip I)**
Juvenil miyoklonik epilepsi	**5q34-q35**	**GABRA1**	**α1 subunit (GABAA reseptör)**
	6p12-p11	**EFHC1**	**EF el motifi protein**
Fokal Epilepsiler			
Otozomal dominant nokturnal frontal lob epilepsi	**20q13.2-q13.3**	**CHRNA4**	**α4 subunit(nAChreceptor)**
	1q21	**CHRNB2**	**β2 subunit (nACh receptor)**
	8p21	**CHRNA2**	**α2 subunit (nACh receptor)**
Otozomal dominant parsiyel epilepsi (Otozomal dominant lateral temporal epilepsi)	**10q24**	**LGI1**	**Leucine-rich repeat protein**
Diğer paroksimal bozukluklarla ilişkili epilepsiler			
Jenerelize epilepsi ve paroksismal diskinezi	**10q22**	**KCNMA1**	**KCa1.1 (K+ channel)**
Paroksimal egzersizle uyarılmış diskinizi ile epilepsi	**1p35-p31.3**	**SLC2A1**	**GLUT I (Glukoz transporter tip I)**
Absans epilepsi ve epizodik ataksi	**19p13**	**CACNA1A**	**CaV2.1 (Ca2+ channel)**
Fokal epilepsi ve epizodik ataksi	**12p13**	**KCNA1**	**Kv1.1 (K+ channel)**

2.3.1. Bening ailesel yenidoğan nöbetleri (BFNS)

Bening ailesel yenidoğan nöbetleri (BFNS) yenidoğan bebeklerde tekrarlayan nöbetlerle karakerize, toplumda görülme sıklığı 1/100,000 olan fokal klonik, adversif ya benign jeneralize nöbetler içerebilir. Bu duruma sahip birçok yenidoğanda beynin her iki tarafında gözlemlenen genelleştirilmiş tonik-klonik nöbetler mevcuttur. Bu nöbetler tüm vücudu etkileyip kas sertliği, nefes darlığı, konvülsiyon ve bilinç kaybına neden olur. Nöbetler yaşamın 2-3. gününde başlar ve 1 ila 4 ay içerisinde kendiliğinden kesilir (25, 26).

BFNS'nin yaşamın ilerleyen dönemlerinde tekrar görülme sıklığı %10-16 arasındadır. BFNS öyküsü olan bireylerde nöbetler birkaç hafta içinde tamamen kesilebileceği gibi ilerleyen dönemlere tekrarlayan epileptik nöbetler ve zihinsel engellilik gelişimi gibi olumsuz prognoz gösteren birkaç vaka vardır. BFNS'li kişilerin küçük bir yüzdesinde ise kasların istemsiz dalgalanma haraketi olan miyokimya adı verilen bir durumda ortaya çıkabilir (25, 26). BFNS, 20q13.3 kromozomunda lokalize KCNQ2 ve 8q24 kromozomunda lokalize KCNQ3 genlerindeki mutasyonlar sonucu meydana gelir. Her iki gende KCNQ alt familyasına ait voltaj kapılı potasyum kanalı alt birimlerini kodlar. Bu ailenin üyeleri olan KCNQ1 kalp kası, KCNQ2 ve KCNQ3 merkezi sinir sistemi, KCNQ4 iç kulak ve merkezi işitsel yolakları, KCNQ5 ise MSS ve iskelet kasında eksprese olur. KCNQ ailesi üyeleri, hücre zarının depolarizasyonu ile aktive olur ve S1-S6 6 transmembran segmenti ve uzun sitoplazmik C-terminal segmenti ile öngörülen topolojik bir düzenlemeye sahiptir. KCNQ2 alt birimleri fonksiyonel homomerik kanallar ya da KCNQ3 alt birimleri ile birlikte heteromerik kanallar oluşturabilir (25). KCNQ2 ve KCNQ3 genleri, potasyum kanalları oluşturmak için etkileşime giren proteinlerin yapımında görev alır. Potasyum kanalları pozitif yüklü potasyum iyonlarını hücrenin içine ve dışına taşıyarak, hücrenin elektrik sinyali üretme ve iletme kabiliyetine sahiptir. KCNQ2 ve KCNQ3 proteinleri tarafından oluşan kanallar beyindeki nöronlarda aktiftir ve potasyum iyonlarını hücrelerden dışarıya taşırlar. Bu kanallar, nöronun diğer nöronlara sinyal göndermeye devam etmesini engelleyen M-akımı adı verilen belirli bir elektrik sinyali türünü iletir. M-akımı nöronun sürekli aktif veya uyarılabilir olmamasını sağlar. KCNQ2 geninde tanımlanan 20'den fazla, KCNQ3 geninde ise şimdilik patojeniteye sebep olan 2 mutasyon tanımlanmıştır. KCNQ2'de gözlemlenen R207W mutasyonunun elektrofizyolojik analizi, daha önce

BFNS'ye neden olan mutasyonlarda gözlenenden daha ciddi K+ kanal özelliği değişkenliği gösterir (34). KCNQ2 ya da KCNQ3 genindeki mutasyonlar, nöronların aşırı uyarılabilirliğine yol açan azaltılmış ya da değiştirilmiş M akımına neden olur. Beyindeki nöronlar anormal uyarıldığında da nöbetler gelişir. BFNS epilepsilerinin neden 4 ay sonunda bittiği ise henüz belirsizdir. Buna ek olarak, KCNQ2 ve KCNQ3 proteinlerinden oluşan potasyum kanallarının yenidoğanlarda nöronların aşırı uyarılabilirliğini önlemede major bir rolü olduğu, bebeklik döneminde ise diğer mekanizmaların geliştiği öne sürülmüştür. BFNS epilepsilerinin yaklaşık %70'inde KCNQ2 ve KCNQ3 geninde mutasyon vardır, araştırmacılar diğer olası gen mutasyonları üzerinde çalışmalarını devam ettiriyorlar (26).

2.3.2. Benign Ailesel Yenidoğan- Infantil Nöbetleri (BFNIS ya da SCN2A)

Yaşamın ilk 12 ayında görülen ateşli nöbetler genellikle korunmuş prognozla birlikte ciddi yapısal beyin hastalıkları veya metabolik anomilelerle sonuçlanır (27). Benign ailesel neonatal-infantil nöbetler (BFNIS ya da SCN2A), BFNS ve BFIS arasında otozomal dominant kalıtılan bir ara fenotiptir ve prevelansı 1/1000000'den küçük olarak bildirilmiştir. BFNIS ailelerinde sendromun başlangıç yaşı 2 gün ile 6 ay arasında değişmekle birlikte 1 yıl içerisinde kendiliğinden geçer. Nöbetler 1 ila birkaç gün boyunca devam eden posterior fokal nöbetler şeklindedir. BFNIS, voltaj kapılı sodyum kanalı alfa alt birimi NaV 1.2'yi kodlayan lokasyonu 2q24.3 olan SCN2A genindeki yanlış anlamlı mutasyonlardan kaynaklanır (14). SCN2A geninde meydana gelen mutasyonlar epilepsi, otizm; delesyonuna bağlı distoni ve disotonomi gibi nörolojik hastalıklara neden olur (15).

SCN2A geninin disfonksiyonu infantil nöbetlerin, otizim spektrum bozukluğunun ve zeka geriliğinin en önemli nedenlerinden biridir (15). NaV 1.2 kanaları, gelişmekte olan ve olgun nöronlarda, kortikal glutamaterjik piramidal hücrelerde merkezi fonksiyonları destekler. Erken gelişim sırasında, Nav1.2, Ranvier boğumlarında ve akson başlatma segmentinde, çoğu nöronun aksiyon başlatma bölgesinde sadece NaV izoformu olarak eksprese olur (16). SCN2A genine bağlı NaV1.2 alt ünitesinde gözlemlenen fonksiyon kazancına bağlı mutasyonlar, semptomun BFNIS veya epileptik ensefalopati olduğunu düşündürür (28). BFNIS ile ilişkili varyantlar çoğunlukla yanlış anlamlı mutasyonlara bağlı; fonksiyon kazancı ve artmış

nöronal uyarılabilirliğe neden olur. Sodyum kanalının çeşitli domainlerinin arasındaki yapı-fonksyon ilişkisi çözümlenmenmesiyle; her biri 6 segmentten oluşan 4 homolog transmembran domaini var olduğu bildirilmiştir (27, 29). SCN2A'da meydana gelen yanlış anlamlı mutasyonların çoğu kanal iletkenliğini tamamen engeller, geri kalan ise Nav1.2 alfa alt ünitesinin biyofiziksel özelliğini değiştirerek kanal fonksiyonunu bozar (28). SCN2A üzerine yapılan kapsamlı literatür çalışmasında 117'si benzersiz olmak üzere 148 ailede 148 farklı varyant tanımlanmış ve BFNIS'li ailelerde 20 varyant; infantil nöbetler ve hafif gelişimsel gecikme ve / veya epizodik ataksi olan bireylerde 8 varyant; Epileptik ensefalopatili (EE) bireylerde, genellikle merkezi hipotoni, serebral atrofi ve mikrosefali ile birlikte orta ve şiddetli gelişimsel gecikme ile karakterize edilen 51 varyant tanımlanmıştır (28).

2.3.3. Benign Ailesel Infantil Nöbetleri (BFIS)

Epileptik nöbetler ve epilepsi tanısı almış hastalar için önerilen tanı kriterlerlerinde, yaşamın ilk yılında ortaya çıkan 2 idiyopatik fokal epileptik sendromu tanımlanmış olup bunlar; yaşamın ilk yılında başlayan benign ailesel infantil nöbetleri ve benign ailesel olmayan infantil nöbetleri içerir (30). BFIS vakaları dünya çapında bildirilmiş olmasına ragmen, toplumda görülme sıklığı ve insidansı bilinmemektedir. Benign ailesel infantil nöbetler (BFIS), erken çocukluk döneminde 3 aydan 8 aya kadar ateşli tekrarlayan nöbetlerin ortaya çıkması ile karakterize genetik epileptik sendromdur (31). Nöbetler genellikle 3 ila 8 ay arasında, tekrarlayan ve kısa kümeler halinde 8 ila 10 gün arasında 2-5 dakika süreyle oluşur (32). Hastalarda motor arest, yanıt vermeme, tek taraflı kafa ya da göz sapması (deviyasyon), göz kapaklarının titremesi, homurdanmak, siyanoz, yaygın hipotoni ve unilateral ya da bilateral klonik kol ve bacak refleksi gözlemlenir. İnteriktal dönemde hastalar tam bilinç ve aktivite kazanırlar (32). BFIS genetik olarak heterojenite gösteren ve otozomal dominant kalıtılan bir hastalıktır. Vakaların çoğunda kromozomda 16p11.2’ de lokalize prolin bakımından zengin transmembran protein 2 (PRRT2) geninde mutasyonlar saptanmıştır. PRRT2 geni, presinaptik bir protein olan SNAP-25 ile etkileşime giren bir membran proteini kodlar. Buna ek olarak BFIS hastaları, Nav1.2’yi kodlayan 2q24.3’de lokalize SCN2A ve nadiren potasyum kanallarını kodlayan 20q13.33’de lokalize KCNQ2 ve 8q24’de lokalize KCNQ3 genlerinde de mutasyona sahip olabilirler (32, 33). BFIS hastalarında;

aile öyküsü ve elektoensefalografi (EEG) tanı konmasında oldukça kritiktir. Nöbetler bazen tüm beyne dağılıp, yayılabilir. Bir nöbet kümesi sırasında, postiktal EEG lateralize oksipito-parietal delta dalgaları ve sivri uçları gösterir. Küme dışında, uyanıklık ve uyku interiktal EEG normaldir. Hastalarda interiktal nörolojik muayene ve beyin BT ve ya MRI normaldir ve ancak genetik test tanıyı doğrular (32, 33).

2.3.4. Erken Başlangıçlı Epileptik Ensefalopatiler

Erken başlangıçlı epileptik ensefalopatiler (EBEE); Ohtahara sendromu (OS), erken miyoklonik epileptik ensefalopati, West sendromu (WS), Dravet sendromu (DS)'nu içerir (34).

2.3.4.1. Ohtahara Sendromu-OS

Ohtahara Sendromu, genellikle yaşamın ilk 3 ayında ortaya çıkan otozomal dominant kalıtılan bir hastalıktır. OS'nin insidansı toplamda rapor edilen 100 vakayla Japonya'da 1/100000, İngiltere'de 1/50.000 olarak tahmin edilmekle, erken ölümle sonuçlanan OS yenidoğanlarda gözden kaçabilir. Yenidoğanlarda zayıf emme refleksi, hipotoni ve küme ya da tek başına ortaya çıkabilecek yaklaşık 10 saniye süren jeneralize veya simetrik tonik spazmlarla kendini gösterir (35, 36). OS, kontrol edilmesi zor nöbetler ve gelişme geriliğiyle karakterize nadir görülen bir epilepsi türüdür. Bozukluk, yenidoğanların çoğunda ilk 10 gün içinde olmak üzere yaşamın ilk 3 ayında epileptik nöbetler şeklinde kendini gösterir. Bebeklerde çoğunlukla tonik nöbetler şeklinde ortaya çıkarken; fokal, nadiren de miyoklonik nöbetler de ortaya çıkabilir (36). OS, klasik olarak hasara ya da anormal gelişime bağlı, yüksek oranda anormal beyin yapısına sebep olur. Çoğu vakaların nedeni bilinmesede, metabolik bozukluk ya da genetik epilepsi sendromlarıyla ilişkili olabilir. Son çalışmalar Ohtahara sendromunun genellikle tanımlanabilir bir genetik nedeni olduğunu ve metabolik bozukluklarla daha az ortaya çıktığını göstermektedir. Aristaless (ARX), Siklin bağımlı kinaz 5 (CDKL5A), Çözünen Taşıyıcı Ailesi 25 Üye 22 (SLC25A22), Syntaxin Bağlayıcı Protein 1 (STXBP1), Spektrin Alfa Eritrositik Olmayan 1 (SPTAN1), KCNQ2, Cdc42 Guanin Nükleotid Değişim Faktörü 9 (ARHGEF9), (PCDH19), Polinükleotid Kinaz 3'-Fosfataz (PNKP), SCN2A, Fosfolipaz C Beta 1 (PLCB1), Sodyum Voltaj Kapılı Kanal Alfa Alt Birimi 8 (SCN8A), ST3 Beta-Galaktosit Alfa-2,3-Sialiltransferaz 3 (ST3GAL3), TBC1

Alan Aile Üyesi 24 (TBC1D24), BRCA1 İlişkili ATM Aktivatörü 1 (BRAT1) genleri, Ohtahara sendromuyla ile yakından ilişkilidir (37). Ayrıca, tanı için EEG bulguları ve klinik seyir değerlendirilir. OS tanısında EEG burst bastırma paterni olarak adlandırılan bir modelle yüksek oranda anormal gözükür. Burst bastırma paterni ile gözlemlenen değişiklikler uyku sırasında ya da uyanıklık durumunda gözlemlenebilir (36, 37). OS tanısı öncelikli olarak hastanın sahip olduğu belirti ya da semptomların kliniğine ve EEG bulgularına göre konulur. Ohtahara sendromuna neden olabilecek yapısal değişikleri saptamak için ayrıca MRI taraması gerekir ve hastaların çoğunda beyin atrofisi görülür. Hastanın MRI'nda herhangi bir neden bulunamaması durumunda kromozomal mikroarray, NGS metodu ile epilepsi paneli veya tüm ekzom dizileme yapılmalıdır. Ayrıca metabolik bozukluklar kan ve idrar testiyle birlikte değerlendirilmelidir (37).

2.3.4.2. Erken miyoklonik ensefalopati

Erken miyoklonik ensefalopati (EME), sık zorlu nöbetler ve şiddetli erken ensefalopati ile karakterize, sınırlı gelişim ve azalmış yaşam beklentisiyle sonuçlanan erken başlangıçlı epileptik ensefalopatiler içinde yer alan malign bir epilepsi sendromudur, bugüne kadar tanımlanan sadece 30 vaka vardır ve prevelans bilinmemekedir (38, 39). Yaşamın ilk iki ayında (çoğunlukla 10.günden itibaren) nöbetler başlar. EME'de miyoklonik nöbetler oldukça sıktır ve bu durum sendromu OS'den ayıran en önemli farktır (39). EME, EEG üzerinde burst bastırma paterni ile karakterizedir (38). ILAE sınıflamasına göre EME, non-spesifik etiyolojinin yaşa bağlı jeneralize semptomatik epilepsisi olarak kategorize edilir (19). EME klinik olarak düzensiz veya parçalı miyoklonus, masif miyoklonus, diğer dirençli parsiyel nöbetler ve belirgin nörolojik anomilelerle karakterizedir (19, 38). Nöbetlerin başlangıcından önce anormal nörolojik davranışlar gözlemlenebilir. Baş büyüklüğü tipik olarak normal olmasına rağmen, zamanla mikrosefali gelişebilir (39). Ohtahara sendromu ile erken dönem miyoklonik ensefalopatiye neden olan etiyolojiler birbirine benzerdir. EME, non-ketotik hiperglisinemi, amino ve organik asidopatiler, üre döngüsü bozuklukları, mitokondriyal bozukluklar, piridoksin ve piridoksal-5-fosfat bozuklukları, molibdemum kofaktör eksikliği, sülfit oksidaz eksikliği, Menke sendromu, Zellweger sendromu gibi metabolik bozukluklara, nadiren yapısal beyin anomalilerine ve genetik nedenlere

bağlıdır (39). Genetik olarak durum genellikle de novo olmakla birlikte ErB4 geni ile karakterizedir, fakat metabolik bozukluklar Mendelyen kalıtımını içerebileceğinden altta yatan etiyoloji kritiktir. Genellikle ailede nöbet ve ya epilepsi öyküsü mevcut olmadığından, pozitif bir aile öyküsü genetik veya metabolik bir etiyoloji arayışını tetiklemelidir (39).

2.3.4.3. West Sendromu

West sendromu (WS) yaşa bağlı, erken bebeklik çağında gözlemlenen; infantil spazmlar, psikomotor gerilik ve hipsaritmi adı verilen anormal beyin dalgası paterneleri ile karakterize epileptik ensefalopitidir (40, 41). Erkeklerde kızlara göre görülme sıklığı daha fazla olup insidansın canlı doğumlarda 1 ile 1.6/100.000 olduğu bildirilmektedir. Hastaların büyük çoğunluğunda ağır mental gerilik ve davranış bozukları gelişir. WS, literatürde selam nöbetleri, fleksiyon spazmları, Jackknife nöbetleri, masif myoklonik atımlar, infantil myoklonik nöbetler ve hipsaritmi olarak da anılmaktadır (42, 43). Spazmlar genellikle doğumdan sonra başlar ve nadiren ilaç tedavisine cevap verir. Daha ileriki yaşlarda görülmesiyle, infantil spazmlar yerine epileptik spazmlar olarak adlandırılır. WS, hasta öyküsü, psikomotor gelişim, nörolojik muayene ve laboratuvarratuvar bulgularına göre ikiye ayrılır. Saptanabilen bir nedeni olmayan, spazmlar başlamadan önce psikomotor gelişimi normal, nörolojik muayenesinde patolojik bulgulara rastlanmayan, laboratuvar ve nöroradyolojik bulguları normal olan olgular kriptojenik grup olarak tanımlanır. Etiyolojisi saptanan, spazmların başlamasından önce de psikomotor gelişimi geri olan, laboratuvar ve nöroradyolojik değerlendirmede patolojik bulgu saptanan olgular semptomatik grup olarak tanımlanır (42). Beyin hasarına yol açabilecek herhangi bir bozukluk, travma, hemimegalensefalopati veya kortikal displazi gibi beyin malfarmasyonları, Down sendromu gibi kromozomal anomaliler, tüberoskleroz kompleksi (TSC) gibi nörokutanöz bozukluklar, Sturge Weber sendromu, pirodoksin eksikliği gibi farklı metabolik ve genetik hastalıklar, non-ketojenik hiperglisemi, fenilketonüri, mitokondriyal ensefalopatiler ve biyotinidaz eksikliği, Ohtahara sendromu ve ARX geni, X kromozoma lokalize (Xp22) CDKL5 geninde meydana gelen mutasyonlar West sendromunun oluşumun altında yatan nedenlerdir (44, 45). Aristaless (ARX) ve CDKL5 genlerinin özellikle infantil spazmlar, hipsaritmi ve psikomotor geriliği olan infantil spazmların fenotipiyle ilişkili olduğu literatürde belirtilmiştir (45).

2.3.4.4. Dravet Sendromu-DS

Dravet sendromu, yaşamın ilk yılında ortaya çıkan, ateşli ve ateşsiz, jeneralize klonik ya da hemiklonik nöbetler şeklinde kendini gösteren erken başlangıçlı, tedaviye dirençli bir epilepsi sendromudur (46, 47). Literatürde İngiltere'de toplumda görülme sıklığı 1/28.000 iken dünya genelinde doğum prevelansı 1/40.000'den az olarak bildirilmiştir. Miyoklonik, fokal ve atipik absans nöbetler 1-4 yaşlar arasında başlar. Bilişsel, davranışsal ve motor bozukluklar yaşamın ikinci yılında belirgin hale gelir (47). Şiddetli miyoklonik epilepsi ve DS terimleri birbirinin yerine kullanılmasına rağmen, bazı hastaların miyoklonik nöbet geçirmediği gözlemlenmiş ve bu 2 terminoloji birbirinden ayrılmıştır. DS erken, sık ve uzun süren ateşli nöbetleri takip eden ateşsiz konvülsif nöbetler ve olası diğer nöbet tipleri için kullanılmaktadır (47). Tipik olarak epileptik ensefalopatiye sebep olan sendrom, genellikle sodyum kanalı alfa 1 alt birim geni SCN1A üzerindeki de %95'inden fazlası de-novo ortaya çıkan mutasyonlarla oluşur (46, 47). Sendromun SCN1A mutasyonuyla oldukça spesifik bir ilişkisi vardır, hastaların %80'i SCN1A mutasyonu bakımından pozitifir (47). SCN1B, Hiperpolarizasyonla Aktifleştirilen Siklik Nükleotid Kapılı Potasyum Kanal 1 (HCN1), KCN2A, Gama-Aminobütirik Asit Tip A Reseptör Alt Birimi Alfa 1 (GABRA1) ve Gama-Aminobütirik Asit Tip A Reseptör Alt Birimi Alfa 2 (GABRA2) dahil olmak üzere sodyum, potasyum veya klorür kanallarını kodlayan ya da PCDH19, Syntaxin Bağlayıcı Protein 1 (STXBP1) ve Kromodomain Helikaz DNA Bağlayıcı Protein 2 (CHD2) gibi proteinleri kodlayan çeşitli genler, erken başlangıçlı gelişimsel ve epileptik ensefalopatilerle ilişkilendirilmiştir. Bu genlere bağlı fenotipik spektrum kısmen veya geçici olarak SCN1A ilişkili DS ile örtüşsede, DS'nin SCN1A dışında diğer genlerle major bir ilişkisi tespit edilememiştir. Ekzonik, intronik, kopya sayısı varyanları ve moazikliği kombine eden SCN1A mutasyonları, neredeyse tüm DS'li hastalarda mevcuttur (47).

2.3.5. Febril nöbetli jeneralize epilepsi + (GEFS+)

Febril nöbetli jeneralize epilepsi + (GEFS+), çok çeşitli farklı genelleştirilmiş ve hatta bazen kısmi nöbet fenotipleri ile ilişkilendirilebilir, literatürde yüzlerce vaka yer almasına rağmen prevelansı bilinmemektedir. En karakteristik özelliği, 6 yaşından sonra bile görülebilen ateşli nöbetlerin oldukça sık görülmesidir. GEFS+ hastalarında, yüksek ateşle tetiklenen nöbetler, ateşle ilişkili olmayan afebril nöbetler dahil olmak üzere

tekrarlayan nöbetler görülür. Özet olarak ateşli nöbetler 6 yaştan önce başlar ve sonrasında ateşli ya da ateşsiz devam eder. Klinik tablo, hafif ateşli nöbetler, atonik, miyoklonik ya da absans nöbetleri gibi pek çok farklı fenotipik özellikte olabilir (48, 49) . Çoğu hastalarda, hastalığın seyri oldukça iyi huyludur. Fakat, bazı bireylerde bebeklik döneminde şiddetli miyoklonik epilepsisi (SMEI, Dravet sendromu olarak da bilinir) veya jeneralize tonik-klonik nöbetler gibi kötü progrozlu epilepsi tiplerinden etkilendiği bazı aileler tanımlanmıştır (50). Klinik değişkenlik nedeniyle, kalıtım paterninin belirlenmesi zordur fakat azalmış penetrans ile otozomal dominant ya da oligojenik olarak ortaya çıktığı görülmektedir (50, 51). GEFS+'de görülen diğer mutasyon ise voltaj kapılı sodyum kanalının β1 alt ünitesini kodlyan SCN1B geninde meydana gelen bir C121W nokta mutasyonudur. Triptofanın 121. Pozisyonda bir sistein kalıntısıyla disülfid köprüyü bozacak şekilde yer değiştirmesiyle β1 alt ünitesinin ekstraselüler sekonder yapısında bir bozulma meydana gelir ve β1 alt ünitesinde fonksiyonel bir kayba sebep olur (50, 52). Dravet sendromu vakalarının %80'ininde, GEFS+ vakalarının %10'u SCN1A genindeki mutasyonlara bağlıdır (53). SCN1A ve GEFS+ ile ilişkili diğer genler, pozitif yüklü sodyum iyonlarını hücre içerisine geçişinden sorumlu alt birimleri yapmakla görevlidir. Pozitif yüklü iyonların hücre içerisine taşınması nöronlar arasında elektrik sinyallerinin üretilmesine ve iletilmesine yardımcı olur. GEFS+'le ilişkili diğer genlerden üretilen proteinler, GABAA iyon kanallarının alt birimleridir. GABAA reseptör kanalları nöronlar arasındaki sinyali inhibe eder (53). SCN1A genindeki mutasyonlarının sodyum kanalları üzerinde çeşitli etkileri vardır. Dravet sendromuna neden olan birçok mutasyon, her bir hücredeki işlevsel kanallarının sayısını azaltır. Daha hafif seyreden GEFS+ bozukluklarına neden olan mutasyonlar ise muhtemelen kanalın yapısını değiştirmektedir. Bazı çalışmalar, bazı SCN1A mutasyonlarının, nöronlar arasından sinyalin uyarılmasına neden olduğunu ve dolayısıyla beyindeki belirli nöronların aşırı uyarılmasının, nöbetlerle ilişkili anormal beyin aktivitesini tetiklendiğini göstermektedir. GABAA reseptör alt birim genlerindeki değişiklikler, kanalın işlevini bozarak nöronlar arasında kontrolsüz sinyale neden olur ve nöbetlerin ortaya çıkmasına sebep olur (53). Sonuç olarak GEFS+'deki mutasyonların çoğu SCN1A α1-alt ünitesinde, nadiren SCN2A alt ünitesinde, SCN1B ve GABRG2 alt ünitelerinde meydana gelir ve şu ana kadar tanımlanan tüm SCN mutasyonları yanlış anlamlı mutasyonlardır (50, 54).

2.3.6. Otozomal dominant noktürnal frontal lob epilepsisi (ADNFLE)

Otozomal dominant noktürnal frontal lob epilepsisi (ADNFLE), çoğunlukla non-REM uyku sırasında, uykuya daldıktan kısa bir süre sonra veya sabahın erken saatlerinde kısa noktürnal motor nöbetleriyle karakterizedir ve literatürde tanımlanan 100'den fazla aileye göre erkek ve kadınlar eşit etkilenir. ADNFLE, aile içerisinde başlangıç yaşı ve nöbetlerin şiddeti açısından önemli farklılıklar göstermektedir. Hastaların yaklaşık %50'sinde nöbetler genellikle 10 ya da 20'li yaşlar arasında başlar. Daha da ilerleyen yaşlarda da gözüken hastalar literatürde mevcuttur. Nöbetler öncelikle duyuları etkileyen bir belirti olan aura, nefes almada zorluk, hırıltı ya da ses çıkartma şeklinde gözlemlenlebilir. Motor özellikler, şiddetli hiperkinetik aktivite ya da üst üste binen klonik sarsıntı ile tonik sertleşme olarak tanımlanır. Hastaların çoğunda nöbet sırasında bilinç açıkken, ikinci jenerelazisyon ile bilinç kaybı meydana gelebilir (55). Interiktal EEG anormallikleri nadirdir ve anatomik ve teknik nedenlerle iktal kayıtlar genellikle spesifik veya kesin olmayan modeller gösterir. Bu nedenle, noktürnal video-polisomnografi ayırıcı tanı için oldukça yararlıdır (50, 55). ADNFLE için tanımlanan ilk gen, geniş bir Avustralyalı ailede görülen nöronal nikotinik asetilkolin reseptörünün (nAChR) α4-alt ünitesinin 20q13.3 lokalize Kolinerjik Reseptör Nikotinik Alfa 4 Alt Birimi (CHRNA4) genidir. Bu ailedeki S248F mutasyonu daha sonraki çalışmalarda, etnik kökeni tamamen farklı birkaç ailede tekrar bulundu. ADNFLE' de tanımlanan ikinci gen yine nAChR reseptörünün β2-alt ünitesinde, 1q21.3' te lokalize Kolinerjik Reseptör Nikotinik Beta 2 Alt Birimi (CHRNB2) genidir. CHRNB2 geninde meydana gelen mutasyonlar V287L, V287M fonksiyonel olarak nAChR reseptörünün kritik porlu- transmembran bölgesinde yer almaktadır, ve bu mutasyonlar üzerinde yapılan ekspresyon deneyleri, nAChR reseptörü üzerinde, fonksiyon kaybı ve kazancı etkisi olduğu bilinmektedir (56, 57). Yapılan çalışmalar, farklı nAChR mutasyonları ile ilişkili bazı fentopitik değişikleri göstermiştir. CHRNA4- 776ins3 mutasyonu yüksek oranda psikiyatrik bozukluklarla, CHRNA4-S252L mutasyonu mental retardasyon ile ilişkilir (50, 57).

2.3.7. İdiyopatik Epilepsiler

Bu zamana kadar birçok karakterizasyon ve sınıflandırma girişimlerine rağmen, epilepsiler için klinik ve temel uygulamalarda kesin bir sınıflandırma çeşidi yoktur.

Nöbetler, farklı bozukluklarda fakültatif özellikler olarak ortaya çıkabilen ya da hastada gözlemlenen tek ya da ana sendrom olarak gözlemlenen yaygın nörolojik fenomenlerdir (50, 51). Merkezi sinir sistemi patolojisi olmaksızın, genetik yatkınlık gösteren, altta yatan herhangi bir yapısal beyin lezyonu veya diğer nörolojik semptom ya da bulguların olmadığı, hastalığın altında yatan nedenin genetik ve sıklıkla yaşa bağlı olan epilepsiler idiyopatik epilepsi olarak adlandırılır. İdiyopatik epilepsilerin genetik alt tiplerinin altında yatan kalıtım modelleri, monojenik ya da polijenik olabilir. Monojenik epilepsilerde fenotip ve genotip arasındaki ilişkili nispeten basittir fakat yine de çevresel ve epigenetik faktörlerle bağlı değişim vardır (50, 58). Monojenik epilepsiler genellikle, beklenenden daha az nüks etme riski ve major gen defektlerinin azalmış penetransı ile sonuçlanır. Bununla birlikte, juvenil miyoklonik epilepsi (JME) veya çocukluk ve juvenil absans epilepsileri (CAE, JAE) gibi idiyopatik jeneralize epilepsiler (IJE) kompleks kalıtım paternine sahiptir. Yapılan çalışmalar doğrultusunda, yaygın bir epilepsi formundan etkilenen her idiyopatik epilepsi formundan etkilenen her hastada birkaç farklı genin nöbet yatkınlığına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bu genlerin çoğunun fenotip üzerinde major etkileri olmadığından, tanımlanmaları için genetik analizler yapılmalıdır (50, 59).

2.3.7.1. İdiyopatik Jeneralize Epilepsiler

İdiyopatik epilepsiler tüm epilepsilerin 1:3'ü kadardır, genetik olarak belirlenir, her iki cinsiyetten ve tüm ırklardan insanları etkiler. İdiyopatik jeneralize epilepsiler, epileptik sendromların ILAE tarafından sınıflandırılması tarafından önerilen katı klinik ve EEG özellikleriyle tanımlanan bir hastalık kategorisidir (60). İdiyopatik jeneralize epilepsiler, tipik absanslar, miyoklonik atımlar ve jeneralize tonik-klonik nöbetler (GCTS) ile tek başına ya da çeşitli kombinasyonlarla kendini gösterir (19, 61, 62). Absans status epileptikus (ASE) en yaygın olanıdır. Çoğu IJE sendromu çocukluk ya da ergenlikte başlasada yetişkinlerde de başladığı bildirilmiştir (61, 63). EEG, IJE tanı ve doğrulamasında en hassas yöntemdir. EEG hem iktal hem de interiktal diken dalgalar, polidiken ya da diken/polidiken dalga-keskin dalgaların jeneralize deşarjlarını gösterir (64, 65). Tedavi edilemeyen hastalarda EEG'nin normal olma olasılığı düşüktür ve şüpheli vakalarda normal rutin uyanık EEG ve uyku ve uyanıklık sırasında EEG alınmalıdır. Bunların yanında moleküler genetik analizler, aday genlerin ve lokusların

tanınmasında önemli atılımlara yol açmıştır ve IJE'lerde genetik heterojenite oldukça yaygındır ve bu bozukluklara karşı genetik bir yatkınlık dışında hiçbir etiyoloji bulunamaz. "γ-aminobütirik asit (GABAA) reseptör alt ünitelerinde bulunan mutasyonlar, IJE'lerde GABAA reseptörünü güçlü bir şekilde etkiler ve IJE'lerin tedavisi 2 ana nedenden dolayı zordur; birincisi fokal epilepsilerde faydalı olan antiepileptik ilaçlar IJE'lerde zararlı olabilir, ikincisi antiepileptik ilaçlar IJE'lerin nöbetleri içerisinde de farklılık gösterir (61, 62, 66). Çoğu IJE anti-epileptik ilaçlara yanıt verir fakat genellikle tedavi yaşam boyudur. IJE sendromları, tek başına ya da kombinasyonlar halinde üç ana nöbet tipi ile kendini gösterir; (a)Tipik absans nöbetleri, (b) miyoklonik jerkler, (c) Jeneralize tonik-klonik nöbetler (61).

a. **Tipik Absans Nöbetler: CAE, JAE, JME, MAE:** Tipik absanslar, ani başlangıçlı ve ani sonlanmalı jeneralize epileptik nöbetlerdir. Absans epilepsiler yaşa bağlı sendromlardır ve sadece çocuklara yönelik kohortlarda veya kombine yetişkin ve çocuk kohortları dikkate alındığında epidemiyolojik değişiklikler gösterir. Geniş kohortta çocukluk çağı absans epilepsisi (CAE) frekansı %1,5 ile %12,1 arasında değişmekte olup varyasyonlar büyük ölçüde vaka tanımının kaynağına bağlıdır (60). İdiyopatik Bilinç bozukluğu (absans) ile kendini gösteren klinik bileşen ve 3-4 Hz (>2.5 Hz) diken-dalga deşarjları absans nöbetlerin 2 temel bileşenidir (61, 67). TA'lar genetik olarak belirlenir çünkü aileler arasında benzer bozukluklar yüksek insidans gösterirler fakat kesin kalıtım şekli ile ilgili genler hala büyük ölçüde bilinmemektedir. Tipik absans nöbetlerine sebep olan IJE sendromlarına sebep olan çeşitli kromozomal lokuslar tanımlanmıştır. Ayrıca, TA nöbetleri görülen CAE' ye, GABAA reseptörlerini kodlayan genler ya da beyinde eksprese olan voltaj-bağımlı kalsiyum kanallarındaki mutasyonların sebep olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (61, 68). Hem inhibe edici hem de uyarıcı nörotransmisyonlar, absans nöbetlerin oluşum ve kontrolünde rol oynar. Bu, inhibisyon ve uyarılma arasındaki bir dengesizliğe bağlı aşırı kortikal uyarılabilirliğin ya da inhibe edici GABAerjik mekanizmaların kontrolü altında aşırı talamik salınımların bir sonucu olabilir (61). Tipik absans nöbetlerinin klinik belirtileri hastadan hastaya önemli ölçüde değişiklik gösterir. Tek klinik semptom bilinç bozukluğu olabileceği gibi

genellikle diğer belirtilerle birleşir. Tipik absans nöbetleri kısaca basit ve kompleks olarak katagorize edilir. Basit absanlar sadece bilinç bozukluğuyla karakterizeyken, kompleks absanlarda bilinç bozukluğuna diğer iktal motor bulgular eşlik eder (69). Çocuklarda kompleks absanslar, yetişkinlerde ise basit absanslar daha sık görülür ve aynı hasta da hem basit hem de kompleks absans olabilir (63). 1981'de ILAE tipik absans nöbetlerinin alt tiplerini; (a) Sadece bilinç bozulması olan absans, (b) Hafif klonik veya miyoklonik komponentli absans, (c) Atonik komponentli absans, (d) Tonik komponentli absans, (e) Otomatizmalı absans, (f) Otonomik komponentli absans olarak tanımlamıştır (61, 69). Tipik absans nöbetleri ile birlikte görülen epilepsi sendromları ise 1989 yılında ILAE tarafından, temel olarak başlangıç yaşı, klinik seyir, prognoz ve tedaviye yanıta göre 4 IJE'ye ayırmıştır; Bunlar, (a) Çocukluk çağı absans epilepsi, (b) Juvenil absans epilepsi, (c) Juvenil miyoklonik epilepsi, (d) Miyoklonik absans epilepsidir. TA nöbetleri ile birlikte görülen diğer epilepsi sendromları ise ; (a) Absanslı göz kapağı miyoklonisi (Jeavons sendromu), (b) Absanslı perioral miyokloniler, (c) Miyoklonik Astatik Epilepsi,(d) Fantom absanslı idiyopatik jeneralize epilepsidir (69). Tipik absans nöbetlerinin tedavisinde, valproik asit (VPA), etosuksimid (ESM) ve lamotrijin (LTG) tek başına veya kombinasyon halinde ilk tercih edilecek ilaçlar olmasıyla birlikte, bu ilaçlar arasından seçim yapılırken, klinisyen eşlik eden diğer jeneralize nöbet tipleri ve yan etki profilleri dikatte almalıdır.

b. Miyoklonik Atımlar: Miyoklonik atımlar, tekli ya da tekrarlayan şok benzeri, düzensiz ve genellikle aritmik, klonik seğirme hareketleridir. Miyoklonik atımlar genellikle üst ekstremiteleri etkiler ve atımlar dışarıdan bakıldığında simetriktir, günlük aktiviteleri etkileyerek elindeki nesnelerin düşmesine neden olur (68). Tüm vücudun etkilendiği miyoklonik atımlarda ise hastalarda sendeleme ya da ani düşmeler meydana gelebilir. IJE miyoklonik jerkler uyanma sırasında ortaya çıkar; Uykusuzluk, yorgunluk, heyecan veya stres nöbetleri tetikleyen faktörlerdendir. Miyoklonik sarsıntılara sklıkla jenerelize tonik-klonik nöbetler (GCTS) ve daha nadir olarak da absans nöbetler eşlik eder. Fakat hasta da absans nöbetleri meydana gelmedikçe bilinç kaybı yoktur ve hasta miyoklonik

sarsıntıların tamamen farkındadır. İnteriktal ve iktal EEG'de hızlı, jeneralize, sıklıkla düzensiz diken- dalga ve çoklu diken-dalgalar izlenir (68, 70).

c. **Jenaralize Tonik-Klonik Nöbetler (GCTS):** IJE'lerde GCTS, genellikle miyoklonik jerkler ya da absanslar birlikte ya da takiben görülürler fakat nöbet geçirmeden önce herhangi bir aura ya da iktal fokal semptomlar meydana gelmez (68). Nöbet hem tonik hem de klonik kasılmaları içerir ve tonik kasılmalar genellikle klonik kasılmalardan önce gelir, göğüs kaslarının kasılmasına bağlı bir çığlık duyulur, genellikle hastanın bilinci tamamen kapalıdır. Jeneralize tonik-klonik nöbetlerde interiktal EEG normal olabilir veya değişik sıklıkta bilateral epileptiform deşarjlar görülebilir. İktal EEG'de nöbet başlangıcında tonik fazda korelasyon gösteren bilateral senkron jeneralize diken burstleri görülür. Tonik fazın sonuna doğru diken dalga sıklığı giderek azalır ve yerini klonik faza eşlik eden bilateral senkron ve jeneralize yavaş dalga aktivitesine bırakır. Bu deşarjlar bitip klinik olarak nöbet sona erdiğinde EEG'de de jeneralize voltaj supresyonu görülür (68, 71).

2.3.7.1.1. Çocukluk Absans Epilepsi (CAE)

Çocukluk absans epilepsisi, tekrarlayan nöbetlerle ile karakterize, genellikle 3 ila 8 yaşları arasında başlar. Etkilenen çocuklarda absans nöbetler gözlemlenir (64, 72). CAE insidansının 100.000 kişide 0,7 ile 8'e kadar; prevelansın ise 1000' de 0,1 ile 0,7 arasında değişmektedir (73). Kızlarda erkeklere göre görülme sıklığı ise %11,4'e karşı %2,5 olarak 5 katı fazla olarak rapor edilmektedir (74). Absans nöbetleri (petit mal) aktivitede ani durma, bilinç kaybı ve yüzde ifadenin yitimi ile şekillenirler. Absans nöbetlerinin klasik belirtileri ani başlayıp ani sonlanan şuur tutulumu beraberinde oluşan boş bakma, harekette durma, gözlerde kırpıştırma, yüz ve ellerde otomatizmler ile şekillenmektedir. Nöbetler, her gün 200 defaya kadar sıklıkla, birkaç saniye şeklinde görülür (64, 75). Bazı CAE'li hastalarda, absans epilepsiler gelişmeden önce ateşli nöbetler meydana gelebilir. Bunlar yüksek ateşten kaynaklanan istemsiz kas kasılmalarıdır (64, 72). CAE, ergenlikle birlikte kaybolma eğilimi gösteren idiyopatik epilepsi türlerinden biridir fakat bazı hastalarda, yetişkinliklikle absans nöbetler görülmeye devam eder ya da bireylerde jeneralize tonik-klonik nöbetler, nadiren miyoklonik nöbetler gelişebilir (72, 75). Çocukluk absans epilepsisi, 15 yaş altı

çocuklarda her 100.000 çocuktan 2 ila 8'inde görülür ve istatiksel olarak kızlarda daha yaygın görülmektedir (64, 72). Birden fazla genetik değişikliğin ya da çevresel faktörlerin bir kombinasyonun hastalığı tetiklediği düşünülmektedir. CAE ile ilişkili genler, GABAA reseptör proteinin alt ünitelerini üretirler (64, 72) . GABAA beyindeki nöronal eksitabiletinin majör inhibitörü olup, negatif yüklü klor iyonlarının, hücre membranına geçişini sağlayan bir kanal görevi görür ve bu etkisini $GABA_A$ ve $GABA_B$ reseptörleriyle sağlamaktadır (64, 76). GABA'nın $GABA_A$ reseptörüne bağlanmasıyla, kanal açılır ve klor iyonların hücre içine girmesine izin verir ve nöronal elektriksel aktivitenin inhibisyonu sağlanır. GABA'nın $GABA_B$ reseptörüne bağlanmasıyla potasyum akımı artar ve kalsiyum iyon girişinin azalmasıyla, diğer nörotransmitterlerin presinaptik salınımı inhibe edilir (77, 78). GABA reseptör mutasyonları, fonksiyonel reseptörler oluşturamayan alt birim proteinlerinin oluşumuna neden olurlar ve daha az GABAA reseptörlerinin aşırı ekspresyonun, nöronlarında aşırı uyarılmasına ve epileptik nöbetlerin oluşumunda etkisi olduğu düşünülmektedir (76, 78). CACNA1H, GABRA1, GABRB3, GABRG2 ve Jrk Helix-Turn-Helix Protein (JRK) genlerinde meydana gelen mutasyonlarda CAE ile ilişkilendirilmiştir fakat nöbet gelişimindeki değişikliklerin nasıl meydana geldiği hala aydınlatılmayı beklemektedir (76).

2.3.7.1.2. Juvenil Absans Epilepsi (JAE)

Juvenil absans epilepsi, tipik absans nöbetleri, ciddi bilinç bozukluğu ve tonik-klonik nöbetlerle karakterize genetik olarak tanımlanmış, idiyopatik jeneralize epilepsi türüdür. JAE tanısının çoğunlukla absansların gözden kaçması nedeniyle koyulamaması epidemiyolojisinin de bilinmemesine sebep olmaktadır. Fakat bu zamana kadar yapılan çalışmalarda prevelansın 1000 kişi de 0,1 olarak bildirilmiştir (79). Hastaların yaklaşık %80'inde nispeten seyrek ve sabah uyanmalarını izleyerek başlayan tonik-klonik nöbetler gözlemlenirken; %15-20'sinde ise miyoklonik nöbetler gözlemlenir. Miyoklonik nöbetler çoğunlukla hafif seyreder ve belli bir sirkadyen dağılımları yoktur (67, 75). JAE' de nöbetlerin başlangıç yaşı 5-20 yaş arasında değişebilirken; en sık olarak 9-13 yaşları arasında gözlemlenir. EEG'de zemin aktivitesi normal, klasik genelleştirmiş 3,5-4 Hz diken ve veya çoklu diken ve yavaş dalga boşalımları interiktal ve iktal dönemlerde gözlemlenir (75). 8-12 yaş arası bir çocukta, CAE veya JAE tanısı

absans nöbetlerin sıklığına bağlıdır ve JAE'de CAE' ye göre absans nöbetler daha seyrek ve uzun sürelidir (67).

2.3.7.1.3. Juvenil Miyoklonik Epilepsi (JME)

Juvenil miyoklonik epilepsi, miyoklonik, jeneralize tonik-klonik nöbetler ve absans nöbetlerle karakterize epilepsi sendromudur. JME frekansını belirlemek genellikle zordur, çünkü tanı genellikle geç konur ve tonik-klonik nöbetlerin meydana gelmesiyle geriye dönük doğrulanır. JME insidansı 1/100.000 olarak bildirilmiştir (60). 8-26 yaşları arasında gözlemlenebilen JME, en sık 12-18 yaşları arasında gözlemlenir. JME nöbetleri genellikle uyanma ile başlayan miyoklonilerdir. Alkol tüketimi, stres, aşırı yorgunluk, uykusuzluk gibi faktörler nöbetleri tetikler. Miyokloniler ağırlıkla kollarda, bileteral, düzensiz, ani şok tarzından hızlı hareketlerdir. JME genellikle ergenlik döneminde ortaya çıkar (75, 80). Nöbetler bazen asimetrik ve tek taraflı olabilir. Vakaların yaklaşık %20'sinde ise nöbetler kümeler halinde ve vücudun sadece tek tarafını etkiler. Jeneralize tonik-klonik nöbetler hastaların %80-95'inde gözlemlenir ve tipik olarak özellikle kollarda sıklığı ve şiddeti giderek artan miyoklonilerden birkaç ay sonra ortaya çıkar (80). Bu durum klonik-tonik-klonik nöbet olarak adlandırılır. Absans nöbetleri ise hastaların yaklaşık 1/3'ünde gözlemlenir ve ilk semptom 5-16 yaşlarında ortaya çıkar. JME' de absans nöbetler kısa süreli ve hafif bilinç bozuklukları ile seyreder (75, 80). ILAE ilk olarak 1985'de JME'lerin genetik geçmişini bildirmiş fakat hastalığın hala tam olarak aydınlığa kavuşturulmamış durumda, genetiği karmaşık ve heterojendir. JME' nin nedeni hala kesin olarak bilinmemekle birlikte aile öyküsü ve genetik faktörlerin JME riskinde güçlü bir oynadığı litatürde yerini almıştır. Hastalıktan etkilenen kişilerin yaklaşık 1/3'ünde epileptik nöbetleri olan bir akraba vardır ve bazı ailelerde spesifik genetik mutasyonlar bulunmuştur (80). Yapılan tüm çalışmalar ışığında hala JME hastalarının büyük çoğunluğunda ilgili genler bilinmemektedir fakat bazı ailelerde CACNB4, GABRA1 ve EF-El Domaini İçeren 1 (EFHC1) gibi Mendel genleri tanımlandı. Aynı zamanda bu genler diğer bazı genetik jeneralize epilepsilerden de sorumludur (81). GABRA1 geni, GABAA reseptör proteinin alfa-1 alt birimi yapmak için talimatlar sağlar, GABAA reseptörü, negatif yüklü klor iyonlarının hücre zarını geçmesine izin veren bir kanal görevi görür. GABRA1 genindeki mutasyonlar sonucu GABAA reseptörleri sayısında bir azalma ve değişmilş alfa-1 alt ünitesine sebep

olur. Sonuç olarak, nöronlar arasındaki sinyal kontrol edilemez ve nöronlar aşırı uyarılır. Nöronlarının aşırı uyarılmasının, nöbetlerle ilişkili anormal beyin aktivitesini tetiklediği düşünülüyor (82, 83). EFHC1 genindeki mutasyonlar ise az sayıda insanda JME ile ilişkilendirilmiştir. Genin işlevi tam olarak anlaşılmamış olsada; nöron aktivitesinde rol oynayan bir protein yapmak için talimatlar sağlar. EFHC1 proteini, kalsiyum kanal görevi gören başka bir proteine bağlanır ve bu protein pozitif yüklü kalsiyum iyonlarının hücre zarını geçmesine izin verir. Bu iyonların hareketi, nöronlar arasındaki normal sinyalleşme için oldukça kritiktir. Mekanizma tam olarak aydınlatılamamış olsa da EFHC1 proteinin hücre içerisindeki kalsiyum iyonlarının dengesini düzenlemeye yardımcı olduğu düşünülmektedir. Bu gende meydana gelen mutasyonlar, EFHC1 proteinin işlevini azaltır ve bu etkilerle birlikte nöronların aşırı uyarılmasına yol açabilir ve nöbetleri tetikleyebilir (82, 83). Ayırca moleküler çalışmalar JME hassasiyet bölgesini 6p11'de lokalize Epilepsi, Juvenil Miyoklonik 1 (EJM1) ve 15q14'de lokalize Epilepsi, Juvenil Miyoklonik 2'de (EJM2) göstermiştir. 6p21'de Bromodomain içeren 2 (BRD2); 6p21.3'te Glutamat Metabotropik Reseptör 4'de (GRM4) mutasyon ve polimorfizmlerin JME'li hastalarda olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (75, 84).

2.3.7.1.4. Miyoklonik Absans Epilepsi (EMA)

Miyoklonik Absans Epilepsi (EMA), ilk defa 1969'da Tassinari ve ark. tarafından ayırt edilebilir ana nöbet tipi ve CAE'den daha şiddetli bir genel progrnozu olan bir çocukluk çağı epileptik durum olarak tanımlanmıştır ve prevelansı bilinmemektedir (85, 86). ILAE 1989 sınıflandırılmasında önce 'kriptojenik ya da semptomatik' jeneralize epilepsiler arasına dahil edildi. Daha sonra ILAE 2001 tanı şemasında ayrı bir sendrom olarak idiyopatik jeneralize epilepsiler arasında tekrar sınıflandırılırken, miyoklonik absanslar (MA) ayrı bir nöbet türü olarak kabul edildi. CAE ile karşılaştırıldığında hastaların ancak 1/3'ü idiyopatik olduğu, geri kalan hastaların ise serebral malformasyon ve çeşitli kromozom anomali geçmişleri olması dikkat çekmektedir. Miyoklonik absanslar ani başlayıp, ani sonlanan absans nöbetleridir ve EEG'de diken-dalga miyokloniler ile karakterizedir (75). Vakaların yaklaşık %20'sinde nörogörüntüleme anormal olabilir ve bir dereceye kadar spesifik olmayan bir durum gösterebilir. Hastalığın başlangıç yaşı çoğunlukla 7 olmasına rağmen, birkaç

aylıktan ergenliğe kadar erkeklerde daha sık görülmektedir. EMA'nın temel karakteristik özelliği miyoklonik absanların ortaya çıkmasıdır; absans nöbetler günde en az birkaç kez, çoğunlukla günde onlarca kez, bazen uyandıktan sonra kümelenme ile ortaya çıkar. MAE epilepsinin ayırt edici özellikleri ise; (a) hastaların yalnızca 1/3'ünde tek bir nöbet türü MA görülür (b) EMA hastalarının yaklaşık %38'inde MA'dan önce; tipik absanslar, jeneralize tonik-klonik nöbetler (GCTS) ya da klonik nöbetler ve nadiren ateşli nöbetler gözlemlenebilir. (c) Birkaç hastada göz kapağı miyoklonileri görülmüş, hastaların %33'ünde ise düşme atakları, %17'sinde ise miyoklonik jerklerden bağımsız absans durumu rapor edilmiştir (85).

2.3.7.1.5. Miyoklonik Astatik Epilepsi, Doose Sendromu (MAE)

İlk kez 1970 yılında Doose tarafından tanımlanan miyoklonik astatik epilepsi jeneralize idiyopatik epilepsi sınıflamasına dahildir. Doose sendromu, çocukluk çağında başlayan epilepsilerin yaklaşık %1 ile 2'sini oluşturan, 10.000' de 1 insidansla nispeten yaygındır. Her iki cinsiyette de insidans eşittir fakat erkeklerde daha erken başladığı bildirilmiştir (87). Genellikle normal gelişim gösteren çocukları erken çocukluk döneminde etkiler ve tedavisi zordur. Doose'a göre başlangıç yaşamın 1-5 yılı arasında değişmektedir fakat diğer yazarlar ve ILAE, MAE'yi diğer miyoklonik absans epilepsi formlarından kategorik olarak ayırabilmek için, başlangıç yaşını genellikle yaşamın ilk iki yılından sonra olarak tanımlar (88). MAE'de temel nöbet tipi kollarda simetrik miyoklonik sıçramayla birlikte düşmedir fakat; miyoklonik astatik, GCTS veya kısa absanlar, non-konvülsif statüs ile de karakterize bir klinik görünüm oluşturur. EEG'de temel aktivite normal, 2-3 Hz multipl diken-dalga boşalımları görülür. Bu bozukluğun seyri hastadan hastaya değişkendir ve vakaların %50-89'unda 3 yıl içerisinde nöbetler azalır. Geri kalan hastalarda ise nöbetlerin bazı MAE hastalarında epileptik ensefalopati gelişimini desteklediği öne sürülmüştür. Bu nedenle erken ve etkili nöbet kontrolünün epileptik ensefalopatiyi önleyebileceği ve bilişsel sonucu iyileştirebileceği varsayılır (75, 89). YND ile genlerin keşif dönemi ve de novo varyantların epileptik ensefalopatilerde ve nörogelişimsel bozukluklardaki rolünün önemi artmasıyla, MAE'ninde çok sayıda gen ile ilişkili olduğu bulunmuştur (90). MAE penetransı değişken, çok faktörlü polijenik bir genetik yapıya sahiptir. Hastaların akrabalarının yaklaşık 1/3'ünde epilepsi tanısı vardır (75) . SCN1B, SCN1A, SLC2A, Kromodomain

Helikaz DNA Bağlayıcı Protein 2 (CHD2) , Sinaptik Ras GTPaz Aktive Edici Protein 1 (SYNGAP1), KCNA2, Sintaksin 1B (STX1B), SLC6A1, TBC1 Domain Ailesi Üyesi 24 (TBC1D24), Nörit Uzantısı ve Migrasyon Faktörü (KIAA2022), SCN2A, GABRB3, KCNT1, STXBP1, Metil-CpG Bağlayıcı Protein 2 (MECP2) ve Adaptör İlişkili Protein Kompleksi 2 Alt Birim Mu 1 (AP2M1) genlerindeki mutasyonlar miyoklonik-atonik nöbetlerle epilepsiye sebep olabilir ya da katkıda bulunabilir fakat çoğu durumda hastalığın nedeni bilinmemektedir (87, 90). Tang ve ark. yaptığı çalışmaya göre MAE'yle ilişkili olduğu düşünülen genlerin sayısı 16'ya kadar genişlemiş olsa da, her gen için tanımlanan hastaların sayısı oldukça azdır (90). Ebach ve ark. yaptığı bir çalışmada Miyoklonik astatik nöbetleri olan ve olmayan, bebeklik çağı ve erken çocukluk dönemindeki miyoklonik epilepsisi olan iki çocuk grup arasında SCN1A genin karşılaştırmalı mutasyon analizlerini yapmış ve MAE' nin SCN1A genine bağlı olup olmadığı sorusu üzerine durulmuştur. 38 kişilik bir grubun yalnızca 3 hastasında muhtemel hastalığa sebep olan mutasyon tespit edilse de sporadik miyoklonik astatik epilepsinin ve ya miyoklonik astatik nöbetlerle birlikte bebeklik ve erken çocukluk çağı miyoklonik epilepsilerin, SCN1A genindeki mutasyonlarla sıklıkla ilişkili olmadığını bildirmişlerdir (88). Carvill ve ark. 7 kişilik MAE'li bir grupta SLC6A1 geninde 6 farklı heterozigot mutasyon tanımladı ve buna ek olarak bir hastada ise SLC6A1 geninin bir kısmını içeren 3p25 kromozomunda heterezigot bir delesyon tespit etti. Varyantların fonksiyonel çalışması henüz yapılmamış olsa da Carvill ve arkadaşları, mutasyonların bir fonksiyon kaybına neden olduğunu ve ekstraselüler boşluktan presinaptik terminale GABA transportunu bozduğu düşünülmektedir. SLC6A1 geninindeki mutasyonlar spesifik olarak epilepsi sendromlarıyla ilişkili olup MAE'li hastaların yaklaşık %3,7 'sini etkilediği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (91, 92). MAE’ de tedavi tek başına VPA ya da Topiramat (TPM), Levetirasetam (LEV), Lamotrijin (LMT) gibi diğer antiepileptik ilaçlardan oluşabildiği gibi ketojenik diyetinde başarılı olduğu hastalar raporlanmıştır. Uzun vadede, tedaviye yanıt vermeyen zihinsel engelliğe kadar giden bir tablo gözlemlenebildiği gibi birkaç yıl sonra hastaların tamamen normale döndüğü görülmektedir (92).

2.3.7.1.6. Jeavons sendromu (Göz Kapağı Miyoklonili Absans Epilepsisi)

Jeavons sendromu (JS) ilk kez 1977 yılında tanımlanmış, göz kapağı idiyopatik jeneralize epilepsiler arasında sınıflanıdırılır. Absans nöbetleri olan ya da olmayan göz kapağı miyoklonileri olarak bilinir. Prevelansı idiyopatik jeneralize epilepsiler arasında %2,7 ile %12,9 arasında, tüm epilepsiler içerisinde ise %0,56 ile %2,7 arasındadır. Birçok hastanın epilepsi ile aile öyküsü pozitiftir (93). Gözlerin kapanması nöbetlere ya da sadece EEG boşalımlarına yol açar ve hastalarda fotosensitivite mevcutttur ve buna ek olarak fotosensivite yaşa ve antiepileptik ilaçlara bağlı olarak azalır. GCTS'ler yaygındır. Kızlarda erkeklere göre daha sık rastlanır ve tipik olarak 2-14 yaşları arasında başlar ve çoğu vaka 6-8 yaşları arasında gözlemlenir. Göz kapağı miyoklonileri absanslarla birlikte, ya da absanslar olmaksızın, özellikle göz kapatmayı izleyerek, gün içinde defalarca oluşabilir. JS hastalarının birçoğu ilaca direnç gösterir ve birden fazla antiepileptik denemesi gerektirir. Hastalarda yaygın olarak valproik asit kullanılırken levetirasetaminin de etkili olduğu rapor edilmiştir (75, 94). Genel olarak çocukluk çağı başlangıçlı epilepsi sendromları nöbet remisyonu, hastanın bilişsel gelişimi ve uyumsal becereleri açısından oldukça değişken klinik sonuçlar gösterir (93). Jeavons sendromunun tam olarak genetikle ilişkisi hala aydınlatılmayı beklemektedir fakat genetik mutasyonların da JS'ye sebep olduğu muhtemeldir ancak hala kesin olarak kanıtlanamamıştır. Samanta ve ark. Jeavons sendromuna sahip tek yumurta ikizleri üzerinde bir vaka çalışması yapmışlar ve bireylerin KIAA2022 geninde patojenik mutasyona sahip olduğunu bulmuşlardır (95). KIAA2022 geni, beyinde ifade edilen ve nörit büyümesinde rol oynayan bir protein kodlar. Genin patojenik bir mutasyonu, anormal nöronal göç ve apikal dendrit büyümesi ve oryantasyonunda major defektlere neden olur. X'e bağlı bu bozukluk, mikrosefali, zihinsel bozukluk, anormal hareketler ve epilepsi ile ilişkilendirilmiştir. Epilepsi gen panelinin yeni nesil sekanslama ve tüm ekzom sekanslama ile artan kullalabilirliği hala aydınlatılmayı bekleyen pek çok patojenik mutasyonu belirlememize yardımcı olacaktır (95).

2.3.7.1.7. Absanslı perioral miyokloni (POMA)

Absanslı perioral miyokloni (POMA), absans nöbetlerine belirgin perioral miyoklonus eşlik eden İJE'nin farklı bir formu olarak ilk defa Panayiotopoulos ve ark. tarafından tanımlanmıştır (96). Absanslardan önce veya birlikte ortaya çıkan GCTS'lerle

birlikte seyreden nadir bir epilepsi sendromudur. Klinik olarak absans nöbetlerine, orbikülaris oris kasının ritmik kasılmalarından oluşan perioral miyokloniler eşlik eder (97). Sıklıkla günde birçok kez, nadiren haftada 1 ve ya 2 kez 10 sn'den daha az süreyle absanslar meydana gelir ve perioral miyoklonilere değişen derecelerde bilinç bozukluğu da eşlik eder (75). POMA, video/EEG incelemesinin rutinde kullanılmasıyla tanımlanmıştır çünkü klinik tanımlamalar bu nadir nöbet tipini oral otizmler ya da fokal motor nöbetlerinden ayırmak için genellikle yeterli değildir. Bilateral, belirgin perioral ritmik kasılmaları olan tipik nöbetler, başlangıç yaşı, kadınlarda daha sık görülmekle birlikte 2 ile 13 yaşları arasında değişmektedir ve genetik yatkınlık mümkündür (75). POMA, diğer idiyopatik epilepsilerin aksine tedaviye dirençlidir ve spontan remisyon beklenmez (75, 98). 2010 ILAE epileptik sendrom sınıflandırılmasında listelenmemiştir fakat video-EEG kaydına dayalı farklı EEG ve klinik özellikleri olan perioral motor belirtileri olan hastalar literatürde yer almaktadır (96). Interiktal EEG, genellikle asimetrik ve fokal anormalliklerden oluşan 4-7 Hz'lik sivri uçlu/ çoklu sivri uçlu ve dalgalı kısa seriler gösterir. Iktal EEG ise 3-4 Hz'de diken/ çoklu diken ve dalgaların genel deşarjlarını gösterir (97).

2.3.7.1.8. Fantom Absanslı Idiyopatik Jeneralize Epilepsi

Fantom absans terimi, hasta ya da çevresindekiler tarafından güçlükle algılanacak kadar hafif ve kısa süren absans nöbetlerini tanımlar. Fantom absansların süresi yaklaşık 2-4 sn arasındadır. Genel olarak, anlık konsanstrasyon ve dikkat eksikliği ile karakterizedir fakat hastanın günlük yaşamında normal işleyişi bozmaz. Bazı yazarların görüşü, fantom absanslar tek başına bir nöbet tipi değildir ve genellikle yetişkinlikte ortaya çıkan GCTS ve absans status epileptikus ile karakterize spesifik bir epileptik sendromun ana belirtisi olabiliceği yönündedir (97). Absans status saatlerce devam edebilir ve bazen GCTS ile sonuçlanabilir. EEG kısa süreli, 3-4 Hz jeneralize çoklu diken ve yavaş dalga boşalımları gösterir; absans statusu sırasında deşarjlar devamlıdır (75). Fantom absanlar hastanın kendisi tarafından bile tespit edilemiyorken, tanımlama klinisyen tarafından kafa karışıklığına yol açabilir ve (özellikle interiktal EEG fokal anormallikler gösterdiğinde) fokal bir nöbet olarak yorumlanabilir (97). Fantom absanlar ömür boyu sürebilir ve herhangi bir bilişsel bozuklukla ilişkili olmadığından hastalar normal yaşantısına devam eder (97). Genel popülasyonda

GCTS'si olmayan fantom absanslı birçok hasta olabilir fakat bu hastalarda jeneralize tonik-klonik nöbetler daha sonra görülecektir ve bu hastalar valproat veya lamotrijin tedavisine başlar. Absans status için ise hastalar benzodiazepin kullanırlar. Sonuç olarak jeneralize tonik klonik nöbetler ve absans statusları için diğer idiyopatik jeneralize epilepsi sendromlarında geçerli olan tedavi uygulanır (75, 97).

2.3.7.1.9. Otozomal Dominant Kortikal Tremor, Miyoklonus ve Epilepsi (ODKT)

İlk olarak 1990'da Ikeda ve ark. tarafından kortikal tremor olarak tanımlanan, serebral korteksten kaynaklanan postüral tremor eylemi tanımladı ve elektrofizyolojik özelliklerinden dolayı bu istemsiz hareket kortikal refleks miyoklonusun bir varyantı olarak kabul edildi. Kortikal tremorün ailelerde jeneralize tonik-klonik nöbetlerle ilişkili olarak ortaya çıktığının kabul edilmesiyle benign ailesel miyoklonik epilepsi (BAME) olarak adlandırılan otozomal dominant özelliğin tanımlanmasını sağlandı (99). BAME ilk olarak bir Japon ailede genetik lokus kromozom 8q24 haritalanmış ve ardından BAME kriterlerini karşılayan, kromozom 8q24 bağlantısı hariç tutularak, birkaç Avrupalı aile tanımlanmıştır ve yapılan çalışmalar dünya çapında dağılım ve genetik heterojeniteyi desteklemektedir (99, 100). Guerrini ve ark. 2001 yılında hastalıktan etkilenen 3 kişide ilaca dirençli fokal nöbetler ve hafif zihinsel engellik gösteren bir aile tanımladı ve bu fenotip, otozomal dominant kortikal miyoklonus ve epilepsi adlı özel bir sendrom olarak kabul edildi. Ayrıca ODKT'li bir hastanın kromozom 2p11.1-q12.2 üzerinde haritalanması genetik olarak BAME'den farklı bir klinik varlığı olduğu hipotezini güçlendirir. 2-adrenerjik reseptör alt tipini kodlayan Adrenoseptör Alfa 2B (ADRA2B) geninin çerçeve kayması insersiyon-delesyonunu, İtalyan kökenli bir ailenin soyağacında bildirimiştir (99, 101). Bu mutasyon, nörotransmiter aktivasyonu üzerine spinofilin adı verilen iske proteini ile bağlanmayı değiştirir ve epinefrin ile uyarılan kalsiyum sinyallemesi artar. Başka bir çalışmada ise Kontaktin 2'nin (CNTN2) kodlama bölgesinde bir çerçeve kaymasına yol açan bir homozigot delesyon (c.503_503delG) tanımlanmıştır. CNTN2 geni, voltaj kapılı potasyum kanallarını korumak için gerekli olan glikosilfosfatidilinositol-bağlantılı nöronal membran proteini olan kontaktin 2'yi kodlar (99).

2.3.7.1.10. Absans Status Epileptikus (ASE)

Absans status epileptikus (ASE), otomatizmler veya ince miyoklonik, tonik, atonik veya otonomik fenomenler gibi diğer klinik belirtilerle ilişkili az veya çok ciddi bilinç bozukluğu ile karakterize, uzun süreli, genellikle saatler hatta günler boyunca sürebilen jeneralize ve konvülsif olmayan absans nöbetidir (102, 103). ASE'de en belirgin semptom, hasta uyanık ve kısmen yanıt verebilirken değişen bilinç içeriğidir. Tipik ASE, JAE, EMA, PMA ve Fantom absanslı epilepsi gibi neredeyse tüm idiyopatik jeneralize epilepsilerde tipik absanslar ile ortaya çıkabildiği gibi, de novo olarak da ortaya çıkabilir (102, 103). Ayrıca ASE, absans, miyoklonik jerk ve GCTS gibi diğer nöbet türleri gibi yıllar önce önden gelebilir ve ilk olarak hem yetişkin hem de çocuklarda gözlemlenebilir. Klinik olarak değişken ve belirsiz olabilir ve özellikle çocuklarda fark edilmeyebilir. Bu nedenle EEG tanı için oldukça önemlidir (102). ILAE tanı şeması, ASE'yi jeneralize status epileptikusun bir alt tipi olarak kabul eder (103). ASE, spontan ya da ilacın kesilmesiyle ya da uykusuzluk, aşırı alkol alımı, menstruasyon, metabolik bozukluklar gibi dış faktörlerin tetiklemesiyle ortaya çıkabilir. Karbamazeprin (CBZ) gibi uygun olmayan antiepileptik ilaçlar ya da nöbetlerin şiddetli farmakodinamik tetiklenmesi de tipik ya da atipik ASE ile sonuçlanabilir (103) .

2.3.7.2. İdiyopatik Fokal Epilepsiler (IFE)

İdiyopatik fokal (parsiyel) epilepsiler, çocukluk çağına özgü, fokal epilepsi nöbetlerinin meydana geldiği ve fokal EEG bulgularının görüldüğü, genetik özelliği olduğunu düşünülen, iyi gidişli selim epileptik sendromlardır. İFE'lerde herhangi bir anatomik lezyon yoktur ve genelde nöbetler belli bir yaştan sonra spontan olarak ortadan kalkar **(104)**. 2-13 yaşlarında tüm epilepsilerin %20'sini, tüm parsiyel epilepsilerin ise yaklaşık %50'sini kapsar **(105)**. Çocuğun gelişimi, nörolojik muayenesi ve nöropsikolojik değerlendirilmesi normaldir ve vakaların çoğunda ailede pozitif epilepsi öyküsü sık görülmektedir. EEG'de temel aktivite ve uyku organizasyonu normaldir. Sentro-temporal, parieto-temporal veya parieto-oksipital bölgelerde fokal diken-dalga paroksimlerinin görülür ve uyku ile belirgenleşen, özel morfolojili epileptiform aktiviteler gözlenir **(104)**. En sık rastlanan İFE sendromlarını ilk tanımlanan sentro-temporal dikenli selim çağı (BRE) (rolandik epilepsi), Panayiotopoulos sendromu (PS) oksipital paroksizmli çocukluk çağı epilepsisidir

(OPÇE-G) **(104)**. Bunlara ek olarak klinik ve EEG bulgularıyla tipik olarak BRE, PS ve OPÇE-G'ye tam olarak uymayan ancak iyi-huylu fokal nöbetlerle seyreden nadir bazı çocukluk çağı epilepsileri de vardır ve bunlar BRE'nin birer varyantları olarak kabul edilmektedir. Bunlar; Affektif Semptomlu Selim Çocukluk Çağı Nöbetleri, Parietal Diken ve Somatosensoryel Uyarılmış Dikenli Selim Çocukluk Çağı Epilepsisi ve Frontal veya Ortahat Dikenli Selim Çocukluk Çağı Fokal Nöbetlerdir **(62, 105)**.

2.3.7.2.1. Sentro-Temporal Dikenli Selim Çocukluk Çağı Epilepsisi (Selim 'Benign' Rolandik Epilepsi: BRE)

Selim sentro-temporal dikenli parsiyel epilepsi diğer adıyla benign rolandik epilepsi (BRE); kısa, basit, parsiyel hemifasiyal motor nöbetlerden oluşan bir sendrom ve sıklıkla jeneralize tonik-klonik nöbetlere dönüşme eğilimi gösterene somatosensriyal semptomlarla karakterizedir, çocukluk çağının en sık görülen ve en iyi bilinen idiyopatik parsiyel epilepsi sendromudur ve tüm çocukluk epilepsilerinin yaklaşık %15-25'ini oluşturmaktadır **(105)**. İnsidans 0-15 yaş arasında 10-20/100.000'dir. 3 ile 14 yaşları arasında gözlemlenen bu sendromun en sık 7-10 yaşları arasında görüldüğü belirtilmiş olup 8-9, bazı kaynaklarda ise 9-10 yaşları arasında pik yapar ve erkeklerde daha sık görülür**(62)** . Genetik yakınlık vardır.BRE'nin temel olarak klinik özellikleri , genellikle tek taraflı, unilateral fasiyal sensorimotor semptomlar, oro-faringolaringeal sendromlar, konuşmada durma ve hipersalivasyonlardan oluşan fokal nöbetlerdir **(62, 105)**. EEG'de interiktal bulgular oldukça tipik olup, normal bir temel aktivite üzerinde fokal sentro-temporal bölge yerleşimli, izole ya da dizeler halinde, diken-dalga veya diken-yavaş dalgalar görülür **(62)**. BRE, genetik yatkınlık güçlüdür ve kromozom 15q14 ile bağlantılı olmasına rağmen kalıtım modu bilinmemektedir. Ancak BRE'nin tipik EEG bulgusu olan sentro-temporal lokalizasyonlu dikenlerin, yaşa bağlı penetrans ile otozomal dominant kalıtıma bağlı olduğunu vurgulayan çalışamalar literatürde yer almaktadır **(62, 105)**. Vakaların çoğunda nöbetler sadece gündüz ya da gece uyku sırasında ortaya çıkar ve nöbetler genellikle seyrek görülür. Vakaların yaklaşık %5-10'unda ise fokal motor ya da jeneralize konvulsif status epileptikus gelişebilir ve nöbetlerin yaşla birlikte azaldığı gözlemlenmiştir **(105, 106)**. BRE vakalarında absans, miyokoni ya da atonik nöbetlerin ortaya çıkmasıyla, atipik bening çocukluk epilepsine dönüşüm meydana gelebilir. Ya da bu nöbet tipleriyle birlikte hastada gözlemlenen

dikkat dağınıklığı, anlatma kabiliyeti ya da derslerde bozulmanın gözlendiği ve EEG'de diken dalgaların uykuda artış göstermesiyle tablo Landau-Kleffner sendromu ya da yavaş uykuda biyoelektrik status'a dönüşebildiği düşünülmektedir **(105, 107)**.

2.3.7.2.2. Çocukluğun İdiyopatik Oksipital Paroksizmli Epilepsileri

2.3.7.2.2.1.Çocukluğun Erken Başlangıçlı Selim Oksipital Epilepsisi: Panayiotopoulos Sendromu (PS)

Panayiotopoulos Sendromu BRE'den sonra en sık görülen çocukluk çağı selim fokal epilepsilerinden birisidir. Nöbetlerin başlangıç yaşı 1-14 yaşları arasında değişmekte olup, 4-5 yaşlarında pik yapar. PS'nin erkek ve kadınlarda görülme sıklığı eşittir **(108)**. Prevelans, bir ya da daha fazla ateşsiz nöbet geçiren 3-6 yaşlarındaki çocuklarda yaklaşık %13 ve 1-15 yaş aralığında ise %6'dır. Genel popülasyonda ise 2-3/1000 çocuğun etkilendiği bilinmektedir **(108-110)**. Nöbetler esas olarak olağandışı otonom semptomlardır; PS'nin en karakteristik özelliği ise iktal kusmalardır ve nöbetlerin uyanıklıkta ortaya çıkması durumunda kusma öncesinde ya da sırasında bulantı, öğürme gibi semptomlar da eşlik edebilir **(109, 110)**. Diğer otonomik bulgular ise, morarma, kızarma, midriyazis, öksürük, kardio-respiratuvar ve termo-regülatör değişiklikler şeklinde sıralanabilir **(105, 109)**. Hastalarda nöbetin başlangıncında bilinç açık ve konuşma normaldir, nöbet ilerledikçe vakaların yaklaşık %80-90'nında bilinç ve konuşma etkilenir. Ayrıca vakaların belli bir kısmında unilateral klonik ya da tonik-klonik nöbetler başlangıçta ya da kusma ve göz deviyasyonunu takiben ortaya çıkar **(109, 110)**. PS'li çocuklarda ateşli nöbet prevelansı %17 olarak bildirilmekte ve olguların %30'unda ailede epilepsi öyküsü pozitiftir. PS, BRE ve diğer iyi huylu çocukluk çağı fokal nöbetler muhtemelen genetik olarak belirlenir **(108)**. PS'li bir vakada, SCN1A geninde meydana gelen p.Tyr779Phe' ye yol açan c.233AT nokta mutasyonu tespit edildi ve bu mutasyon, hastanın ebeveynlerinde veya ateşli nöbet geçiren erkek kardeşinde ya da 100 kontrol deneklerinin hiçbirinde bulunmadı. EEG' de sağ temporo-oksiğital bölgede paroksismal aktivite görülmesi ve MRI'ın normal olması PS'yi destekler niteliktedir **(111)**. SCN1A meydana gelen mutasyonlar hastada daha ağır bir fenotipe ve aktif nöbet süresinin daha uzun sürmesine neden olmaktadır **(105, 111)**. PS'nun temel mekanizması ve patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamakla birliktte

klinik bulgular yaygın maturasyonla ilişkili kortikal hipereksitabiliteyi düşündürmektedir **(109, 110)**.

2.3.7.2.2.2. Çocukluğun Geç Başlangıçlı Oksipital Epilepsisi

Gastaut Tipi Oksipital Paroksizmli Çocukluk Epilepsisi (OPÇE-G) ya da Geç Başlangıçlı İdiyopatik Çocukluk Oksipital Epilepsisi, yaşa bağlı başlangıcı olan genetik olarak belirlenebilen çocukluk çağı nöbetine yatkınlık sendromunun nadir görülen tipidir **(108)**. Nöbet başlangıç yaşı 3-15 yaşları arasında olmakla birlikte ortalama 8-10 yaşları civarıdır. Erkekler ve kızları eşit derecede etkiler ayrıca iyi huylu çocukluk fokal nöbetlerin yaklaşık %2-7'sini oluşturur **(105, 108, 109)**. OPÇE-G amaroz, fosfenler, illüzyonlar veya halüsinasyon gibi görsel semptomlarla karakerizedir, nöbetlerde görsel halisünasyonlar ve görme kaybı major nöbetleri olup, daha az sıklıkla hemiklonik nöbet ya da otonomik bulgular gözlemlenir. Nöbetler oldukça sık ve gündüz ortaya çıkar. İnter-iktal EEG'de temel aktivite normal, hemisferlerde oksipital ve posterior temporal bölge yerleşimli dikenler ve diken-dalgalar izlenmektedir. Vakaların yaklaşık %20-30'unda ailede epilepsi, %15'inde migren, %14'ünde ise febril nöbetler görülmektedir **(112)**.

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1 Verilerin ve Numulerin Toplanması ve Bireylerin Klinik Özellikleri

Adana Şehir Hastanesi Çocuk Nöroloji Anabilim Dalı tarafından idiyopatik epilepsi tanısı alan hastaların Adana Şehir Hastanesi Genetik Tanı Merkezi'ne yönlendirilmesiyle onam formları ve periferik kanları alındı. EEG, nöbet tipi ve sıklığı, antiepileptik sayısı, zeka testleri ve davranış biçimleri gibi klinik parametreleri göz önüne alınarak çalışma başlatıldı. Çalışamaya idiyopatik epilepsi tanısıyla 3'ü kardeş (H1-H2, H3-H4, H20-H21), toplamda 23 hasta dahil edilmiştir ve klinik özellikleri sırasıyla aşağıda yer almaktadır.

H1, (12 yaş/K) Başlangıçta sık dalma (ayda 4'den fazla) nöbetleri olan, tekli antiepileptik kullanarak (VPA) 1 yıl içerisinde nöbet sıklığı azalmış, 1,5 yıl içerisinde tamamen nöbetsiz hale gelmiş hasta, başlangıç EEG'si; HPV öncesi, sırası, sonrasında 4-7 Hz sn sürelerle 2-3 Hz frekansında diken yavaş dalga deşarjlarıyla uyumlu anormallik gösteren hastanın subkortikal atipik absans epilepsi varlığıyla uyumludur ve muayene sırasında HPV testi pozitiftir ve son EEG'si normaldir.

H2, (7 yaş/E) Başlangıçta sık dalma nöbetleri olan, VPA ve CLB tedavisiyle 3 yıldır dalma nöbetleri yok fakat arada arada uykuda sık olmayan şüpheli nöbetleri devam eden, takibinde sinirlilik, mastürbasyon, kekemelik gibi davranış problemleri ön planda olan hastanın başlangıç EEG'si trase süresinde sık olarak bilateral sentroparyetal ve orta hatta bazen izole bazen 2-4 Hz frekansında keskin dalga deşarjları izlenen nedenlerden ötürü bilateral sentroparyetal ve orta hattan köken alan aktif fokal epileptik bozukluğu göstermektedir ve muayene sırasında HPV testi poziftir, EEG'de aynı anormallik devam etmektedir. H1 ve H2 kardeş olup ebeveynleri arasında 1. Derece akrabalık mevcuttur.

H3, (15 yaş /K) Başlangıçta sık olmayan miyoklonik nöbetleri olan, LEV tedavisiyle tamamen nöbetsiz hale gelen hastanın dikkat eksikliği ön plandadır. Başlangıç EEG'si trase süresince 9 kez bazen izole bazen 2-4 sn süreli jeneralize diken, çoklu diken yüksek amplitüdülü yavaş dalga deşarjları izlenen nedenlerden ötürü jeneralize epileptik bozukluğu göstermekte olup JME ile uyumludur, son EEG'sinde trase süresince bazen izole bazen 30-40 saniyede bir 1-4 sn süreli jeneralize diken, çoklu diken, yüksek amplitüdülü yavaş dalga deşarjları izlenen epileptiform anormallikler

nedeni ile orta derecede aktif primer jeneralize epileptik bozukluk olduğu görülmektedir.

H4, (15 yaş/K,) Başlangıçta sık olmayan miyoklonik nöbetleri ve baş ağrıları olan, LEV tedavisiyle baş ağrısı ve sabah sakarlığı olmayan tamamen nöbetsiz hale gelen dikkat eksikliği hiperktivite bozukluğu ön plandadır. Hastanın başlangıç EEG'si trase süresinde 19 kez bazen izole bazen 2-4 sn süreli jeneralize diken, çoklu diken yüksek amplitüdülü yavaş dalga deşarjları izlenen nedenlerden ötürü jeneralize epileptik bozukluğu göstermekte olup JME ile uyumludur. Son EEG'sinde trase süresince uyanıklıkta 3 kez uykuda ortalama 50-60 sn'de bir 2-5 sn süreli frontosantral bölgelerde belirgin jeneralize diken, çoklu diken yüksek amplütüdülü yavaş dalga deşarjları izlenen epileptiform anormallikleri nedeni ile orta derecede aktif primer jeneralize epileptik bozukluk olduğu görülmektedir. H3 ve H4 çift yumurta ikiz kardeşler olup, ebeveynler arasında akraba evliliği yoktur.

H5, (13 yaş/E) Başlangıçta baş ağrıları olan fakat sabah sakarlığı olmayan LEV tedavisiyle baş ağrısı devam etmeyen hastanın dikkat eksiklği ön plandadır. Başlangıç EEG'si hemisferlerin frontosentral kesimlerinden kaynaklanan uyku iğcikleri arasına karışan, kimi zaman bağımsız olarak da izlenen diken dalga boşalımları mevcuttur. Tariflenen bulgularla aktif epileptiform anormallikleriyle uyumlu olan hastanın son EEG'si normaldir. Ebeveynler arasında akraba evliliği yoktur.

H6, (13 yaş/E) Başlangıçta sık dalma nöbetleri olan, VPA tedavisiyle 1.5 yıldır nöbetsiz hale gelen hasta prematüre doğmuş (32.Hafta) ve gelişimi yaşıtlarına göre geriymiş. Hastanın başlangıç EEG'si trase süresinde ilk ikisi HPV sırassında biri 8, diğeri 9 saniye diğeri post HPV 20. Saniyede 2 saniye sürelerle jeneralize 3 Hz frekansında diken yavaş dalga deşarjları izlenen anormallikleri nedeni ile hiperventilasyon ile tetiklenen primer jeneralize epileptik bozukluk olduğunu göstermekte olup, son EEG'si normaldir. Ebeveynler arasında akraba evliliği yoktur.

H7, (12 yaş/E) 15-20 gün arayla 2 kere ilki gündüz, ikincisi gece uykuda JTK nöbetleri olan, LEV tedasiyle 1 yıldır nöbetsiz izlenen hastanın başlangıç EEG'si, trase süresince bilateral tempoparyetal bölgelerde genellikle izole bazen 2-3 Hz frekansında düşük amplitüdlü diken dalga deşarjları çok sık olmayacak şekilde izlenen anormallikleri nedeniyle tempoparyetal bölgelerden köken alan hafif-orta derecede

fokal epileptik bozukluk (TP-FEB) olduğunu göstermekte olup, son EEG'si normaldir. Ebeveynler arasında akraba evliliği yoktur.

H8, (14 yaş/E) 6 aylıkken dalma nöbetleri nedeniyle epilepsi tanısı alan ve 4 yıl tedavi ardından tamamen nöbetsiz hale gelen, EEG ve zeka testi normal olan hasta ilaçsız takibe alındıktan 2 yıl sonra baş ağrısı ve dikkat eksikliği şikayetiyle gelmiş ve istemsiz hareketlerle tariflenen (JTK) ve boş bakma şeklindeki nöbet sonrası EEG'si anormal gelen ve HPV pozitif olan hastaya tekrar ilaç başlanmış. Hastanın hastanemiz tarafından takibe alındıktan sonra ki başlangıç EEG'si trase boyunca sağ hemisferin santrotemporoparietal bölgesinden kaynaklanan nadir keskin dalga boşalımları şeklinde izlenen anormalliklerle tariflenen epileptiform bulguların varlığı nedeniyle hafif derecede epileptform anormalliğin varlığıyla uyumlu olan hastanın son EEG'sinde trase süresince uykuda 1,5-2,5 saniye süreli frontosantral bölgelerde belirgin jeneralize orta-yüksek amplitüdlü diken yavaş dalga deşarjları çok sık olmayacak şekilde izlenmiş olup hastaya frontosantral bölgelerde belirgin primer sekonder ayrımı yapılamamış hafif-orta derecede jeneralize epileptik bozukluk tanısı konmuştur. Ebeveynler arasında akraba evliliği yoktur.

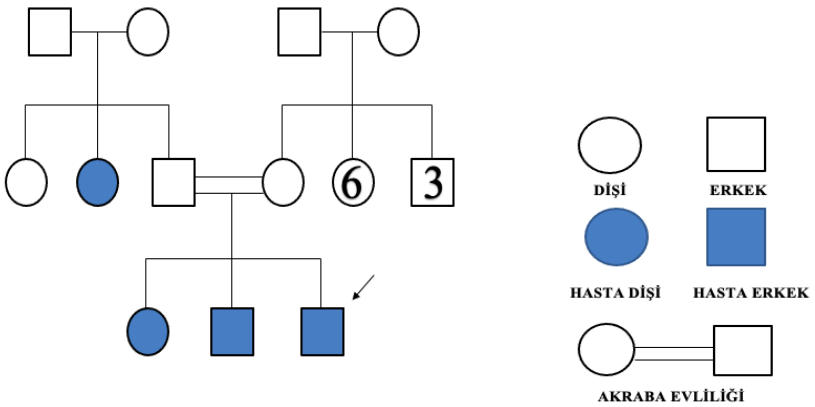
H9, (14 yaş/E) Başlangıçta tamamı uykuda sık nöbetleri olan, LEV tedavisiyle 1,5 yıldır nöbetsiz hale gelen hastanın EEG'sinin ve zeka testinin normal gelmesi ve 2 yıl 2 aydır nöbetsiz olması üzerine ilaç kesim protokolü uygulanmış olan hastada 6 ay sonra ateş ve ellerde kitlenme meydana gelmiş. Hastanın başlangıç EEG'si uyku dönemlerinde; sağ hemisfer frontotemporal ve frontosantral alanla üzerinde, izole, düşük amplitüdlü keskin dalga deşarjlarının izlenmesi üzerine kortikal fazla aktif olmayan epileptiform anormalliğinin varlığıyla uyumlu olabileceği rapor edilmiş olup, son EEG normaldir. Ebeveynler arasında akraba evliliği yoktur.

H10, (6 yaş/K) 3 aylık iken fark edilen 6.sinir paralzisi mevcut hasta sağ dışa bakış kısıtlılığı, boş bakmaları olan hastaya LEV tedavisi başlanmış olup, WISCR testi normaldir; başlangıç EEG'si , trase süresince sol hemisfer sentrotemporoparyetal bölgelerde 15-20 saniyede genellikle izole bazen 2-3 Hz frekansında orta-yüksek amplitüdülü keskin dalga deşarjları çok sık izlenmiş olup, sağ hemisfer homolog bölgelerde genellikle asenkron keskin dalga deşarjları 2 Hz frekansında orta amplitüdülü olarak izlenmiştir. Bu anormallikler nedeniyle sağ hemisfer sentrotemporoparyetal bölgelerden köken alan aktif epileptik bozukluğu göstermeke olan hastanın son EEG'si, trase süresinc uyku ile aktive olan sol gt; sağ hemisfer

sentrotemporoparyetal bölgelerde ve orta hatta genellikle izole bazen 2-4 Hz frekansında orta amplitüdülü keskin dalga deşarjları sık olarak izlenmekte olup bu anormallikler nedenlerinden dolayı uyku ile aktive olan sol gt; sağ hemisfer sentrotemporoparyetal bölgelerden ve orta hattan köken alan aktif fokal epileptik bozukluk olduğu görülmektedir. Ebeveynler arasında 1.dereceden akrabalık mevcuttur.

H11, (14 yaş/E) Gözlerinde tik şikayetiyle gelen, başlangıçta sık nöbetleri olan ve ekran mağruziyeti çok fazla olan hasta, LEV tedavisiyle ve ekran mağruziyetinin azaltılmasıyla 1,5 yıl sonra tamamen nöbetsiz hale gelmiş olup, MRI normal, başlangıç EEG'si trase süresince uykuda 3-5 saniyede bir bazen 10-12 sn süreler ile sol hemisfer frontosentrotemporal bölgelerde orta derecede amplitüdülü keskin dalga deşarjları bazen izole bazen 2-3 Hz frekansında olmak üzere izlenmiş, zaman zaman bu deşarjlar karşı hemisfer homolog bölgelere de yansımış olarak görülmüştür. Bu anormallikler nedeniyle, klinik bulgularla da uyumlu olması ile hastada uyku ile artan sol hemisfer frontosentrotemporal bölgelerden köken alan aktif epileptik bozukluk olduğu raporlanmıştır. Hastanın son EEG'si ise trase süresinde uykuda sol hemisferde 5-7 saniyede bir bazen 10-12 saniye süreler ile sol hemisfer frontosentrotemporal bölgelerde orta derecede amplitüdlü keskin dalga deşarjları bazen izole bazen 2-3 Hz frekansında olmak üzere izlenmiştir ve zaman zaman bu deşarjlar karşı hemisfer homolog bölgelerde senkron asenkron olarak görülmüştür. Bu anormallikler sonucunda uyku ile artan sol gt; sağ hemisfer frontosentrotemporal bölgelerden köken alan aktif fokal epileptik bozukluk olduğu bildirilmektedir. Ebeveynler arasında 1.dereceden akrabalık mevcuttur.

H12, (12 yaş/E) Uykusuzluk sonrası el titremesi şikayetiyle çocuk hastalıkları ve sağlığından yönledirilen hasta tedbir amaçlı çcocuk nöroloji birimine başvurmuş ve başlangıç EEG'si trase süresince ilk kez 0,5 sn sn süreli jeneralize diken, çoklu diken yavaş dalga deşarjları anormalliği sebebiyle miyoklinok karakterde jeneralize epileptik bozukluk olduğu görülmektedir. EEG ve klinik bulguları göz önünde bulundurulark LEV tedavisi başlananan hasta nöbetsiz hale gelmiştir. Son EEG'si ise trase süresince birkaç kez izole jeneralize diken yavaş dalga deşarjları izlenmiş olup bu anormallikler nedeniyle primer sekonder ayrımı yapılmamış JEB olduğu raporlanmıştır. MRI normal olan hastanın ayrıca okul başarısı normal, gelişimi yaşıtları ile uyumludur. Şekil 1.'te görüldüğü gibi, ebeveynler arasında 1. Derece akrbalık mevcut olup, ailede hala, kardeşlerin (18 yaş/E, 20 yaş/K) tümü epilepsi tanılı olup, antiepileptik tedavisi almaktadır.



Şekil 1. H12'nin soyağacı

H13, (6 yaş/K) Acilden konsültasyon ile şüpheli nöbet şikayetiyle (gözlerinin yukarıya kayması ve 5,6 dk sonra kendine gelmesi) gelen hastanın MRI ve EEG sonuçları normal olması üzerine, ilaçsız kontrole alınan hastanın 3 ay içerisinde bir kez uykudan uyandığında dudak çevresinde morarma ve otomatizma, fokal otomatizmalı nöbet geçirmesi üzerine çekilen EEG'si, frontosentrotemporal bölgelerde genellikle izole diken yavaş dalga deşarjları çok sık olmayacak şekilde izlenmiş olup, bu anormallikler sebebiyle bilateral frontosentrotemporal bölgelerden köken alan hafif-orta derecede aktif fokal epileptik bozukluk olarak raporlanmıştır. LEV tedavisi başlanan hastada ilaç sonrası nöbet görülmemiş olup, WISCR testi normaldir. Tedavi sonrası EEG'si de normaldir. Ebeveynler arasında akraba evliliği yoktur.

H14, (13 yaş/K) Havuzda dalarak nöbet geçirme şikayetiyle gelen hastanın MRI normal, başlangıç EEG'si, trase boyunca her iki hemisfer frontosantral bölgede diken yavaş dalga aktivitileri zilenmiş olup bu anormallikler nedeniyle kortikal-subkortikal oldukça aktif epileptiform anormalliğin varlığı raporlanmış olup hastaya VPA tedavisi başlanmıştır. İlaç sonrası tamamen nöbetsiz hale gelen hastanın son EEG'sinde ise trase süresince uykuda frontosantral bölggelerde belirgin fragmente diken dalga deşarjları seyrek olarak izlenmiş olup bu anormallikler nedeniyle frontosantral bölgelerde belirgin frangmente diken dalga deşarjlarının olduğu görülmektedir. Ebeveynler arasında 1.derece akrabalık mevcut olup, amca epilepsi tanısı almıştır.

H15, (11 yaş/E) Başlangıçta sık nöbet şikayetiyle gelen hastanın MRI normal, başlangıç EEG'si ise sol hemisfer santroparyetal ve oksipitotemporal alanlar üzerinde düşük amplitüdülü izole ve ya diziler halinde diken yavaş dalga deşarjları izlenmiş olup

bu epileptiform bulguların varlığı nedeniyle koritikal-subkortikal epileptiform anormalliği (ESES) varlığıyla uyumlu raporunun ardından hastaya VPA başlanmış olup, tedavi sonrası nöbetsiz hale gelen hasta 1 ay ilaç almaması üzerine uykuda sık nöbetler başlamış olup aile tedaviye devam etmesi üzerine uyarılmış olup, ayrıca hasta dikkat eksikliği sebebiyle çocuk psikiyatriye yönlendirilmiştir. Tedavi sonrası 2 yıldır nöbetsiz olan ancak ağzından salya gelmesi, ağzında tutulma tariflenen hastanın EEG'sinin ESES'den oldukça aktif fokal epileptiform anormalliğine dönmesiyle de tedaviye LEV eklendi. Devam eden kontroller sonrası aktif nöbet olmaması fakat EEG'de oldukça aktif fokal epileptik bozukluk devam etmesi üzerine tedaviye CLB eklendi. Tedavi sonrası hastanın son EEG'si trase süresince uykuda sentrotemporal bölgelerde genellikle izole bazen 2 Hz frekansında diken dalga deşarjları seyrek olarak izlenmiş olup, bu anormallikelr nedeniyle sentrotemporal bölgelerden köken alan hafif derecede fokal epleptik bozukluk olduğu raporlanmıştır. Ebeveynler arasında 1.derece akrabalık mevcuttur.

H16, (12 yaş/K) Başlangıçta sık olmayan nöbet şikayetiyle bulantı, baş ağrısı, halsizlik şikayetleriyle gelen hasta ilaçsız takibe alınmasının ardından MRI normal, EEG'sinde, trase süresince uykuda frontosentrotemporal bölgelerde genellikle düşük amplütüdülü ve izole diken dalga deşarjları çok sık olmayacak şekilde izlenmiş olup bu anormallikler nedeni ile uykuda frontosentrotemporal bölgelerden köken alan hafif-orta derecede aktif fokal epileptik bozukluk olduğu raporlanmış olan hastaya LEV tedavisi başlanmasıyla tamamen nöbetsiz hale gelmiştir. Dikkat eksikliği ve unutkanlık şikayetleriyle çocuk psikiyatriye yönlendirilen hastanın ayrıca zeka testi normaldir. Ebeveynler arasında 1.derece akbaralık mevcuttur.

H17, (10 yaş/K), Başlangıçta sık uykuda dişlerde kitlenme, el ve ayaklara kasılma nöbetleri olan hastanın başlangıç EEG'si trase süresinde çok sık olarak sentrotemporoparyetal bölgelerde senkron/asenkron ve orta hatta bazen izole bazen 2-4 Hz frekansında keskin dalga deşarjları uyku ile artış göstermiş olup 3-5 sn'de bir sık sık jeneralize olarak izlenmiştir.Tariflenen epileptiform anormallikler nedeniyle hastada, oldukça aktif sentrotemporoparyetal bölgeden köken alan uyku ile artış gösteren fokal epileptik bozukluk olduğu raporlanmıştır. Buna ek olarak deşarjlar trasein %85 'ini kapsamakata olup bu görünüm ESES ile uyumlu raporunun ardından hastaya LEV tedavisi başlanmıştır. Tedavi ardından tamamen nöbetsiz hale gelen hastanın EEG'si

oldukça aktif sentrotemporoparyetal bölgeden köken alan FEB olarak devam etmesi üzerine tedaviye CLB eklendi. Arada cümleye başlarken duraksama ve aralıklı göz kırpma gibi davranış problemleri ön planda olan hastanın ayrıca zeka testi normaldir. Ebeveynler arasında 1.dereceden akrabalık mevcuttur.

H18, (18 yaş/K) Başlangıçta sık uykuda nöbetleri olan hastanın MRI normal, EEG'si, sağ hemisfer paryetooksipital ve oksitemporal alanlar üzerinde keskin dalga deşarjları izlenmiş olup bu anormallikler nedeniyle kortikal epileptiform bir anormallik varlığıyla uyumlu raporu bildirilmiştir. CBZ tedavisi ardından tamamen nöbetsiz hale gelen ve EEG'si normal olan hasta ilaçsız takibe alınmıştır. 3,5 yıldır nöbetsizlik ve 2 yıldır ilaçsız takipte olan hastanın zeka testi normal olup, son EEG'si, trase süresince sağ hemisfer tempoparyetal bölgelerde 2-4 Hz frekansında zaman zaman 5-7 sn süreli düşük amplitüdlü keskin dalga deşarjları izlenmiş olup zaman zaman karşı hemisfer homolog bölgelere yansımış olarak görülmüştür, bu anormallikler nedeniyle aktif sağ hemisfer tempoparyetal bölgelerden köken alan fokal epileptik bozukluk olduğu görülmekte raporu bildirilmiştir. Hastanın nöbetsiz olması göz önünde bulundurularak ilaçsız takip devam etmektedir.

H19, (14 yaş/E) Başlangıçta sık anlık tonik şeklinde ayakta ardından dalmayla devam eden nöbet şikayetiyle gelen hastanın zeka testi normal, MRI normal, başlangıç EEG'si, uyanıklıkta HPV'nin 5.dk'da yaklaşık 8 sn süreli jeneralize özellikle 3 Hz frekansta bilateral senkron diken yavaş dalga boşalımları mevcut olup, uykuya daldıktan sonra bu boşalımlar devam etmektedir. Özellikle 1-2 Hz frekansta hemisferin ön bölgelerinden kaynaklı diken yavaş dalga boşalımları mevcut anormallikleri sebebiyle jeneralize özellikle epileptiform varlığı raporlanmıştır. VPA tedavisi başlananan hastanın tedaviyle birlikte nöbetlerinin devam etmesi üzerine ve tedaviye ETX eklendi. Sık olmayan nöbetleri devam eden hastanın son EEG'si, hemisferlerin frontosentral kesiminden kaynaklanan biletarel senkron özellikte çoğunlukta 1 Hz frekansında diken çoklu diken dalga boşalımları mevcuttur. Bu anormallikler nedeniyle muhtemelen jeneralşze özellikte orta derecede aktif epileptiform anormallik hali mevcuttur. Ebeveynler arasında akrabalık yoktur.

H20, (12 yaş/K) Başlangıçta sık nöbetleri olan 6 yıldır epilepsi VPA tedavisiyle 3 yıldır nöbetsiz olan hasta ilaç dozu azaltmaya başlandığında tekrar nöbet geçirmiş olup son nöbet sonrası EEG'si, hemisferlerin temporoparietooksipital kesimlerinden

kaynaklanan trasenin ilerleyen kesimlerinde bu boşalımların sıklığında artış izlenen 2 kez bilateral asenkron özellik gösteren sık diken keskin dalga boşalımları mecvut olup bu anormallikler nedeniyle çok akitf epileptiform anormallik hali ile uyumlu raporu bildirilmiştir. İlaç dozu arttırılan hastanın EEG bozukluğu aynı anormalliklerle devam etmektedir.

H21, (8 yaş/E) Sık sık baş dönmesi şikayetiyle gelen hastanın başlangıç EEG'si özellikle sol hemisfer temporooksipital kesimden kaynaklanan 2'li 3'lü salvolar halinde gelen karşı hemisfer homolog kesimde de eş zamanlı ortaya çıkan trase süresince neredeyse devamlı özellikte diken yavaş dalga boşalımları anormallikleriyle fokal nitelikte aktif epileptiform anormalliği varlığı raporlanmıştır. LEV tedavisi başlanan hastanın aşırı sinirlilik gibi davranış özelliği çıkmasıyla LMT tedavisine geçilmiştir. Tedavi sonrası baş dönmeleri devam etmeyen hastanın son EEG'sinde aynı bozukluk devam etmektedir. H20 ve H21 kardeş olup, ebeveynler arasında 1.dereceden akrabalık mevcuttur.

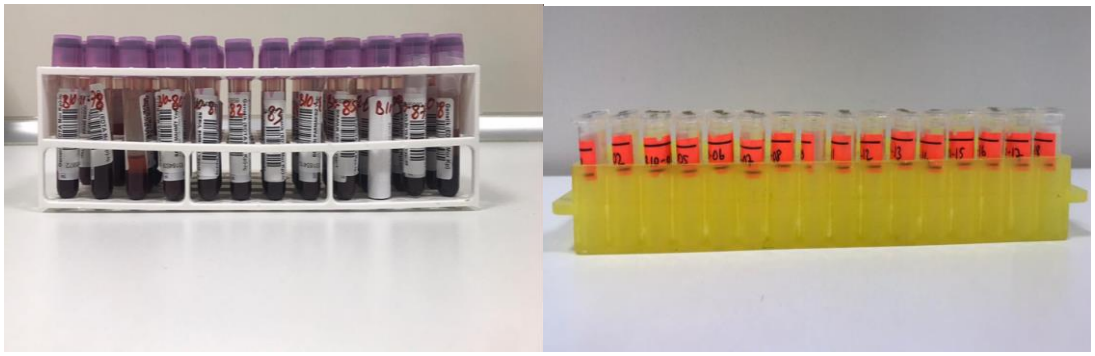
H22, (16 yaş/K) Sık miyoklonik atımlar, istemsiz irkilmeler, baş dönmesi ve baş ağrısı şikayetiyle gelen hastanın EEG'si, sağ hemisfer temporoparietal kesimde izlenen eş zamanlı olarak karşı hemisfe homolog bölgelerde de ortaya çıkan, uykudan uyanıklığa geçiş aşamasında ve fotik sitimülasyon sırasında 2 kez 2 Hz frekansında bilateral asenkron özellik kazanan diken dalga boşalımı izlenmektedir, bu anormallikler nedeniyle aktif muhtemelen jeneralize özellikte epileptiform anormallik varlığıyla uyumlu raporu bildirilmiştir. Hastaya LEV tedavisi başlanmıştır. Ayrıca dikkat dağınıklığı şikayeti olan hasta çocuk psikiyatriye yönlendirildi.

H23, (7 yaş/K) Başlangıçta sık dalma nöbetleri olan hastanın başlangıç EEG'si, HPV'nin 11 ve 12.dk da 7-8 sn süreli 3 Hz frekansında jeneralize vasıfta diken dalga boşalımları izlenmiş olup, trasenin ilerleyen kesimlerinde HPV'den bağımsız olarak da bir çok kez izlenen 1-2 Hz frekansta frontosenral kesimlerden kaynaklanan jeneralize özellikte diken dalga deşarjları izlenmiştir ve bu anormallikler nedeniyle muhtemelen jeneralize özellikte aktif epileptiform anormallik haliyle uyumlu raporu bildirilmiştir. Klinik korelasyon ve EEG sonrasında ETX ve VPA tedavisi başlanan hasta 10 ay sonrasında tamamen nöbetsiz hale gelmiş fakat ailenin VPA'yı kesmesiyle nöbetleri tekrar başlayan ve sık devam eden hastanın son kontrol sonrası VPA sonrası uyku hali oluşması nedeniyle tedavi ETX ve CLB ile devam etmekte olan hastanın son EEG'si

normaldir. Buna ek WISCR tesi yapılan hastanın alt test skorlarının düşük olduğu gözlemlenmiş olup ayrıca dikkat eksikliği olabileceği bildirilmiştir. Ebeveynler arasında 1. Derecede akrabalık mevcuttur.

3.2. DNA İzolasyonu (QIAGEN QIAamp DNA Blood Mini Kit)

1. 200 µl kan örneği eppendorf tüpe alındı.
2. 20 µl Proteinase K eklendi, vortekslendi sağlandı.
3. 200 µl Buffer AL (liziz tamponu) eklendi, vortekslendi.
4. 56ºC derecede 10 dk inkübe edildi.
5. 200 µl ethanol eklenir, vortekslendi.
6. 620 µl örneğin tamamı spin kolon tüplere aktarıldı.
7. 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
8. Spin kolondan geçen alt kısım atılır, yeni tüpler eklendi
9. 500 µl Buffer AW1 (yıkama tamponu) eklendi.
10. 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
11. Spin kolondan geçen alt kısım atılır, yeni tüpler eklendi.
12. 500 µl Buffer AW2 (yıkama tamponu) eklendi.
13. 14000 rpm'de 3 dk santrifüj edildi.
14. Kolon yeni ependorf tüpe alındı.
15. 50 µl Buffer AE (elüsyon tamponu) eklenir, oda sıcaklığında 3 dk inkübasyona bırakıldı.
16. 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
17. Altta kalan kısım DNA'dır.
18. Bir sonraki aşamaya kadar DNA'lar -20ºC'de muhafaza edildi.



Şekil 2. Hastaların EDTA'lı tüpteki kanları ve periferik kandan izole edilen DNA örnekleri

3.3. Qubit DNA Konsantrasyon Ölçüm

1. Qubit dsDNA HS Buffer (Thermoscientific)'dan 199 µl alındı.
2. Qubit dsDNA Reagent 200X (Thermoscientific)'den 1 µl alındı ve toplamda 200 µl'lik bir miks hazırlandı.
3. 198 µl miksten her tüpe dağıtıldı.
4. 2 µl DNA eklendi, vortekslendi.
5. 3 dk oda sıcaklığında, karanlık ortamda inkübe edildi.
6. Qubit 3 Flurometer cihazıyla dsDNA konsantrasyonları ng/µl cinsinden ölçüldü.
7. Bir sonraki aşamaya kadar DNA'lar -20ºC'de muhafaza edildi.

3.4. NGS

NGS aşamasının tamamamı QIAGEN- QIAseq™ Targeted DNA Panel kit içeriği kullanılarak yapılmış olup Çizelge 8.'de kit içeriği verilmiştir.

Çizelge 8. QIAseq Targeted DNA Panel Kit İçeriği ve Solüsyon Miktarları

QIAseq Targeted DNA Panel Kit İçeriği	**Miktar**
Epilepsi panel primerleri	600 µl
Fragmentation Buffer,10x	300 µl
Fragmentation Enzyme Mix	600 µl
FERA Solution	110 µl
FG Solution	170 µl
Ligation Buffer, 5x	1250 µl
DNA Ligase	600 µl
Ligation Solution	970 µl
Nucleaz İçermeyen Su	10 ml
TEPCR Buffer, 5x	500 µl
UPCR Buffer, 5x	500 µl
HotStar Taq DNA Polymerase	240 µl
QIAseq Beads	55 ml

3.4.1. Kütüphane Hazırlığı

Çizelge 9 .96 kuyucuklu plate üzerinde hastaların konumları

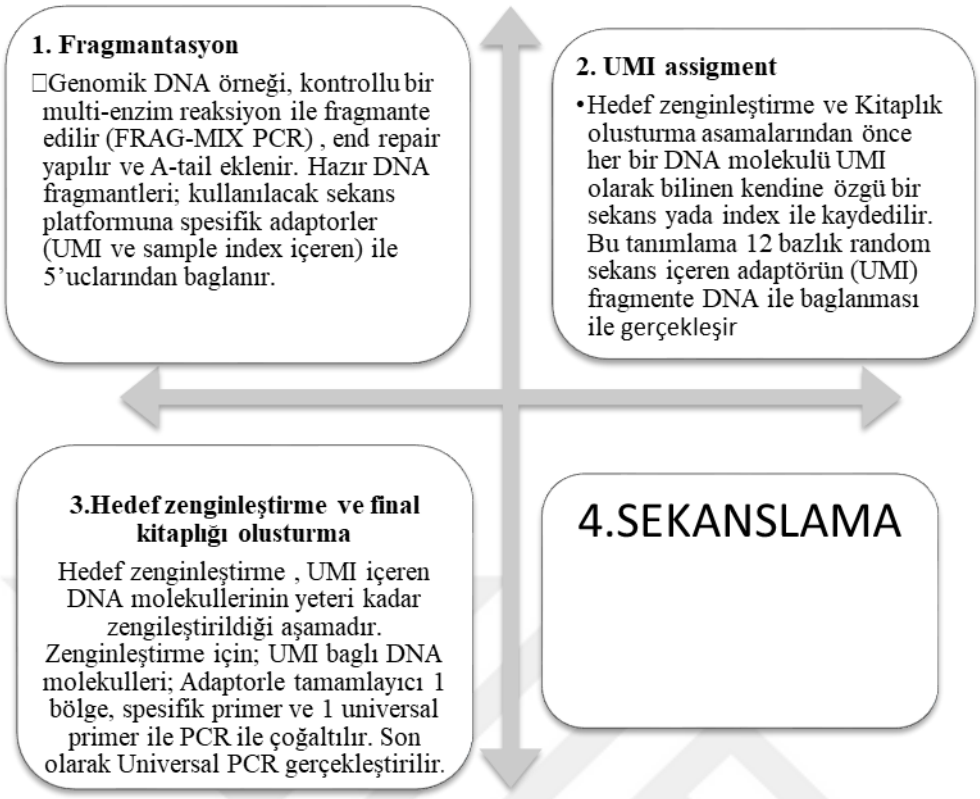
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
B	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	
C												
D												
E												
F												
G												
H												

3.4.2. Dilüsyon

1. Konsantrasyon ölçümleri yapılan DNA'lar, 16,75 µl gerekli olan son total DNA miktarı 40 ng/µl olacak şekilde sulandırıldı. Bu aşamada son konsantransyonlarının 2,4 ng/µl olması sağlandı. (dilüsyon nukleaz içermeyen su ile yapılır.)
2. DNA'lar yeni bir plate'e 16,75 µl aktarıldı.

Çizelge 10. DNA konsantrasyonları (ng/ µl) ve FRAG-MİX aşaması için gerekli olan DNA konsantrasyonlarının belirlenmesi

Hastalar	DNA konsantarsyonları (ng/µl)	Eklenecek su miktarı µl	Eklecek DNA miktarı µl
H1	20 ng/µl	36 µl	5 µl
H2	35 ng/µl	68 µl	5 µl
H3	33 ng/µl	63 µl	5 µl
H4	29 ng/µl	56 µl	5 µl
H5	34 ng/µl	66 µl	5 µl
H6	42 ng/µl	82 µl	5 µl
H7	37 ng/µl	71µl	5 µl
H8	33 ng/µl	63 µl	5 µl
H9	35 ng/µl	67 µl	5 µl
H10	44 ng/µl	86 µl	5 µl
H11	44 ng/µl	87 µl	5 µl
H12	22 ng/µl	41 µl	5 µl
H13	30 ng/µl	58 µl	5 µl
H14	61 ng/µl	122 µl	5 µl
H15	36 ng/µl	70 µl	5 µl
H16	31 ng/µl	60 µl	5 µl
H17	46 ng/µl	90 µl	5 µl
H18	49 ng/µl	98 µl	5 µl
H19	25 ng/µl	47 µl	5 µl
H20	20 ng/µl	36 µl	5 µl
H21	40 ng/µl	78 µl	5 µl
H22	53 ng/µl	105 µl	5 µl
H23	26 ng/µl	50 µl	5 µl



Şekil 3. Qiaseq Targeted DNA panel ile NGS çalışması İş Akışı

3.4.3. FRAG-MİX

Çizelge 11. Fragment Mix PZR Reaksiyon Protokolü

FRAG- MIX İçerik	Standart DNA Hacim (µl)
Frag Buffer	2,5 µl
Fera Solution	0,75 µl
Fragment Enzyme	5 µl
DNA	16,75 µl
Toplam	20 µl

1. Hasta sayısı kadar Frag Buffer+ Fera Solutiondan (QIAseq™ Targeted DNA Panel) oluşan mix hazırlandı.
2. Her bir kuyucuğa dağıtıldı.
3. Son olarak -20°C' de bekletilen Fragment Enzyme her kuyuya dağıtıldı.
4. Hazırlanan plate'in PZR reaksiyonu gerçekleştirildi.

Çizelge 12. FRAG-MİX PZR Sıcaklık Protokolü

Basamak	Sıcaklık	Süre (standart DNA)
1	4ºC	1 Dakika
2	32ºC	24 Dakika
3	72ºC	30 Dakika
4	4ºC	∞

1. Örnekler PZR cihazına yerleştirildi ve programı başlatıldı.
2. Frag-Mix aşamasından sonra direkt adaptör ligation kısmına geçildi. Bu aşamada kesinlikle durulmaması gerekir.

3.4.4. Adaptör Ligasyon

Çizelge 13. Adaptör Ligasyon PZR Mix

İçerik	Standart DNA Hacim (µl)
DNA	25 µl
Ligation Buffer, 5x	10 µl
Ligation solution	7,2 µl
IL-N7## adapter	2,8 µl
DNA ligase	5 µl
Toplam	50 µl

1. Ligation Buffer 5x ve Ligation solutiondan (QIAseq™ Targeted DNA Panel) oluşan mix (hasta sayısı kadar) hazırlandı ve kuyucuklara dağıtıldı.
2. IL-N7## Set A adapter'ler her bir kuyucuğa 2,8 µl dağıtıldı.
3. DNA ligase soğuk blok üzerinde kuyucuklara dağıtıldı.
4. Thermal cycler 20ºC'ye ayarlandı ve hazırlanan plate 15 dakika inkübe edildi.
5. Bir sonraki aşamaya kadar örnekler -20 °C'de 3 gün muhafaza edilebilir. (Güvenli durma noktası)

NOT 1: 15 dakika inkübasyon süresi asla aşılmamalı ve devam edilecek ise bir sonraki aşamaya derhal geçilmelidir.

NOT 2: Bu çalışma için Set A serisi kullanılmıştır.

Çizelge 14. QIAseq 96-Index I Set A ya da C IL-N701-N715 Adaptör Plate Düzeni

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N701	N702	N703	N704	N705	N706	N707	N710	N711	N712	N714	N715
B	N701	N702	N703	N704	N705	N706	N707	N710	N711	N712	N714	N715
C	N701	N702	N703	N704	N705	N706	N707	N710	N711	N712	N714	N715
D	N701	N702	N703	N704	N705	N706	N707	N710	N711	N712	N714	N715
E												
F												
G												
H												

Not: QIAseq 96-Index I Set B ya da D bu çalışmada kullanılmadığı için verilmemiştir.

Çizelge 15. 23 Hastanın 96 Indexli IL- N701-N715 Adaptör Plate Düzeni- Set A

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
A	N701	N702	N703	N704	N705	N706	N707	N710	N711	N712	N714	N715
B	N701	N702	N703	N704	N705	N706	N707	N710	N711	N712	N714	
C												
D												
E												
F												
G												
H												

3.4.5. Adaptöre bağlanmış DNA'nın QIAseq Beadlerle Purifikasyonu

Not 1: Çalışmaya başlamadan önce +4ºC'de muhafaza edilen QIAseq beadler oda sıcaklığına getirilir.

Not 2: Ligasyon sonrası örnekler çok vizkoz bir yapıda olduğundan ötürü temizlik işleminin düzgün olması için tüm örnekler mutlaka yeni bir plate'e alınmalıdır.

1. Adaptör ligasyon reaksiyon ürünlerinden 50 µl örnek yeni bir plate'e aktarıldı. Üzerine 50 µl nukleaz içermeyen su eklenerek toplam hacim 100 µl'ye tamamlandı.
2. Toplam hacmi 100 µl'ye tamamlanan ürünlerin üzerine 100 µl QIAseq Beads (QIAseq™ Targeted DNA Panel) eklendi. Homojen bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.

3. Plate, manyetik rak üzerine alındı ve 10 dakika beadlerin süpernetanttan ayrılmasını beklendi. Solüsyon berrak gözüktükten sonra, süpernetant uzaklaştırıldı. Hedef DNA'yı içeren beadlere temas etmemeye dikkat edilir ve bead atılmaz.
4. Plate manyetik rak üzerindeyken 200µl taze hazırlanmış %80 etanol eklendi. Plate hareket ettirilerek boncuklar yıkandı, manyetik rak üzerinde supernatant uzaklaştırıldı ve atıldı.
5. Etil alkol ile yıkama aşamasını tekrarlandı.
6. Manyetik rak üzerinde etanol uzaklaştırıldı ve beadlerin kuruması beklendi.

Not: Bu aşamada alkolün tamamen uçması ve beadlerin çatlamamasına dikkat edilir.

7. Kuruyan beadlerin üzerine 53µl nukleaz içermeyen su eklendi. Homojen bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapıldı.
8. Homojen halde olan beadlerin bulunduğu örnekler manyetik rak üzerine alındı ve berraklaşıncaya kadar beklendi.
9. 50 µl süpernatant yeni plate'e aktarıldı.
10. 50 µl olan örnekler üzerine 50 µl QIAseq Bead eklendi. Homojen bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapıldı.
11. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
12. Plate manyetik rak üzerine alındı ve 5 dakika beadllerin süpernatnattan ayrılması beklendi. Solüsyon berraklaştıktan sonra, süpernetant uzaklaştırıldı. Hedef DNA'yı içeren beadlere temas etmemeye dikkat edilir ve bead atılmaz**.**
13. Plate manyetik rak üzerindeyken 200 µl taze hazırlanmış %80 ethanol eklendi. Plate hareket ettirilerek beadler (veya boncuk) yıkandı, manyetik rak üzerinde supernatant uzaklaştırıldı ve atıldı.
14. Etil alkol ile yıkama aşamasını tekrarlandı.

Not: Bu aşamada alkolün tamamen uçması ve bead çatlamamasına dikkat edilir.

15. Kuruyan beadlerin üzerine 12 µl nukleaz içermeyen su eklendi. Homojen bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapıldı. Manyetik rak üzerinde solüsyon berraklaşıncaya kadar beklendi.
16. 9.4 µl süpernatant yeni plate'e aktarıldı.

Not: Bir sonraki aşamaya kadar örnekler -20ºC' de 3 gün muhafaza edilebilir. Burası güvenli durma noktasıdır.

3.4.6. Hedef Zenginleştirme PZR

Çizelge 16. Hedef Zenginleştirme PZR Mix

İçerik	**Hacim**
DNA kitaplığı	9,4 µl
TEPZR Buffer 5X	4 µl
QIAseq Targeted DNA panel (Epilepsi)	5 µl
IL-Forward primer	0,8 µl
HotStar Taq DNA Polymerase	0,8 µl
Toplam	20 µl

1. TEPZR Buffer 5X, QIAseq Targeted DNA Epilepsi paneli ve IL-Forward primer mix (QIAseq™ Targeted DNA Panel) haline getirildi. Kuyucuklara dağıtıldı.
2. HotStar Taq DNA Polymerase kuyucuklara dağıtıldı.
3. Hazırlanan reaksiyon PZR'a hazır haldedir.
4. PZR sıcaklık protokolü için Çizelge 17'ye bakınız.

Not 1: HotStar Taq DNA Polymerase 20ºC' de aktive olmaya başlar. Mix içerisine eklenmesi önerilmez. Çalışmanın tamamının buz üzerinde yapılması tavsiye edilir.

Not 2: QIAseq™ Targeted DNA Panel (Illumina) çalışma protokolü için çalışılacak olan panelin kaç primer içerdiğine bakılmalıdır. PZR (Thermal cycle) protokolü her panel için değişkenlik göstermektedir. Tablo 9 PZR sıcaklık protokolünde 'Epilepsi paneli' (1200 primerden küçük) primer sayılarına göre thermal cycle programlandı.

Çizelge 17. 1500'den küçük primer için Hedef Zenginleştirme PZR Sıcaklık Protokolü

Basamak	**Süre**	**Derece**
Denatürasyon	13 dakika	95ºC
	2 dakika	98ºC
8 döngü	15 saniye	98ºC
	10 dakika	68ºC
1 döngü	5 dakika	72ºC
Bekleme	5 dakika	4ºC
Bekleme	∞	4ºC

1. Örnekler PZR cihazına yerleştirildi ve program başlatıldı.
2. Bir sonraki çalışmaya kadar örnekler -20 ºC' de ya da +4 ºC'de PZR'da bir gece bekleyebilir. 3 gün muhafaza edilebilir. (Güvenli durma noktası)

3.4.7. Hedef zenginleştirme PZR sonrası QIAseq Beadlerle Purifikasyon

1. Hedef zenginleştirme PZR reaksiyon ürünlerinden 20 µl örnek üzerine nukleaz içermeyen su eklenerek toplam hacim 100 µl'ye tamamlandı.
2. Toplam hacmi 100 µl'ye tamamlanan ürünlerin üzerine 100 µl QIAseq Beads (QIAseq™ Targeted DNA Panel) eklendi. Homojen bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
3. Plate manyetik rak üzerine alındı ve 10 dakika beadlerin süpernetanttan ayrılmasını beklendi. Solüsyon berrak gözüktükten sonra, süpernetant uzaklaştırıldı. Hedef DNA'yı içeren beadlere temas etmemeye dikkat edilir ve bead atılmaz.
4. Plate manyetik rak üzerindeyken 200µl taze hazırlanmış %80 ethanol eklendi. Plate hareket ettirilerek boncuklar yıkandı, manyetik rak üzerinde Supernatant uzaklaştırıldı ve atıldı.
5. Etil alkol ile yıkama aşamasını tekrarlandı.
6. Manyetik rak üzerinde etanol uzaklaştırıldı ve beadlerin kuruması beklendi.

Not: Bu aşamada alkolün tamamen uçması ve beadlerin çatlamamasına dikkat edilir.

7. Kuruyan beadlerin üzerine 16 µl nukleaz içermeyen su eklendi. Homojen bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapıldı.
8. Homojen halde olan beadlerin bulunduğu örnekler manyetik rak üzerinde berraklaşıncaya kadar beklendi.

9. Beadlere değmeden, 13,4 µl süpernatant temiz bir plate'e aktarıldı.
10. Bir sonraki çalışmaya kadar örnekler -20 ºC'de 3 gün muhafaza edilebilir (Güvenli durma noktası).

3.4.8. Universal PZR Amplifikasyon

Çizelge 18. Qiaseq 96- Index Universal PZR Mix Protokolü IL-S502-S511 Index Primer Plate

İçerik	Hacim
Zenginleştirilmiş DNA	13.4 µl
UPZR Buffer, 5x	4 µl
Nukleaz Free Water	1.6 µl
Hot Start Taq DNA polimeraz	1 µl
Toplam	20 µl

1. 13,4 µl zenginleştirilmiş DNA, IL-S502-S511 Index Primer Plate A' ya eklendi. (QIAseq™ Targeted DNA Panel)
   Not: Kit içerisinde index primer ve universal primer çifti önceden dağıtılmış halde tek reaksiyonluk liyofilize halde yer almaktadır.
2. UPZR Buffer 5x, nukleaz içermeyen su, Hot Start Taq DNA polimeraz bileşenlerinden (hasta sayısı kadar) mix hazırlandı. Mix Index plate'de her bir kuyucuğa 6.6 µl dağıtıldı.
3. Hazırlanan reaksiyon PZR'a hazır haldedir.

Not 1: Çalışmanın tamamı soğuk blok üzerinde yapılmalıdır, Hot Start Taq DNA polimeraz 20 °C'de reaksiyona girmeye başlar.

Not 2: Universal PZR aşaması için, ligasyon asamasında kullanılmış IL-N7 Adaptor Plate setleri ile, IL- S5 primer plate setleri eşleşmelidir. (Kit içerisinde 4 set gelir; A, B, C ve D)

Çizelge 19. Universal PZR Sıcaklık Protokolü

Basamak	**Süre**	**Derece**
Denatürasyon	13 dakika	95ºC
	2 dakika	98ºC
20 döngü (Tablo12 ye bakınız)	15 saniye	98ºC
	2 dakika	60ºC
1 döngü	5 dakika	72ºC
Bekleme	5 dakika	4 ºC
Bekleme	∞	4 ºC

Çizelge 20. Universal PZR Sıcaklık protokolü döngü sayıları

Primer Sayısı	**Döngü Sayısı**
6-24	26
25-96	24
97-288	22
289-1056	21
1057-1499	20
1800-3072	21
3073-4999	20
5000-12000	19
>12,001	18

1. Örnekler PZR cihazına yerleştirildi ve program başlatıldı.
2. Bir sonraki çalışmaya kadar örnekler -20 ºC' de 3 gün muhafaza edilebilir. (Güvenli durma noktası)

   Not: Epilepsi panelinin primer sayısı 1463'tür.

Çizelge 21. IL-502-511 Index Primer Plate Set A ya da B Düzeni

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S502	S502	S502	S502	S502	S502	S502	S502	S502	S502	S502	S502
B	S503	S503	S503	S503	S503	S503	S503	S503	S503	S503	S503	S503
C	S505	S505	S505	S505	S505	S505	S505	S505	S505	S505	S505	S505
D	S506	S506	S506	S506	S506	S506	S506	S506	S506	S506	S506	S506
E	S507	S507	S507	S507	S507	S507	S507	S507	S507	S507	S507	S507
F	S508	S508	S508	S508	S508	S508	S508	S508	S508	S508	S508	S508
G	S510	S510	S510	S510	S510	S510	S510	S510	S510	S510	S510	S510
H	S511	S511	S511	S511	S511	S511	S511	S511	S511	S511	S511	S511

Not: IL513-522 Set C ya da D bu çalışmada kullanılmadığı için verilmemiştir.

Çizelge 22. 23 hasta için IL-N7 Adaptör plate ve IL-S5 Index Plate kombinasyonu

		1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
		N701	**N702**	**N703**	**N704**	**N705**	**N706**	**N707**	**N708**	**N709**	**N710**	**N711**	**N712**
A	**S502**	N701 S502	N702 S502	N703 S502	N704 S502	N705 S502	N706 S502	N707 S502	N708 S502	N709 S502	N710 S502	N711 S502	N712 S502
B	**S503**	N701 S503	N702 S503	N703 S503	N704 S503	N705 S503	N706 S503	N707 S503	N708 S503	N709 S503	N710 S503	N711 S503	
C	**S505**												
D	**S506**												
E	**S507**												
F	**S508**												
G	**S509**												

3.4.9. Universal PZR sonrası QIAseq Beadlerle Purifikasyon

1. Hedef zenginleştirme PZR reaksiyon ürünlerinden 20 µl örnek üzerine 80 µl nukleaz içermeyen su eklenerek toplam hacim 100 µl'ye tamamlandı.
2. Toplam hacmi 100 µl'ye tamamlanan ürünlerin üzerine 100 µl QIAseq Beads (QIAseq™ Targeted DNA Panel) eklendi. Homojen bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.

3. Plate manyetik rak üzerine alındı ve 5 dakika beadlerin süpernetanttan ayrılmasını beklendi. Solüsyon berrak gözüktükten sonra, süpernetant uzaklaştırıldı. Hedef DNA'yı içeren beadlere temas etmemeye dikkat edilir ve bead atılmaz.
4. Plate manyetik rak üzerindeyken 200µl taze hazırlanmış %80 ethanol eklendi. Plate hareket ettirilerek boncuklar yıkandı, manyetik rak üzerinde supernatant uzaklaştırıldı ve atıldı.
5. Etil alkol ile yıkama aşamasını tekrarlandı.
6. Manyetik rak üzerinde etanol uzaklaştırıldı ve beadlerin kuruması beklendi.

Not: Bu aşamada alkolün tamamen uçması ve beadlerin çatlamamasına dikkat edilir.

7. Kuruyan beadlerin üzerine 30 µl nukleaz içermeyen su eklendi. Homojen bir görüntü elde edene kadar pipetaj yapıldı.
8. Homojen halde olan beadlerin bulunduğu örnekler manyetik stand üzerinde berraklaşıncaya kadar beklendi.
9. Beadlere değmeden, 28 µl süpernatant temiz bir plate'e aktarıldı.
10. Bir sonraki çalışmaya kadar örnekler 1 ay -20 ºC'de muhafaza edilebilir (Güvenli durma noktası).

3.4.10. Kitaplık Ürünlerinin Kantitasyonu- Qiaseq Quant Assay

3.4.10.1. Standartların Hazırlanması

Çizelge 23. Standartların Hazırlanması

Standartlar	**Illumina DNA Standart**	**Dilution Buffer**
Std1	5 µl stok	45 µl
Std2	5 µl Std1	45 µl
Std3	5 µl Std2	45 µl
Std4	5 µl Std3	45 µl
Std5	5 µl Std4	45 µl

Çizelge 24. DNA kütüphanesinin Dilüsyonu

Dilusyon	Kütüphane	Dilusyon Buffer
Dilusyon 1 (1:50)	1 µl	49 µl
Dilusyon 2 (1:5.000)	1 µl (1:50)	99 µl
Dilüsyon 3(1:50.000)	4 µl (1:5.000)	36 µl

1. ILMN DNA (QIAseq™ Targeted DNA Panel) standartı buz üzerinde eritildi.
2. ILMN DNA standartını 5 farklı tüpte; 5 seri dilusyon ile seyreltildi.
3. ILMN standart dilusyonu için 5 tüp hazırlandı. Her tüpün içerisine 45 µl Dilusyon buffer eklendi. İlk tüpün içerisine ILMN Std stoğundan 5 µl eklendi. Sonrasında ilk tüpten alınan 5 µl solusyon 2. tüpe aktarıldı. Aynı işlemi sırasıyla diğer tüpler için de tekrarlandı.
4. Örnekler için, 3 farklı (1:50, 1:5000, 1:50.000) dilüsyon konsantrasyonları hazırlandı.

NOT: Dilüsyonlar QIAgility cihazı ile yapılmıştır.

3.4.10.2. Dilüsyon sonrası örneklerin RT-PZR ile Kantitasyonu

Çizelge 25. Dilüsyon sonrası örneklerin RT-PZR Mix

İçerik	**Hacim**
Nuclease free water	6.7 µl
SYBR Green ROX FAST Master mix	10 µl
Primer mix (10 µM)	0.8 µl
Template (standart ya da kütüphane)	2.5 µl
Toplam	20 µl

1. SYBR Green ROX FAST Mastermix (QIAseq™ Targeted DNA Panel), nukleaz içermeyen su ve Primer mix haline getirildi, strip tüplerine dağıtıldı.
2. 5 standarttan 3 tekrar + 1 NTC (non-template control) + hasta sayısı kadar mix hazırlandı.
3. Mix 1.5000 ve 1.50.000 dilüsyon oranları için ayrı ayrı hazırlandı.
4. Rotorgene cihazına örnekler yüklendi.
5. Rotorgene Q RT-PZR reaksiyonu hazır haldedir. Protokol için

Çizelge 26. Rotorgene Q cihazı örnek dağılım listesi

Kuyucuk No	Dilüsyon Oranı	Örnek No	Kuyucuk No	Dilüsyon Oranı	Örnek No	Kuyucuk No	Dilüsyon Oranı	Örnek No
1		std1	**25**	1_5000	H9	**49**	1_50000	H5
2		std1	**26**	1_5000	H10	**50**	1_50000	H6
3		std1	**27**	1_5000	H11	**51**	1_50000	H7
4		std 2	**28**	1_5000	H12	**52**	1_50000	H8
5		std 2	**29**	1_5000	H13	**53**	1_50000	H9
6		std 2	**30**	1_5000	H14	**54**	1_50000	H10
7		std 3	**31**	1_5000	H15	**55**	1_50000	H11
8		std 3	**32**	1_5000	H16	**56**	1_50000	H12
9		std 3	**33**	1_5000	H17	**57**	1_50000	H13
10		std 4	**34**	1_5000	H18	**58**	1_50000	H14
11		std 4	**35**	1_5000	H19	**59**	1_50000	H15
12		std 4	**36**	1_5000	H20	**60**	1_50000	H16
13		std 5	**37**	1_5000	H21	**61**	1_50000	H17
14		std 5	**38**	1_5000	H22	**62**	1_50000	H18
15		std 5	**39**	1_5000	H23	**63**	1_50000	H19
16		ntc	**40**	1_5000		**64**	1_50000	H20
17	1_5000	H1	**41**	1_5000		**65**	1_50000	H21
18	1_5000	H2	**42**	1_5000		**66**	1_50000	H22
19	1_5000	H3	**43**	1_5000		**67**	1_50000	H23
20	1_5000	H4	**44**	1_5000		**68**	1_50000	
21	1_5000	H5	**45**	1_50000	H1	**69**	1_50000	
22	1_5000	H6	**46**	1_50000	H2	**70**	1_50000	
23	1_5000	H7	**47**	1_50000	H3	**71**	1_50000	
24	1_5000	H8	**48**	1_50000	H4	**72**	1_50000	

Not 1: Laboratuvarratuvarımızda kullanılan Rotorgene Q cihazının rotoru 72'liktir. Standartlar ve dilüsyon oranlarıyla birlikte bir yürütmede maksimum alınabilecek hasta sayısı 28'dir.

Not 2: Standartların dilüsyonu için Çizelge 26'ya bakınız.

Çizelge 27. Dilüsyon sonrası örneklerin RT-PZR Sıcaklık Protokolü

Basamak	**Döngü**	**Süre**	**Derece**
1	1	10 dakika	95ºC
2	30	15 saniye	95ºC
		5 saniye	68ºC
		5 saniye	65ºC
		1 dakika	60ºC

3.4.10.3. Analiz

1. RT-PZR sonunda her örneğin CT değerine bakıldı.
2. Eğer her iki CT değeri de standart CT aralığına düşüyorsa konsantrasyonu daha yüksek olan değer kabul edildi.
3. Eğer CT'lerden birisi standart aralığında diğeri dışındaysa aralıkta olan değer kabul edildi.
4. Eğer her iki CT'de standart aralığı dışındaysa örneğin dilusyon oranları değiştirilerek tekrar dilüsyon yapıldı ve test tekrarlandı.
5. Her örnek için seçilen nM değeri, örneğin konsantrasyonuna göre aşamalı olarak ya da direkt 4nm'a dilüe (nukleaz içermeyen su ile) edildi.

3.4.11. QIAxcel Kitaplık Ürünlerinin Kalite Kontrolü

1. DNA Kitaplığı hazır olduktan sonra QIAGEN High Sensitivity kit kullanılarak örneklerin bant görüntüleri elde edildi.
2. QIAGEN High Sensivity kit kartuju oda sıcaklığına getirildi.
3. QX Dilüsyon buffer (QIAGEN) ile örnekler 1:5 oranında dilue edildi. (1 µl örnek + 4 µl dilüsyon buffer)
4. OM500-40sec injection time seçildi.
5. Qiaxcel 'Run paramaterleri' için Çizelge 28'e bakınız.

Çizelge 28. Qiaxcel Yürütme Protokolü

	DNA High Resolution Kit
Kütüphane hazırlığı	1:5 dilüsyon
Size marker	100 bp- 2.5 kp, 2.5 ng
Alignment marker	15 bp- 10 kb
Method	OM-500
Injection time	40 saniye
Analiz	Default Smear DNA
Peak calling	%20 toleransla 400 bp

3.4.12. Örneklerin Birleştirilmesi

1. Cihazın yıkamaları kontrol edildi.
2. 4 nm' getirilen örnekler, panel primer sayısına göre tek tüpte birleştirildi ve Megapoollar oluşturuldu.
3. 1N stok NaOH'i 0.2N'a dilue edildi (dilüsyon nukleaz içermeyen su ile yapıldı).

Not: Dilue edilen NaOH her zaman taze hazırlanmalıdır.

4. 20 pM Megapoollardan 5 µL, 0.2N NaOH 5 µL 1.5 ml'lik ependorf tüp içerisinde kısaca vortekslendi. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi.
5. Oda sıcaklığına getirilen HyB buffer'den 990 µL eklendi ve 20 pM 1000 µL denatüre kütüphane elde edildi.
6. Uygun yükleme konsantrasyonu kullanılan kartuş tipine göre değişmektedir. Bu çalışmada v2 reaktif kartuş kullanıldı ve yükleme konsantrasyonu 12 pM'a getirildi.
7. 12 pM yükleme konsantrastyonu için 360 µL 20 pM kütüphane, 240 µL prechilled HT1 eklendi ve yükleme hacmi 600 µL'ye tamamlandı.

3.4.13. Örneklerin Miseq Cihazına Yüklenmesi

1. Ayrı bir 1.5ml'lik lobind tüpü "Forward primer" olarak etiketlendi. Bu tüpün içerisine 597 µL HT1 eklendi, üzerine Qiaseq A Read1 Custom Primerinden 3 µL eklendi,
2. Her iki tüpte yükleme işlemine kadar soğuk blok üzerinde bekletildi
3. 12 pM, 600 µL hacmindeki kütüphane 17 nolu kuyucuğa yüklendi.
4. 18 nolu kuyucuğa 'Forward primer' 600 µL yüklendi.

5. Flowcell, reaktif kartuş, PR2 şişesi ve atık kutusu Illumina MiSeq içerisindeki yerlerine yerleştirildikten sonra Miseq Control Software üzerinden sekans başlatıldı.



Şekil 4. Örneklerin MiSeq v2 Reagent Kit'e yüklenme düzeni ve Illumina Miseq Cihazı

3.5. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Periferik kandan elde edilen DNA materyalinden, QIAseq Targeted DNA Epilepsi paneli kullanılarak SCN1A*, SCN2A, SCN9A, SCN1B, GABRG2, SCN3A, TAP1, BRD2, EFHC1, GABRA1, EPM2A, KCTD7, KCNQ3, KCNJ10, SLC2A1, KCNK9, GABRB3, LGI1, TBC1D24, DEPDC5, TBC1D22A, ATP1A2, GRIN2A, CACNA1A, CHRNA2, CHRNA4, CHRNB2, KCNT1, KCNA1, KCNMA1, KCNMB3, KCNQ2, KCNQ3, STXBP1 genleri Illumina Miseq cihazı ile yeni nesil dizileme çalışması yapıldı. QIAseq Targeted DNA Epilepsi panelinde yer alan genlerde tespit edilen varyantlar QIAGEN Clinical Insights (QCI) veri tabanı ile değerlendirildi. Ek olarak veri tabanları ve in-siliko algoritmalar ile ekzon ve ekzon-intron bileşkeleri incelendi.

QIAGEN Rotor Gene-Q cihazında yapılan Qiseq Quant Assay verilerinin analizi için Rotor Gene-Q Software kullanıldı.

QIAxcel cihazında 'DNA High Resolution Kit' ile yapılan kitaplık ürünlerinin kalite kontrolleri ve görüntüleri QIAxcel Advanced System kullanılarak elde edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Klinik Özellikleri

Çalışmaya Adana Şehir Hastanesi Çocuk Nöroloji Polikliniği tarafından idiyopatik epilepsi tanısıyla izlenmekte olan 0-18 yaş aralığında 23 hasta dahil edildi. Hastalara ait klinik bilgiler Çizelge 29.'da verilmiştir.

Çizelge 29. Hastaların Klinik Özellikleri

Hasta	Akraba evliliği	EEG Başlangıç/ Son	Nöbet tipi	Aei	Doğum yılı/ Cinsiyet
H1	var	Subkortikal epileptiform anormalliği Normal	Atipik Absans	Depakin (VPA)	2008/K
H2	var	Orta hattan köken alan aktif fokal epileptik bozukluk Orta hattan köken alan aktif FEB	Dalma Davranış problemleri	Convulex (VPA) Frisium (CLB)	2014/E
H3	yok	Jenerelize epileptik bozukluk	Göz kapağı miyoklonisi Baş ağrısı	Epixx (LEV)	2005/K
H4	yok	JEB Orta derecede aktif primer JEB	Baş ağrısı	Keppra (LEV)	2005/K
H5	yok	Primer JEB Normal	Baş ağrısı Davranış problemleri	Keppra (LEV)	2007/E
H6	yok	Primer JEB Normal	Absans	Depakin (VPA)	2007/E
H7	yok	hafif-orta derece FEB	Dişlerde kilitlenme, tüm vücutta kasılma	Epixx (LEV)	2008/E
H8	yok	Hafif derecede epileptiform anormalliği Primer sekonder ayrımı yapılmamış hafif-orta derece JEB	6 aylıkken uykuda nöbetler JTK Boş bakma	Depakin (VPA)	2007/E
H9	Yok	Kortikal fazla aktif olmayan epileptiform anormalliği Normal	Uykuda Ellerde kitlenme	-	2007/E
H10	Var	Hafif derecede FEB Orta hattan köken alan aktif FEB	6.sinir paralzi Sağ dışa bakış kısıtlılığı	Keppra (LEV)	2014/K
H11	Var	Aktif FEB Aktif FEB	Gözlerde tik	Keppra (LEV)	2007/E
H12	Var	Myoklonik karakterde JEB Primer sekonder ayrımı yapılamamış JEB	Uykusuzluk sonrası el titremesi	Keppra (LEV)	2008/E

H13	Yok	Hafif-orta derecede aktif FEB Normal	-Gözleri yukarı kayma -Uykudan uyandığında dudak çevresinde morarma ve otomatizma	Keppra (LEV)	2014/K
H14	Var	Kortikal-subkortikal oldukça aktif epileptiform anormalliği Frontosantral bölgelerde belirgin fragmente diken dalga deşarjlar	Havuzda dalarak nöbet (Absans)	Depakin (VPA)	2007/K
H15	Var	Kortikal oldukça aktif epileptiform bir anormallik (atipik BRE/ESES) varlığı Sentrotemporal bölgeden köken alan hafif derecede FEB	-ilaç kesimi sonrası uykuda -ağzında salya, ağzında tutulma -bazen dil tutulması	Keppra (LEV) Frisium (CLB)	2007/E
H16	Var	Frontosentrotemporal bölgelerden köken alan hafif-orta derecede aktif FEB Temporoparyetel bölgelerden köken alan fokal epileptic bozukluk	-Bulantı, baş ağrısı, halsizlik ???	Epixx (LEV)	2008/K
H17	var	Oldukça aktif sentrotemporoparyetal bölgeden köken alan uyku ile artış gösteren FEB (ESES ile uyumlu) Oldukça aktif sentrotemporoparyetal bölgeden köken alan sekonder jeneralizasyon gösteren oldukça aktif FEB (ESES ile uyumlu)	-uykuda ses çıkarıp ağızda kilitlenme -el, ayaklarda kasılma şikayeti	Epixx (LEV) Frisium (CLB)	2010/E
H18	?	Kortikal epileptiform bir anormalliğin varlığıyla uyumlu Aktif sağ hemisfer tempoparyetal bölgelerden köken alan FEB	-uykuda havale	Ilaçsız takip	2003/K
H19	yok	Jeneralize özellikte aktif epileptiform bir anormallik halinin varlığıyla uyumlu Muhtemelen jeneralize özellikte orta derecede aktif epileptiform anormallik halinin varlığıyla uyumu	-Anlık tonik, ayakta nöbet yaklaşık 1-2 dk -Günde 1-2 kez dalma -Nöbetleri ilaca ragmen devam ediyor	-Depakin (VPA) -ETX	2007/E

H20	?	Çok aktif epileptiform anormallik haliyle uyumlu	?	Lamictal	2009/K
		Çok aktif epileptiform anormallik haliyle uyumlu			
H21	var	Fokal nitelikte aktif epileptiform anormalliğin varlığıyla uyumlu	-Daha çok koşunca ya da yorulunca oluşan kısa baş dönmesi	Lamictal (LMT)	2012/E
		Fokal nitelikte aktif epileptiform anormalliğin varlığıyla uyumlu			
H22	yok	Aktif muhtemelen jeneralize özellikte epileptiform anormalliğin varlığıyla uyumlu	Ellerinde miyoklonik atımlar -İstemsiz irkilmeler -Baş dönmesi ve baş ağrısı	Keppra (LEV)	2004/K
		Aktif muhtemelen jeneralize özellikte epileptiform anormalliğin varlığıyla uyumlu			
H23	var	Muhtemelen jeneralize özellikte aktif epileptiform anormallik haliyle uyumlu	-Ara ara dalmalar, seslenince cevap vermeme	Frisyum (CLB)	2013/K
		Normal			

4.2. Elde edilen DNA'ların konsantrasyonları

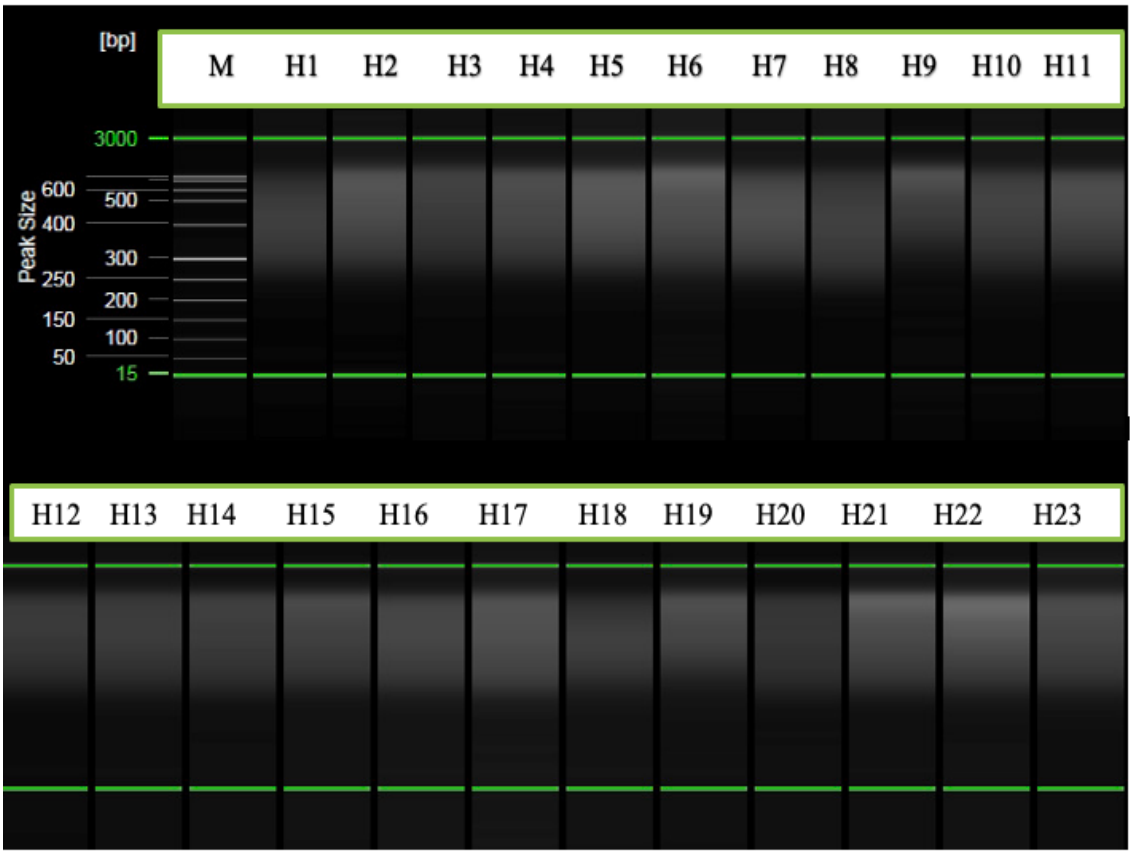
Hastalara ait periferik kandan elde edilen DNA'ların konsantrasyonları (Qubit 3 Flurometer dsDNA) ölçülmüştür. Sonuçlar Çizelge 30' da yer almaktadır.

Çizelge 30. DNA örneklerinin ng/ µl cinsinden konsantrasyon değerleri

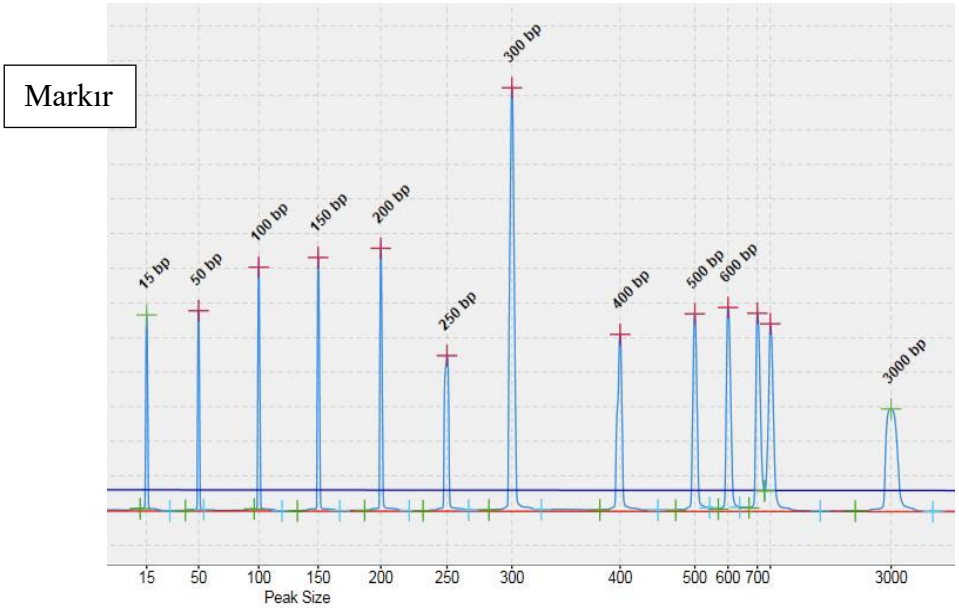
Hasta Grubu	**DNA Konsantrasyonu (ng/ µl)**	**Hasta Grubu**	**DNA Konsantrasyonu (ng/ µl)**
H1	20 ng/µl	H13	30 ng/µl
H2	35 ng/µl	H14	61 ng/µl
H3	33 ng/µl	H15	36 ng/µl
H4	29 ng/µl	H16	31 ng/µl
H5	34 ng/µl	H17	46 ng/µl
H6	42 ng/µl	H18	49 ng/µl
H7	37 ng/µl	H19	25 ng/µl
H8	33 ng/µl	H20	20 ng/µl
H9	35 ng/µl	H21	40 ng/µl
H10	44 ng/µl	H22	53 ng/µl
H11	44 ng/µl	H23	26 ng/µl
H12	22 ng/µl		

4.3. QIAxcel ile Kitaplık Ürünlerinin Kalite Kontrolü ve Görüntüleri

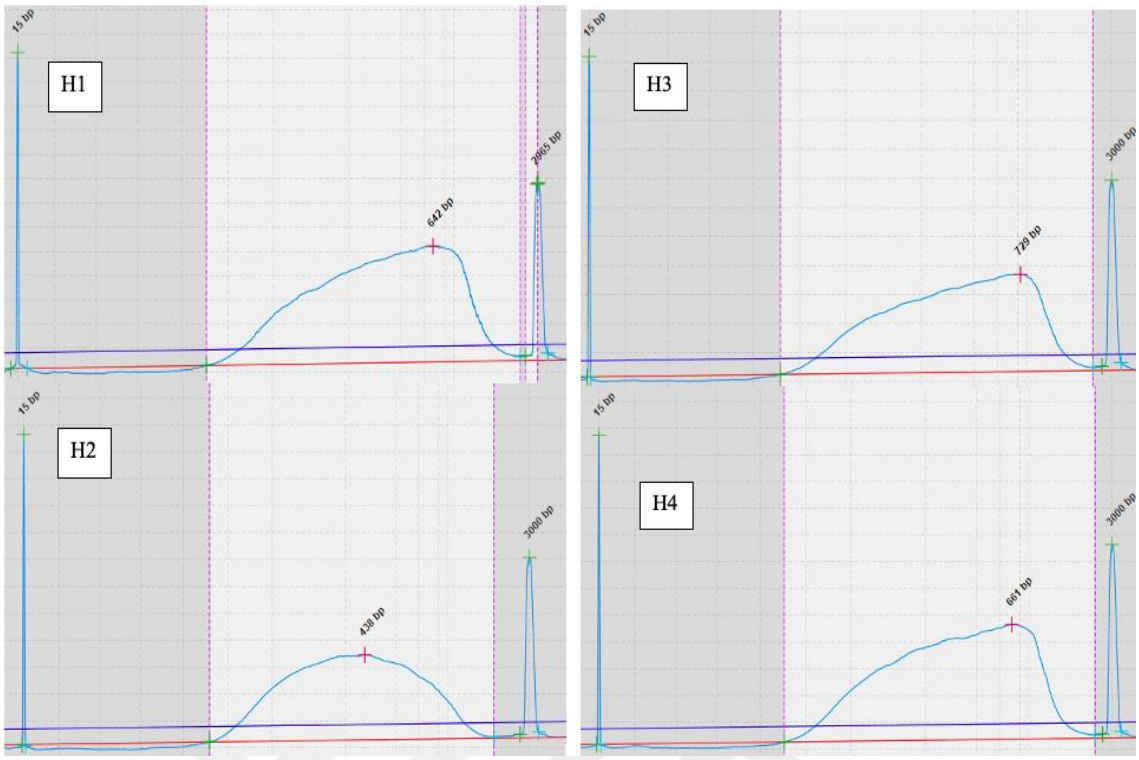
23 hastanın DNA örneklerinden oluşturulan DNA kitaplık ürünlerinde elde edilen DNA'ların kalitelerinin belirlenmesi amacıyla (QIAGEN High Sensitivity kit) jel görüntüleri elde edilmiş olup, sonrasında görüntülemesi (QIAxcel Software) gerçekleştirilmiştir. Qıaseq Miseq Illumina yöntemiyle elde edilen DNA kitaplık ürünlerinin jel görüntüleri smear şeklinde görüntülenmelidir. 23 hastanın jel görüntüsü Şekil 6'da gösterilmiş olup size markır 100 bp- 2.5 kb, dizileme markırı ise 15 bp- 10 kb arasındadır. Qıaseq Miseq Illumina yöntemiyle elde edilen DNA kitaplık ürünlerinin elektroferogram görüntüleri (şekil 7-13 arası) 300-1000 bp arasında dağılım göstermelidir.



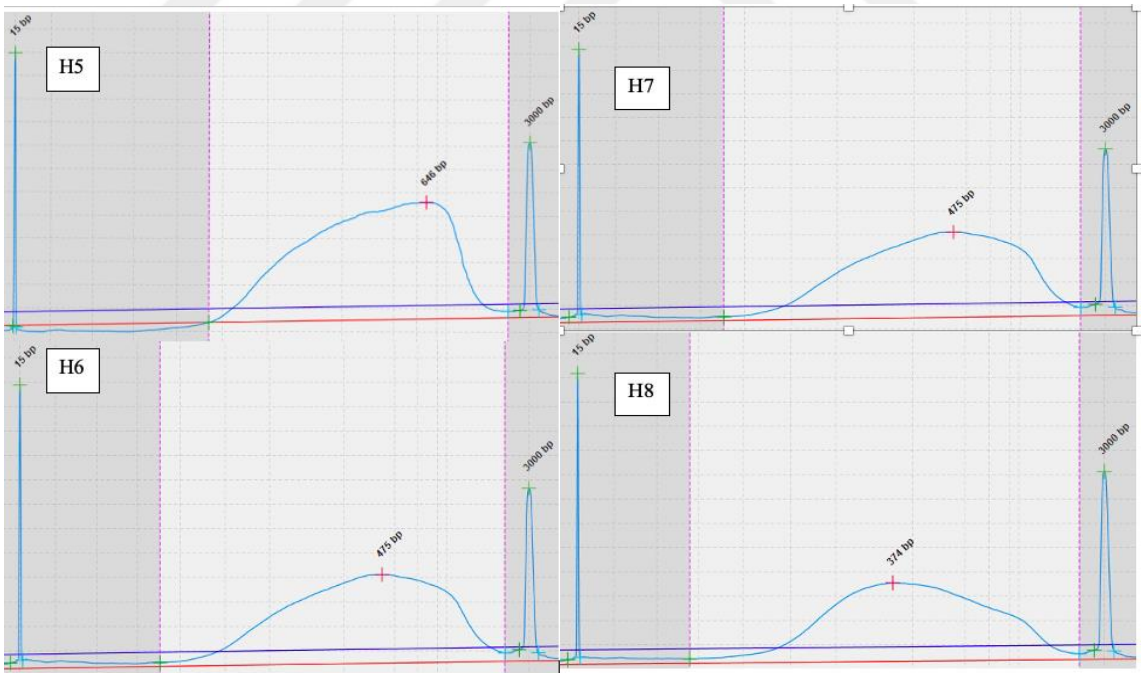
Şekil 5. 23 Hastanın kitaplık ürünlerinin jel görüntüsü



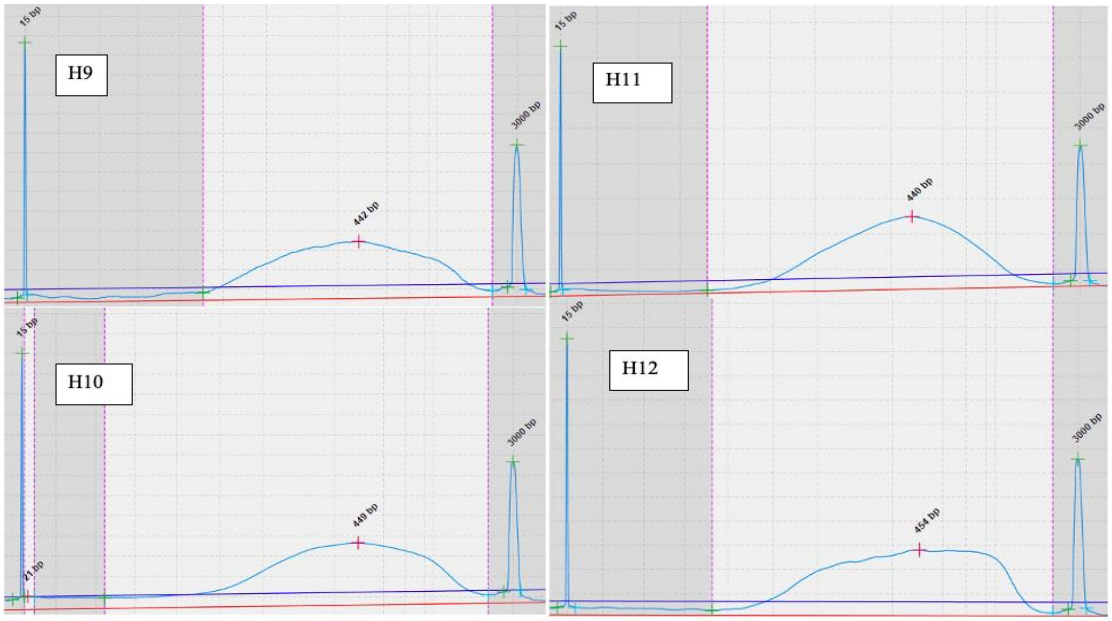
Şekil 6. 15 bp-3000 bp arası markır elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)



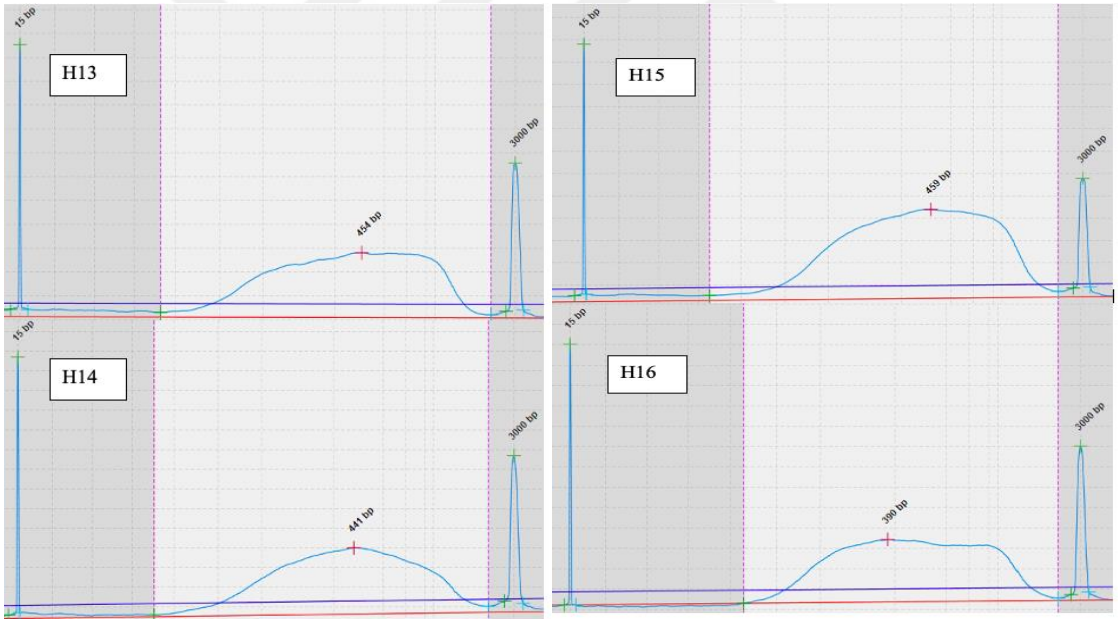
Şekil 7. H1- H4 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)



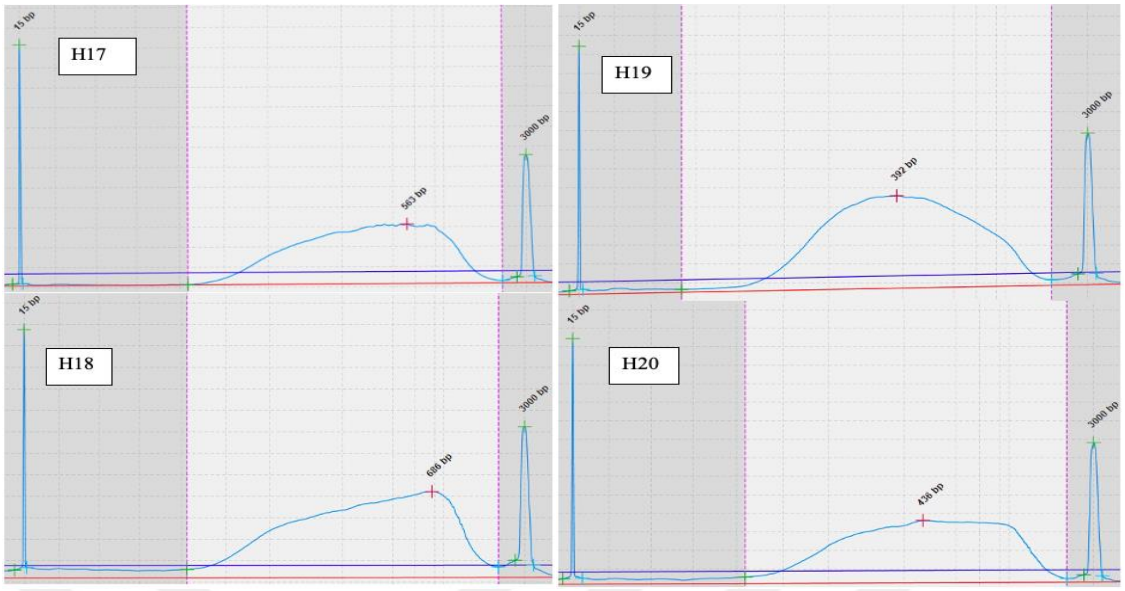
Şekil 8. H5- H8 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)



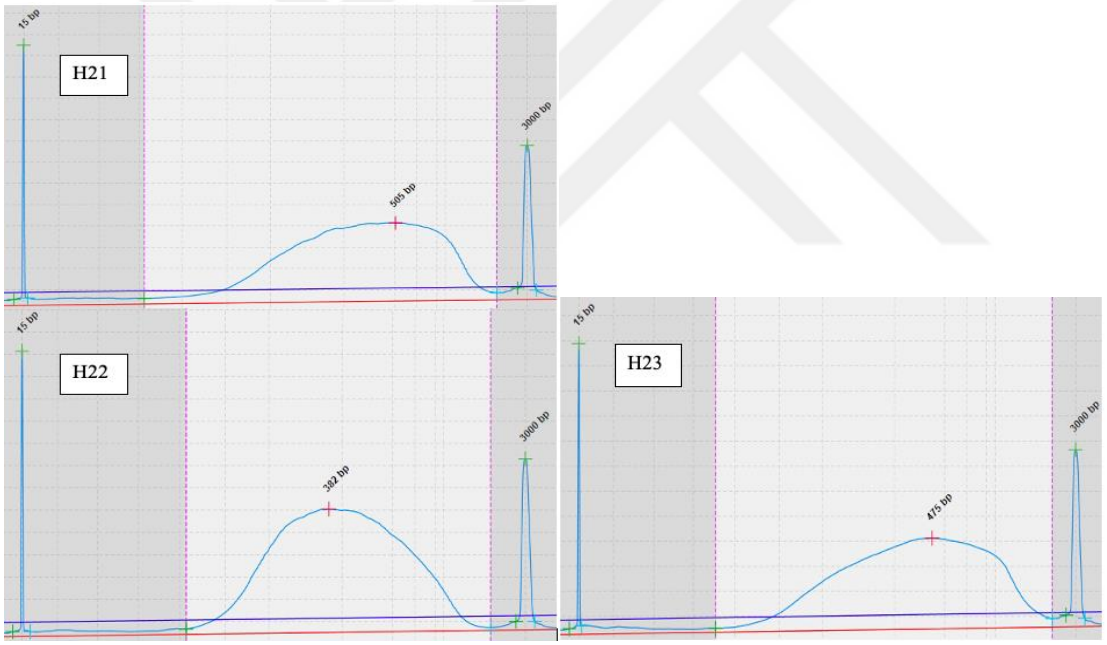
Şekil 9. H9- H12 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)



Şekil 10. H13- 16 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)



Şekil 11. H17- H20 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)



Şekil 12. Şekil X. H21- H23 arası DNA kütüphane ürünlerinin elektroferogram görüntüsü (QIAxcel Software)

4.4. Kitaplık Ürünlerinin (Qiaseq Quant Assay) Rotor-Gene Q ile Değerlendirilmesi

23 Hasta ve Illumina Miseq NGS protokolüne göre 5 standart RT-PZR yöntemiyle (Rotor gene Q) örneklerin birleştirilmesi aşaması öncesinde kalite kontrol değerlendirilmesi ve uygun örneğin birleştirilmesi açısından değerlendirilir. Illumina Miseq protokolüne uygun C_T değeri kabul edilir. Uygun C_T değeri standart C_T aralığı değerleri ile kıyaslanarak belirlenir. Çizelge 31'de 23 hastanın kitaplık ürünlerinin ve standarların C_T değerleri yer almakta olup, Çizelge 32'de 23 hastanın pM ve nM cinsinden konsantrasyonları yer almaktaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda örnekler birleştirilmeye ve Miseq cihazına yüklenmeye uygundur.

Çizelge 31. 23 hastanın kitaplık ürünlerinin 1:5000 ve 1:50000 dilüsyon oranlarıyla C_T değerleri

Hastalar	**Dilusyon Oranı**	**Değer 1 (C_T)**	**Değer 2 C_T)**	**Değer 3 (C_T)**	**Ortalama Değer (C_T)**	**Standart Sapma**
Standart1		10,95	10,92	11,01	10,96	0,045826
Standart2		14,28	13,81	14,21	14,1	0,253574
Standart3		17,31	17,55	17,19	17,35	0,183303
Standart4		20,4	20,49	20,59	20,49333333	0,095044
Standart5		23,14	23,36	23,52	23,34	0,190788
H1 dil. 1	5000	11,03	11,03	11,03	11,03	0
H1 dil. 2	50000	14,05	14,05	14,05	14,05	2,18E-15
H2 dil. 1	5000	10,52	10,52	10,52	10,52	0
H2 dil. 2	50000	13,78	13,78	13,78	13,78	0
H3 dil. 1	5000	10,95	10,95	10,95	10,95	2,18E-15
H3 dil. 2	50000	13,95	13,95	13,95	13,95	2,18E-15
H4 dil. 1	5000	10,85	10,85	10,85	10,85	0
H4 dil. 2	50000	14,35	14,35	14,35	14,35	0
H5 dil. 1	5000	10,44	10,44	10,44	10,44	0
H5 dil. 2	50000	13,57	13,57	13,57	13,57	0
H6 dil. 1	5000	10,9	10,9	10,9	10,9	0
H6 dil. 2	50000	14,08	14,08	14,08	14,08	0
H7 dil. 1	5000	10,9	10,9	10,9	10,9	0
H7 dil. 2	50000	14,01	14,01	14,01	14,01	0
H8 dil. 1	5000	10,88	10,88	10,88	10,88	0
H8 dil. 2	50000	14,08	14,08	14,08	14,08	0
H9 dil. 1	5000	10,58	10,58	10,58	10,58	0

Çizelge 3.1. devamı

H9 dil. 2	50000	13,89	13,89	13,89	13,89	0
H10 dil. 1	5000	10,76	10,76	10,76	10,76	0
H10 dil. 2	50000	14,41	14,41	14,41	14,41	2,18E-15
H11 dil. 1	5000	10,94	10,94	10,94	10,94	0
H11 dil. 2	50000	14,28	14,28	14,28	14,28	0
H12 dil. 1	5000	10,84	10,84	10,84	10,84	2,18E-15
H12 dil. 2	50000	14,34	14,34	14,34	14,34	2,18E-15
H13 dil. 1	5000	11,12	11,12	11,12	11,12	0
H13 dil. 2	50000	14,51	14,51	14,51	14,51	0
H14 dil. 1	5000	10,83	10,83	10,83	10,83	0
H14 dil. 2	50000	14,15	14,15	14,15	14,15	0
H15 dil. 1	5000	10,72	10,72	10,72	10,72	0
H15 dil. 2	50000	14,3	14,3	14,3	14,3	2,18E-15
H16 dil. 1	5000	10,85	10,85	10,85	10,85	0
H16 dil. 2	50000	14,46	14,46	14,46	14,46	0
H17 dil. 1	5000	10,54	10,54	10,54	10,54	0
H17 dil. 2	50000	13,89	13,89	13,89	13,89	0
H18 dil. 1	5000	10,97	10,97	10,97	10,97	0
H18 dil. 2	50000	14,32	14,32	14,32	14,32	0
H19 dil. 1	5000	10,95	10,95	10,95	10,95	2,18E-15
H19 dil. 2	50000	14,27	14,27	14,27	14,27	2,18E-15
H20 dil. 1	5000	11,15	11,15	11,15	11,15	0
H20 dil. 2	50000	14,59	14,59	14,59	14,59	2,18E-15
H21 dil. 1	5000	10,73	10,73	10,73	10,73	2,18E-15
H22 dil. 2	50000	14,06	14,06	14,06	14,06	0
H22 dil. 1	5000	10,65	10,65	10,65	10,65	0
H23 dil. 2	50000	14,06	14,06	14,06	14,06	0
H23 dil.1	5000	10,82	10,82	10,82	10,82	0
H23 dil.2	50000	13,72	13,72	13,72	13,72	0

Çizelge 32. 23 Hastanın pM ve nM cinsinden konsantrasyonları

Hastalar	pM	nM	Hastalar	pM	nM
Standart1	20		**H12 dil. 1**	107977,6	108
Standart2	2		**H12 dil. 2**	81256,6	82
Standart3	0,2		**H13 dil. 1**	87792,2	88
Standart4	0,02		**H13 dil. 2**	71662,1	72
Standart5	0,002		**H14 dil. 1**	108778,7	109
H1 dil. 1	93830,7	94	**H14 dil. 2**	93507,7	94
H1 dil. 2	100680,8	101	**H15 dil. 1**	117992,1	118
H2 dil. 1	136789,1	137	**H15 dil. 2**	83694,8	84
H2 dil. 2	122917,7	123	**H16 dil. 1**	107182,5	108
H3 dil. 1	99546,2	100	**H16 dil. 2**	74360,0	75
H3 dil. 2	108404,1	109	**H17 dil. 1**	134781,9	135
H4 dil. 1	107182,5	108	**H17 dil. 2**	113319,7	114
H4 dil. 2	80658,2	81	**H18 dil. 1**	98085,5	99
H5 dil. 1	145121,2	146	**H18 dil. 2**	82466,7	83
H5 dil. 2	143556,6	144	**H19 dil. 1**	99546,2	100
H6 dil. 1	103293,8	104	**H19 dil. 2**	85571,3	86
H6 dil. 2	98472,9	99	**H20 dil. 1**	85866,9	86
H7 dil. 1	103293,8	104	**H20 dil. 2**	67547,7	68
H7 dil. 2	103701,8	104	**H21 dil. 1**	117123,2	118
H8 dil. 1	104832,1	105	**H21 dil. 2**	99939,4	100
H8 dil. 2	98472,9	99	**H22 dil. 1**	124257,5	125
H9 dil. 1	130855,5	131	**H22 dil. 1**	99939,4	100
H9 dil. 2	113319,7	114	**H23 dil.1**	109585,6	110
H10 dil. 1	114554,8	115	**H23 dil.2**	128491,4	129
H10 dil. 2	77159,4	78			
H11 dil. 1	100284,7	101			
H11 dil. 2	84941,1	85			

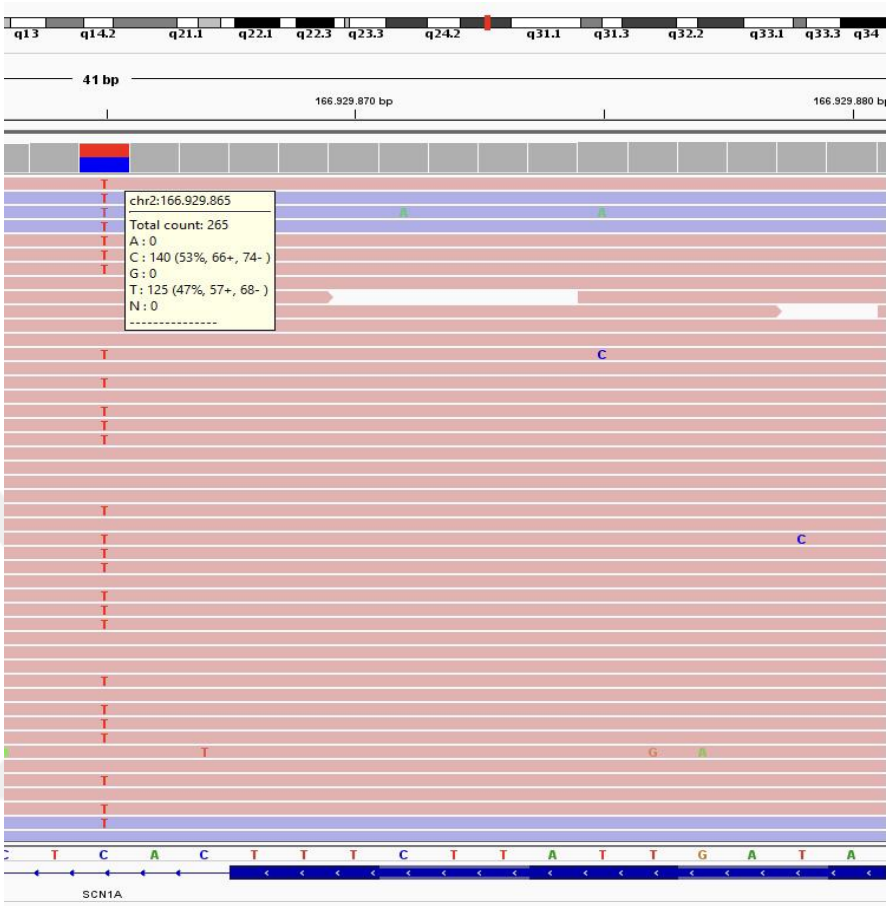
4.5. Hastalarda saptanan mutasyonlar

Periferik kandan elde edilen DNA materyalinden epilepsi ilişkili 32 gen; SCN1A, SCN2A, SCN9A, SCN1B, GABRG2, SCN3A, TAP1, BRD2, EFHC1, GABRA1, EPM2A, KCTD7, KCNQ3, KCNJ10, SLC2A1, KCNK9, GABRB3, LGI1, TBC1D24, DEPDC5, TBC1D22A, ATP1A2, GRIN2A, CACNA1A, CHRNA2, CHRNA4, CHRNB2, KCNT1, KCNA1, KCNMA1, KCNMB3, KCNQ2, KCNQ3, STXBP1 ve 1463 primer ile yeni nesil dizileme çalışması yapıldı. Elde edilen DNA kitaplığının kalite kontrol parametrelerini geçmesiyle örneklerin sekanslaması gerçekleştirildi (Illumina Miseq). Sekanslama sonrası tespit edilen varyantlar veri tabanları (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/, http://exac.broadinstitute.org) ve in-siliko algoritmalar (http://sift.jcvi.org/, http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/) ile değenlendirildi. Ek olarak klinik etkisi belirsiz ve muhtemel patojenik varyant tespit edilen hastaların ailelerinde doğrulama gerçekleştirilmiştir. Hastaların ve doğrulama yapılan ailelerin tespit edilen mutasyonları Çizelge 33'de yer almaktadır.

Çizelge 33. Hastaların tespit edilen mutasyonları

Hasta	Gen /Transkript	Bölge	Nükleotid Değişimi	Aminoasid Değişimi	Sınıflama	Bilinen Mutasyon	
						Anne	Baba
H1	SCN1ANM_001165963.3	Intron 4	c.264+3G>A Heterozigot	-	Klinik Etkisi Belirsiz	+	-
H2	SCN1ANM_001165963.3	Intron 4	c.264+3G>A Heterozigot	-	Klinik Etkisi Belirsiz	+	-
H3	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H4	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H5	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H6	CHRNA2NM_000742.4	Ekzon 5	c.402G>C Heterezigot	(p.Arg134Ser)	Klinik Etkisi Belirsiz	DY	DY
H7	CACNA1ANM_001127222.2	Ekzon 11	c.1438C>T Heterezigot	(p.Arg480Cys)	Klinik Etkisi Belirsiz	-	+
H8	SLC2A1NM_006516.4	Ekzon5	c.600G>C Heterezigot	(p.Gln200His)	Patojenik	?	?
	CACNA1ANM_001127222.2	Ekzon 47	c.6974_6976dupAGG Heterezigot	p.Gln2325_Ala232insGlu	Klinik Etkisi Belirsiz		
	KCNMA1NM_001161353.2	Ekzon1	c.364G>A Heterezigot	(p.Gly122Arg)	Klinik Etkisi Belirsiz		
H9	KCNMB3NM_171829.2	Ekzon 2	c.192C>G Heterezigot	(p.Leu64=)	Klinik Etkisi Belirsiz	?	?
H10	BRD2NM_001199455.1	Ekzon2	c.145_146delGCinsTG Heterezigot	(p.Ala49Cys)	Klinik Etkisi Belirs Klinik Etkisi Belirsiz iz	-	-
	EFHC1 NM_018100.4	Ekzon 9	c.1504C>T Heterezigot	p.Arg483Trp)		-	+
H11	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H12	TBC1D24NM_001199107.2	Ekzon 2	c.74A>G Heterezigot	p.Lys25Arg	Klinik Etkisi Belirsiz	?	?
H13	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H14	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H15	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H16	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H17	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H18	CACNA1ANM_001127222.2	Ekzon20	c.3410C>G Heterezigot	(p.Pro1137Arg)	Klinik Etkisi Belirsiz	?	?
H19	SCN3ANM_001081676.2	Exon 7	c.654C>G Heterezigot	(p.Phe218Leu)	Klinik Etkisi Belirsiz	DY	DY
H20	GRIN2ANM_000833.5	Exon 6	c.1265T>C Homozigot	(p.Ile422Thr)	Klinik Etkisi Belirsiz	?	?
H21	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY-
H22	Patojenik varyant saptanmamıştır	-	-	-	-	DY	DY
H23	TBC1D221NM_014346.4	Ekzon 9	c.1057G>A Heterezigot	(p.Ala353Thr)	Klinik Etkisi Belirsiz	?	?

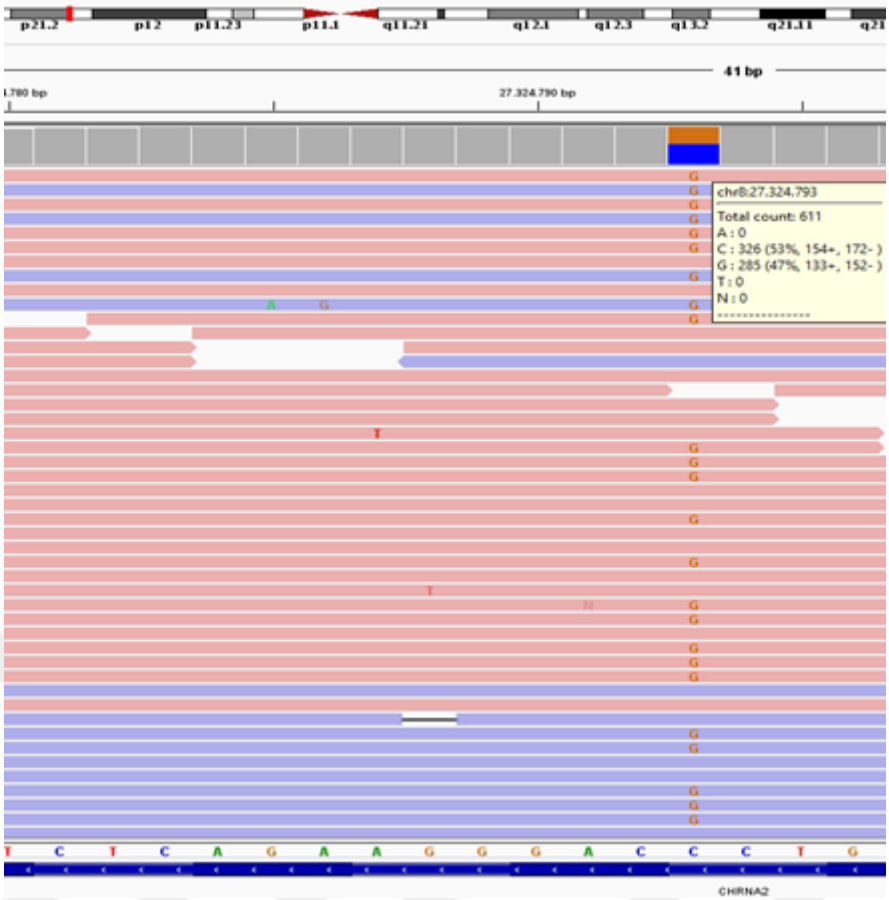
4.6. Mutasyon saptanan hastaların IGV (Integrative Genomics Viewer) görüntüleri



Şekil 13. H1 ve H2' de saptanan SCN1A geni c.264+3G>A heterezigot mutasyonu

Çizelge 34. H1 ve H2 varyant detayları

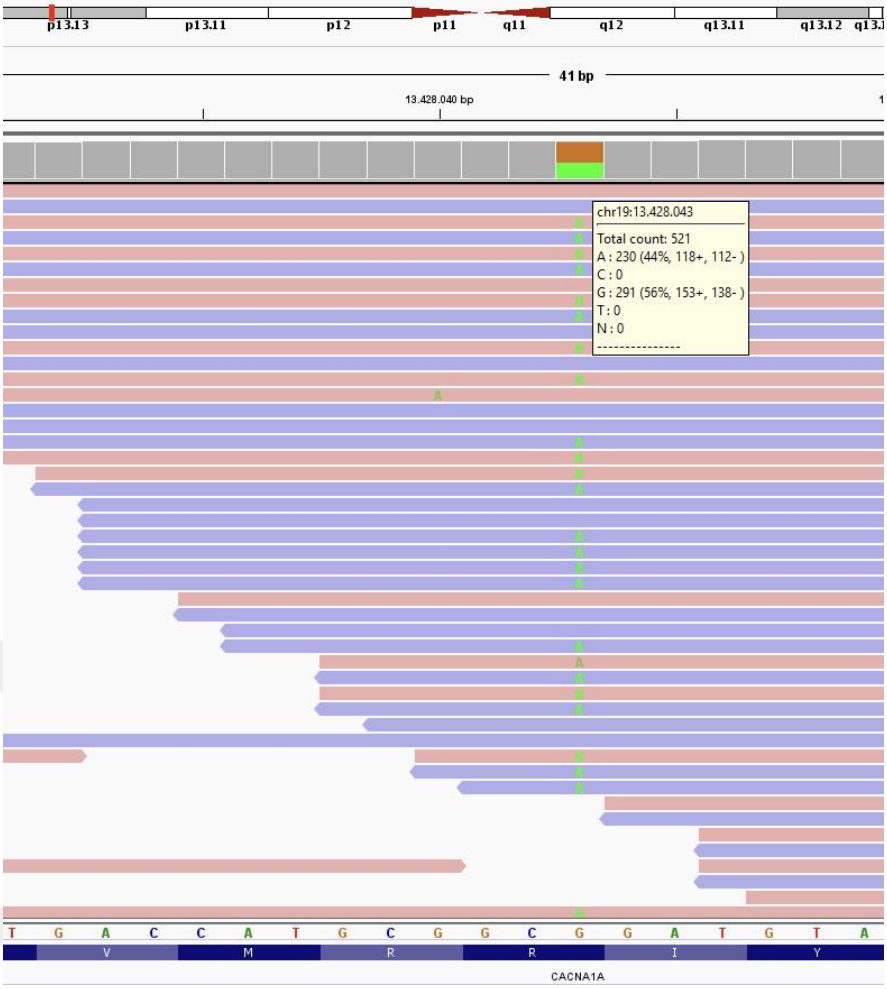
Kromozom	**2**
Pozisyon (IGV)	166929865
Gen bölgesi	İntron 4
Sitobant	q24.3
Varyant	c.264+3G>A
Protein varyantı	-
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	SCN1A



Şekil 14. H6' da saptanan CHRNA2 c.402G>C heterezigot mutasyonu

Çizelge 35. H6 varyant detayları

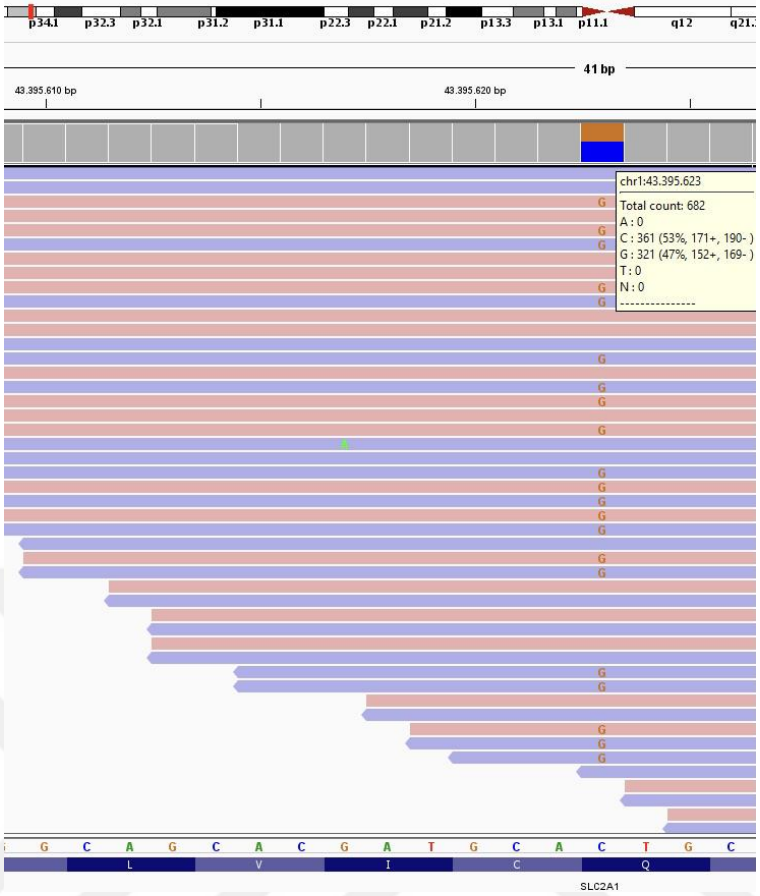
Kromozom	**8**
Pozisyon (IGV)	27324793
Gen bölgesi	Exonic 5'UTR
Sitobant	p21.2
Varyant	c.402 G>C
Protein varyantı	p.R134S
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	CHRNA2



Şekil 15. H7'de saptanan CACNA1A c.1438C>T heterezigot mutasyonu

Çizelge 36. H7 varyant detayları

Kromozom	**19**
Pozisyon (IGV)	13428043
Gen bölgesi	Ekzon 11
Sitobant	p.13.2
Varyant	c.1438C>T
Protein varyantı	p.Arg480Cys
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	CACNA1A



Şekil 16. H8'de saptanan SLC2A1 c.600G>C heterezigot mutasyonu

Çizelge 37. H8 SLC2A1 geni varyant detayları

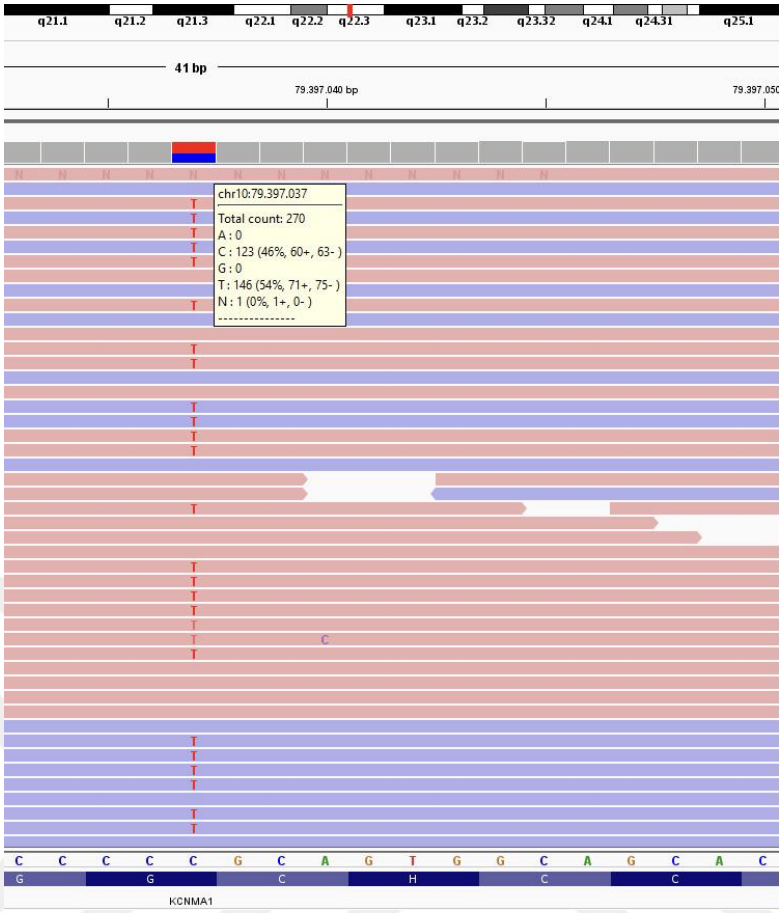
Kromozom	**1**
Pozisyon (IGV)	43395623
Gen bölgesi	Ekzonik
Sitobant	p34.2
Varyant	c.600G>C
Protein varyantı	p.Q200H
Varyasyon	SNP- fonksiyon kaybı
Etkilenen Gen	SLC2A1



Şekil 17. H8'de saptanan CACNA1A c.6974_6976dupAGG heterezigot mutasyonu

Çizelge 38. H8 CACNA1A geni varyant detayları

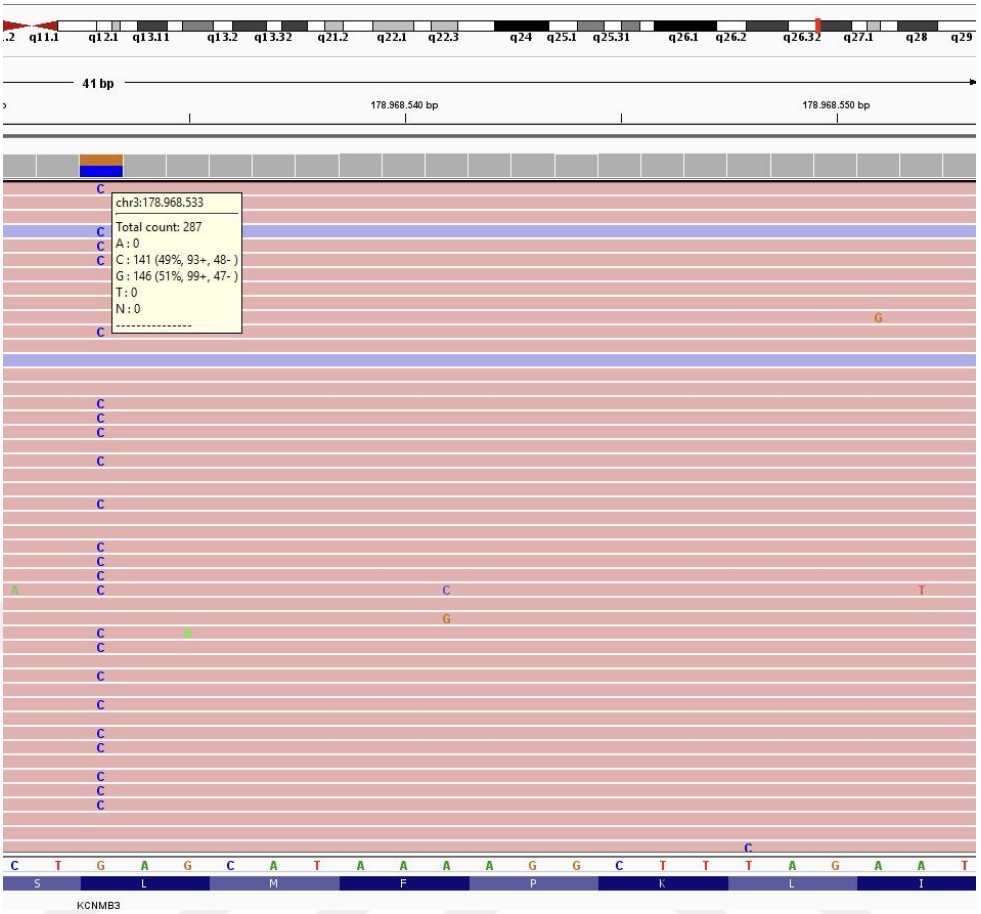
Kromozom	**19**
Pozisyon (IGV)	13318671
Gen bölgesi	Ekzonik, 3'UTR
Sitobant	p13.2
Varyant	c.6974_6976dupAGG
Protein varyantı	p.Q2325_Ala2326insE
Varyasyon	İnsersiyon- fonksiyon kaybı
Etkilenen Gen	CACNA1A



Şekil 18. H8' de saptanan KCNMA1 c.364G>A mutasyonu

Çizelge 39. H8 KCNMA1 geni varyant detayları

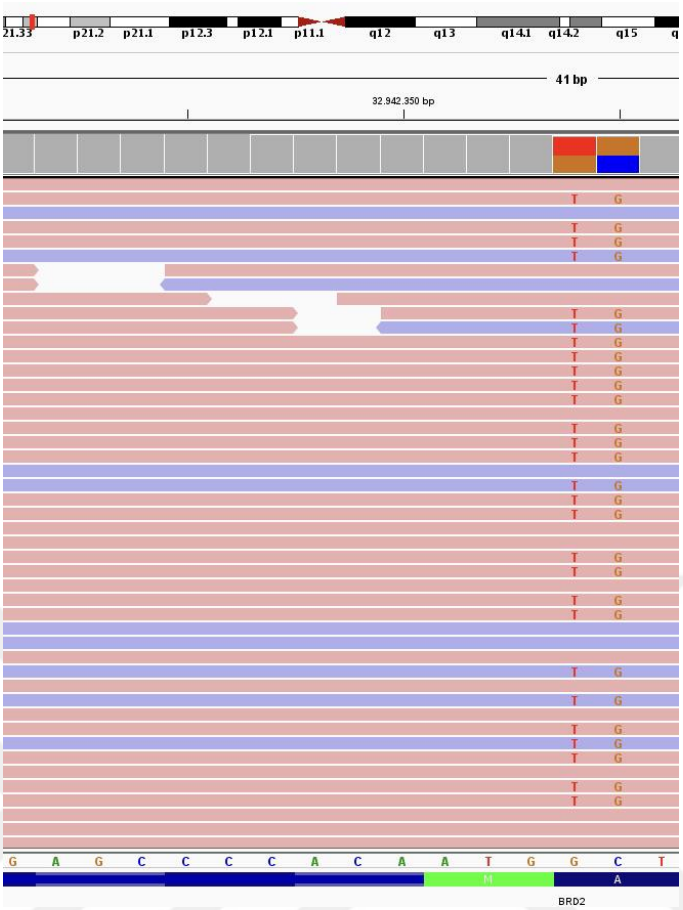
Kromozom	**10**
Pozisyon (IGV)	79397037
Gen bölgesi	Ekzonik
Sitobant	q22.3
Varyant	c.364G>A
Protein varyantı	p.G122R
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	KCNMA1



Şekil 19. H9'da saptanan KCNMB3 geni c.192C>G heterezigot mutasyonu

Çizelge 40. H9 varyant detayları

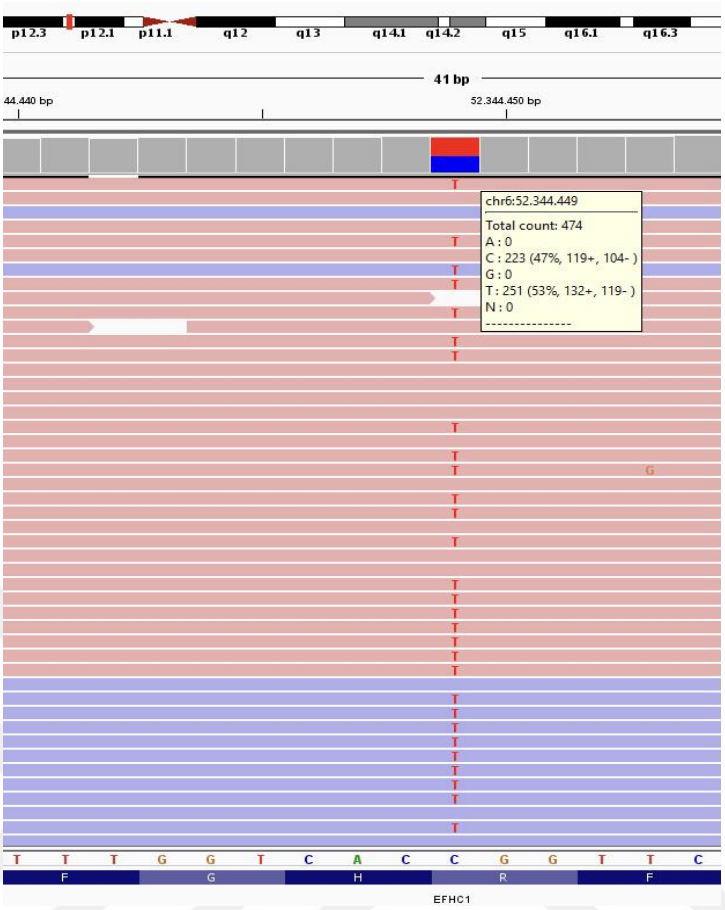
Kromozom	**3**
Pozisyon (IGV)	178968533
Gen bölgesi	Ekzonik
Sitobant	q26.32
Varyant	c.192C>G
Protein varyantı	p.L64L
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	KCNMB3



Şekil 20. H10'da saptanan BRD2 geni c.145_146delGCinsTG heterezigot mutasyonu

Çizelge 41. H10 BRD2 geninde saptanan mutasyonun varyant detayları

Kromozom	**6**
Pozisyon (IGV)	32942354
Gen bölgesi	Ekzonik; 5'UTR
Sitobant	p.21.32
Varyant	c.145_146delGCinsTG
Protein varyantı	p.A49C
Varyasyon	Subtitisyon
Etkilenen Gen	BRD2



Şekil 21. H10'da saptanan EFHC1 geni c.1504C>T heterezigot mutasyonu

Çizelge 42. H10 EFHC1 geninde saptanan mutasyonun varyant detayları

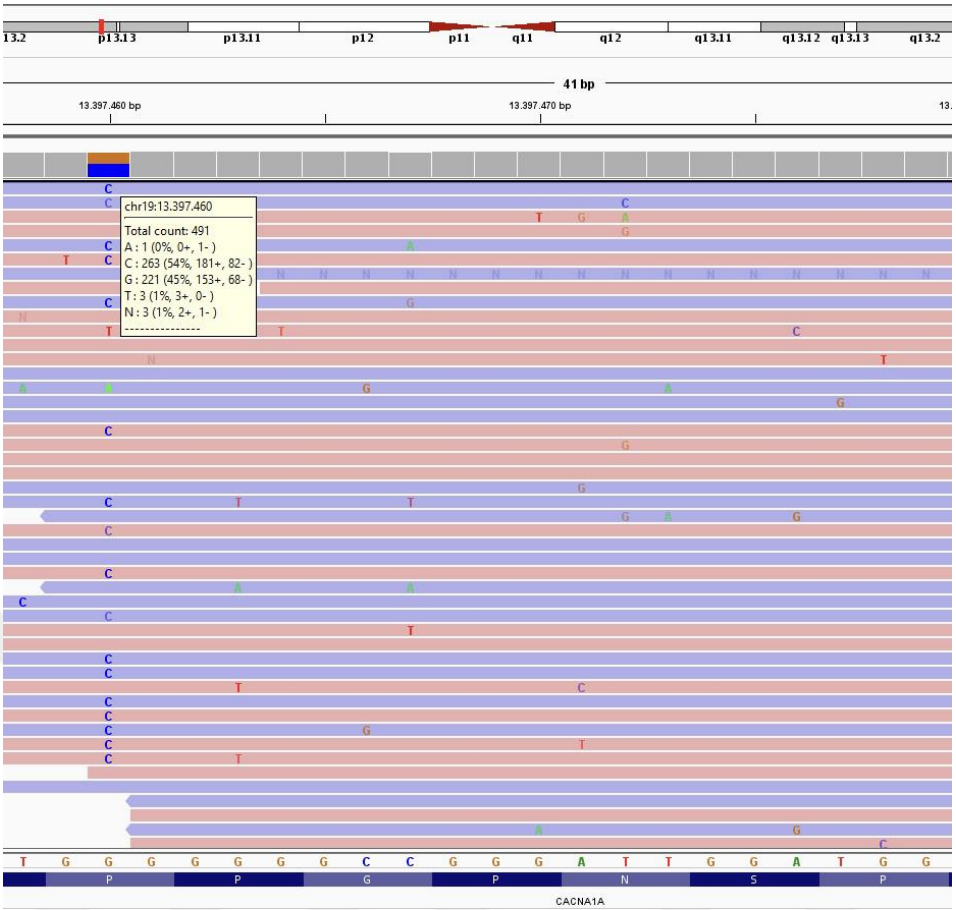
Kromozom	**6**
Pozisyon (IGV)	52344449
Gen bölgesi	Ekzonik; ncRNA
Sitobant	p12.2
Varyant	c.1504C>T
Protein varyantı	p.R483W
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	EFHC1



Şekil 22. H12' de saptanan TBC1D24 geni c.74A>G heterezigot mutasyonu

Çizelge 43. H12 varyant detayları

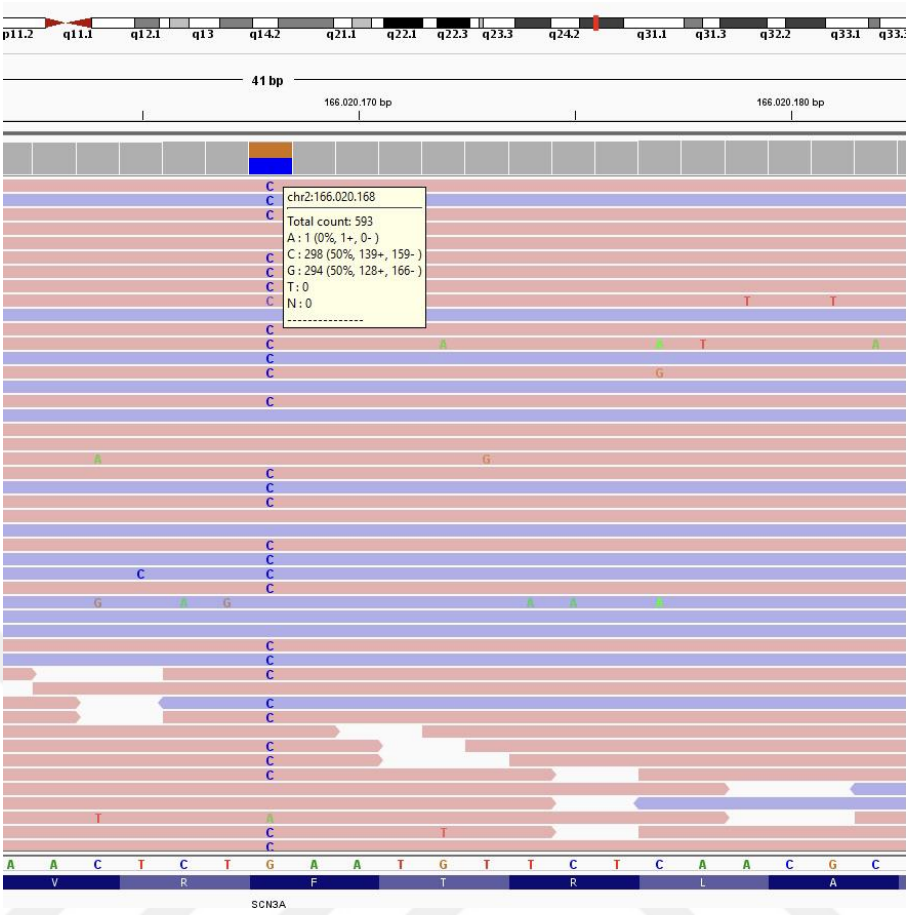
Kromozom	**16**
Pozisyon (IGV)	25446223
Gen bölgesi	Ekzonik
Sitobant	p13.3
Varyant	c.74A>G
Protein varyantı	p.K25R
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	TBC1D24



Şekil 23. H18'de saptanan CACNA1A geni c.3410C>G heterezigot mutasyonu

Çizelge 44. H18 varyant detayları

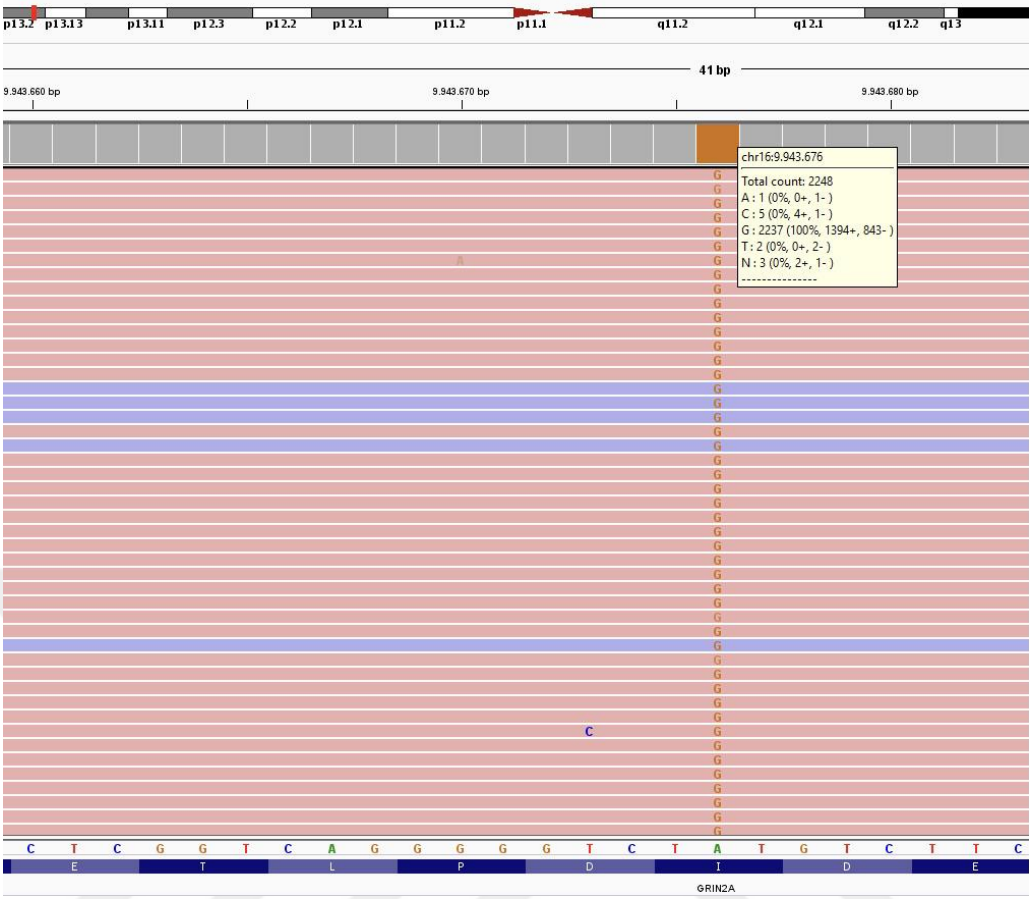
Kromozom	**19**
Pozisyon (IGV)	13397460
Gen bölgesi	Ekzonik
Sitobant	p13.2
Varyant	c.3410C>G
Protein varyantı	p.P1137R
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	CACNA1A



Şekil 24. H19'da saptanan SCN3A geni c.654C>G heterezigot mutasyonu

Çizelge 45. H19 varyant detayları

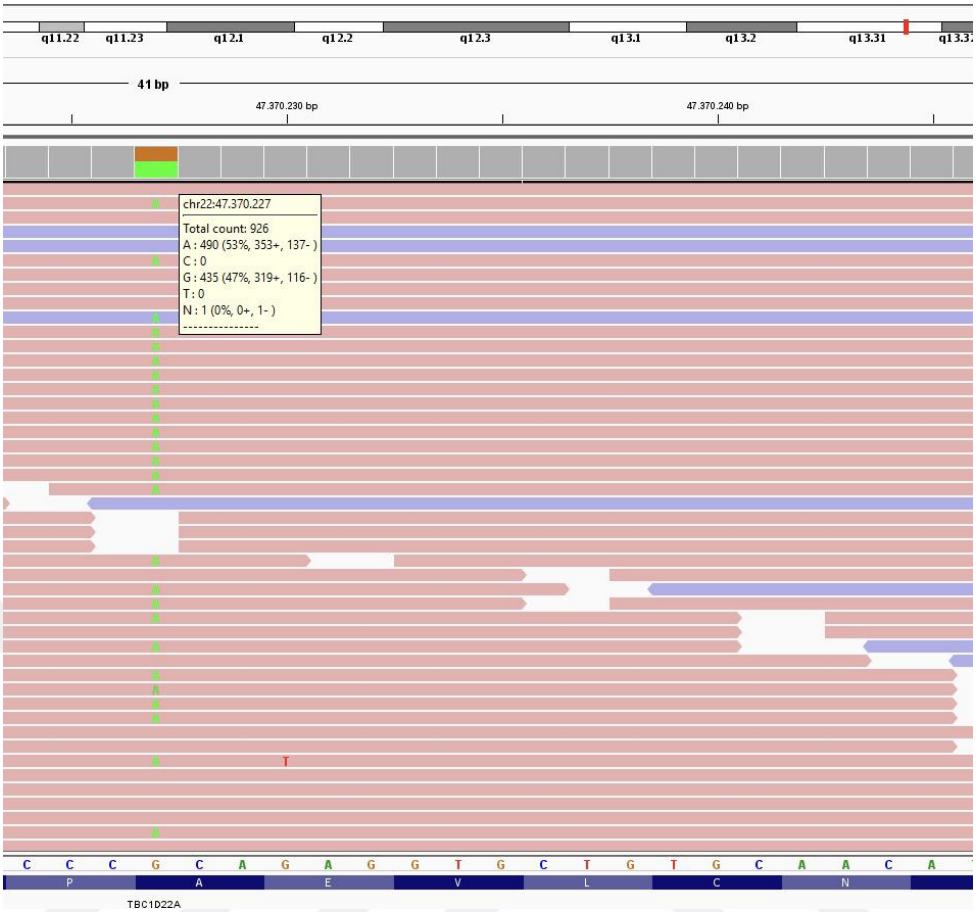
Kromozom	**2**
Pozisyon (IGV)	166020168
Gen bölgesi	Ekzonik; İntronik
Sitobant	q24.3
Varyant	c.654C>G
Protein varyantı	p.F218L
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	SCN3A



Şekil 25. H20'de saptanan GRIN2A geni c.1265T>C homozigot mutasyonu

Çizelge 46. H20 varyant detayları

Kromozom	**16**
Pozisyon (IGV)	9943676
Gen bölgesi	Ekzonik
Sitobant	p13.2
Varyant	c.1265T>C
Protein varyantı	p.I422T
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	GRIN2A



Şekil 26. H23'de saptanan TBC1D221 geni c.1057G>A heterezigot mutasyonu

Çizelge 47. H23 varyant detayları

Kromozom	**22**
Pozisyon (IGV)	47370227
Gen bölgesi	Ekzonik; Intronik
Sitobant	q13.31
Varyant	c.1057G>A
Protein varyantı	p.A353T
Varyasyon	SNP
Etkilenen Gen	TBC1D221

5. TARTIŞMA

Epilepsi, kortikal nöronlarda meydana gelen elektriksel deşarj ve anormallik ile, provoke edilmemiş nöbetlerin tekrarlanması suretiyle ortaya çıkan kronik bir durum ve bozukluktur (1). Epilepsi, dünya genelinde yaklaşık 65 milyon kişiyi etkileyen ciddi nörolojik bir hastalıktır. Epilepsi tanısı konan kişilerin çoğu tedavi gördüğünden, prognoz genellikle tedavi sonrası nöbetsiz devam eder. ILAE kısa süre önce epilepsiyi; (a) 24 saatten fazla arayla meydana gelen en az iki provoke edilmemiş (ya da refleks) nöbet; (b) bir provoke edilmemiş (ya da refleks) nöbet ve sonraki 10 yıl içinde meydana gelen 2 provoke edilmemiş nöbetten sonra genel nüks etme riskine benzer başka nöbet olasılığı (en az %60); (c) epilepsi sendromunun tanısı'na bağlı kalarak tanımlamıştır (18, 113). Epileptik nöbet, beyinde anormal derecede aşırı ve senkronize nöronal aktiviteye bağlı semptomların geçici olarak ortaya çıkması durumu olarak tanımlanır (2). Epilepsi sınıflandırma çerçevesinin bir klinisyen tarafından başlangıç noktası nöbet tipidir. Nöbetler, konumlarına, klinik bulgulara, yayılım ve sürelerine bağlı olarak sınıflandırılır (2,5). Nöbetler temel olarak fokal, jeneralize ve bilinmeyen başlangıçlı olarak sınıflandırılır. Sınıflamanın 2. aşaması ise epilepsi tipidir; epileptik sendromlar ise klinik bulgu ve etiyolojilerine göre sınıflandırılırlar (5,10). ILAE tarafından oluşturulan sınıflandırma klinisyenin tanı koymasındaki en yönlendirici araçlardan bir tanesidir. Mevcut ILAE sınıflandırılması moleküler biyoloji, genetik, video-EEG ve nörogörüntüleme yöntemlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır.

Bu tez çalışmamızın amacı, idiyopatik epilepsi tanısı alan çocuk hastalarda (0-18 yaş) Yeni Nesil Dizileme yöntemiyle mutasyonların saptanması, hastaların klinik bulguları da göz önüne alınarak, mutasyonların hastaların kliniğine yansımasını değerlendirmektir. Mutasyon analizleri sonunda elde edilen verilerin hastaların klinik seyrini ve tedavisine katkıda bulunmak; aynı mutasyona sahip bireyler arasındaki klinik heterojeniteyi ortaya koymak amaçlanmıştır.

Bu amaç kapsamında, Adana Şehir Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıklarına bağlı Çocuk Nöroloji Anabilim Dalı tarafından Genetik Tanı Merkezine idiyopatik epilepsi tanısıyla gönderilen 23 hastanın (H1-H2, H3-H4, H20-H21 kardeş) ve muhtemel patojenik ve klinik etkisi bilinmeyen varyant saptanan hastaların ailelerinde aynı mutasyon analizi yapılmış olup; EEG, nöbet tipi ve sıklığı, antiepileptik sayısı gibi

klinik parametmerelerle, psikiyatrik ve davranış özellikleri de göz önüne alınarak hastaların bulguları değerlendirildi ve epilepsi paneli çerçevesinde gen mutasyon analizleri gerçekleştirildi.

İdiyopatik epilepsi tanısı alan 23 hastanın periferik kandan izole edilen DNA materyalinden hastaların epileptik mutasyonlarının belirlenmesi açısından YND yöntemiyle bir dizi epilepsiyle ilişkili gen analizi yapılmış olup bu genler; SCN1A, SCN2A, SCN9A, SCN1B, GABRG2, SCN3A, TAP1, BRD2, EFHC1, GABRA1, EPM2A, KCTD7, KCNQ3, KCNJ10, SLC2A1, KCNK9, GABRB3, LGI1, TBC1D24, DEPDC5, TBC1D22A, ATP1A2, GRIN2A, CACNA1A, CHRNA2, CHRNA4, CHRNB2, KCNT1, KCNA1, KCNMA1, KCNMB3, KCNQ2, KCNQ3 ve STXBP'dir.

Hastaların epileptik mutasyonlarının belirlenmesi amacıyla yapılan YND çalışması sonucunda; H3, H4, H5, H11, H14, H15, H16, H17 ve H22'de patojenik varyant tespit edilmemiştir. H1, H2, H6, H7, H8, H9, H10, H12, H13, H18, H19, H20, H21 ve H23'te ise daha önce bahsedilen epilepsi gen paneli içerisinde yer alan genlerin bazılarında çeşitli mutasyonlar saptanmış olup; her bir hastanın klinik değerlendirmesi ve mutasyon analizleri önceki çalışmalarla kıyaslanarak yapılmıştır.

Voltaj-bağlı sodyum kanalları, intraselüler ve ekstraselüler boşluklar arasındaki sodyum değişimini düzenleyen heteromerik komplekslerdir, kas hücreleri ve nöronlarda aksiyon potansiyellerinin oluşturulması ve yayılması için gereklidir. Her bir sodyum kanalı porlar oluşturan, glikosile edilmiş alfa alt birimi ve iki küçük beta alt biriminden oluşur ve her biri altı transmembran bölge içeren dört homolog alana sahip bir sodyum kanalı alfa alt birimini kodlar (114). SCN1A geni, NaV1.1 adı verilen sodyum kanallarının alfa alt birimlerini yapmak için talimatlar veren bir gen ailesine aittir. Pozitif yüklü sodyum iyonlarının hücrelere akışını kontrol eden bu kanallar, öncelikle beyinde bulunur ve bir hücrenin elektrik sinyalleri üretme ve iletme kabiliyetinde önemli rol oynar.

SCN1A geninin sitogenik lokazisyanonu 2q24.3 ve genomik koordinatları (GRCh38): 2:165,984,640-166,149,160 (*NCBI)*' dır. Mulley ve arkadaşları bilinen tüm epilepsi genleri arasında SCN1A'nın klinik olarak en uyumlu ve epilepsiyle ilişkili mutasyonların en fazla sayıda olduğunu belirtti (115). SCN1A ile ilişkili hastalıklar arasında tamamı otozomal dominant kalıtılan Dravet sendromu, GEFS+ tip 2, Febril nöbetler, ailesel, 3A ve migren, ailesel hemiplejik 3 yer almaktadır. GEFS+, çocuklar

ve yetişkinlerde ateşli nöbetlerle karakterize otozomal dominant kalıtılan bir hastalık olup SCN1A geniyle ilişkilendirilen birçok çalışma mevcuttur. Escayg ve ark. 2 akrabalık ilişkisi bulunmayan GEFS+ hastada SCN1A Thr875Met ve Arg1648His mutasyonları tanımlamışlar. Daha sonraki çalışmalarında ise buna ek olarak W1204R mutasyonu tanımlamışlar fakat bu mutasyonun IJE'ye önemli bir katkıda bulunmadığı rapolamışlardır (116, 117). Wallace ve arkadaşları 3 akrabalık ilişkisi olmayan GEFS+ hastada yanlış anlamlı SCN1A A ailesinde D188V, B ailesinde V1353L ve C ailesinde I1656M mutasyonu tanımlamışlardır (118). Orrico ve ark. yaptığı bir çalışmada ise 150 italyan pediatrik epilepsi probandın %14.66'sında; 14'ü yeni olmak üzere 21 SCN1A mutasyonu tanımlamış, genel hasta popülasyonunda ise 21,2 GEFS+, %75 Dravet sendromuyla ilişkilendirmişlerdir (119).

SCN1A genindeki mutasyonlar erken başlangıçlı epileptik sendromlardan en yaygın olan otozomal dominant kalıtılan Dravet sendromuyla (diğer adıyla SMEI) ilişkilidir (120).

Claes ve ark. Dravet sendromları ve buna bağlı SCN1A mutasyonları ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, Dravet sendromu tanısı almış 7 hastanın 5'inde frameshift delesyon ve insersiyonlar c.657-658delAG, c.5010-5013delGTTT, c.5536-5539delAAAC ve c.3299-3300insAA ; 1 tanesinde c.664C→T yanlış anlamlı mutasyon ve 1 tanesinde intron 22' de korunmuş GT konsensüs sekansında bir G → A geçişi belirlediklerini raporlamışlardır (121).

Sugawara ve ark. yaptığı bir çalışmada 12 akrabalık ilişkisi bulunmayan Dravet sendromlu hastada SCN1A ve SCN2A genlerinin kodlanan tüm ekzon ve splyaz bölgeleri üzerinde; üçü framshift, 7'si anlamsız toplamda 10 heterojen mutasyon tespit ettiklerini bildirdiler. Frameshift mutastyonlar c.2841delC:Asp947fsX962 , c.4977–4980delGTTT:Leu1659fsX1667, c.5679– 5682insATCA: Leu1659fsX1667, diğer 7 anlamsız mutasyon ise c.2101C3T: Arg701X, c.3578G3A: Trp1193X, c.4186C3T: Arg1396X, c.4514C3A: Ser1505X (üç hasta) ve c.5641C3T: Arg1881X olarak raporlanmıştır (122).

Ohmori ve ark. Dravet sendromu tanısı almış 29 hastada yapmış oldukları SCN1A mutasyon analizlerinde ; 29 hastanın 24'ünde de novo heterezigot delesyon, insersiyon, yanlış anlamlı ve anlamsız mutasyonlar tespit ettiler (123). Depienne ve ark., Dravet sendromlu 333 hastanın 242'sinde (%73) SCN1A geninde yaptıkları mutasyon

analizinde 161 yeni nokta mutasyonu dahil olmak üzere patojenik mutasyonlar ve delesyonlar tanımladı (124).

Zucca ve ark. yaptıkları çalışmada 12 tanesi yeni olmak üzere toplamda 13 yeni SCN1A mutasyonu tanımladılar. Bu çalışmada 10 hasta Dravet sendromlu, 1 hasta GEFS+ ve 1 hastada ciddi zeka geriliği ve fokal epilepsiyi düşündüren hemiklonik nöbetlere dönüşen GCTS olduğu vurganlanmıştır (125).

Dichgans ve ark. ailesel hemiplejik migren tanısı alan 3 hastada yaptıkları çalışmada SCN1A, heterezigot yanlış anlamlı Gln1489Lys mutasyonu tespit etti (126).

Mantegazza ve ark. Ailesel ateşli nöbetler-3A tanılı italyan bir ailenin etkilenen üyelerinde SCN1A genine bağlı heterezigot M145T mutasyonu tespit ettiklerini bildirdiler (127).

SCN1A geniyle yapılan çalışmalara bakıldığında, literatürde absans epilepsi tanısı almış bir bireyde anlamlı SCN1A mutasyonu tanımlanmamıştır.

H1 ve H2 kardeş olup aynı zamanda ebeveynleri arasında 1.derecede akrabalık mevcut ve her iki kardeşinde SCN1A, intron 4, c.264+3G>A Heterozigot mutasyon tespit edilmesinin ardından aile çalışması sonucunda baba normal, annede heterezigot SCN1A, c.264+3G>A mutasyonu saptanmıştır, bunun dışında ailede bilinen pozitif epilepsi tanısı yoktur. H1 ve H2'nin kardeş olduğu bilinerek aynı mutasyonu taşımalarına rağmen, farklı klinik bulgu ve tedaviye sahip oldukları görülmektedir. Başlangıçta sık dalma nöbeti şikayetiyle gelen ve atipik absans epilepsi tanısı koyulan, tekli antiepileptik tedavisiyle (VPA) yaklaşık 1.5 yıl gibi kısa bir süre içerisinde EEG'si normale dönen ve nöbetsiz yaşamına devam eden ve herhangi bir davranış problemleri olmayan H1 ile; başlangıçta sık dalma nöbeti şikayetiyle gelen aktif fokal epileptik bozukluk tanısı koyulan ve devamında VPA tedavisi başlanan hasta 3 yıldır takipli olup EEG'sinin normale dönmememesi, sık olmayacak şekilde nöbetlerin devam etmesi ,aşırı sinirlilik, kekemelik ve okulda ve evde mastürbasyon yapması gibi ciddi davranış problemleri göstermesiyle birlikte ablası H2'den aynı mutasyonu taşımalarına rağmen farklı klinik bulgular göstermektedir ve iki hastanın tedavisi birbirinden farklıdır. Tüm bu bilgiler ışığında; birbirinden farklı olarak ağır (dirençli) ve hafif klinik seyir gösteren bu kardeşler arasında aynı SCN1A c.264+3G>A mutasyonunun literatürde de absans epilepsi üzerine herhangi bir çalışma bulunmaması ve etkisinin bilinmemesi de göz önüne alınarak, tek başına bir ölçüt olmadığı ve çalışmanın devamında hasta kardeşler

arasındaki klinik ciddiyet farkına sebep olabilecek diğer mekanizmalar aydınlatılmalıdır.

Nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR'ler), farklı kas ve hızlı sinaptik iletimde yer aldıkları periferik ve merkezi sinir sistemi boyunca bulunan nöronal reseptörleri oluşturmak için alfa ve beta alt birimlerinin pentamerik bir düzenlemesiyle oluşturulan ligand kapılı iyon kanallarıdır ve şimdiye kadar 12 (α1-α10 ve β2-β4) nAChR tanımlanmıştır. Heteromerik nAChR'ler, frontal kortekste hem uyarıcı hem de inhibe edici iletimi ve normal ateşleme aktivisitesini kontrol eder ve hassas bir uyarma ve inhibasyon dengesi sağlar (128). CHRNA2 geni beyinde geniş çapta ifade edilen bir alfa alt birimini kodlar ve yapılan çalışmalar bu gendeki mutasyonların; epilepsi, nokturnal frontal lob epilepsisi ve otozomal dominant kalıtılan noktürnal frontal lob epilepsisi tip4' le ilişkilendirilmiştir. Bazı çalışmalar CHRNA2 geninde meydana gelen tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) nikotin bağımlılığı ile ilişkilendirmiştir (129). CHRNA1 geninin sitogenetik lokalizasyonu 2p31.1 ve genomik koordinatları (GRCh38): 19:13,206,441-13,506,478 (NCBI)'dır. Aridon ve ark., nokturnal frontal lob epilepsi hastalarında yaptıları bir çalışmada, kromozom 8p12.3-8q12.3 üzerinde yeni bir genetik lokus tanımlamış olup altta yatan neden olarak nikotinik a2 alt birim geniyle bir ilişki kurduklarını raporlamışlardır. Bu çalışmada Sardunyalı bir ailenin etkilenen 10 ailesinin tümünde CHRNA2 geninde heterezigot I279N yanlış anlamlı mutasyon tanımladılar ve nAChR (CHRNA2 ve CHRNA4) genlerindeki mutasyonların, uyku ve uyarılma mekanizmalarıyla ilişkili olduğunu doğrulamışlardır (130). Conti ve ark. yaptıkları bir çalışmada geniş bir ailenin ADNFLE ile etkilnen 7 üyesinde CHRNA2 geninde I297F heterezigot yanlış anlamlı mutasyon tanımlandı. Sonuç olarak I297F mutasyonunun, kanal ifadesi üzerindeki güçlü etkisi heteromerik nAChR'lara katılan alt birimlerin anormal şekilde yeniden düzenlenmesine neden olacağı ve nikotinik değişime neden olacağı varsayılabildiğini bildirdiler (128). Trivisano ve ark. yaptıkları bir çalışmada BFIS'i olan bir ailenin etkilenen üyelerinde CHRNA2 geninde R376W heterezigot yanlış anlamlı mutasyon tanımladı**.** Yapılan bu çalışmada, sitoplazmik α-heliks yapısında ayrılan, CHRNA2 geninde p.Arg376Trp yanlış anlamlı mutasyon bulunmuş ve patojenik olduğu düşünülmektedir. Oldukça korunmuş arjinin daha önce patojenik ADNFLE mutasyonları olarak tanımanan M1 ve M4 transmembran heliksleri ile yakından ilişkilidir ve hidrojen bağlarında yer alan arjinin 376 α-heliks yapısının

stabilizasyonuna yol açar ve 6.5°A aralığında çok yüksek korunmuş asp484 tuz bağlarının oluşumu ile desteklenir. Sitoplazmik alanının epileptojenik mekanizmaya dahil olduğu hiç rapor edilmemiş olsa da CHRNA2 mutasyonu tarafından bozulan kimyasal etkileşimler varyantın patojenik bir etkisi olabileceğini varsaymışlardır (131). Dalma nöbetleri geçiren ve EEG raporlarıyla HPV ile tetiklenen jeneralize epileptik bozukluk, klinik uyumlu olması dahilinde absans epilepsi tanısı alan H6'da CHRNA2 heterezigot c.402G>C p.Arg134Ser mutasyonu saptanmıştır. Görülen aminoasit değişikliğinin gen üzerindeki etkilerinin değerlendirebilmesi açısından örneğin; protein-DNA etkileşimleri analiz edilmelidir. ChIP-seq, DNA ile ilişkili proteinlerin bağlanma bölgelerini tanımlamak için kullanılan moleküler yöntemdir. Transkripsiyon faktörlerinin ve kromatinle ilişkili proteinlerin fenotip üzerindeki etkilerini belirlemek için kullanılan ve proteinlerin gen ekspresyonunu düzenlemek için DNA ile nasıl etkileşime girdiklerini belirlemek ve biyolojik süreci, hastalık üzerindeki etkisini belirlemek için oldukça önemlidir (132). CHRNA2 geni üzerinde yapılan moleküler çalışmalar literatür taraması sonucunda absans epilepsi ilişkili muhtemel patojenik bir varyant bulunmaması üzerine absans epilepsi tanısı almış hastada CHRNA2 gen ilişkisi kurulabilir ve literature katkıda bulunabilir. Ayrıca bu sonuçlar ışığında; absans epilepsi tanısı almış ve VPA tedavisi alan; tedavi sonrası nöbetsiz hale gelen, EEG'si normale dönen ve yaşam kalitesi oldukça artan, kliniği iyiye giden hastaya tek başına CHRNA2 mutasyon tanısı almasıyla ve CHRNA2 geninin çoğunlukla ADNFLE ile ilişkisi olması, klinisyenin yanlış tanı koymasına sebep olabilir. Bu nedenle hastanın genetik ve nörolojik bulgularının beraber değerlendirilmesi oldukça kıymetlidir.

Voltaj-bağlı sodyum kanalları, kalsiyum iyonlarının uyarılabilir hücrelerine girişine aracalık etmekle birlikte kas kasılması, hormon veya nörotransmiter salınımı, gen ekspresyonu gibi çeşitli kalsiyuma bağlı süreçlerinde görev alır. Kalsiyum kanalları alfa-1, beta, alfa-2/ delta ve gama altbirimlerinden oluşan multisubunit kompleksleridir (133). Kalsiyum kanalları aktivitesi por oluşturan alfa-1 alt birimi tarafından yönlendirilirken, diğer alt üniteler bu aktiviteyi düzenleyen yardımcı elemanlar olarak iş görür. Kalsiyum kanal tiplerinin ayırt edici özellikleri öncelikle çeşitli alfa-1 izoformları, alfa1A, B, C, D, E ve S ekspresyonuyla ilişkilidir. CACNA1A geni, ağırlıklı olarak nöronal dokularda ifade edilen alfa-1A altbirimini kodlar (134). CACNA1A geni 300 kb uzunluğunda ve 47 ekzon içermekte olup, sitogenetik

lokalizasyonu 19p13.3 ve genomik koordinatlar (GRCh38): 19:13,206,441-13,506,478 (NCBI) şeklindedir (135). Bu gendeki mutasyonlar gelişimsel ve epileptik ensafalopati, ailesel hemiplejik migren, epizodik ataksi 2 ve spinoserebellar ataksi 6 (SCA6) ile ilişkilendirilmiştir. Bu gen ayrıca (CAG)n- tekrarlarına bağlı polimorfik varyasyon sergiler. (CAG)n tekrarları 3' UTR' de meydana gelir ve herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir. Ancak CACNA1A geninin C-terminal kodlama bölgesinde , bir insersiyon poliglutamin alanını kodlayan (CAG)n tekrarlarını içerecek şekilde genişletir (136). Zhuchenko ve ark. buna bağlı olarak kodlama bölgesinde (CAG)n tekrarlarının normal 4-18'den 21-33'e genişlemesi SCA6 ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir Ishikawa ve ark. yaptığı bir çalışmada SCA6 tanılı bir japon ailesinin 15 bireyinden 8'inde (CAG)n genişlemesi tespit etmiş olup; etkilenen tüm bireyler normal Japonlarda gözlemlenen allelere (5-20 tekrar) kıyasla daha büyük allelere (21-12 CAG tekrarı) sahip olduklarını ve Japon SCA6 vakalarının yarısınında fazlasının CACNA1A genindeki CAG genişlemesi ile arasında güçlü bir ilişki olduğu sonucuna varmışlardır (137). EA2, saatler, günler süren serebellar ataksi atakları ile karakterize, asetazolamide yanıt veren önemli bir beyin kanalopatisidir. EA-2 P/Q tipi voltaj kapılı sodyum kanalı alfa-1 altbirim gen CACNA1A ile ilişkilidir; sporadik genetik vakalar olmasına rağmen otozomal dominant kalıtılır. Euson ve ark. yaptıkları bir çalışmada CACNA1A geninin anormal RNA splayzının EA2 vakalarından önemli bir patojenik mekanizma olabileceğini düşünerek 15 indeks vaka incelemişler ve 2 yeni mutasyon tanımlamışlardır. Birincisi F ailesinde tanımlanan ekson 21'in (3977 +1) donör splyaz bölgesinde G→ A yerdeğişimi: İkincisi ise C ailesinde intron 41'in (6335+ 4) dönor splayz bölgesinde AGTG dört baz çifti delesyonudur. Bunlara ek olarak ekson 29'da (4917 C-T Thr1545Thr) daha önce bildirilmemiş bir polimorfizme rastlamışlardıklarını bildirmişlerdir (138).

Ailesel hemiplejik migren (AHM) ve epizodik ataksi tip-2 (EA-2)' ye sebep olan genlerin kromozom 19p13' de CACNA1A geninde haritalandığı bulunmuş ve Ophoff ve ark. AHM'de; R192Q, T666M, V714A, I1811L 4 yanlış anlamlı; EA-2' de ise okuma çerçevesinde 2 mutasyon bulmuşlar. Aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 2 EA-2 tanısı almış hastada CACNA1A geninin de okuma çervevisinin bozulduğu mutasyonlar (Stop 1294, anormal splayz) meydana gelmesiyle CACNA1A'in patogenezinde rol aldığı görülmüştür. Ophoff ve ark. çalışamaya aldıkları bir hastada kodon 1266'da ki bir

baz çiftinin delesyonuyla çerçeve kayması meydana gelir ve bir sonraki eksonda (kodon 1294) stop kodonla karşılaşır bir diğer değişim ise; intron 24'de G-A intronik 5' splayz bağlantısının yüksek oranda korunmuş G→ T nükleotidini etkilemekte ve anormal splayzing RNA'lar üretildiğini hipotezini güçlendirmektedir (135). Riant ve ark. CACNA1A nokta mutasyonları açısından değerlendirimesi için çalışılan 27 EA2 tanılı hastanın sekans analizlerinde nokta mutasyonu açısından negative olmasına rağmen 4'ünde CACNA1A geninde ekzonik delesyonlar tanımlamışlardır (139). Benzer bir çalışmayla Labrum ve ark. EA2 ve AHM klinik tanısı alan 53 hastada CACNA1A geni nokta mutasyonu değerlendirilmesi açısından sekans analizi ile negatif olup multipleks ligasyona bağımlı prob amplifikasyonun (MLPA) yöntemi ile daha önce tanımlanmamış 5 delesyon ve CACNA1A' da ilk patojenik duplikasyonu tanımladılar (140). Chioza ve ark. CACNA1A geninin İJE etiyolojisinde rol oynadığını ispatlayan yaptıkları bir çalışmada IJE'li hastalarda 4 SNP (Ekson 6,8,16 ve 20) ve bir intronik mutasyon (intron 8-D19S1150) analiz etmiş olup; SNP 8'in hastalıkla önemli ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda, SNP 8'in sessiz mutasyon olmasıyla beraber bu anlamlı ilişkiye yol açan işlevsel varyantı içermesi ileriki çalışmaların yapılması ve SNP8 çevresindeki mutasyonlar için CACNA1A taranmalı yorumunda bulunmuşlardır. Ayrıca hastaların ayrıntılı klinik karakterizasyonu doğrultusunda patojenitenin küçük bir gen etkisinden mi yoksa altında yatan daha büyük bir gen etkisinden mi kaynaklandığı belirlenmelidir (141). Bu çalışmada hafif-orta derecede JEB tanısıyla takip edilen ve VPA tedavisiyle öncelikle nöbetsiz hale gelen, EEG'si normal çıkan hasta ilaçsız yakın takibe alınmış, dedesinin vefatının ardından ailesinin şüpheli nöbet tariflemesi, EEG'nin klinik bulguları JEB şeklinde de desteklemesiyle tekrar VPA başlanan hastada CACNA1A 6974_6976dupAGG mutasyonu, Gln2325_Ala232insGlu aminoasit değişimi saptanmıştır. Klinik etkisi belirsiz olmasına ragmen Chioza ve ark. çalışmasına benzer olarak JEB tanısı almış hastada CACNA1A mutasyonu gözlemlenmesi Gln2325_Ala232insGlu değişimin klinik ve moleküler anlamdaki etkileri ileriki çalışmalarla desteklemelidir. Çalışmamızda diğer CACNA1A mutasyonuna sahip 2 hastanın (H7 ve H18) fokal epileptik epilepsi tanısıyla takipli olmasına, klinik özellikleri ve tedavi farklılıklarına, mutasyonel ve aminoasit değişimlerinin farklılıklarına ayrıca dikkat çekmek isteriz. Fokal epileptik bozukluk tanısıyla takipli, başlangıçta sık tonik-klonik nöbetler geçiren ve LEV tedavisiyle 1 yılda nöbetsiz hale

gelen H7' de gözlemlenen c.1438 C>T mutasyonu Arg480Cys aminoasit değişimine sebep olmakta ve henüz literatüde CACNA1A mutasyonlarında Arg480Cys değişimin etkileri bilinmemektedir. Diğer CACNA1A mutasyonu olan H18, fokal epileptik bozukluk tanısı almış olup, başlangıçta sık uykuda nöbetleri olan ve CBZ tedavisi gören hastanın CACNA1A 3410C>G mutasyonu ve Pro1137Arg aminoasit değişimi mevcuttur. Pro1137Arg aminoasit değişiminin literatürde klinik etkisi belirsizdir. Her iki hasta da (H7 ve H18) fokal epileptik bozukluk tanısıyla takipli olmalarına ragmen klinik özellikleri birbirinden farklıdır; H7 sık JTK nöbetleri geçirirken H18 uykuda nöbet geçirmektedir. Çalışma kapsamında tanımlanan her 3 hastada CACNA1A mutasyonu saptanması ve hastaların idiyopatik epilepsi açısından pozitif olmaları göz önünde bulundurularak özellikle hastalarımızın aminoasit değişimlerinin moleküler mekanizmaları aydınlatılmalı, fokal epileptik bozukluğun zamanla jeneralize epileptik bozukluğu da dönebileceği varsayılarak IJE hasta grubu sayısı arttırılarak ve kontrol grubu eklenerek CACNA1A mutasyonları JEB ve FEB açısından daha ayrıntılı değerlendirilmelidir.

SLC2A1 geni, memeli kan-beyin bariyerindeki major bir glukoz taşıyıcısı GLUT-1'i kodlar. Kodlanmış protein esas olarak hücre zarında ve hücre yüzeyinde bulunur. Memeli merkezi sinir sisteminin yüksek metabolik gereksinimleri, besinlerin kan- beyin bariyerinden kolay taşınması için özel yapılar gerektirir, GLUT-1, kan-beyin bariyerindeki endotelyal hücrelerde eksprese edilir ve beyne glikoz girişinden sorumludur. Glikozu tanıyanlar dahil olmak üzere stero-spesifik yüksek kapasiteli taşıyıcılar , beyni zararlı maddelere karşı koruyan bu bariyerin temel bileşenleridir (142). SLC2A1 genindeki mutasyonlar idiyopatik jeneralize epilepsi, distoni, GLUT-1 eksikliği sendromu 1 (infantil başlangıçlı), GLUT-1 eksikliği sendromu2 (çocukluk çağı başlangıçlı), nörolojik defektleri olan stomatin eksikliği olan kriyohidrositoz ile ilişkilidir. Seidner ve ark. GLUT-1 eksiklikliği sendromu-1 ile uyumlu kan-beyin bariyeri boyunca glikoz taşıma kusuru olan hastalarda SLC2A1 geninde heterezigot mutasyonlar tanımladılar (143). Bunun ardından Klepper ve ark. GLUT1 eksikliğinden etkilenen aynı babanın farklı evliliklerden 2 çocuğunu bildirmiş ve bu ailenin tamamında SLC2A1 geninde heterezigot mutasyon tanımlayarak hastalığın otozomal geçişli olduğunu doğrulamıştır (144). Wang ve ark. GLUT-1 eksikliği olan 16 hastada 14'ü yeni 16 mutasyon tanımlamışlardır (145). Fricke, Flatt ve ark. 2 birbiriyle ilişkisiz

hastada stomatin eksikliği olan kriyohidrositozlu hastada 2 farklı SLC2A1 geninde heterezigot mutasyon tanımladılar. Buna benzer bir çalışma Bawzir ve ark. tarafından yapılmış olup stomatin eksikliği olan kriyohidrositozlu bir bebekte SLC2A1 geninde de novo heterezigot bir mutasyon tanımladıklarını bildirdiler (146). Weber ve ark. GLUT1 eksikliği ile uyumlu egzersizin neden olduğu paroksismal diskinezeleri olan birbirleriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan 3 ailede heterezigot SLC2A1 geninde 3 farklı mutasyon tanımlanmıştır (147). Suls ve ark. yaptıkları bir çalışmada 34 absans epilepsi tanısı almış hastanın %12'sinde SLC2A1 mutasyonları tanımlamışlar ve bunlar; c.668G>C- p.R223P, c.971C>T- p.S324L, c.376C>T- p.R126C ve intronik c.680-11G>A- p.227-228ins' dir. 4 hastada tanımlanan mutasyonların 3'ü ekzonik 1'i ekzonik splayz-bölge mutasyonu olarak tanımlanmış ve 2 hastanın mutasyonun de novo olduğu ortaya çıkmıştır. Suls ve ark. yaptıkları bu çalışma sonucunda 4 yaşından önce absans nöbetleri başlayan hastaların SLC2A1 mutasyonu tarafından taranması gerektiğini öne sürmüştür (148). SLC2A1 gen mutasyonları GLUT-1 eksikliği sendromu başta olmak üzere, mikrosefali, zeka geriliği, ilaca dirençli epilepsi, ataksi, spastisite, egzersize bağlı paroksismal diskinize ve idiyopatik jeneralize epilepsilerle ilişkilidir. Özellikle epilepsi ana semptom olduğunda erken başlangıçlı absans nöbetler, SLC2A1 mutasyonlarının en sık klinik ifade olarak oraya çıkmaktadır (148). GLUT-1 kusurları geniş fenotipik değişkenlik gösterirler ve bir allelin tamamen kaybıyla sonuçlanan GLUT1-DS ile ilişkili ağır fenotipik etkilerle sonuçlanabileceği gibi yanlış anlamlı heterezigot mutasyonların daha hafif fenotipik etkilere de sahip olabilirler.

Striano ve ark. yaptıkları bir çalışmada IJE tanısı almış 95 avrupalı hastadan oluşan hasta grubunda SLC2A1 geni taraması yapmış olup, 1 italyan ailesinde yeni bir tek nokta mutasyonu (c.694C>T- p.R232C) saptamışlardır bu mutasyon fonksiyonel olarak maksimum glikoz alım hızında sadece %30 azalmaya neden olmuştur(149). Tüm bu bilgiler ışığında SLC2A1 genindeki mutasyonlar birincil olarak GLUT1 eksikliği sendromu ile ilişkilendirilirken IJE tanısı almış hastalalarda da çeşitli mutasyonlar saptandığı literatürde yer almaktadır. Bu çalışmada 6 aylıkken dalma nöbetleri nedeniyle epilepsi tanısı alan, 4 yıl VPA tedavisi ardından tamamen nöbetsiz hale gelen ancak 2 yıl sonra tekrar dikkat eksikiği, baş dönmesi ve ailenin tariflemesi üzerine boş bakma ve JTK nöbetleri geçiren H8' de SLC2A1 geninde heterezigot c.600G>C p. Gln200His mutasyonu saptanmıştır. Bu klinik değerlendiremeye uygun hastanın EEG

raporlarında hafif- orta derecede jeneralize epileptik bozukluk vardır ve güncel durumda VPA tedavisi devam etmektedir. Literatürde yer almayan bu varyant merkezimiz tarafından klinik korelasyonla birlikte literatürde IJE tanısı almış hastalarda da SLC2A1 mutasyonlarının gözlemlenmesiyle muhtemel patojenik varyant olarak sınıflandırılmıştır. Yanlış anlamlı bu mutasyonun sebep olduğu aminoasit değişiminin moleküler mekanizması aydınlatılmalıdır.

MaxiK kanalları (BK kanaları), düz kas tonusu ve nöronal uyarılabilirliğin kontrolü için hücre zarı boyunca büyük miktarlarda potasyum iyonları içeren voltaj ve kalsiyuma duyarlı potasyum kanallarıdır. MaxiK kanalı, 4 alfa alt biriminden ve 4 opsiyonel yardımcı beta alt biriminden oluşur. Alfa alt-birimi, alternatif splyaz yoluyula çoklu izoformlar üreten KCNMA1 geni tarafından kodlanır. 4 beta alt birimi ise dokuya özgü ekspresyon gösteren farklı genler tarafından kodlanır. Hücre içi kalsiyum, alfa ve beta alt birimleri arasındaki fiziksel ilişkiyi düzenler (150). KCNMA1 geni 46 ekzon içermekte olup sitogenetik lokalizasyonu 10q22.3 ve genomik koordinatları 10:76,869,601-77,637,968 (NCBI) şeklindedir. KCNMA1 (Potasyum Kalsiyumla Aktive Edilmiş Kanal Alt Ailesi M Alfa 1) bir protein Kodlayan gendir ve Paroksismal kinezijenik olmayan diskinezi 3 (jeneralize epilepsili veya epilepsisiz); Liang-Wang sendromu; Serebellar atrofi ve son olarak idiyopatik jeneralize epilepsilerle ilişkilidir.

Bailey ve ark.' nın KCNMA1- bağlantılı kanalopatiler üzerinde yaptıkları bir çalışmada bir dizi patolojik fenotip gösteren (nöbet, hareket bozuklukları, gelişme geriliği, zihinsel engel) 37 hastada 16 nadir KCNMA1 mutasyonu saptamışlardır. Çalışmada BK kanal aktivitesindeki işlev kazancı, işlev kaybı ve klinik etkisi belirsiz bir dizi mutasyon tanımlamışlardır (151). Jeneralize epilepsisi olan veya olmayan paroksismal kinezijenik olmayan diskinezi-3'lü (PNKD3) bir ailenin etkilenen 13 üyesinin tamamında, Du ve ark. KCNMA1 geninde heterozigot bir yanlış anlamlı mutasyon tanımladı. Bu çalışmada BK kanalında meydana gelen D434G mutasyonu, bu kanalların belirgin bir şekilde büyük bir makroskobik akıma uğradığını ve kalsiyumun duyarlılığında 3-5 kat artışa ve aksiyon potansiyelinin hızlı repolarizasyonun indüklenerek artan uyarılabilirliğine yol açtığını, nöronların daha hızlı ateşlenmesine sebep olarak jeneralize epilepsi ve paroksismal diskineziye sebep olabileceği sonucunu öne sürdüler (152). Zhang ve ark. PNKD3 tanısı almış ve gelişme geriliği olan ancak nöbetleri olmayan birbirleriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan 2 Çinli erkek çocukta

KCNMA1 geninde de novo heterezigot yanlış anlamlı mutasyon (E884K ve N1053S) tanımladılar (152). Li ve ark. IJE tanısı almış 2 hastada KCNMA1 geninde de novo heterezigot N995S yanlış anlamlı mutasyon tanımladılar. Bu mutasyonun HEK293 hücrelerinde yapılan in vitro fonksiyonel ekspresyon çalışmaları, mutant kanalın daha kolay, daha hızlı ve daha uzun süre açık kalıp belirli bir kalsiyum seviyesinde yabanıl tipe kıyasla daha büyük bir akım oluşturduğunu ve fonksiyon kazancı etkisiyle tutarlı olduğunu göstermişlerdir (153). Bizim çalışmamızda daha önce klinik özellikleri beliritilen İJE tanısıyla takipli H8'de KCNMA1 geninde saptanan heterezigot c.364G>A yanlış anlamlı p.Gly122Arg mutasyonu saptanmıştır ve literatürde yer almayan bu varyantın klinik etkisi belirsizdir. Bugüne kadar tanımlanan KCNMA1 mutasyonlarının çoğu de-novo kökenlidir ve hastalar tarafından sergilenen fenotipik değişiklik nedeniyle nedensellik kurmak için ileriki çalışmalar değerlidir. Tüm bu çalışmalar ve sonuçlar özellikle KCNMA1 bağlantılı kanalopati kaynaklı hastalıkların nedenini anlamak için BK kanallarının rol oynadığı moleküler mekanizmalar aydınlatılmalıdır. BK kanal bloke edici ajanların özellikle jeneralize epilepsi ve paroksismal diskinezi tedavisinde terapötik bir etki yaratma potansiyeli yüksektir. Ayrıca KCNMA1 genine ek H8'de saptanan CACNA1A ve SLC2A1 ekzonik mutasyonları epilepsi ilişkili diğer genlerin de polijenik etkilerini ortaya koyduğunu ve bu sonuçların, diğer modifiye edici genetik faktörlerin altta yatan patifizyoloji ile klinik ifadeyi etkilebileyeciğini düşündürmektedir.

KCNMB3 geni, kalsiyumla aktive olan MaxiK kanallarının beta alt birim ailesini kodlar. KCNMB3 (Potasyum Kalsiyumla Aktive Edilen Kanal Alt Ailesi M Düzenleyici Beta Alt Birimi 3) bir protein Kodlayan gendir ve sitogenetik lokazisazyonu 3q26.32, genomik koordinatları 3:179,239,702-179,267,049 (NCBI) şeklindedir. KCNMB3 ile ilişkili hastalıklar arasında GEFS ve epilepsi, ailesel yetişkin miyoklonik nöbetler bulunur. cGMP-PKG ve oksitosin sinyal yolakları ile ilişkilidir. Gen ontolojisinde potasyum düzenleyici aktiviteyi ve kalsiyumla aktive olan potasyum kanal aktivitesini içerir ve bu genin en önemli paraloğu KCNMB2'dir (154). Literatürde bulunan sınırlı bilgilerle tez çalışmamız arasında bir korelasyon kurulacak olursa; H9'da başlangıçta tamamı uykuda nöbetleri olan, EEG ile epileptiform anormalliğiyle varlığı bulunan hasta LEV tedavisiyle tamamen nöbetsiz hale gelmiş ve ilaç kesim protokolünün 6 ay sonrasından ateş ve ellerde kitlenme meydana gelmiş fakat EEG'si

normaldir. EEG'nin normal olması nöbetleri ekarte etmez ve ilerleyen süreçte hastanın nöbet durumu takibe alınmalıdır. KCNMB3 geninde meydana gelen mutasyonların GEFS ve miyoklonik nöbetlerle ilişkilendirilmesi H9'da saptanan klinik etkisi belirsiz heterezigot c.192C>G -p.Leu64= mutasyonel değişimin mutlaka ilişkili yolakları aydınlatılmalıdır. 23 hastanın 1 tanesinde KCNMB3 mutasyonun görülmesi klinik farklılıkları ya da benzerlikleri ortaya koyulması açısından yetersiz kalabilir.

EFHC1 geni, EF-el içeren kalsiyum bağlayıcı proteini kodlar ve kodlanmış protein muhtemelen kalsiyum homeostazında rol oynar ve önemli bir paraloğu EFHC2'dir. EFHC1 proteini, kortikal gelişim sırasında hücre bölünmesi ne nöronal göçü düzenleyen mikrotübül içeriklidir ve mitotik iğ organizasyonu için gereklidir. Ayrıca beyin gelişimi sırasında radyal ve teğet hücre göçü için gerekli olup, muhtemelen göç sırasında hücre morfolojisi ve süreç oluşumunun düzenleyicisi olarak görev yapar (155). CACNA1E yoluyla kalsiyum akışını artırabilir ve programlanmış hücre ölümünü uyarabilir (156). 11 ekzon içeren EFHC1 geninin sitogenetik lokalizasyonu; 6p12.2 ve genomik koordinaları; 6:52,420,341-52,497,197 (NCBI) şeklindedir. EFHC1 geninde meydana gelen mutasyonlar bu zamana kadar literatürde JME ve JAE ile ilişkilendirilmiştir.

Kromozom 6'nın kısa kolundaki 2 ayrı bölge, 6p21.3 ve 6p12–p11'in JME ilişkili olduğu bulunmuş; Suzuki ve ark. birbirleriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan 6 ailenin JME ile etkilenen üyelerinde EFHC1 geninde birkaç heterezigot mutasyon tanımlanmış ve etkilenmemeil birkaç aile üyesinde de penetrasyonun azaldığını gösteren mutasyonlar tespit etmişlerdir (156). Literatürde EFHC1 geninde tanımlanan mutasyonlar; 545G>A(R182H), 685T>C (F229L), 628G>A (D210N), 757G>T (D253Y), 229C>A (P77T), 662G>A (R221H)'dir. Medine ve ark. Meksika ve Honduras'tan 44 Hispanik hastanın 4'ünde (%9) ve JME'den etkilenen 67 Japon hastanın 2'sinde (%3) EFHC1 geninin A ve B transkriptlerinde 5 yeni mutasyon tanımladı; EHFC1 A transkriptinde 2 heterezigot yanlış anlamlı mutasyon; c.755C>A ve c.1523C>G, B transkptinde delesyon/ çerçeve kayması; c.789delAV264fsx280, B transkriptinde anlamsız mutasyon c.829C>T ve son olarak promotor bölgesinde -364--362del.GAT mutasyonu tanımlamışlardır (157). Stogmann ve ark. JAE'si olan bir hastada, EFHC1 geninin I174V aminoasit değişimine sebep olan 520A-G mutasyonu ve C259Y aa değişimine sebep olan 776G-A mutasyonu tanımladı (158).

BRD2 geni, BET (bromodomainler ve ekstra terminal alanı) protein ailesine ait bir transkripsiyonel regülatörü kodlar. Gen, kromozom 6p21.3 üzerindeki ana histo-uyumluluk kompleksi (MHC) sınıf II bölgesiyle eşleşir, ancak sekans karşılaştırması, proteinin bağışıklık tepkisinde yer almadığını gösterir. BRD2 geni bu zamana kadar litaratürde sadece JME ile ilişkilendirilmiştir (159). Ancak BRD2 geni üzerine literatürde kısıtlı bilginin bulunması bu genin varyantlarının hala aydınlatılmayı beklediği anlamına gelebilir.

Bu çalışmada, 2 yıldır takipli 6 yaş kız hasta 6. Sinir paralzi sağ dışa bakış kısıtlılığı ve boş bakma şikayetiyle nörolojiye yönlendirilmiş olup başlangıç EEG ve klinik bulguları doğrultusunda aktif FEB tanısı konulan hastaya LEV tedavisi başlanmıştır. Tedavi sonrası tamamen nöbetsiz hale gelen, bakışları düzelen hastanın ayrıca WISCR testi normal, okul başarısı iyi fakat ekran mağruziyeti fazla ve arada sinirliliği olan hastanın, mevcut tedavisine devam edilmekte olan H10' da; heterezigot EFHC1 c.1504C>T (p.Arg483Trp) ve BRD2 heterezigot c.145_146delGCinsTG (p.Ala49Cys), mutasyonu saptanmıştır. Sonuçlar doğrultusunda anne ve babaya DNA dizi analizi yöntemiyle aynı mutasyonların taranması ardından anne normal, baba heterezigot EFHC1 c.1504C>T (p.Arg483Trp) mutasyonu saptanmıştır. Hastanın kliniği göz önüne alındığında bu hastada daha önce litatürde saptanmayan c.1504C>T (p.Arg483Trp) mutasyonun anlamlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca H10'da saptanan BRD2 geninde meydana gelen mutasyon ailede saptanmamış olması de novo olabileceği anlamına gelir. Özellikle literatürde BRD2 genine ait bilgilerinin kısıtlılığı kliniği BRD2 geninin absans epilepsiyle uyumluluğu hastalarda ileriki çalışmalarla kanıtlanabilir. Ayrıca BRD2 geninde meydana gelen bu mutasyonun hastanın patojenitesi üzerindeki etkisi meydana getirdiği amino asit değişimi üzerinde nasıl bir etkiye sahip olduğu aydınlatılmalıdır.

TBC1D24 geni, GTPazlarla etkileşime giren proteinlerin karakteristiği olan korunmuş bir alana sahip TBC proteinini kodlar. TBC alanı proteinleri GTPaz grubu için GTPaz aktive edici proteinler olarak hizmet edebilir. Bu gendeki mutasyonlar, çoğunlukla ailesel infantil miyoklonik epilepsi ile ilişkilidir (160). Zara ve ark. Ailesel infantil miyoklonik epilepsi tanısıyla takipli büyük bir İtalyan ailesinin etkilenen üyelerinin kromozom 16p13.3 ile ilişkili ve Falace ve ark. TBC1D24 geninde işlevi azalttığı gösterilen 2 heterezigot mutasyon tanımlamışlardır ve bunlar 439G>C

trasversiyonuyla TBC domaininde meydana gelen D147H subtitisyonu ve 1526C>T mutasyonuyla TLD domaininde meydana gelen A509V subtitisyonudur. Saptanan bu 2 mutasyonun fonskiyon kaybına neden olduğu raporlanmıştır. Ayrıca bu mutasyonların tanımlanması ARF6'ya bağlı moleküler yolağın, beyin hipereksitabilitesi ve nöbet oluşumuna dahil olduğu ileri sürülmüştür. Corbett ve ark. ise geniş bir Arap ailenin etkilenen üyelerinde homozigot 751T>C mutasyonu sebebiyle TBC domaininde F251L subtitisyonu saptamışlardır. Bunlara ek; Gelişimsel ve EE; Sağırlık, Onikodistrofi, Osteodistrofi, Mental Retardasyon ve Nöbetler (DOORS); Otozomal resesif kalıtılan sağırlık; Otozomal dominant kalıtılan sağırlık; Paroksismal Egzersize Bağlı Distoni ve Rolandik epilepsiyle ilişkilidir (161).

Bu çalışmada ise yaklaşık 1,5 yıldır takipli 12 yaş erkek H12' de heterezigot TBC1D24 c.74A>G mutasyonu saptanmış ve K25R amino asit değişimine sebep olmuştur. Ekran mağruziyeti fazla ve uykusuzluk sonrası el titremesi, elinden telefon düşürme gibi şikayetlerle gelen H12'nin MRI normal, EEG'si miyoklonik karakterde jeneralize epileptik bozukluk olarak raporlanmıştır ve LEV tedavisi başlanmıştır. Tedavi sonrası hasta tamamen nöbetsiz hale gelen hastanın sinirlilik gibi davranış problemleriyle çocuk psikiyatriye yönlendirilmiş olup, hastanın ayrıca mevcut EEG'si normaldir. H12'nin ebeveynleri arasında 1. Derecede akrabalık mevcut olup, ailede hala ve 2 kardeş (ağabey ve abla) epilepsi tanılıdır. Tüm bu bilgiler ışığında JME epilepsi tanılı hastada saptanan TBC1D24 mutasyonun klinik etkisi belirsiz olsada daha fazla JME hastasında saptanması anlamlı sonuçlar ifade edebilir. TBC1D24 geninin, nöronal devrelerin morfolojik ve fonksiyonel olgunlaşması için gerekli olan gelişimsel olarak düzenlenmiş olaylarda kritik bir rol oynadığını ve bunun bozulmasının epileptik bozuklukların etiyolojisinde muhtemelen bir rol oynadığı düşünülmektedir. JME tanılı H12'de ekzonik bölgede TBC1D24 geni mutasyonu ve aminoasit değişimi görülmesi ileriki çalışmalar için yol gösterici bir araç olabilir ve TBC1D24 geni JME ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca H12'nin ailesinde JME veya epileptik bozukluk pozitif öyküsü olan hastalarda, TBC1D24 c.74A>G mutasyonun taranması yol gösterici olabilir.

Voltaj kapılı sodyum kanalları, 24 transmemran domaini olan büyük bir alfa alt biriminden ve bir veya daha fazla regülatör beta alt biriminden olulan transmembran glikoprotein kompleksleridir. Nöron ve kaslarda aksiyon potansiyelinin üretilmesi ve

yayılmasından sorumludurlar. Önemli ortologlarından birisi SCN2A'dır. SCN3A geni, hızlı aktivasyon ve inaktivasyon gösteren voltaj kapılı sodyum kanalı Na(v)1.3'ün alfa alt birimini kodlar ve kromozom 2 üzerindeki 5 alfa alt birim geninden oluşan bir kümede bulunur (162). SCN3A geni bir protein kodlayan gendir ve ilişkili hastalalıklar arasında gelişimsel epileptik ensefalopati ve değişken odaklı aiesel fokal epilepsi-4 (FFEVF4) bulunur. SCN3A geni G-Beta Gama Sinyali ve cAMP-Bağımlı PKA aktivasyonu yolaklarına bağlıdır.

Vanoye ve ark. 4 akrabalık ilişkisi olmayan FFEVF4 tanılı hastada 4 farklı heterezigot mutasyon (R357Q, D766N, M1323V, E1111K) tanımlamışlardır. Bu çalışmada NaV1.3'ü kullanarak daha önce bildirilen K354Q mutasyonu ile birlikte bu varyantların fonksiyonel sonuçları belirlenmiş ve varyantlar arasındaki fonksiyonel kusurların heterojen olduğu bildirilmiştir. Bu heterojenitenin sonuçları, en ciddi şekilde etkilenen varyantının R357Q olduğu yönündedir. İlginç bir şekilde, tüm varyantların bu NaV1.3 kanalları üzerindeki ortak etkisi, artan akım aktivasyonu ve nöronal hipereksitabilite kazandırmakla uyumlu bir fonksiyonel özelliktir. Bu sonuçlar, birbirleriyle ilişkisi olmayan pediatriktik FFEVF4 tanısı almış hastalarda tanımlanan varyantlar arasındaki ortak bir biyofiziksel kusurun keşfi, SCN3A'nın nöronal hipereksitabilite ve epilepsiye katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (162). Lamar ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise, 2 yaşında FFEVF4 tanısı almış bir kız çocuğunda, SCN3A geninde de novo heterezigot yanlış anlamlı bir mutasyon (L247P) tanımladılar. In vitro fonksiyonel ekspresyon çalışmaları SCN3A geninde meydana gelen bu mutasyonun fonskiyon kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir (163). Zaman ve ark. gelişimsel ve epileptik ensefalopatisi olan birbirleriyle ilişkisi olmayan 4 hastada, SCN3A geninde 3 farklı de novo (I875T, P1333L, V1769A) heterezigot yanlış anlamlı mutasyon tanımlamış olup bu mutasyonların nöronal uyarılabilirliği arttırarak fonskiyon kazancına neden olduğunu raporlamışlardır.

Bu çalışmada ise 1 yıldır takipli 14 yaş erkek H19’ da SCN3A Heterezigot c.654C>G (p.Phe218Leu) mutasyonu saptanmıştır. Sık anlık tonik nöbet ve arada dalma şikayetiyle gelen hastanın MRI’ı normal, EEG’si sebebiyle jeneralize özellikle epileptiform varlığıyla uyumlu olup, VPA tedavisi başlanmıştır. Nöbetlerin devam etmesi üzerine tedaviye ETX eklenmiş olup nöbetler sık olmayan nöbetleri devam eden hastanın EEG’si muhtemelen jeneralize özellikte orta derecede aktif epileptiform

anormallik haliyle uyumludur. Ebeveynler arasında akrabalık yoktur ve aile çalışması yapılamamıştır. Hasta 2 AEİ'yle yaşamına devam etmekte olup, hala nöbetlerinin devam etmekte olması SCN3A geninde meydana gelen mutasyonun klinik etkisi belirsiz olsa da anlamlı olabileceği; özellikle NaV kanallarında bu mutasyonun etkisinin mutlaka değerlendirilmesi gerektiği önerilir. Literatürdeki araştırmalar ışığında SCN3A geninin özellikle nöronal-uyarılabilirlikle bir ilişkisi olduğu açıkça ortaya konulmuştur. Tüm bu çalışmalar sonucunda, dirençli jeneralize epileptik bozuklukla takip edilen H19'nın patojenitesinin nedeni özellikle etkilenen yolak ve kanallar üzerindeki çalışmalarla aydınlatılabilir.

GRIN2A geni, glutamat kapılı iyon kanalı protein ailesinin bir üyesini kodlar ve kodlanmış protein NMDA reseptör alt birimidir. NMDA reseptörleri hem ligand kapılı hem de voltaj bağımlıdır ve bu reseptörler kalsiyum iyonlarına karşı geçirgendir ve aktivasyonun post-sinaptik hücrelere kalsiyum akışı ile sonuçlanması birkaç sinyal kaskadının da aktivasyonu ile sonuçlanır. GRIN2A geninde meydana gelen mutasyonlar fokal epilepsi ve bilişsel engeli olan ya da olmayan konuşma bozukluğu ile ilişkilidir. 14 ekzon içeren GRIN2A geninin sitogenetik lokazisayonu, 16p13.2 ve genomik koordinatları, 16:9,753,403-10,182,927 (NCBI) şeklindedir (164). GRIN2A geninin ilgili yolakları arasında RET sinyali ve GPZR tarafından sinyalleme vardır ve GRIN2B geni önemli bir paralogdur. Endele ve ark. Değişken öğrenme güçlükleri ve mental retardasyonla ilişkili çocuklukta başlayan fokal nöbetleri olan bir Alman aielesinin 3 üyesinde GRIN2A geninde Q218X amino asit değişimine sebep olan bir heterezigot mutasyon ve şiddetli zeka geriliği olan ve erken başlangıçlı epileptik spazmları, miyoklonik nöbetleri olan 3 yaşında Fransız bir kız çocuğunda ise de novo N615K aa değişimine sebep olan bir mutasyon tanımlanmıştır (165). Carvill ve ark. epileptik ensefalopatili 519 hastanın içerisinde tamamı epilepsi-afazi sendromlu 44 hastanın 4'ünde GRIN2A geninde c.1007+1G-A (p. Phe139IlefsTer15), c.1592C-T (p. T531M), heterezigot mutasyonlarını tanımladılar(166). Buna benzer olarak Lesca ve ark. atipik rolandik epilepsili 2 ailede heterozigot de novo GRIN2A c.1123-2A-G (p. Val375fsTer), c.1954T-G (p. F652V) mutasyonları tanımladı (167). Başka bir çalışmada Lemke ve ark. Landau-Kleffner sendromu, Yavaş uykuda sürekli diken dalga ile giden epilepsi sendromlu (CSWS), atipik rolandik dahil idiyopatik fokal epilepsi sendromlu 2 bağımsız kohorttan 359 hastanın 27'sinde (%7,5) GRIN2A

geninde heterozigot c.1007+1G-A, c.2941C-T (R681X), c.2829C-G (Y943X) mutasyonlar tanımlamıştır (167).

Bu çalışmada ise 6 yıldır takipli 12 yaş kız H20' de GRIN2A homozigot c.1265T>C (p.Ile422Thr) mutasyonu saptanmıştır. Sık nöbet şikeyetiyle gelen ve epilepsi tanısı alan hasta VPA tedavisi almakta olup, 3 yıl nöbetsizlik üzerine dozu azaltılan hasta tekrar nöbet geçirmesi üzerine ve EEG'sinin çok aktif epileptiform anormallik haliyle uyumlu olması üzerine doz tekrar arttırılmış oup, EEG'de aynı anormallikler devam etmektedir. 1 yıldır takipli 8 yaş erkek H21'de ise patojenik varyant saptanmamıştır. Baş dönmesi şikayetiyle gelen hastanın EEG'si çok aktif epileptiform anormallik hali olarak raporlanmış olup, LEV tedavisi başlanan hastanın aşırı sinirlilik halinin ortaya çıkmasıyla LMT tedavisine geçilmiş olup aktif bir nöbet görülmemiştir. Ayrıca, sinirlilik ve dikkat dağınıklığı sebebiyle çocuk psikiyatriye yönlendirilme mevcuttur. GRIN2A mutasyonları anormal alt birim fonksiyonuna yol açarak, nöronal iyon akışını ve nöronlar arasındaki elektriksel iletimi etkileyerek gelişimsel anormalliklere ve epileptik ensafalopatilere yol açabilir. GRIN2A genini kodlayan NMDA reseptörlerinin ayrıca nöronal aktivite ve gelişim için oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. H20'de meydana gelen mutasyonun sebep olduğu aminoasit değişikliğinin GRIN2A geninin etkilendiği moleküler yolaklar üzerinde etkisi ileriki çalışmalarla aydınlatılmalıdır. Birbirleriyle kardeş H20 ve H21'in klinikleri ve tedavileri arasında farklılılar olduğu gibi 2 kardeş, çok aktif epileptiform bulgularla takiptedir. Ayrıca her 2 kardeşte de davranış problemleri mevcuttur. Ancak H20'de GRIN2A geninde homozigot mutasyon görülmesi; H21'de ise merkezimizde taranan epilepsi gen paneli içerisinde patojenik bir varyant bulunmaması hastalar arasındaki varyant heterojenitesini ortaya koyabilir. H21'de patojenik varyant görülmesi fakat idiyopatik epilepsi tanısıyla güncel durumda da çok aktif epileptiform bulgularla takipli olması tüm ekzom dizileme ile tekrar analiz edilmesi gerekebileceğini ortaya koyabilir.

TBC1D22A ve TBC1D22B, RAB33 için GTPaz aktive edici proteinler (GAP'ler) olarak işlev gördüğü tahmin edilen golgi proteinlerdir (168). TBC1D22A (TBC1 Etki Alanı Aile Üyesi 22A) bir protein kodlama genidir ve sitogenetik lokalizasyonu: 22q13.31, genomik koordinatları ise 22:46,762,630-47,224,974 (NCBI) şeklindedir. TBC1D22A geni Ailesel temporal lob epilepsisi ve GEFS+ ile ilişkilendirilmiştir. Belhedi ve ark. yaptıkları bir çalışmada, otozomal resesif (AR)

kalıtım moduna sahip GEFS+ Tunuslu bir ailenin klinik ve genetik çalışmalarını bildirmişler ve AR kalıtılan hastalıktan sorumlu genleri lokalize etmek için homozigot haritalamasını kullanarak kromozom 22q13.31 üzerinde TBC1D22A geninin (TBC1 alan ailesi, üye 22A, ayrıca C22orf4 olarak da bilinir) yer aldığı yeni bir lokus rapor etmişlerdir (169). Greninger ve ark. TBC1D22A ve TBC1D22B'nin ACBD3 ile etkileşime girdiğini ve mutasyon analizleriyle ACBD3'teki etkileşimli bölgenin, lipid kinaz PIK4B'nin bağlanmasında rol oynayan glutamin açısından zengin bir sarmal bölgeyle eşlendiğini raporlamışlardır. Literatürde TBC1D22A genininin sebep olduğu hastalıklar, mutasyonlar, bağlı olduğu moleküler yolaklar arasında oldukça kısıtlı bilgi vardır.

Bu çalışmada, 1 yıldır takipli 7 yaş kız H23' de TBC1D22A Heterezigot c.1057G>A (p.Ala353Thr) mutasyonu saptanmıştır. Sık dalma nöbetleri şikayetiyle gelen hastanın EEG'si muhtemelen jeneralize özellikte aktif epileptiform anormallik haliyle uyumlu raporlanmıştır. ETX ve VPA tedavisi alan hasta 10 ay sonrasında tamamen nöbetsiz hale gelmesi üzerine ailenin VPA'yı kesmesiyle nöbetleri tekrar başlanan hasta tedaviye ETX ve CLB ile devam edilmekte olup hastanın son EEG'si normaldir. Ayrıca WISCR tesi yapılan hastanın alt test skorlarının düşük olduğu gözlemlenmiş olup, dikkat eksikliği olabileceği de raporlanmıştır. Ebeveynler arasında 1. Derecede akrabalık mevcut olup, ailede bilinen epilepsi tanısı almış birey yoktur. Klinik özellikleri dolayısıyla dirençli epileptik bozuklukla takipli H23 için TBC1D22A geninde meydana gelen mutasyon aminoasit değişiminin anlamlı olduğunu düşünüyoruz. Dalma şikayetleri dolayısıyla absans epilepsisi olan hasta için TBC1D22A geninde yeni bir mutasyon tanımladığımızı düşünmekteyiz. Hastanın zeka testinin skorlamasının düşük olması ve dikkat eksikliği ile takip edildiğini ayrıca vurgulamak ister; klinik etkisi belirsiz bu gendeki mutasyon için aynı klinik özelliklere sahip daha fazla hasta için ileriki çalışmaları önermekteyiz.

H3, H4, H5, H11, H14, H15, H16, H17 ve H22'de patojenik varyant saptanmaması bu hastaların epilepsi tanıların genetik mutasyonlara bağlı olmadığı anlamına gelmez. YND yöntemiyle epilepsi gen paneli çerçevesinde taranan mutasyonların herhangi birinde mutasyon saptanmaması dahilinde tüm ekzom dizileme yöntemiyle hastalar tekrar değerlendirilmelidir.

Bu hastaların klinik özelliklerine bakacak olursak; Çocuk ruh sağlığı tarafından dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu tanısıyla yönlendirilen ve başlangıçta sık olmayan nöbetlerle epilepsi tanısı alan 15 yaş kız H3'de patojenik varyant saptanmamıştır. Kliniğinin uyumlu olması halinde JME tanısı alabilecek olan hastanın ailenin miyoklonik bir nöbet tariflememesi ya da gözden kaçırması ile JME pozitiflik konusunda kesin bir ifade kullanamıyoruz. Bunlara ek hastanın videolu göz kapağı miyoklonisi olduğu tespit edilmiş olup, jeavans sendromundan şüphelenilmektedir. Başlangıç EEG'si ise JEB'i göstermekte ve EEG'si JME ile uyumlu, son EEG'sinde orta derecede aktif primer JEB olduğu raporlanan hasta; LEV tedavisiyle tamamen nöbetsiz hale gelmiştir.

Çocuk psikiyatri tarafından dehb tanısıyla yönlendirilmiş H3'ün ikiz eşi H4' de patojenik varyant saptanmamıştır. Başlangıç EEG'si JEB'i göstermekte olup JME ile uyumlu raporlanmış, son EEG'si ise orta derecede aktif primer JEB'i göstermektedir. 7 yaşında merdivenlerden düşen hasta takip edilmiş fakat aile tarafından herhangi bir nöbet gözlenmemiş. Baş ağrısı ve sabah sakarlığı şikayetleri olan hasta LEV tedavisi sonrası baş ağrılarının ve sabah sakarlığı devam etmeyen hastanın bilinen herhangi bir nöbeti yoktur. İkiz kardeşlerin ebeveynlerin arasında akraba evliliği yoktur. Çift yumurta ikiz H3 ve H4'ün EEG ve klinik özelliklerinden yola çıkarak ikiz kardeşlerde JEB tariflenmektedir. Hastaların EEG çekimlerindeki zemin aktiviteleri (Hastaların uyumasının ardından 5-6 Hz teta dalgaları, 3-4 Hz delta dalgaları; trase süresince 2-4 sn süreli jeneralize diken, çoklu diken yüksek amplitüdülü yavaş dalga deşarjları) JME ile uyumludur fakat kesin tanı için EEG çekimi yetersiz kalıp, klinik uyum gereklidir. Başka bir JME tanısı alan, 1 yıldır takipli 16 yaş kız H22'de patojenik varyantlar saptanmamıştır. Sık miyoklonik nöbet şikayetiyle gelen hastanın EEG'si, aktif muhtemelen jeneralize özellikte epileptiform anormallik varlığıyla uyumludur. Dikkat dağınıklığı şikayeti olan hasta ayrıca çocuk psikiyatriye yönlendirilmiştir. LEV tedavisi başlanan hasta ilaç sonrası nöbetsiz takip edilmektedir.

JME en sık 12-18 yaşları arasında gözlemlenir ve JME nöbetleri genellikle uyanma ile başlayan miyoklonilerdir. Alkol tüketimi, stres, aşırı yorgunluk, uykusuzluk gibi faktörler nöbetleri etkilemekle birlikte tanı genellikle geç konulur. Tüm bu sebepler göz önünde bulundurulduğunda hastalara kesin tanı koymak zorlaşmaktadır. Literatürde hala JME hastalarının büyük çoğunluğunda ilgili genler bilinmemektedir fakat bazı

ailelerde CACNB4, GABRA1 ve EFHC1 gibi Mendel genleri tanımlanmıştır (81). Bu çalışmada ise miyoklonik nöbetleri olan H12'de TBC1D24 mutasyonu saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında JME hastalarının genetik mutasyonlarının saptanmamasının zorluğu ve klinik heterejonetiyi ortaya koyduğumuzu düşünmekteyiz, daha geniş bir panel ya da tüm ekzom dizileme ile ileriki çalışmalar yapılması önemlidir.

Ara ara baş ağrısı şikayetiyle gelen 3 yıldır takipli 13 yaşında erkek H5' de patojenik varyant saptanmamıştır. MRI normal, başlangıç EEG'si primer jeneralize epileptik bulgularla uyumlu raporlanırken; sık baş ağırısı, bulantı gibi şikayetlerle birlikte LEV tedavisi başlanmş. Tedavi sonrası baş ağrısı ve sabah sakarlığı olmayan hastanın son EEG'si normaldir. Ekran mağruziyeti çok fazla ve dikkat eksikliği ön planda olan hasta ayırca davranış terapisine yönlendirilmiştir. Ayrıca ebeveynler arasında akraba evliliği ve ailede bilinen herhangi bir epilepsi tanısı bulunmamaktadır.

1 yıldır takipli 14 yaş erkek H11' de patojenik bir varytant saptanmamıştır. Gözlerde tik şikayetiyle epilepsi tanısıyla (LEV tedavisi alarak) gelen hastanın ayrıca çok fazla ekran mağruziyeti bulunmaktadır. Ekran mağruziyeti yasaklanan, LEV tedavisi devam eden hastanın gözlerdeki tiki tamamen kaybolmuş ve EEG'si uyku ile artan sol hemisfer frontosentrotemporal bölgelerden köken alan aktif epileptik bozukluk olarak raporlanmıştır. Ayrıca,1. Dereceden akrabadır ve ailede bilinen epilepsi öyküsü yoktur.

2 yıldır takipli 6 yaş kız H13'de patojenik varyant saptanmamıştır. Gözlerin yukarı kayması ve 5-6 dk sonra kendine gelmesi, uykudan uyandıktan sonra dudak çevresinde morarma ve otomatizma, fokal otomatizmalı nöbet geçiren hastanın EEG'si hafif-orta derecede aktif fokal epileptik bozukluk olarak raporlanmış olup, LEV tedavisi sonrası tamamen nöbetsiz hale gelen hastanın son EEG'si normal, WISCR testi normaldir. Ebeveynler arasında akraba evliliği ve ailede bilinen epilepsi öyküsü yoktur.

5 yıldır takipli 13 yaş kız H14' de patojenik varyant saptanmamıştır. Havuzda dalarak nöbet geçirme şikayetiyle gelen hastanın MRI normal, EEG'si ise kortikal-subkortikal oldukça aktif epileptiform anormalliğin varlığıyla uyumlu olup hastaya VPA tedavisi başlanmıştır ve CAE tanısı almıştır. Tedavi sonrası tamamen nöbetsiz hale gelen hastanın son EEG'de frontosantral bölgelerde belirgin frangmente diken dalga deşarjlarının olduğu görülmektedir. Ebeveynler arasında 1.derece akrabalık mevcut olup, ailede amca epilepsi tanısı almıştır.

5 yıldır takipli 11 yaş erkek H15'de patojenik varyant saptanmamıştır. Başlangıçta sık uykuda nöbetleri olan, hastanın EEG'si nedeniyle kortikal-subkortikal epileptiform anormalliği (ESES) ile uyumlu olup VPA tedavisi başlanmıştır. Ayrıca hasta dikkat eksikliği sebebiyle çocuk psikiyatriye yönlendirilmiş. Tedavi sonrası 2 yıldır tamamen nöbetsiz hale gelen hastanın ilaç kesiminden sonra ağzından salya gelmesi ve ağzından tutulma meydana gelen hastanın EEG'si ESES'den oldukça aktif fokal epileptiform anormalliğine dönmesiyle tedaviye LEV eklenmiş, EEG'nin bozuk devam etmesi (oldukça aktif fokal epileptik bozukluk) üzerine ayrıca CLB eklenmiş olup, hasta takibine devam edilmektedir. Ebeveynler arasında 1.derece akrabalık mevcut olup ailede bilinen epilepsi öyküsü yoktur.

1 yıldır takipli 12 yaş kız H16'da patojenik varyant saptanmamıştır. Bulantı, baş ağrısı, halsizlik şikayetleriyle gelen hastanın MRI'I normal, EEG'sinde hafif-orta derecede aktif fokal epileptik bozukluk olduğu görülmüş olup, LEV tedavisi başlanan hasta tamamen nöbetsiz hale gelmiş olan hasta ayrıca dikkat eksikliği ve unutkanlık sebebiyle çocuk pskiyatriye yönlendirilmiştir. Ebeveynler arasında 1. Derecede akrabalık mevcut olup, ailede bilinen epilepsi öyküsü yoktur.

2 yıldır takipli 10 yaş kız H17'de patojenik varyant saptanmamıştır. Başlangıçta sık uykuda nöbetleri olan hastanın MRI'I normal, EEG'si ESES ile uyumludur. LEV tedavisi başlanan hasta tamemen nöbetsiz hale gelse de EEG'sinin ESES'ten FEB'e dönmesi sebebiyle de tedaviye CLB eklenen hastanın ayrıca zeka testi normaldir. Ebeveynler arasında 1.dereceden akrabalık mevcut olup ailede bilinen epilepsi öyküsü yoktur.

Ve yukarıda klinik özellikleri belirtilen 5 hasta; H13, H14, H15, H16 ve H17 fokal epileptik bozukluk, H5 ise aktif epileptik bozukluk tanısı doğrultusunda tedavilerine devam etmektedirler. Bu hastalardan özellikle H15'in yaşamına 2 AEİ ile ve hala nöbetleri devam ederek devam ettiğini vurgulamak isteriz.

Tüm bu bilgiler ve klinik değerlendirme sonucunda epilepsi hastalığının ve mutasyon görülme sıklıklarının heterojenetisinin farkındayız. Genetik heterojenite idiyopatik epilepsi hastalarında etiyolojinin aydınlatılmasını güçleştirirken; klinik heterojetine hastalığın tedavisini güçleştirmektedir. Bu hastalarda meydana gelen mutasyonların sebep olduğu aminoasit değişimlerinin ileriki moleküler çalışmalarla etkisinin aydınlatılmasıyla tedavi için yeni moleküler ajanların geliştirilmesine ve bu

adayların hem terapötik hem de prognostik biyobelirteç olarak kullanımlarına imkan sağlayabilecek olup 23 hastanın tamamının güncel durumda psikiyatri tarafından takipli olduğunu ayrıca belirtmek ister, hastaların yaşam kalitelerini, okul başarılarının artmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmadan elde edilen sonuçları özetleyecek olursak;

1. Epilepsi klinik bir tanı olup, EEG ve MRI bulguları tanıyı destekleyen önemli kriterlerdendir. Alınan tedaviye göre epileptik özelliklerin değişmesiyle birlikte, buradaki sınıflandırmayı başlangıç EEG ve ailenin tariflemesi üzerine başlangıç nöbetlerine göre yapmaktayız.
2. Çalışmamıza toplamda 23 idiyopatik epilepsi tanısı almış hasta alınmış olup bunlar; 1 absans nöbetleri geçiren FEB (%4,34) , 1 GCTS nöbetleri geçiren FEB (%4,34), 5 başlangıç nöbeti net olarak belirlenemeyen EEG'si FEB olarak raporlanan toplamda 7 hasta (%30,43); zemin aktivitesi özelliklerine dayalı anormallik gözlemlenen fakat jeneralize ya da fokal ayrımı yapılamamış 3 absans nöbetleri geçiren ve EEG'leri epileptiform anormalliği ile uyumlu (%13,04), 2 uykuda nöbet geçiren epileptiform anormalliği (%8,69), 3 başlangıç nöbeti net olarak belirlenemeyen EEG'si epileptiform anormalliği varlığıyla uyumlu, toplamda 8 hasta (3 oldukça aktif, 1 aktif, 2 hafif, 1 subkortikal, 1 kortikal) (%34,78); 2'si şüpheli toplamda 4 JME nöbetleri geçiren JEB (%17,39), 2 absans nöbetleri geçiren JEB (%8,69), 1 başlangıç nöbeti net olarak belirlenemeyen EEG'si JEB ile uyumlu toplamda 7 hasta (%30,43); ve fokal otomatizmalı nöbet geçiren başlangıç EEG'si ise normal olan (%4,34) 1 hasta yer almaktadır.
3. Hastalara ait periferik kandan elde edilen DNA materyalinin konsantrasyonları 20 ng/ µl ile 61 ng/ µl ile arasında olup elde edilen DNA konsantrantrasyonları YND yöntemini gerçekleştirmek için yeterli miktarda olduğu belirlendi. YND yöntemi deneysel aşamaları Rotorgene-Q ile örneklerin uygun C_T aralıkları, QIAxcel ile örneklerin uygun jel görüntüleri kontrol edildi. Tüm örnekler kalite kontrol basamaklarını geçip, dizileme aşamasına geçilmesine uygundu.
4. Bu hastalarda, SCN1A, SCN2A, SCN9A, SCN1B, GABRG2, SCN3A, TAP1, BRD2, EFHC1, GABRA1, EPM2A, KCTD7, KCNQ3, KCNJ10, SLC2A1, KCNK9, GABRB3, LGI1, TBC1D24, DEPDC5, TBC1D22A, ATP1A2, GRIN2A, CACNA1A, CHRNA2, CHRNA4, CHRNB2, KCNT1, KCNA1,

KCNMA1, KCNMB3, KCNQ2, KCNQ3, STXBP1 genleri veri tabanları ve in-siliko algoritmalar ile ekzon ve ekzon-intron bileşkeleri incelendi.

5. 23 hastanın 11'inde patojenik varyant saptanmamıştır, 1 hastada muhtemel patojenik, 11 hastada ise klinik etkisi belirsiz varyant saptanmıştır. Saptanan mutasyonlar; 2 SCN1A, 1 CHRNA2, 3 CACNA1A, 1 SLC2A1, 1 KCNMA1, 1 KCNMB3, 1 BRD2, 1 EFHC1, 1 TBC1D24, 1 SCN3A, 1 GRIN2A, 1 TBC1D221 genlerindedir.
6. Sırasıyla mutasyona uğrayan genler, nükleotid değişimleri ve aminoasit değişimi ise; birbirleriyle kardeş 2 hastada, heterezigot SCN1A c.264+3G>A mutasyonu ; 1 hastada heterezigot CHRNA2 c.402G>C (p.Arg134Ser) mutasyonu; 3 hastada sırasıyla heterezigot CACNA1 c.1438C>T (p.Arg480Cys), c.6974_6976dupAGG (p.Gln2325_Ala232insGlu), c.3410C>G (p. Pro1137Arg) mutasyonları; 1 hastada SCN3A heterezigot c.654C>G (p.Phe218Leu) mutasyonu; 1 hastada heterezigot SLC2A1 (p.Gln200His) mutasyonu; 1 hastada KCNMA1 heterezigot c.364G>A (p.Gly122Arg) mutasyonu; 1 hastada heterezigot KCNMB3 c.192C>G (p.Leu64=) mutasyonu; 1 hastada BRD2 heterezigot c.145_146delGCinsTG (p.Ala49Cys); 1 hastada EFHC1 heterezigot c.1504C>T (p.Arg483Trp); 1 hastada TBC1D24 heterezigot c.74A>G; 1 hastada homozigot GRIN2A c.1265T>C (p.Ile422Thr) ve son olarak 1 hastada TBC1D221 heterezigot c.1057G>A (p.Ala353Thr) mutasyonu saptanmıştır.
7. Mutasyon saptanmayan 11 hastanın klinik özellikleri de göz önünde bulundurularak epileptiform anormallikle uyumlu EEG, çeşitli epileptik nöbetler gösteren bu hastaların patogenezi genetik sebeplere dayalı değildir sonucu ortaya çıkmamalı ve tüm ekzom dizileme yöntemiyle analiz tekrarlanmalıdır.
8. Bu çalışma grubu geriye dönük hastalardan oluşmakta ve hastaların klinik başlangıçlarına bakıldığında çoğunun dikkat eksikliği, hiperaktivite, agresiflik, kekeleme gibi problemlerle psikiyatri servisine başvurduğu ve psikiyatri servisinin nöroloji servisine yönlendirilmesiyle nörolog tanı koyduğu görülmektedir.
9. Hastalarda saptanan her bir mutasyon için hastalık patogenezinde oynadığı rol, mutasyon ekzonik bölgede ise aminoasit değişimin etkisi, ilgili genle ilişkilendirilen moleküler yolak üzerinde yapılan çalışmalarla aydınlatılabilir.

10. Sonuç olarak, aynı mutasyonel değişime sahip hastaların farklı klinik özellik ve tedaviyle takipli olması; genom üzerindeki bu çalışmada belirlenemeyen farklı bir mutasyonel değişimler, polimorfizmler, epigenetik faktörler, çevresel faktörler kliniğin ve tedavi sonrası durumun farklılığına sebep olabilir.
11. Bu çalışma sonrasında hastalar arasında klinik ve mutasyonel heterojeneyi ortaya koymuş olup ileriki çalışmaların gerçekleştirilmesi dahilinde pek çok epileptik nöbet ve sınıflandırılan epilepsi türünün patogenezi aydınlatabilecek, yeni moleküler ajanlarla her bir hastaya kişiselleştirilmiş tıp ile yeni tedavi yaklaşımları uygulanabilir.

KAYNAKLAR

1. **Öge EB, B**. Nöroloji. *Nobel Tıp Kitabevleri*. **2011**;İstanbul.

2. **Serdaroğlu A, Ozkan S, Aydin K, Gücüyener K, Tezcan S, Aycan S**. Prevalence of epilepsy in Turkish children between the ages of 0 and 16 years. *J Child Neurol*. **2004**;19(4):271-4.

3. **Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, et al.** Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. **2010**;51(4):676-85.

4. **Emre M**. Nöroloji Temel Kitabı. *Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara*. **2013**.

5. **Engel J, Jr.** A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*. **2001**;42(6):796-803.

6. **Kohrman MH**. What is Epilepsy? Clinical Perspectives in the Diagnosis and Treatment. *Journal of Clinical Neurophysiology*. **2007**;24(2):87-95.

7. **Fisher RS**. The New Classification of Seizures by the International League Against Epilepsy 2017. *Curr Neurol Neurosci Rep*. **2017**;17(6):48.

8. **Manford M**. Recent advances in epilepsy. *J Neurol*. **2017**;264(8):1811-24.

9. **Fisher RS, Cross JH, D'souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, et al.** Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*. **2017**;58(4):531-42.

10. **Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al.** ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. **2017**;58(4):512-21.

11. **Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, et al.** Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. Wiley Online Library; **2010**.

12. **Dhiman V**. Molecular Genetics of Epilepsy: A Clinician's Perspective. *Ann Indian Acad Neurol*. **2017**;20(2):96-102.

13. **Sirin NG, Yilmaz E, Bebek N, Baykan B, Gokyigit A, Gurses C**. Unusual ictal propagation patterns suggesting poor prognosis after temporal lobe epilepsy surgery: Switch of lateralization and bilateral asynchrony. *Epilepsy & Behavior*. **2018**;86:31-6.

14. **Akdağ G, Algın D, Erdinç O**. EPİLEPSİ/EPILEPSY. *Osmangazi Tıp Dergisi*.38(1).

15. **Camfield P, Camfield C**. Incidence, prevalence and aetiology of seizures and epilepsy in children. *Epileptic Disord*. **2015**;17(2):117-23.

16. **Lüders H, Acharya J, Baumgartner C, Benbadis S, Bleasel A, Burgess R, et al.** Semiological seizure classification. *Epilepsia*. **1998**;39(9):1006-13.

17. **Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, et al.** Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. **2017**;58(4):522-30.

18. **Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al.** ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. **2014**;55(4):475-82.

19. **Epilepsy CoCaTotILA**. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. **1989**;30(4):389-99.

20. **Epilepsy CoCaTotILA**. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. **1981**;22(4):489-501.

21. **Capovilla G, Berg AT, Cross JH, Moshe SL, Vigevano F, Wolf P, et al.** Workshop Report: Conceptual dichotomies in classifying epilepsies: Partial versus generalized and idiopathic versus symptomatic (April 18–20, 2008, Monreale, Italy). *Epilepsia*. **2009**;50(6):1645-9.

22. **Ottman R, Hirose S, Jain S, Lerche H, Lopes-Cendes I, Noebels JL, et al.** Genetic testing in the epilepsies—report of the ILAE Genetics Commission. Wiley Online Library; **2010**.

23. **Engel Jr J**. Report of the ILAE classification core group. *Epilepsia*. **2006**;47(9):1558-68.

24. **Goldstein J, Slomski J**. Epileptic spasms: a variety of etiologies and associated syndromes. *J Child Neurol*. **2008**;23(4):407-14.

25. **Borgatti R, Zucca C, Cavallini A, Ferrario M, Panzeri C, Castaldo P, et al.** A novel mutation in KCNQ2 associated with BFNC, drug resistant epilepsy, and mental retardation. *Neurology*. **2004**;63(1):57-65.

26. **Biervert C, Schroeder BC, Kubisch C, Berkovic SF, Propping P, Jentsch TJ, et al.** A potassium channel mutation in neonatal human epilepsy. *Science*. **1998**;279(5349):403-6.

27. **Berkovic SF, Heron SE, Giordano L, Marini C, Guerrini R, Kaplan RE, et al.** Benign familial neonatal-infantile seizures: characterization of a new sodium channelopathy. *Ann Neurol*. **2004**;55(4):550-7.

28. **Ben-Shalom R, Keeshen CM, Berrios KN, An JY, Sanders SJ, Bender KJ**. Opposing Effects on Na(V)1.2 Function Underlie Differences Between SCN2A Variants Observed in Individuals With Autism Spectrum Disorder or Infantile Seizures. *Biol Psychiatry*. **2017**;82(3):224-32.

29. **Frank HY, Catterall WA**. Overview of the voltage-gated sodium channel family. *Genome biology*. **2003**;4(3):1-7.

30. **Deprez L, Jansen A, De Jonghe P**. Genetics of epilepsy syndromes starting in the first year of life. *Neurology*. **2009**;72(3):273-81.

31. Benign familial infantile epilepsy.

32. **Ségolène Aymé JS**. Networking for rare diseases: a necessity for Europe. *Leitthema: Seltene Krankheiten, Teil*. **2007**;50:1477–83.

33. **Ebrahimi-Fakhari D, El Achkar CM, Klein C.** PRRT2-Associated Paroxysmal Movement Disorders. *GeneReviews®[Internet]*: University of Washington, Seattle; **2018**.

34. **Nakamura K, Kato M, Osaka H, Yamashita S, Nakagawa E, Haginoya K, et al.** Clinical spectrum of SCN2A mutations expanding to Ohtahara syndrome. *Neurology*. **2013**;81(11):992-8.

35. **Beal JC, Cherian K, Moshe SL**. Early-onset epileptic encephalopathies: Ohtahara syndrome and early myoclonic encephalopathy. *Pediatr Neurol*. **2012**;47(5):317-23.

36. **Khaikin Y, Mercimek-Mahmutoglu S.** STXBP1 encephalopathy with epilepsy. *GeneReviews®[Internet]*: University of Washington, Seattle; **2016**.

37. **Elaine Kiriakopoulos AH, Elaine Wirrell**. Ohtahara Syndrome. *epilepsy Foundation*. **2019**.

38. **Mahes Kamate NM, Vivek Chetal** Early Myoclonic Encephalopathy. *INDIAN PEDIATRICS*. **2009**;46:804-6.

39. EARLY MYOCLONIC ENCEPHALOPATHY. *ILAE*.

40. **Watanabe K**. West syndrome: etiological and prognostic aspects. *Brain Dev*. **1998**;20(1):1-8.

41. **Djuric M, Kravljanac R, Tadic B, Mrlješ-Popovic N, Appleton RE**. Long-term outcome in children with infantile spasms treated with vigabatrin: a cohort of 180 patients. *Epilepsia*. **2014**;55(12):1918-25.

42. **S. H**. West Sendromunda Otistik Bozukluk. *Uzmanlık Tezi, İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı*. **İstanbul, 2008**.

43. **Apak S.** Pediatrik epileptoloji ve antikonvülzif ilaç tedavisi: Sanal; **1986**.

44. **Teasdale G, Maas A, Lecky F, Manley G, Stocchetti N, Murray G**. The Glasgow Coma Scale at 40 years: standing the test of time. *The Lancet Neurology*. **2014**;13(8):844-54.

45. **Pavone P, Striano P, Falsaperla R, Pavone L, Ruggieri M**. Infantile spasms syndrome, West syndrome and related phenotypes: what we know in 2013. *Brain Dev*. **2014**;36(9):739-51.

46. **Connolly MB**. Dravet Syndrome: Diagnosis and Long-Term Course. *Can J Neurol Sci*. **2016**;43 Suppl 3:S3-8.

47. **Mei D, Cetica V, Marini C, Guerrini R**. Dravet syndrome as part of the clinical and genetic spectrum of sodium channel epilepsies and encephalopathies. *Epilepsia*. **2019**;60 Suppl 3:S2-s7.

48. **Dibbens LM, Feng HJ, Richards MC, Harkin LA, Hodgson BL, Scott D, et al.** GABRD encoding a protein for extra- or peri-synaptic GABAA receptors is a susceptibility locus for generalized epilepsies. *Hum Mol Genet*. **2004**;13(13):1315-9.

49. **Macdonald RL, Kang JQ, Gallagher MJ**. Mutations in GABAA receptor subunits associated with genetic epilepsies. *The Journal of physiology*. **2010**;588(11):1861-9.

50. **Steinlein OK**. Genes and mutations in human idiopathic epilepsy. *Brain and Development*. **2004**;26(4):213-8.

51. **Heron SE, Crossland KM, Andermann E, Phillips HA, Hall AJ, Bleasel A, et al.** Sodium-channel defects in benign familial neonatal-infantile seizures. *The Lancet*. **2002**;360(9336):851-2.

52. **Özlem E HS**. Febril konvülziyon etyopatogenezinde genetiğin rolü. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. **2017**:33-40.

53. **Magnusson A, Stordal E, Brodtkorb E, Steinlein O**. Schizophrenia, psychotic illness and other psychiatric symptoms in families with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy caused by different mutations. *Psychiatric genetics*. **2003**;13(2):91-5.

54. **Whitehouse W, Rees M, Curtis D, Sundqvist A, Parker K, Chung E, et al.** Linkage analysis of idiopathic generalized epilepsy (IGE) and marker loci on chromosome 6p in families of patients with juvenile myoclonic epilepsy: no evidence for an epilepsy locus in the HLA region. *American journal of human genetics*. **1993**;53(3):652.

55. **Scheffer IE, Bhatia KP, Lopes-Cendes I, Fish DR, Marsden CD, Andermann E, et al.** Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: a distinctive clinical disorder. *Brain*. **1995**;118(1):61-73.

56. **De Fusco M, Becchetti A, Patrignani A, Annesi G, Gambardella A, Quattrone A, et al.** The nicotinic receptor β2 subunit is mutant in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nature genetics*. **2000**;26(3):275-6.

57. **Bertrand D, Picard F, Le Hellard S, Weiland S, Favre I, Phillips H, et al.** How mutations in the nAChRs can cause ADNFLE epilepsy. *Epilepsia*. **2002**;43:112-22.

58. **Phillips HA, Favre I, Kirkpatrick M, Zuberi SM, Goudie D, Heron SE, et al.** CHRNB2 is the second acetylcholine receptor subunit associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *The American Journal of Human Genetics*. **2001**;68(1):225-31.

59. **Durner M, Keddache MA, Tomasini L, Shinnar S, Resor SR, Cohen J, et al.** Genome scan of idiopathic generalized epilepsy: evidence for major susceptibility gene and modifying genes influencing the seizure type. *Annals of neurology*. **2001**;49(3):328-35.

60. **Jallon P, Latour P**. Epidemiology of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia*. **2005**;46:10-4.

61. **CP. P**. The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management. *Oxfordshire (UK): Bladon Medical Publishing;*. **2005**:Chapter 10.

62. **CP. P**. Benign Childhood Focal Seizures and Related Epileptic Syndromes. *The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management*. **Oxfordshire (UK): Bladon Medical Publishing; 2005**:Chapter 9.

63. **Panayiotopoulos CP**. Treatment of typical absence seizures and related epileptic syndromes. *Paediatr Drugs*. **2001**;3(5):379-403.

64. **Crunelli V, Leresche N**. Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci*. **2002**;3(5):371-82.

65. **Gourfinkel-An I, Baulac S, Nabbout R, Ruberg M, Baulac M, Brice A, et al.** Monogenic idiopathic epilepsies. *Lancet Neurol*. **2004**;3(4):209-18.

66. **Jones-Davis DM, Macdonald RL**. GABA(A) receptor function and pharmacology in epilepsy and status epilepticus. *Curr Opin Pharmacol*. **2003**;3(1):12-8.

67. **Grunewald RA, Panayiotopoulos CP**. Juvenile myoclonic epilepsy. A review. *Arch Neurol*. **1993**;50(6):594-8.

68. **Wallace RH, Marini C, Petrou S, Harkin LA, Bowser DN, Panchal RG, et al.** Mutant GABA(A) receptor gamma2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nat Genet*. **2001**;28(1):49-52.

69. **KINAY D**. Tipik Absans Nöbetleri ve İlişkili Epilepsi Sendromları. *Epilepsi: Journal of the Turkish Epilepsi Society*. **2018**;24(3).

70. **Ergin B.** Juvenil Miyoklonik Epilepside Frontal Disfonksiyon Varlığının Kognitif Testler ve Elektrofizyolojik Bulgular Işığında Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. *Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi II Nöroloji Kliniği*. **İstanbul, 2009**.

71. **Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL.** Harrison's principles of internal medicine: McGraw Hill; **2001**.

72. **Hirose S**. Mutant GABA(A) receptor subunits in genetic (idiopathic) epilepsy. *Prog Brain Res*. **2014**;213:55-85.

73. **Joensen P**. Prevalence, incidence, and classification of epilepsy in the Faroes. *Acta Neurologica Scandinavica*. **1986**;74(2):150-5.

74. **Waaler P, Blom B, Skeidsvoll H, Mykletum A**. Prevalence, classification, and severity of epilepsy in children in western Norway. *Epilepsia*. **2000**;41(7):802-10.

75. **Dervent A, GÖKYİĞİT A**. Çocukluk ve Ergenlikte Başlayan İdiyopatik Jeneralize Epilepsiler. *Epilepsi: Journal of the Turkish Epilepsi Society*. **2014**;20.

76. **Kang JQ, Macdonald RL**. Making sense of nonsense GABA(A) receptor mutations associated with genetic epilepsies. *Trends Mol Med*. **2009**;15(9):430-8.

77. **Ritzén A, Mathiesen JM, Thomsen C**. Molecular pharmacology and therapeutic prospects of metabotropic glutamate receptor allosteric modulators. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. **2005**;97(4):202-13.

78. **Bambal G**. Epilepsi oluşum mekanizmaları. *Konuralp Tıp Dergisi*. **2011**;3(3):42-5.

79. **Sidenvall R, Forsgren L, Blomquist Hs, Heijbel J**. A community-based prospective incidence study of epileptic seizures in children. *Acta Paediatrica*. **1993**;82(1):60-5.

80. **Selph. J**. Juvenile Myoclonic Epilepsy. *Medscape Reference*. **2016**.

81. **Baykan B, Wolf P**. Juvenile myoclonic epilepsy as a spectrum disorder: A focused review. *Seizure*. **2017**;49:36-41.

82. **Cossette P, Liu L, Brisebois K, Dong H, Lortie A, Vanasse M, et al.** Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet*. **2002**;31(2):184-9.

83. **Ding L, Feng HJ, Macdonald RL, Botzolakis EJ, Hu N, Gallagher MJ**. GABA(A) receptor alpha1 subunit mutation A322D associated with autosomal dominant juvenile myoclonic epilepsy reduces the expression and alters the composition of wild type GABA(A) receptors. *J Biol Chem*. **2010**;285(34):26390-405.

84. **Muhle H, von Spiczak S, Gaus V, Kara S, Helbig I, Hampe J, et al.** Role of GRM4 in idiopathic generalized epilepsies analysed by genetic association and sequence analysis. *Epilepsy Res*. **2010**;89(2-3):319-26.

85. **Genton P, Bureau M**. Epilepsy with myoclonic absences. *CNS Drugs*. **2006**;20(11):911-6.

86. **Tassinari C**. Etude des décharges de pointes ondes chez l'homme. II: Les aspects cliniques eélectroencéphalographiques des absences myocloniques. *Rev Neurol*. **1969**;121:379-83.

87. **Kelley SA, Kossoff EH**. Doose syndrome (myoclonic–astatic epilepsy): 40 years of progress. *Developmental Medicine & Child Neurology*. **2010**;52(11):988-93.

88. **Doose H, Lunau H, Castiglione E, Waltz S**. Severe idiopathic generalized epilepsy of infancy with generalized tonic-clonic seizures. *Neuropediatrics*. **1998**;29(05):229-38.

89. **Doege C, May TW, Siniatchkin M, von Spiczak S, Stephani U, Boor R**. Myoclonic astatic epilepsy (Doose syndrome)–A lamotrigine responsive epilepsy? *european journal of paediatric neurology*. **2013**;17(1):29-35.

90. **Tang S, Addis L, Smith A, Topp SD, Pendziwiat M, Mei D, et al.** Phenotypic and genetic spectrum of epilepsy with myoclonic atonic seizures. *Epilepsia*. **2020**;61(5):995-1007.

91. **Carvill GL, McMahon JM, Schneider A, Zemel M, Myers CT, Saykally J, et al.** Mutations in the GABA Transporter SLC6A1 Cause Epilepsy with Myoclonic-Atonic Seizures. *Am J Hum Genet*. **2015**;96(5):808-15.

92. **Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orbán G, Errington AC, Lorincz ML, et al.** Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nat Med*. **2009**;15(12):1392-8.

93. **Arvio M, Sauna-aho O, Nyrke T, Bjelogrlic-Laakso N**. Intellectual disability in patients with epilepsy with eyelid myoclonias. *SAGE open medical case reports*. **2018**;6:2050313X18777951.

94. **Smith KM, Youssef PE, Wirrell EC, Nickels KC, Payne ET, Britton JW, et al.** Jeavons Syndrome: Clinical Features and Response to Treatment. *Pediatr Neurol*. **2018**;86:46-51.

95. **Samanta D, Willis E**. KIAA2022-related disorders can cause Jeavons (eyelid myoclonia with absence) syndrome. *Acta Neurol Belg*. **2020**;120(1):205-7.

96. **Surmelı R, Kurucu H, Yalcın AD, Yenı SN**. A case of perioral myoclonia with absences and its evolution in adulthood? *Epileptic Disord*. **2018**;20(3):195-9.

97. **Rubboli G, Gardella E, Capovilla G**. Idiopathic generalized epilepsy (IGE) syndromes in development: IGE with absences of early childhood, IGE with phantom absences, and perioral myoclonia with absences. *Epilepsia*. **2009**;50 Suppl 5:24-8.

98. **Baykan B, Noachtar S**. Perioral myoclonia with absences: an overlooked and misdiagnosed generalized seizure type. *Epilepsy & Behavior*. **2005**;6(3):460-2.

99. **Striano P, Zara F**. Autosomal dominant cortical tremor, myoclonus and epilepsy. *Epileptic Disord*. **2016**;18(S2):139-44.

100. **Striano P, Zara F**. Autosomal dominant cortical myoclonus and epilepsy. *The atlas of epilepsies Springer-Verlag*. **2010**:1051-4.

101. **De Fusco M, Vago R, Striano P, Di Bonaventura C, Zara F, Mei D, et al.** The α2B-adrenergic receptor is mutant in cortical myoclonus and epilepsy. *Annals of neurology*. **2014**;75(1):77-87.

102. **Caraballo RH, Chacón S, Fasulo L, Bedoya C**. De novo absence status epilepticus in three paediatric patients: a new idiopathic epilepsy syndrome? *Epileptic Disord*. **2018**;20(6):502-7.

103. **Genton P, Ferlazzo E, Thomas P**. Absence status epilepsy: delineation of a distinct idiopathic generalized epilepsy syndrome. *Epilepsia*. **2008**;49(4):642-9.

104. **V. D**. İdiyopatik Parsiyel Epilepsiler. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri*. **İstanbul, 1998**:s.31-8.

105. **DÖRTCAN N, TEKİN GÜVELİ B, Demirbilek V**. Çocukluğun İdiyopatik Parsiyel Epilepsileri. *Epilepsi: Journal of the Turkish Epilepsi Society*. **2014**;20.

106. **Marson AG, Al-Kharusi AM, Alwaidh M, Appleton R, Baker GA, Chadwick DW, et al.** The SANAD study of effectiveness of carbamazepine, gabapentin, lamotrigine, oxcarbazepine, or topiramate for treatment of partial epilepsy: an unblinded randomised controlled trial. *Lancet*. **2007**;369(9566):1000-15.

107. **Bourgeois BF**. Determining the effects of antiepileptic drugs on cognitive function in pediatric patients with epilepsy. *J Child Neurol*. **2004**;19 Suppl 1:S15-24.

108. **Panayiotopoulos CP, Ferrie CD.** Panayiotopoulos syndrome: a common and benign childhood epileptic syndrome: John Libbey Eurotext; **2002**.

109. **Ferrie C, Caraballo R, Covanis A, Demirbilek V, Dervent A, Kivity S, et al.** Panayiotopoulos syndrome: a consensus view. *Dev Med Child Neurol*. **2006**;48(3):236-40.

110. **Lada C, Skiadas K, Theodorou V, Loli N, Covanis A**. A study of 43 patients with panayiotopoulos syndrome, a common and benign childhood seizure susceptibility. *Epilepsia*. **2003**;44(1):81-8.

111. **Grosso S, Orrico A, Galli L, Di Bartolo R, Sorrentino V, Balestri P**. SCN1A mutation associated with atypical Panayiotopoulos syndrome. *Neurology*. **2007**;69(6):609-11.

112. **Caraballo RH**. Benign Occipital Epilepsies. *Pediatric Epilepsy*. **Buenos Aires, Argentina**:Chapter 26.

113. **Beghi E, Giussani G, Sander JW**. The natural history and prognosis of epilepsy. *Epileptic Disorders*. **2015**;17(3):243-53.

114. **Isom LL**. The role of sodium channels in cell adhesion. *Front Biosci*. **2002**;7(1):12-23.

115. **Mulley JC, Scheffer IE, Petrou S, Dibbens LM, Berkovic SF, Harkin LA**. SCN1A mutations and epilepsy. *Human mutation*. **2005**;25(6):535-42.

116. **Escayg A, MacDonald BT, Meisler MH, Baulac S, Huberfeld G, An-Gourfinkel I, et al.** Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+ 2. *Nature genetics*. **2000**;24(4):343-5.

117. **Escayg A, Heils A, MacDonald BT, Haug K, Sander T, Meisler MH**. A novel SCN1A mutation associated with generalized epilepsy with febrile seizures plus—and prevalence of variants in patients with epilepsy. *The American Journal of Human Genetics*. **2001**;68(4):866-73.

118. **Wallace R, Scheffer I, Barnett S, Richards M, Dibbens L, Desai R, et al.** Neuronal sodium-channel α1-subunit mutations in generalized epilepsy with febrile seizures plus. *The American Journal of Human Genetics*. **2001**;68(4):859-65.

119. **Orrico A, Galli L, Grosso S, Buoni S, Pianigiani R, Balestri P, et al.** Mutational analysis of the SCN1A, SCN1B and GABRG2 genes in 150 Italian patients with idiopathic childhood epilepsies. *Clinical genetics*. **2009**;75(6):579-81.

120. **Rojo DC, Hamiwka L, McMahon JM, Dibbens LM, Arsov T, Suls A, et al.** De novo SCN1A mutations in migrating partial seizures of infancy. *Neurology*. **2011**;77(4):380-3.

121. **Claes L, Del-Favero J, Ceulemans B, Lagae L, Van Broeckhoven C, De Jonghe P**. De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *The American Journal of Human Genetics*. **2001**;68(6):1327-32.

122. **Fujiwara T, Sugawara T, Mazaki-Miyazaki E, Takahashi Y, Fukushima K, Watanabe M, et al.** Mutations of sodium channel α subunit type 1 (SCN1A) in intractable childhood epilepsies with frequent generalized tonic–clonic seizures. *Brain*. **2003**;126(3):531-46.

123. **Ohmori I, Ouchida M, Ohtsuka Y, Oka E, Shimizu K**. Significant correlation of the SCN1A mutations and severe myoclonic epilepsy in infancy. *Biochemical and biophysical research communications*. **2002**;295(1):17-23.

124. **Depienne C, Trouillard O, Saint-Martin C, Gourfinkel-An I, Bouteiller D, Carpentier W, et al.** Spectrum of SCN1A gene mutations associated with Dravet syndrome: analysis of 333 patients. *Journal of medical genetics*. **2009**;46(3):183-91.

125. **Zucca C, Redaelli F, Epifanio R, Zanotta N, Romeo A, Lodi M, et al.** Cryptogenic epileptic syndromes related to SCN1A: twelve novel mutations identified. *Archives of neurology*. **2008**;65(4):489-94.

126. **Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, Babini E, Lorenz-Depiereux B, Biskup S, et al.** Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *The Lancet*. **2005**;366(9483):371-7.

127. **Mantegazza M, Gambardella A, Rusconi R, Schiavon E, Annesi F, Cassulini RR, et al.** Identification of an Nav1. 1 sodium channel (SCN1A) loss-of-function mutation associated with familial simple febrile seizures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2005**;102(50):18177-82.

128. **Conti V, Aracri P, Chiti L, Brusco S, Mari F, Marini C, et al.** Nocturnal frontal lobe epilepsy with paroxysmal arousals due to CHRNA2 loss of function. *Neurology*. **2015**;84(15):1520-8.

129. **Lohoff FW, Ferraro TN, McNabb L, Schwebel C, Dahl JP, Doyle GA, et al.** No association between common variations in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha2 subunit gene (CHRNA2) and bipolar I disorder. *Psychiatry research*. **2005**;135(3):171-7.

130. **Aridon P, Marini C, Di Resta C, Brilli E, De Fusco M, Politi F, et al.** Increased sensitivity of the neuronal nicotinic receptor α2 subunit causes familial epilepsy with nocturnal wandering and ictal fear. *The American Journal of Human Genetics*. **2006**;79(2):342-50.

131. **Trivisano M, Terracciano A, Milano T, Cappelletti S, Pietrafusa N, Bertini ES, et al.** Mutation of CHRNA 2 in a family with benign familial infantile seizures: Potential role of nicotinic acetylcholine receptor in various phenotypes of epilepsy. *Epilepsia*. **2015**;56(5):e53-e7.

132. **Muhammad II, Kong SL, Akmar Abdullah SN, Munusamy U**. RNA-seq and ChIP-seq as complementary approaches for comprehension of plant transcriptional regulatory mechanism. *International journal of molecular sciences*. **2020**;21(1):167.

133. **Diriong S, Lory P, Williams Ma, Ellis S, Harpold M, Taviaux S**. Chromosomal localization of the human genes for α1A, α1B, and α1E voltage-dependent Ca2+ channel subunits. *Genomics*. **1995**;30(3):605-9.

134. **Pan R, Qi X, Wang F, Chong Y, Li X, Chen Q**. Correlations of calcium voltage-gated channel subunit alpha1 A (CACNA1A) Gene Polymorphisms with Benign Paroxysmal Positional Vertigo. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. **2019**;25:946.

135. **Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, Van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, et al.** Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca2+ channel gene CACNL1A4. *Cell*. **1996**;87(3):543-52.

136. **Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, Ashizawa T, Stockton DW, Amos C, et al.** Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the α 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nature genetics*. **1997**;15(1):62-9.

137. **Ishikawa K, Tanaka H, Saito M, Ohkoshi N, Fujita T, Yoshizawa Ka, et al.** Japanese families with autosomal dominant pure cerebellar ataxia map to chromosome 19p13. 1-p13. 2 and are strongly associated with mild CAG expansions in the spinocerebellar ataxia type 6 gene in chromosome 19p13. 1. *The American Journal of Human Genetics*. **1997**;61(2):336-46.

138. **Eunson LH, Graves TD, Hanna MG**. New calcium channel mutations predict aberrant RNA splicing in episodic ataxia. *Neurology*. **2005**;65(2):308-10.

139. **Riant F, Lescoat C, Vahedi K, Kaphan E, Toutain A, Soisson T, et al.** Identification of CACNA1A large deletions in four patients with episodic ataxia. *Neurogenetics*. **2010**;11(1):101-6.

140. **Labrum R, Rajakulendran S, Graves T, Eunson L, Bevan R, Sweeney M, et al.** Large scale calcium channel gene rearrangements in episodic ataxia and hemiplegic migraine: implications for diagnostic testing. *Journal of medical genetics*. **2009**;46(11):786-91.

141. **Chioza B, Wilkie H, Nashef L, Blower J, McCormick D, Sham P, et al.** Association between the α1a calcium channel gene CACNA1A and idiopathic generalized epilepsy. *Neurology*. **2001**;56(9):1245-6.

142. **Agus DB, Gambhir SS, Pardridge WM, Spielholz C, Baselga J, Vera JC, et al.** Vitamin C crosses the blood-brain barrier in the oxidized form through the glucose transporters. *The Journal of clinical investigation*. **1997**;100(11):2842-8.

143. **Seidner G, Alvarez MG, Yeh J-I, O'Driscoll KR, Klepper J, Stump TS, et al.** GLUT-1 deficiency syndrome caused by haploinsufficiency of the blood-brain barrier hexose carrier. *Nature genetics*. **1998**;18(2):188-91.

144. **Klepper J, Willemsen M, Verrips A, Guertsen E, Herrmann R, Kutzick C, et al.** Autosomal dominant transmission of GLUT1 deficiency. *Human molecular genetics*. **2001**;10(1):63-8.

145. **Wang D, Pascual JM, Yang H, Engelstad K, Jhung S, Sun RP, et al.** Glut-1 deficiency syndrome: clinical, genetic, and therapeutic aspects. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. **2005**;57(1):111-8.

146. **Bawazir WM, Gevers EF, Flatt JF, Ang AL, Jacobs B, Oren C, et al.** An infant with pseudohyperkalemia, hemolysis, and seizures: cation-leaky GLUT1-deficiency syndrome due to a SLC2A1 mutation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. **2012**;97(6):E987-E93.

147. **Weber YG, Storch A, Wuttke TV, Brockmann K, Kempfle J, Maljevic S, et al.** GLUT1 mutations are a cause of paroxysmal exertion-induced dyskinesias and induce hemolytic anemia by a cation leak. *The Journal of clinical investigation*. **2008**;118(6):2157-68.

148. **Suls A, Mullen SA, Weber YG, Verhaert K, Ceulemans B, Guerrini R, et al.** Early-onset absence epilepsy caused by mutations in the glucose transporter GLUT1. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. **2009**;66(3):415-9.

149. **Striano P, Weber Y, Toliat M, Schubert J, Leu C, Chaimana R, et al.** GLUT1 mutations are a rare cause of familial idiopathic generalized epilepsy. *Neurology*. **2012**;78(8):557-62.

150. **Sausbier M, Hu H, Arntz C, Feil S, Kamm S, Adelsberger H, et al.** Cerebellar ataxia and Purkinje cell dysfunction caused by Ca2+-activated K+ channel deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2004**;101(25):9474-8.

151. **Bailey CS, Moldenhauer HJ, Park SM, Keros S, Meredith AL**. KCNMA1-linked channelopathy. *The Journal of general physiology*. **2019**;151(10):1173-89.

152. **Du W, Bautista JF, Yang H, Diez-Sampedro A, You S-A, Wang L, et al.** Calcium-sensitive potassium channelopathy in human epilepsy and paroxysmal movement disorder. *Nature genetics*. **2005**;37(7):733-8.

153. **Li X, Poschmann S, Chen Q, Fazeli W, Oundjian NJ, Snoeijen-Schouwenaars FM, et al.** De novo BK channel variant causes epilepsy by affecting voltage gating but not Ca 2+ sensitivity. *European Journal of Human Genetics*. **2018**;26(2):220-9.

154. **Uebele VN, Lagrutta A, Wade T, Figueroa DJ, Liu Y, McKenna E, et al.** Cloning and functional expression of two families of β-subunits of the large conductance calcium-activated K+ channel. *Journal of Biological Chemistry*. **2000**;275(30):23211-8.

155. **de Nijs L, Wolkoff N, Coumans B, Delgado-Escueta AV, Grisar T, Lakaye B**. Mutations of EFHC1, linked to juvenile myoclonic epilepsy, disrupt radial and tangential migrations during brain development. *Human molecular genetics*. **2012**;21(23):5106-17.

156. **Suzuki T, Delgado-Escueta AV, Aguan K, Alonso ME, Shi J, Hara Y, et al.** Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nature genetics*. **2004**;36(8):842-9.

157. **Medina M, Suzuki T, Alonso M, Durón R, Martinez-Juarez I, Bailey J, et al.** Novel mutations in Myoclonin1/EFHC1 in sporadic and familial juvenile myoclonic epilepsy. *Neurology*. **2008**;70(22 Part 2):2137-44.

158. **Stogmann E, Lichtner P, Baumgartner C, Bonelli S, Assem-Hilger E, Leutmezer F, et al.** Idiopathic generalized epilepsy phenotypes associated with different EFHC1 mutations. *Neurology*. **2006**;67(11):2029-31.

159. **Pal DK, Evgrafov OV, Tabares P, Zhang F, Durner M, Greenberg DA**. BRD2 (RING3) is a probable major susceptibility gene for common juvenile myoclonic epilepsy. *The American Journal of Human Genetics*. **2003**;73(2):261-70.

160. **Rehman AU, Santos-Cortez RLP, Morell RJ, Drummond MC, Ito T, Lee K, et al.** Mutations in TBC1D24, a gene associated with epilepsy, also cause nonsyndromic deafness DFNB86. *The American Journal of Human Genetics*. **2014**;94(1):144-52.

161. **Crompton DE, Sadleir LG, Bromhead CJ, Bahlo M, Bellows ST, Arsov T, et al.** Familial adult myoclonic epilepsy: recognition of mild phenotypes and refinement of the 2q locus. *Archives of neurology*. **2012**;69(4):474-81.

162. **Vanoye CG, Gurnett CA, Holland KD, George Jr AL, Kearney JA**. Novel SCN3A variants associated with focal epilepsy in children. *Neurobiology of disease*. **2014**;62:313-22.

163. **Lamar T, Vanoye CG, Calhoun J, Wong JC, Dutton SB, Jorge BS, et al.** SCN3A deficiency associated with increased seizure susceptibility. *Neurobiology of disease*. **2017**;102:38-48.

164. **Nepal G, Rehrig JH, Ojha R**. Glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2A (GRIN 2A) gene polymorphism (rs4998386) and Parkinson's disease susceptibility: A meta-analysis. *Aging Medicine*. **2019**;2(3):174-83.

165. **Endele S, Rosenberger G, Geider K, Popp B, Tamer C, Stefanova I, et al.** Mutations in GRIN2A and GRIN2B encoding regulatory subunits of NMDA receptors cause variable neurodevelopmental phenotypes. *Nature genetics*. **2010**;42(11):1021-6.

166. **Carvill GL, Regan BM, Yendle SC, O'Roak BJ, Lozovaya N, Bruneau N, et al.** GRIN2A mutations cause epilepsy-aphasia spectrum disorders. *Nature genetics*. **2013**;45(9):1073-6.

167. **Lesca G, Rudolf G, Bruneau N, Lozovaya N, Labalme A, Boutry-Kryza N, et al.** GRIN2A mutations in acquired epileptic aphasia and related childhood focal epilepsies and encephalopathies with speech and language dysfunction. *Nature genetics*. **2013**;45(9):1061-6.

168. **Greninger AL, Knudsen GM, Betegon M, Burlingame AL, DeRisi JL**. ACBD3 interaction with TBC1 domain 22 protein is differentially affected by enteroviral and kobuviral 3A protein binding. *MBio*. **2013**;4(2):e00098-13.

169. **Belhedi N, Bena F, Mrabet A, Guipponi M, Souissi CB, Mrabet HK, et al.** A new locus on chromosome 22q13. 31 linked to recessive genetic epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+) in a Tunisian consanguineous family. *BMC genetics*. **2013**;14(1):1-8.

EKLER

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Sayısı		Tarih
92		4 Ekim 2019

KARAR NO 32- Kurulumuzun 4 Eylül 2019 tarihli ve 91 sayılı toplantısında alınan 74 numaralı karar ile onaylanan, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda, Doç. Dr. Mehmet Bertan Yılmaz yönetiminde, Seray Karaçay tarafından yürütülmesi öngörülen, "Epilepsi Hastalarının Yeni Nesil Dizileme Yöntemiyle Mutasyon Frekanslarının Tespiti ve Bunların Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu (MLPA) ile Korelasyonu" başlıklı yüksek lisans tez projesinin başlığının "İdiyopatik Epilepsi Hastalarının Yeni Nesil Dizileme Yöntemiyle Mutasyon Frekanslarının Saptanması" olarak değiştirilmesi hakkındaki başvuru araştırma etiği yönünden değerlendirildi. Toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN	**Prof Dr Selim Kadıoğlu** Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	
ÜYELER	**Prof Dr Davut Alptekin** Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Dinçer Yıldızdaş Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Prof Dr Gülşah Seydaoğlu Biyoistatistik Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gürhan Sakman Genel Cerrahi Anabilim Dalı	
	Prof Dr Murat Gündüz Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı	
	Doç Dr Ezgi Özyılmaz Saraç Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Av. Zehra Bulut Hukukçu Üye	Toplantıya Katılmadı
	Dr Neşe Kayrın Kurum Dışı Üye	

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, Balcalı 01330 Adana
Telefon: 0322 338 60 60 dahili 3465, Faks: 0322 338 67 22

ÖZGEÇMİŞ

14 Aralık 1995 yılında Adana'nın Seyhan ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Adana'da tamamladı. 2013 yılında Adana Kız Lisesinden mezun oldu ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde lisans eğitimine başladı. Farklı laboratuvarlarda farklı deneyimlerle teorik ve pratik bilgiler edindi. Stajyer olarak ilk deneyimini Haziran-Ağustos 2016 yılında Yüreğir Devlet Hastanesine Bağlı Genetik Tanı Merkezinde gerçekleştirdi. Lisans dönemimde 'İlaç Yüklü Jelatin Nanopartiküller Üzerine Yapılan Çalışmalar' adlı tez çalışmasıyla mezun oldu. Bunu takiben 2018 yılında Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda tezli yüksek lisans programına başladı ve çeşitli çalışmalara katkısı bulundu. 2018 Yılında 'Darbeli Manyetik Alanın Diyabetik Nöropatili Erkek Sıçanların Geciktirici Refleksleri Üzerindeki Etkisi' adlı çalışmayla IMSEC'de (3rd International Mediterranean Science and Engnieering) konuşmacı oldu. 2019 yılında kendisinin de çalışmalarına katkıda bulunduğu 'Ergenlik Döneminde Fetal Elektromanyetik Alan Maruziyetinin Anksiyete ve İlişkili Genlerin İfade Edilmesine Etkisi adlı çalışmayla Europan Society for Pediatric Endocrinolgy kongresinde Viana'da poster sunumu yapıldı. 2021 yılında '*Myrtus communis L*. Özü ve Biyoaktif Metaboliti 1, 8-sineole ile Tümör Seçici Sitotoksisitenin İndüklenmesi' adlı çalışmaya katkı sağladı. Şu anda aktif olarak Adana Şehir Hastanesi Genetik Tanı Merkezinde QIAGEN şirketi bünyesinde moleküler biyolog ve genetikçi olarak çalışmaktadır.